

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, №2 (84)  
Апрель — июнь 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 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, *чл.-корр. 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.: + 7-495-324-5537. E-mail: [vestnikronc@mail.ru](mailto:vestnikronc@mail.ru)

Подписано в печать 25.06.2011. Формат 60 × 90/8. Усл. печ. л. 9,2.  
Тираж 3000 экз. Заказ № 251

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 2 (84)  
April – June 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 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, Associate Member 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.: + 7-495-324-5537. E-mail: [vestnikronc@mail.ru](mailto:vestnikronc@mail.ru)

Permitted for print 25.06.2011. Format 60 × 90/8. Bulk 9.2 printed sheets.  
Circulation 3000 copies. Order N 251

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

- АДЪЮВАНТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕЛАНОМЫ КОЖИ: РОССИЙСКИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ, ОСНОВАННЫЕ НА ПРИНЦИПАХ ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И МНЕНИИ ЭКСПЕРТОВ 3

### ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

- О. В. Голубева, М. И. Гарбузов, А. А. Яровой, С. С. Клеянкина, О. В. Маханова*  
РОЛЬ ДИСТАНЦИОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ ГЛАЗНИЦЫ 12

- В. Э. Гурцевич, В. Н. Степина, Н. Б. Сенюта, Е. В. Гончарова, Л. Н. Щербак, Т. Е. Душенькина, И. А. Репкина, Н. В. Белоусова, Т. Т. Кондратьева, С. Б. Алиева, А. А. Ахундов, Е. Г. Матякин, Б. К. Подгубный, Н. А. Пробатова, А. И. Пачес*  
ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ К ВИРУСУ ЭПШТЕЙНА—БАРР В ДИАГНОСТИКЕ РАКА НОСОГЛОТКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И 30-ЛЕТНИЙ ОПЫТ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ) 20

- С. Я. Проскуряков, О. Н. Матчук, И. А. Замулаева*  
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ПОДХОДОВ К ЛЕЧЕНИЮ МЕЛАНОМЫ 31

- Т. Л. Ушакова*  
СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ РЕТИНОБЛАСТОМЫ 41

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- В. П. Дерягина, Н. И. Рыжова, И. С. Голубева*  
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ И ОБРАЗОВАНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ОКСИДА АЗОТА В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ С ПЕРЕВИТЫМИ ОПУХОЛЯМИ 49

- Т. П. Рябых, Т. В. Осипова, З. А. Соколова, Н. Б. Паклин, В. И. Грабко*  
ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КОММЕРЧЕСКОЙ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ СУСПЕНЗИОННЫХ МИКРОЧИПОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА БЕЛКОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ МАРКЕРОВ 58

### КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Т. П. Генинг, Т. В. Абакумова, И. И. Антонеева, С. О. Генинг*  
НЕЙТРОФИЛЬНЫЙ СТАТУС ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ IA СТАДИИ 65

- Ю. В. Синягина, И. В. Нечушкина, Л. А. Марьина, М. И. Нечушкин*  
РЕЗУЛЬТАТЫ ВНУТРИПОЛОСТНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РАБДОМИОСАРКОМЫ ВЛАГАЛИЩА И ШЕЙКИ МАТКИ У ДЕТЕЙ 69

### ЮБИЛЕИ

- ПРОФЕССОР М. И. НЕЧУШКИН (К 60-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ) 76

## РЕКОМЕНДАЦИИ

Лев Вадимович Демидов<sup>1</sup>, Ирина Владимировна Поддубная<sup>2</sup>,  
Галина Юрьевна Харкевич<sup>3</sup>, Михаил Евгеньевич Абрамов<sup>4</sup>,  
Валентин Вадимович Анисимов<sup>5</sup>, Лариса Владимировна Болотина<sup>6</sup>,  
Василий Иванович Борисов<sup>7</sup>, Ирина Сергеевна Булавина<sup>8</sup>,  
Олег Александрович Глазков<sup>9</sup>, Вера Андреевна Горбунова<sup>10</sup>,  
Ирина Сергеевна Давиденко<sup>11</sup>, Михаил Валерьевич Копп<sup>12</sup>,  
Георгий Моисеевич Манихас<sup>13</sup>, Анатолий Нахимович Махсон<sup>14</sup>,  
Дмитрий Александрович Носов<sup>15</sup>, Наталья Николаевна Петенко<sup>16</sup>,  
Игорь Вячеславович Самойленко<sup>17</sup>, Дмитрий Викторович Соколов<sup>18</sup>,  
Сомасунгарам Субраманиан<sup>19</sup>, Юрий Иванович Тюкалов<sup>20</sup>,  
Сергей Алесеевич Тюляндин<sup>21</sup>, Рустем Шамильевич Хасанов<sup>22</sup>

### АДЪЮВАНТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕЛАНОМЫ КОЖИ: РОССИЙСКИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ, ОСНОВАННЫЕ НА ПРИНЦИПАХ ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И МНЕНИИ ЭКСПЕРТОВ

- <sup>1</sup> Профессор, г. м. н., заведующий, отделение биотерапии опухолей НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>2</sup> Чл.-корр. РАМН, профессор, г. м. н., заведующая, кафедра онкологии ГОУ ДПО РМАПО (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>3</sup> К. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение биотерапии опухолей, НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>4</sup> К. м. н., старший научный сотрудник, отделение химиотерапии и комбинированных методов лечения НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>5</sup> Д. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение торакальной онкологии НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова (197758, РФ, г. Санкт-Петербург, Песочный-2, ул. Ленинградская, г. 68)
- <sup>6</sup> Профессор, г. м. н., заведующая, отделение химиотерапии, ФГУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена Минздравсоцразвития России (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский пр., г. 3)
- <sup>7</sup> Профессор, г. м. н., главный химиотерапевт г. Москвы, Московский городской клинический онкологический диспансер (105005, РФ, г. Москва, ул. Бауманская, г. 17/1)
- <sup>8</sup> К. м. н., заведующая, химиотерапевтическое отделение Свердловский областной клинический онкологический диспансер (620036, РФ, г. Екатеринбург, ул. Соболева, г. 29)
- <sup>9</sup> Д. м. н., заведующий, химиотерапевтическое отделение, Челябинский областной клинический диспансер (454087, РФ, г. Челябинск, ул. Блюхера, г. 42)
- <sup>10</sup> Профессор, г. м. н., заведующая, отделение химиотерапии НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>11</sup> К. м. н., заведующая, отделение химиотерапии, Краснодарский краевой клинический онкологический диспансер (350040, РФ, г. Краснодар, ул. Димитрова, г. 146)
- <sup>12</sup> Профессор, г. м. н., заведующий, отделение химиотерапии № 1, Самарский областной клинический онкологический диспансер (443031, РФ, г. Самара, ул. Солнечная, г. 50)
- <sup>13</sup> Профессор, г. м. н., главный врач, Санкт-Петербургский городской клинический онкологический диспансер (197022, РФ, г. Санкт-Петербург, 2-я Березовая аллея, г. 3/5)
- <sup>14</sup> Профессор, г. м. н., главный онколог г. Москвы, главный врач, Московская городская онкологическая больница № 62 (143423, РФ, Московская обл., Красногорский р-н, п/о Степановское)

- <sup>15</sup> К. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение клинической фармакологии НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>16</sup> Врач, отделение биотерапии опухолей НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>17</sup> Врач, отделение биотерапии опухолей НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>18</sup> Д. м. н., заведующий, кабинет дерматоскопии и фотодинамической терапии, Московская городская онкологическая больница № 62 (143423, РФ, Московская обл., Красногорский р-н, п/о Степановское)
- <sup>19</sup> Старший научный сотрудник, отделение биотерапии опухолей НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>20</sup> К. м. н., главный врач НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, г. 5)
- <sup>21</sup> Профессор, г. м. н., заведующий, отделение клинической фармакологии, заместитель директора по научной работе, НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>22</sup> 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)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, отделение биотерапии опухолей, Демидов Лев Вадимович; e-mail: demidov.lev@gmail.com

## ВВЕДЕНИЕ

У российских онкологов до настоящего времени нет единого взгляда на роль адьювантной терапии меланомы кожи (МК) с неблагоприятным прогнозом. Мнения варьируют от полного отрицания этого метода лечения до неоправданного назначения полихимиотерапии пациентам с низким риском прогрессирования заболевания, перенесшим радикальные хирургические вмешательства. В действующих регулирующих документах, в частности в приказе Минздравсоцразвития РФ № 828 от 06.12.2006 и методических указаниях Минздрава РФ от 16.07.2001 [1; 2], отсутствуют подробные научнообоснованные рекомендации по проведению адьювантной терапии МК, а имеющиеся сведения зачастую не могут быть правильно интерпретированы практическими врачами. Между тем проблема адьювантной терапии МК в России в последнее время стала особенно острой, поскольку на момент установления диагноза в группе пациентов с локально-регионарными стадиями преобладают больные с высоким риском прогрессирования болезни после удаления первичной опухоли и/или метастазов в регионарных лимфоузлах.

В связи с этим Российский экспертный совет по меланоме, созданный при поддержке Международного комитета Всемирной специальной комиссии по изучению меланомы (GMTF — Global Melanoma Task Force) и Евразийской федерации онкологии (EAFO — Eurasian

Federation of Oncology), на основании результатов международных исследований и мнения экспертов разработал российские рекомендации по адьювантному лечению МК, адресованные как практическим врачам-онкологам, так и организаторам здравоохранения. Настоящие рекомендации были приняты на заседании Российского экспертного совета по меланоме 25 мая 2011 г. после согласования со всеми специалистами, приглашенными для их разработки. *Данный документ носит характер рекомендаций профессионального сообщества и дополняет действующие федеральные и региональные законодательные акты, регламентирующие оказание медицинской помощи онкологическим больным.*

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДЬЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

На сегодняшний день показано, что существует эффективное адьювантное лечение МК препаратами рекомбинантного интерферона  $\alpha$ -2a и  $\alpha$ -2b (ИФН  $\alpha$ ). Результаты последнего метаанализа 14 международных рандомизированных исследований, проведенного в 2009 г., продемонстрировали снижение относительного риска смерти на 11% (95% доверительный интервал (ДИ) 0,83—0,96;  $p = 0,002$ ), а относительного риска прогрессирования заболевания на 18% (95% ДИ 0,77—0,87;  $p < 0,001$ ) при применении препаратов ИФН  $\alpha$  по сравнению с другими методами лечения и наблюдением [3].

Результаты нескольких крупных проспективных рандомизированных исследований свидетельствуют о том, что использование рекомбинантного ИФН  $\alpha$  приводит к статистически значимому увеличению медианы безрецидивного периода у больных МК II—III стадий на 9—11 мес [4; 5]. Увеличение 5-летней безрецидивной выживаемости на фоне терапии ИФН  $\alpha$  по сравнению с наблюдением составляет 9—11% [5—7].

© Демидов Л. В., Поддубная И. В., Харкевич Г. Ю., Абрамов М. Е., Анисимов В. В., Болотина Л. В., Борисов В. И., Булавина И. С., Гладков О. А., Горбунова В. А., Давиденко И. С., Кош М. В., Манихас Г. М., Махсон А. Н., Носов Д. А., Петенко Н. Н., Самойленко И. В., Соколов Д. В., Субраманиан С., Тюкалов Ю. И., Тюлядин С. А., Хасанов Р. Ш., 2011  
УДК 615.5-006.81-082:615.277.3.03

В отличие от безрецидивной выживаемости влияние рекомбинантного ИФН  $\alpha$  на общую выживаемость больных менее очевидно и подтверждено данными только двух исследований и одного метаанализа [4; 8; 9], что является основным предметом продолжающихся дискуссий. Между тем целый ряд международных экспертов согласны с тем, что если эффективных методов лечения диссеминированных форм той или иной злокачественной опухоли нет, то увеличение времени до появления метастазов следует рассматривать как успех профилактического лечения. Подробнее рекомендуемые режимы назначения ИФН  $\alpha$  представлены ниже. *В рутинной практике (вне рамок клинических исследований) в адьювантном режиме не следует назначать никакие другие препараты, кроме препаратов ИФН  $\alpha$ .*

Учитывая вышеизложенное, лечение ИФН  $\alpha$  является единственным вариантом адьювантной терапии, доказавшим свою эффективность в клинических исследованиях. Необходимо информировать пациентов о его преимуществах и потенциальных побочных эффектах. При невозможности назначения ИФН  $\alpha$  (наличие противопоказаний, непереносимость, отказ пациента и др.) следует проводить динамическое наблюдение или предлагать участие в клинических исследованиях, если таковые имеются.

#### ПОКАЗАНИЯ К АДЬЮВАНТНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

Целью адьювантного лечения является снижение риска прогрессирования заболевания и смерти от него. На сегодняшний день риск наступления этих событий чаще всего оценивают с помощью классификации TNM (AJCC/UICC, 6-е издание, 2002 г.)<sup>1</sup> [10; 11], которая включает в себя основные прогностические факторы при МК (табл. 1).

Адьювантное лечение препаратами ИФН  $\alpha$  следует назначать больным МК с промежуточным и высоким риском прогрессирования заболевания. Согласно мнению экспертов, основанному на данных клинических исследований, адьювантное лечение после радикальных хирургических вмешательств следует предлагать пациентам МК IIВ—III стадий, т. е. при толщине опухоли по Бреслоу 2,01—4,0 мм с изъязвлением поверхности (Т3b), или при толщине опухоли по Бреслоу 4,01 мм и более независимо от наличия изъязвления (Т4а—4b), или при поражении регионарных лимфоузлов (согласно классификации AJCC/UICC) (см. Приложение 1).

При определении стадии болезни особое внимание следует уделять *морфологическим характеристикам*. Для назначения лечения абсолютно необходимо знать такие характеристики первичной опухоли, как толщина опухоли по Бреслоу и наличие или отсутствие изъязвления, а при поражении регионарных лимфоузлов — их количество и соотношение опухоли с капсулой лимфоузла. Эксперты сходятся во мнении о том, что все перечисленные характеристики должны быть обязательно указаны в гистологическом заключении.

Адьювантное лечение пациентов, радикально оперированных по поводу отдаленных метастазов МК, в насто-

ящее время не разработано. Таким пациентам показано динамическое наблюдение. Им можно предлагать также участие в клинических исследованиях, если таковые имеются.

#### КОМУ НЕ ПОКАЗАНА АДЬЮВАНТНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ?

Не рекомендуется проводить адьювантную терапию ИФН  $\alpha$  больным МК с благоприятным прогнозом, имеющим низкий риск прогрессирования заболевания (IA, IB, IIA стадии). Поскольку иммунотерапия ИФН  $\alpha$  сопряжена с известным риском нежелательных явлений, следует особо выделить группу пациентов, которым она противопоказана. Перед назначением ИФН  $\alpha$  врач должен убедиться, что польза от лечения будет превышать потенциальный риск, связанный с его проведением. Проанализировав данные литературы, эксперты пришли к выводу, что риск назначения ИФН  $\alpha$  превосходит пользу в следующих случаях (возможны и другие клинические ситуации) [13—16]:

- тяжелая депрессия;
- цирроз печени любой этиологии;
- аутоиммунные болезни<sup>2</sup>;
- выраженная (3—4 ст. по классификации STCAE 3.0 [17]) недостаточность функции отдельных органов (сердечная, печеночная, почечная и др.);
- беременность или планируемая беременность;
- псориаз;
- неспособность пациента выполнять назначения врача.

В связи с этим перед назначением адьювантной иммунотерапии эксперты рекомендуют исключить наличие у пациентов перечисленных состояний, при необходимости проконсультировав их у врачей соответствующих специальностей (терапевта, психиатра, дерматолога и т. д.). Следует также учитывать противопоказания к назначению препаратов ИФН  $\alpha$ , указанные производителем в инструкции по применению.

Данные о безопасности и об эффективности адьювантной терапии ИФН  $\alpha$  при МК у лиц моложе 18 лет ограничены единичными наблюдениями, поэтому эксперты не рекомендуют назначать ИФН  $\alpha$  данной категории больных.

#### РЕКОМЕНДУЕМЫЕ СРОКИ НАЧАЛА И ЗАВЕРШЕНИЯ ЛЕЧЕНИЯ

В большинстве клинических исследований адьювантную терапию начинали в течение 2 мес после хирургического лечения [4; 8; 14; 18]. В связи с этим эксперты рекомендуют начинать адьювантную иммунотерапию не позднее 9 нед после хирургического вмешательства, после полного заживления послеоперационной раны. Эксперты не рекомендуют начинать адьювантное лечение, если после операции прошло более 9 нед.

При удовлетворительной переносимости адьювантной терапии ее максимальная целесообразная длительность составляет 12 мес. В настоящее время у экспертов нет оснований полагать, что более длительное лечение приведет к улучшению клинических результатов [19].

<sup>1</sup> Здесь и далее в документе упоминается 6-е издание классификации TNM AJCC/UICC. Седьмое издание этой классификации на территории РФ пока не принято.

<sup>2</sup> За исключением случаев аутоиммунного тиреоидита с исходом в первичный гипотиреоз и полной лекарственной компенсацией. Если на фоне лечения ИФН  $\alpha$  не удается добиться компенсации функции щитовидной железы, его следует отменить.

Таблица 1. Общая выживаемость больных МК в зависимости от стадии заболевания (17 600 больных) [12]

Риск	Стадия	TNM	Толщина, мм	Изъязвление	Количество пораженных лимфоузлов	Характер поражения лимфоузлов	Отдаленные метастазы	Число больных	Выживаемость ± стандартное отклонение, %			
									1-летняя	2-летняя	5-летняя	10-летняя
Низкий	IA	T1a	≤1	Нет	0	Нет	Нет	4510	99,7 ± 0,1	99,0 ± 0,2	95,3 ± 0,4	87,9 ± 1,0
		T1b	≤1	Есть, либо уровень по Кларку IV или V	0	Нет	Нет	1380	99,8 ± 0,1	98,7 ± 0,3	90,9 ± 1,0	83,1 ± 1,5
	IIA	T2a	1,01—2,0	Нет	0	Нет	Нет	3285	99,5 ± 0,1	97,3 ± 0,3	89,0 ± 0,7	79,2 ± 1,1
		T2b	1,01—2,0	Есть	0	Нет	Нет	958	98,2 ± 0,5	92,9 ± 0,9	77,4 ± 1,7	64,4 ± 2,2
	IIB	T3a	2,01—4,0	Нет	0	Нет	Нет	1717	98,7 ± 0,3	94,3 ± 0,6	78,7 ± 1,2	63,8 ± 1,7
		T3b	2,01—4,0	Есть	0	Нет	Нет	1523	95,1 ± 0,6	84,8 ± 1,0	63,0 ± 1,5	50,8 ± 1,7
Промежуточный	T4a	≥ 4,01	Нет	0	Нет	Нет	563	94,8 ± 1,0	88,6 ± 1,5	67,4 ± 2,4	53,9 ± 3,3	
Высокий	T4b	≥ 4,01	Есть	0	Нет	Нет	978	89,9 ± 1,0	70,7 ± 1,6	45,1 ± 1,9	32,3 ± 2,1	
	IIIA	N1a	Любая	Нет	1	Микрометастаз	Нет	252	95,9 ± 1,3	88,0 ± 2,3	69,5 ± 3,7	63,0 ± 4,4
N2a		Любая	Нет	2—3	Микрометастаз	Нет	130	93,0 ± 2,4	82,7 ± 3,8	63,3 ± 5,6	56,9 ± 6,8	
Высокий	IIIB	N1a	Любая	Есть	1	Микрометастаз	Нет	217	93,3 ± 1,8	75,0 ± 3,2	52,8 ± 4,1	37,8 ± 4,8
		N2a	Любая	Есть	2—3	Микрометастаз	Нет	111	92,0 ± 2,7	81,0 ± 4,1	49,6 ± 5,7	35,9 ± 7,2
	N1b	Любая	Нет	1	Макрометастаз	Нет	122	88,5 ± 2,9	78,5 ± 3,7	59,0 ± 4,8	47,7 ± 5,8	
	N2b	Любая	Нет	2—3	Макрометастаз	Нет	93	76,8 ± 4,4	65,6 ± 5,0	46,3 ± 5,5	39,2 ± 5,8	
	N1b	Любая	Есть	1	Макрометастаз	Нет	98	77,9 ± 4,3	54,2 ± 5,2	29,0 ± 5,1	24,4 ± 5,3	
	N2b	Любая	Есть	2—3	Макрометастаз	Нет	109	74,3 ± 4,3	44,1 ± 4,9	24,0 ± 4,4	15,0 ± 3,9	
Сверхвысокий	N3	Любая	Любое	Любое	> 3	Микро- / макрометастаз	Нет	396	71,0 ± 2,4	49,8 ± 2,7	26,7 ± 2,5	18,4 ± 2,5
	M1a	Любая	Любое	Любое	Любое	Любой	Кожа, лимфоузлы, мягкие ткани	179	59,3 ± 3,7	36,7 ± 3,6	18,8 ± 3,0	15,7 ± 2,9
	M1b	Любая	Любое	Любое	Любое	Любой	Легкие	186	57,0 ± 3,7	23,1 ± 3,2	6,7 ± 2,0	2,5 ± 1,5
	M1c	Любая	Любое	Любое	Любое	Любой	Другие внутренние органы	793	40,6 ± 1,8	23,6 ± 1,5	9,5 ± 1,1	6,0 ± 0,9

## РЕКОМЕНДУЕМЫЕ РЕЖИМЫ АДЪЮВАНТНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

В рандомизированных исследованиях продемонстрировано улучшение безрецидивной и общей выживаемости больных МК при использовании двух режимов адъювантной терапии ИФН  $\alpha$ . С учетом имеющихся доказательств и мнения экспертов Российский экспертный совет по меланоме рекомендует в рутинной практике (вне рамок клинических исследований) использовать режимы адъювантного лечения МК, приведенные в табл. 2. Эти режимы уже были рекомендованы в специальной литературе в России [21]. Поскольку данные об эффективности других режимов назначения ИФН  $\alpha$  отсутствуют, в рутинной практике их использовать не следует.

В настоящее время доказательства преимуществ высоких доз ИФН  $\alpha$  перед низкими, полученные в результате их непосредственного сравнения, отсутствуют [5; 22]. Тем не менее у больных МК высокого риска прогрессирования статистически значимое увеличение безрецидивной и общей выживаемости продемонстрировал только высокодозный режим [3; 8]. У больных МК промежуточного риска прогрессирования препараты ИФН  $\alpha$  в низких дозах статистически значимо увеличивали безрецидивную выживаемость [18; 23]. В одном из исследований было продемонстрировано также увеличение общей выживаемости при применении ИФН  $\alpha$  в низких дозах [24].

На основании этих данных эксперты рекомендуют выбирать режим адъювантной терапии (высокие или низкие дозы) с учетом риска прогрессирования заболевания: у пациентов с высоким риском прогрессирования (ИС, ИВ и ИС стадии) следует применять высокодозный режим, а у пациентов с промежуточным риском прогрессирования (ИВ и ИА стадия) — низкодозный. При принятии решения следует учитывать также мнение пациента и доступность препаратов ИФН  $\alpha$  для проведения лечения.

*Эксперты подчеркивают, что в рандомизированных исследованиях не было показано преимуществ прерывистых режимов назначения ИФН  $\alpha$ , поэтому их не следует использовать в рутинной практике* [13; 25].

## ВЫБОР ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ АДЪЮВАНТНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

При выборе препарата рекомбинантного ИФН  $\alpha$  следует руководствоваться инструкцией по его применению и способом введения, зарегистрированным на территории РФ. Практически все препараты ИФН  $\alpha$  разрешены для подкожного введения, и у экспертов нет оснований высказывать предпочтения тому или иному препарату, зарегистрированному для применения при МК. Для внутривенного введения на территории РФ зарегистрирова-

но лишь несколько препаратов, среди которых в международных исследованиях изучался только Интрон А® («Merk & Co, Inc.»).

Особое внимание эксперты обращают на недопустимость применения индукторов эндогенных интерферонов вместо препаратов рекомбинантного ИФН  $\alpha$ . Научных данных о клинической эффективности и безопасности назначения индукторов эндогенных интерферонов в адъювантном режиме при МК до сих пор нет. Эксперты также обращают внимание на недопустимость использования других интерферонов ( $\beta$  и  $\gamma$ ) в качестве альтернативы ИФН  $\alpha$  при проведении адъювантного лечения МК. Имеющиеся на сегодняшний день данные клинических исследований свидетельствуют об отсутствии эффективности интерферона  $\gamma$  в рамках адъювантной терапии МК [26].

## МЕСТО ХИМИОТЕРАПИИ В АДЪЮВАНТНОМ ЛЕЧЕНИИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

По данным многочисленных международных исследований, адъювантная химиотерапия после радикального хирургического лечения МК IIВ—III стадий не приносит пользы [24; 27—33]. *На основании этого эксперты не рекомендуют использовать химиотерапию для адъювантного лечения МК в рутинной практике.*

## ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ И СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АДЪЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ ИНТЕРФЕРОНОМ А В ВЫСОКИХ ДОЗАХ

Профиль токсичности ИФН  $\alpha$  хорошо изучен. Он включает общие реакции, в том числе гриппоподобный синдром, гематологическую токсичность, реакции со стороны желудочно-кишечного тракта, опорно-двигательного аппарата, депрессию, дерматологические реакции и др. Частота и тяжесть побочных эффектов зависят от дозы препарата, длительности лечения, индивидуальной переносимости, сопутствующих заболеваний и др.

По данным различных исследований, при использовании высокодозного режима адъювантной терапии необходимость снижения дозы возникала у 28—52% больных, 10—26% пациентов прекращали лечение в связи с токсичностью [4; 5; 8]. При назначении низкодозного режима лечение прекращали приблизительно 13—15% больных [19; 22—24; 34].

Опыт проведения адъювантной терапии ИФН  $\alpha$  в высоких дозах позволил разработать рекомендации по ведению пациентов и редукции доз ИФН  $\alpha$ . Основные проявления токсичности и рекомендуемые методы коррекции доз ИФН  $\alpha$  приведены в Приложении 2.

Рекомендации по редукции доз ИФН  $\alpha$  при использовании низкодозного режима не разработаны. При

**Таблица 2. Рекомендуемые режимы адъювантной терапии ИФН  $\alpha$  при МК**

Режим	Индукционная фаза	Поддерживающая фаза	Ссылка
Высокие дозы	Интерферон $\alpha$ -2b, 20 млн ед/м <sup>2</sup> в/в в 1—5-й дни в течение 4 нед	Интерферон $\alpha$ -2b, 10 млн ед/м <sup>2</sup> п/к 3 раза в неделю в течение 11 мес	[4; 8]
Низкие дозы	Интерферон $\alpha$ -2a или $\alpha$ -2b, 3—5 млн ед п/к 3 раза в неделю в течение 12 мес		[18; 20]

повторных эпизодах негематологической токсичности 3—4 ст. (в особенности депрессии) и гематологической токсичности 4 ст. (СТСАЕ 3.0), которые не разрешаются в течение 2 нед после отмены препарата, представляется целесообразным прекращение адъювантной терапии ИФН  $\alpha$  в низких дозах.

### КОНТРОЛЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА

В настоящее время убедительных данных о том, что контроль показателей иммунитета может предсказать эффект адъювантного лечения МК, нет. Результаты таких исследований, если они были проведены, не следует принимать во внимание при назначении или отмене адъювантной иммунотерапии.

### ЛИТЕРАТУРА

- Об утверждении стандарта медицинской помощи больным со злокачественной меланомой кожи (при оказании специализированной помощи) [Электронный ресурс] / Приказ Минздравсоцразвития РФ № 828 от 06.12.2006. — URL: <http://law7.ru/legal2/se/10/pravo10986/index.htm> (дата обращения: 10.05.2011).
- Алгоритмы объемов диагностики и лечения злокачественных новообразований: Методические указания / Старинский В. В., Попова А. А., Ковалев Б. Н., Зотов В. К. — М.: МНИОИ им. П. А. Герцена, 2002. — С. 735—742.
- Interferon alpha adjuvant therapy in patients with high-risk melanoma: a systematic review and meta-analysis / Mocellin S., Pasquali S., Rossi C. R., Nitti D. // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2010. — Vol. 102, N 7. — P. 493—501.
- Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684 / Kirkwood J. M., Strawderman M. H., Ernstoff M. S., Smith T. J., Borden E. C., Blum R. H. // *J. Clin. Oncol.* — 1996. — Vol. 14, N 1. — Vol. 7—17.
- High- and low-dose interferon alfa-2b in high-risk melanoma: final analysis of intergroup trial E1690/S9111/C9190 / Kirkwood J. M., Ibrahim J. G., Sondak V. K., Richards J., Flaherty L. E., Ernstoff M. S., Smith T. J., Rao U., Steele M., Blum R. H. // *J. Clin. Oncol.* — 2000. — Vol. 18, N 12. — P. 2444—2458.
- A pooled analysis of eastern cooperative oncology group and intergroup trials of adjuvant high-dose interferon for melanoma / Kirkwood J. M., Manola J., Ibrahim J., Sondak V., Ernstoff M. S., Rao U. // *Clin. Cancer Res.* — 2004. — Vol. 10, N 5. — P. 1670—1677.
- Systemic Adjuvant Therapy for Patients at High Risk for Recurrent Melanoma: Updated Guideline Recommendations 2009 [Электронный ресурс] / Petrella T., Verma S., Spithoff K., Quirt I., McCreedy D. // *Evidence-based Series.* — 2009. — N 8-1, version 3.2009. — URL: <http://www.cancerca.on.ca/toolbox/qualityguidelines/diseasesite/melanoma-ebs/> (дата обращения: 10.05.2011).
- High-dose interferon alfa-2b significantly prolongs relapse-free and overall survival compared with the GM2-KLH/QS-21 vaccine in patients with resected stage IIB-III melanoma: results of intergroup trial E1694/S9512/C509801 / Kirkwood J. M., Ibrahim J. G., Sosman J. A., Sondak V. K., Agarwala S. S., Ernstoff M. S., Rao U. // *J. Clin. Oncol.* — 2001. — Vol. 19, N 9. — P. 2370—2380.
- Interferon- $\alpha$  as adjuvant therapy for melanoma: An individual patient data meta-analysis of randomised trials // Wheatley K., Ives N., Eggermont A., Kirkwood J., Cascinelli N., Markovic S. N., Hancock B., Lee S., Suci S. on behalf of International Malignant Melanoma Collaborative Group // *ASCO Meeting Abstracts.* — 2007. — Vol. 25, N 18 (suppl). — Abs. 8526.
- AJCC cancer staging manual / Greene F. L., Page D. L., Fleming I. D., Fritz A. G., Balch C. M., Haller D. G., Morrow M. (eds.). — 6th ed. — Chicago: Springer; 2002. — P. 209—220.
- Sobin L. H., Wittekind C. (eds.). UICC TNM Classification of Malignant Tumors. — 6th ed. — New York: John Wiley & Sons, 2002.
- Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system / Balch C. M., Soong S. J., Gershenwald J. E., Thompson J. F., Reintgen D. S., Cascinelli N., Urist M., McMasters K. M., Ross M. I.,

Kirkwood J. M., Atkins M. B., Thompson J. A., Coit D. G., Byrd D., Desmond R., Zhang Y., Liu P. Y., Lyman G. H., Morabito A. // *J. Clin. Oncol.* — 2001. — Vol. 19, N 16. — P. 3622—3634.

13. Tolerability of intensified intravenous interferon alfa-2b versus the ECOG 1684 schedule as adjuvant therapy for stage III melanoma: a randomized phase III Italian Melanoma Inter-group trial (IMI - Mel.A.) [ISRCTN75125874] [Электронный ресурс] / Chiarion-Sileni V., Del Bianco P., Romanini A., Guida M., Paccagnella A., Dalla Palma M., Naglieri E., Ridolfi R., Silvestri B., Michiara M., De Salvo G. L. // *BMC Cancer.* — 2006. — Vol. 6. — P. 44. — URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/6/44> (дата обращения: 10.05.2011).

14. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation alone in resected stage III melanoma: final results of EORTC 18991, a randomised phase III trial / Eggermont A. M., Suci S., Santinami M., Testori A., Kruit W. H., Marsden J., Punt C. J., Sales F., Gore M., Mackie R., Kusic Z., Dummer R., Hauschild A., Musat E., Spatz A., Keilholz U. // *Lancet.* — 2008. — Vol. 372, N 9633. — P. 117—126.

15. Tolerability of adjuvant high-dose interferon alfa-2b: 1 month versus 1 year — a Hellenic Cooperative Oncology Group study / Gogas H., Bafaloukos D., Ioannovich J., Skarlos D., Polyzos A., Fountzilas G., Kalofonos H. P., Aravantinos G., Tsoutsos D., Panagiotou P., Frangia K., Petrakopoulou T., Pectasides D. // *Anticancer Res.* — 2004. — Vol. 24, N 3b. — P. 1947—1952.

16. Practical guidelines for the management of interferon- $\alpha$ -2b side effects in patients receiving adjuvant treatment for melanoma: expert opinion / Hauschild A., Gogas H., Tarhini A., Middleton M. R., Testori A., Dreno B., Kirkwood J. M. — *Cancer.* — 2008. — Vol. 112, N 5. — P. 982—994.

17. CTCAE v3.0: development of a comprehensive grading system for the adverse effects of cancer treatment / Trotti A., Colevas A. D., Setzer A., Rusch V., Jaques D., Budach V., Langer C., Murphy B., Cumberlin R., Coleman C. N., Rubin P. // *Semin. Radiat. Oncol.* — 2003. — Vol. 13, N 3. — P. 176—181.

18. Randomised trial of interferon alpha-2a as adjuvant therapy in resected primary melanoma thicker than 1.5 mm without clinically detectable node metastases. French Cooperative Group on Melanoma / Grob J. J., Dreno B., de la Salmoniere P., Delaunay M., Cupissol D., Guillot B., Souteyrand P., Sassolas B., Cesarini J. P., Lionnet S., Lok C., Chastang C., Bonerandi J. J. // *Lancet.* — 1998. — Vol. 351, N 9120. — P. 1905—1910.

19. Adjuvant interferon in high-risk melanoma: the AIM HIGH Study — United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research randomized study of adjuvant low-dose extended-duration interferon Alfa-2a in high-risk resected malignant melanoma / Hancock B. W., Wheatley K., Harris S., Ives N., Harrison G., Horsman J. M., Middleton M. R., Thatcher N., Lorigan P. C., Marsden J. R., Burrows L., Gore M. // *J. Clin. Oncol.* — 2004. — Vol. 22, N 1. — P. 53—61.

20. Post-surgery adjuvant therapy with intermediate doses of interferon alfa 2b versus observation in patients with stage IIb/III melanoma (EORTC 18952): randomised controlled trial / Eggermont A. M., Suci S., MacKie R., Ruka W., Testori A., Kruit W., Punt C. J., Delaunay M., Sales F., Groenewegen G., Ruiter D. J., Jagiello I., Stoitchkov K., Keilholz U., Lienard D. // *Lancet.* — 2005. — Vol. 366, N 9492. — P. 1189—1196.

21. Чиссов В. И., Давыдов М. И. (ред.). Онкология. Национальное руководство. — М.: ГЭОТАР, 2008. — С. 1002—1005.

22. Prospective randomized multicenter adjuvant dermatologic cooperative oncology group trial of low-dose interferon alfa-2b with or without a modified high-dose interferon alfa-2b induction phase in patients with lymph node-negative melanoma / Hauschild A., Weichenthal M., Rass K., Linse R., Ulrich J., Stadler R., Volkenandt M., Grabbe S., Proskue U., Schadendorf D., Mohr P., Kaatz M., Tronnier M., Hein R., Schuler G., Egberts F., Garbe C. // *J. Clin. Oncol.* — 2009. — Vol. 27, N 21. — P. 3496—3502.

23. Adjuvant interferon alfa-2a treatment in resected primary stage II cutaneous melanoma. Austrian Malignant Melanoma Cooperative Group / Pehamberger H., Soyer H. P., Steiner A., Kofler R., Binder M., Mischer P., Pachinger W., Aubeck J., Fritsch P., Kerl H., Wolff K. // *J. Clin. Oncol.* — 1998. — Vol. 16, N 4. — P. 1425—1429.

24. Adjuvant low-dose interferon  $\alpha$ 2a with or without dacarbazine compared with surgery alone: a prospective-randomized phase III DeCOG trial in melanoma patients with regional lymph node metastasis / Garbe C., Radny P., Linse R., Dummer R., Gutzmer R., Ulrich J.,



Stadler R., Weichenthal M., Eigentler T., Ellwanger U., Hauschild A. // Ann. Oncol. — 2008. — Vol. 19, N 6. — P. 1195—1201.

25. Intermittent high-dose intravenous interferon alpha 2b (IF-Na2b) for adjuvant treatment of stage III malignant melanoma: An interim analysis of a randomized phase III study (NCT00226408) / Mohr P., Hauschild A., Enk A., Trefzer U., Rass K., Grabbe S., Brockmeyer N. H., Koller J., Gogas H., Weichenthal M. // J. Clin. Oncol. — 2008. — Vol. 26 (suppl.). — Abs. 9040.

26. Final results of the EORTC 18871/DKG 80-1 randomised phase III trial. rIFN-alpha 2b versus rIFN-gamma versus ISCADOR M versus observation after surgery in melanoma patients with either high-risk primary (thickness >3 mm) or regional lymph node metastasis / Kleeberg U. R., Suci S., Brocker E. B., Ruitter D. J., Chartier C., Lienard D., Marsden J., Schadendorf D., Eggemont A. M. // Eur. J. Cancer. — 2004. — Vol. 40, N 3. — P. 390—402.

27. A randomized trial of adjuvant chemotherapy and immunotherapy in cutaneous melanoma / Veronesi U., Adamus J., Aubert C., Bajetta E., Beretta G., Bonadonna G., Bufalino R., Cascinelli N., Cocconi G., Durand J., De Marsillac J., Ikonopisov R. L., Kiss B., Lejeune F., MacKie R., Madej G., Mulder H., Mechl Z., Milton G. W., Morabito A., Peter H., Priario J., Paul E., Rumke P., Sertoli R., Tomin R. // N. Engl. J. Med. — 1982. — Vol. 307, N 15. — P. 913—916.

28. Ineffectiveness of adjuvant chemotherapy using DTIC and cyclophosphamide in patients with resectable metastatic melanoma / Balch C. M., Murray D., Presant C., Bartolucci A. A. // Surgery. — 1984. — Vol. 95, N 4. — P. 454—459.

29. Lack of benefit of adjunctive chemotherapy in stage I malignant melanoma: a Southwest Oncology Group Study / Tranum B. L., Dixon D.,

Quagliana J., Neidhart J., Balcerzak S. P., Costanzi J. H., Fabian C. J., Neilan B., Maloney T., O'Bryan R. M. // Cancer Treat. Rep. — 1987. — Vol. 71, N 6. — P. 643—644.

30. Adjuvant chemotherapy in malignant melanoma using dacarbazine, carmustine, cisplatin, and tamoxifen: a University of South Florida and H. Lee Moffitt Melanoma Center Study / Saba H. I., Cruse C. W., Wells K. E., Klein C. J., Reintgen D. S. // Ann. Plast. Surg. — 1992. — Vol. 28, N 1. — P. 60—64.

31. Stables G. I., Doherty V. R., MacKie R. M. Nine years' experience of BELD combination chemotherapy (bleomycin, vindesine, CCNU and DTIC) for metastatic melanoma // Br. J. Dermatol. — 1992. — Vol. 127, N 5. — P. 505—508.

32. Karakousis C., Blumenson L. Adjuvant chemotherapy with a nitrosourea-based protocol in advanced malignant melanoma // Eur. J. Cancer. — 1993. — Vol. 29A, N 13. — P. 1831—1835.

33. Adjuvant chemotherapy with dacarbazine, vindesine, and cisplatin in pathological stage II malignant melanoma / Pectasides D., Alevizakos N., Bafaloukos D., Tzonou A., Asimakopoulos G., Varthalitis I., Dimitriadis M., Athanassiou A. // Am. J. Clin. Oncol. — 1994. — Vol. 17, N 1. — P. 55—59.

34. Efficacy of low-dose interferon alpha2a 18 versus 60 months of treatment in patients with primary melanoma of ≥1.5 mm tumor thickness: results of a randomized phase III DeCOG trial / Hauschild A., Weichenthal M., Rass K., Linse R., Berking C., Bottjer J., Vogt T., Spieth K., Eigentler T., Brockmeyer N. H., Vogt T., Rompel R., Kaufmann R., Kaatz M., Naher H., Mohr P., Eigentler T., Livingstone E., Garbe C. // J. Clin. Oncol. — 2010. — Vol. 28, N 5. — P. 841—846.

**Приложение 1. Рекомендации по адъювантному лечению МК Российского экспертного совета по меланоме**

Стадия	TNM	Риск	Рекомендуемое адъювантное лечение <sup>а,б</sup>
IA	T1a	Низкий	Адъювантное лечение не рекомендуется в связи с возможностью нежелательных явлений
IB	T1b		
IIA	T2a		
	T2b		
	T3a		
IIB	T3b	Промежуточный	<b>А.</b> ИФН α, 3—5 млн ед/п/к 3 раза в неделю в течение 12 мес. <b>Б.</b> ИФН α, 20 млн ед/м <sup>2</sup> в/в в 1—5-й дни в течение 4 нед, далее 10 млн ед/м <sup>2</sup> п/к 3 раза в неделю в течение 11 мес
	T4a		
IIC	T4b	Высокий	<b>А.</b> ИФН α, 20 млн ед/м <sup>2</sup> в/в в 1—5-й дни в течение 4 нед, далее 10 млн ед/м <sup>2</sup> п/к 3 раза в неделю в течение 11 мес. <b>Б.</b> ИФН α, 3—5 млн ед/п/к 3 раза в неделю в течение 12 мес
IIIA	N1a—2a при T1—4a	Промежуточный	<b>А.</b> ИФН α, 3—5 млн ед/п/к 3 раза в неделю в течение 12 мес. <b>Б.</b> ИФН α, 20 млн ед/м <sup>2</sup> в/в в 1—5-й дни в течение 4 нед, далее 10 млн ед/м <sup>2</sup> п/к 3 раза в неделю в течение 11 мес
IIIB	N1a—2a при T1—4b	Высокий	<b>А.</b> ИФН α, 20 млн ед/м <sup>2</sup> в/в в 1—5-й дни в течение 4 нед, далее 10 млн ед/м <sup>2</sup> п/к 3 раза в неделю в течение 11 мес. <b>Б.</b> ИФН α, 3—5 млн ед/п/к 3 раза в неделю в течение 12 мес
	N1b—2b при T1—4a		
IIIC	N1b—2b при T1—4b		
	N3		
IV	M1a—1c	Сверхвысокий	Эффективность адъювантного лечения не доказана

<sup>а</sup> Режимы (А и Б) упоминаются в порядке, отражающем их клиническую значимость для данной группы пациентов. Всегда следует выбирать режим А. При невозможности проведения режима А, допускается его замена режимом Б.

<sup>б</sup> Пациентам всех групп следует предлагать участие в клинических исследованиях при наличии таковых в данном лечебном учреждении.

**Приложение 2. Рекомендации по коррекции доз при лечении ИФН  $\alpha$  в высоких дозах [16]**

Нежелательные явления	Первая редукция дозы	Вторая редукция дозы	Прекращение лечения
<b>Аутоиммунные реакции</b>			
Гипотиреоз	Прекратить лечение, если коррекция функции щитовидной железы невозможна		
Псориаз			
Показания для редукции дозы	Кожная токсичность 2 ст. и более (локализованные участки десквамации или другие поражения < 50% площади поверхности тела)	Кожная токсичность 2 ст. и более (локализованные участки десквамации или другие поражения < 50% площади поверхности тела)	Кожная токсичность 2 ст. и более (локализованные участки десквамации или другие поражения < 50% площади поверхности тела)
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	Кожная токсичность 1 ст. (эритема без связанных симптомов)	Кожная токсичность 1 ст. (эритема без связанных симптомов)	—
<b>Гематологическая токсичность</b>			
Гранулоцитопения			
Показания для редукции дозы	Число гранулоцитов < 500 мм <sup>-3</sup> (4 ст.)	Число гранулоцитов < 500 мм <sup>-3</sup> (4 ст.)	Число гранулоцитов < 500 мм <sup>-3</sup> (4 ст.)
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	Число гранулоцитов > 1000 мм <sup>-3</sup>	Число гранулоцитов > 1000 мм <sup>-3</sup>	—
Тромбоцитопения			
Показания для редукции дозы	Число тромбоцитов < 50 000 мм <sup>-3</sup> (3 ст.)	Число тромбоцитов < 50 000 мм <sup>-3</sup> (3 ст.)	Число тромбоцитов < 50 000 мм <sup>-3</sup> (3 ст.)
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	Число тромбоцитов > 75 000 мм <sup>-3</sup> (1 ст.)	Число тромбоцитов > 75 000 мм <sup>-3</sup> (1 ст.)	—
<b>Другие</b>			
Анорексия			
Показания для редукции дозы	3—4 ст.	3—4 ст.	3—4 ст.
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	2 ст.	2 ст.	—
Кардиотоксичность	Прекратить лечение при кардиотоксичности 2 ст. и более		
Нежелательные явления со стороны органа зрения	Прекратить лечение при любых признаках поражения органа зрения		
Депрессия			
Показания для редукции дозы	3—4 ст.	3—4 ст.	3—4 ст.
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	1 ст.	1 ст.	—

## Приложение 2 (окончание)

Нежелательные явления	Первая редукция дозы	Вторая редукция дозы	Прекращение лечения
<b>Утомляемость</b>			
Показания для редукции дозы	3—4 ст.	3—4 ст.	3—4 ст.
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	1 ст.	1 ст.	—
<b>Гриппоподобный синдром</b>			
Показания для редукции дозы	3—4 ст.	3—4 ст.	3—4 ст.
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	1 ст.	1 ст.	—
<b>Гепатотоксичность: активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и/или аспаратаминотрансферазы (АСТ) сыворотки</b>			
Показания для редукции дозы	3—4 ст. (превышение активности более чем в 5 раз по сравнению с верхней границей нормы)	3—4 ст. (превышение активности более чем в 5 раз по сравнению с верхней границей нормы)	3—4 ст. (превышение активности более чем в 5 раз по сравнению с верхней границей нормы)
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	1 ст.	1 ст.	—
<b>Активность креатинфосфокиназы (КФК) сыворотки</b>			
Показания для редукции дозы	Превышение активности более чем в 5 раз по сравнению с верхней границей нормы или любое повышение на фоне миалгии	Превышение активности более чем в 5 раз по сравнению с верхней границей нормы или любое повышение на фоне миалгии	Превышение активности более чем в 5 раз по сравнению с верхней границей нормы или любое повышение на фоне миалгии
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	Превышение активности не более чем в 2 раза по сравнению с верхней границей нормы	Превышение активности не более чем в 2 раза по сравнению с верхней границей нормы	Лечение отменяют также при рабдомиолизе
<b>Тошнота</b>			
Показания для редукции дозы	3—4 ст.	3—4 ст.	3—4 ст.
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	1 ст.	1 ст.	—
<b>Рвота</b>			
Показания для редукции дозы	3—4 ст.	3—4 ст.	3—4 ст.
Снижение дозы от начальной, %	33	66	Отмена
Показания для возобновления лечения	1 ст.	1 ст.	—

## ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Олеся Валентиновна Голубева<sup>1</sup>, Макс Исаакович Гарбузов<sup>2</sup>,  
Андрей Александрович Яровой<sup>3</sup>, Светлана Сергеевна Клеянкина<sup>4</sup>,  
Ольга Викторовна Маханова<sup>5</sup>

### РОЛЬ ДИСТАНЦИОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ ГЛАЗНИЦЫ

<sup>1</sup> Аспирант, кафедра глазных болезней, ГОУ ВПО МГМСУ Росздрава,  
отделение офтальмоонкологии ФГУ МНТК МГ им. акад. С. Н. Федорова Росмедтехнологии  
(127486, РФ, г. Москва, Бескудниковский бульвар, г. 59а)

<sup>2</sup> Профессор, д. м. н., кафедра онкологии и лучевой терапии ГОУ ВПО МГМСУ Росздрава, отделение  
радиологии ГКБ № 33 им. А. А. Остроумова (107014, РФ, г. Москва, ул. Стромьинка, г. 7)

<sup>3</sup> Д. м. н., заведующий, отделение офтальмоонкологии ФГУ МНТК МГ им. акад. С. Н. Федорова  
Росмедтехнологии (127486, РФ, г. Москва, Бескудниковский бульвар, г. 59а)

<sup>4</sup> Врач, отделение офтальмоонкологии ФГУ МНТК МГ им. акад. С. Н. Федорова Росмедтехнологии  
(127486, РФ, г. Москва, Бескудниковский бульвар, г. 59а)

<sup>5</sup> Врач, отделение радиологии ГКБ № 33 им. А. А. Остроумова  
(107014, РФ, г. Москва, ул. Стромьинка, г. 7)

Адрес для переписки: 127486, РФ, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59а,  
ФГУ МНТК МГ им. акад. С. Н. Федорова Росмедтехнологии, отделение офтальмоонкологии,  
Голубева Олеся Валентиновна; e-mail: O.V.Golubeva@mail.ru

В обзоре изложены современные подходы к лечению опухолей глазницы. Особое внимание уделено методам дистанционной лучевой терапии как патогенетически обоснованному и широко применяемому виду лечения пациентов офтальмоонкологического профиля. На основании выборочного анализа доступной литературы сделана попытка оценить эффективность лучевой терапии при использовании как в качестве самостоятельного метода, так и в рамках комбинированного воздействия при лечении некоторых опухолей глазницы.

**Ключевые слова:** новообразование глазницы, лучевая терапия, хирургическое лечение, химиотерапия, комбинированное лечение.

По данным статистики, на долю злокачественных опухолей глазницы (орбиты) среди всех злокачественных новообразований человека приходится не более 0,1%. В структуре офтальмоонкологической патологии эта группа заболеваний занимает третье место после эпителиальных и внутриглазных образований [1—3]. Несмотря на относительную редкость развития и преобладание доброкачественных опухолей, вопрос выбора рационального лечения в ряде случаев остается открытым. Особую значимость это приобретает при злокачественных новообразованиях глазницы, так как при лече-

нии больных данной категории основными проблемами были и остаются сохранение жизни, достижение полной эрадикации опухоли, поддержание функций органа зрения, обеспечение удовлетворительных косметических результатов.

Господствующий в течение многих веков хирургический органосохраняющий метод на современном этапе имеет весьма ограниченные показания к применению в качестве единственного лечебного фактора. Орбитотомия с удалением опухоли при соблюдении принципа абластики представляет метод выбора при выявлении новообразований глазницы доброкачественного характера, гамартомах, хористомах, некоторых опухолеподобных заболеваниях глазницы. К таковым, например, относятся кавернозные гемангиомы [4—9],

плеоморфные аденомы слезной железы [1; 4; 10; 11], миксомы, фибромы, липомы, а также дермоидные кисты, саркоидоз и др. [1; 4; 8; 12]. Эффективность подхода подтверждена многочисленными клиническими наблюдениями. Причинами тому являются редкость развития рецидивов после вмешательства, высокие функциональные и косметические результаты, хороший прогноз для жизни. Особый подход требуется при опухолях зрительного нерва — менингиомах и глиомах. Хирургическое удаление (орбитотомия с неврэктомией) проводится в случаях ограничения процесса орбитальным отрезком нерва и целостности его оболочек, в отсутствие или при прогрессивном снижении зрительных функций [1; 4], угрозе жизни [6]; при распространении опухоли до склерального кольца удалению подлежит также глазное яблоко [4; 13].

Монохирургическое органосохраняющее лечение при злокачественных опухолях глазницы (ретинобластома [14], инвазивные новообразования придатков глаза стадии T4 [15], злокачественные лимфомы [16; 17], меланомы глазницы [1; 18], карцинома слезной железы [19]) является неадекватным, так как приводит к неизбежному рецидивированию образования, к инвазии в смежные структуры, увеличивает число летальных исходов и случаев метастазирования. Радикальные хирургические вмешательства (экзентерации), выполнявшиеся ранее довольно часто, обеспечивали невысокий процент излечения и выживаемости пациентов. Так, до 1965 г. экзентерация являлась стандартом лечения пациентов с рабдомиосаркомой глазницы, при этом выживаемость составляла не более 30% [9; 20; 21]. В настоящее время такие операции проводятся по поводу рецидивов опухоли или при резистентных к другим видам лечения образованиях [1; 22; 23]. Радикальность экзентерации на современном этапе считается сомнительной, так как продолжительность жизни пациентов по сравнению с таковой в случае применения других видов терапии достоверно не увеличивается [1; 7; 8; 22; 24].

Таким образом, хирургическое удаление опухоли с сохранением глазного яблока эффективно при лечении доброкачественных и отграниченных новообразований. Применение его в качестве монометода при злокачественных опухолях глазницы с высоким потенциалом малигнизации и риском рецидивирования противопоказано, однако может быть звеном в системе комбинированного воздействия. Показания к выполнению поднадкостничной экзентерации глазницы значительно сузились, но операция остается методом выбора при некоторых опухолях (обширный, злокачественный, инфильтративный процесс в глазнице, рефрактерный к лечению, без нарушения целостности костных стенок и в отсутствие диссеминации), также может дополняться химиолучевой терапией [1; 6; 22].

Начало применения химиотерапевтических препаратов во второй половине прошлого века позволило открыть новые перспективы в лечении некоторых новообразований глазницы. Использование адьювантных схем химиотерапии (ХТ) обеспечивает предотвращение распространения микрометастазов после лечения, а применение неoadьювантных программ позволяет создать лучшие условия для основного лечения [1; 25]. Достижения

современной ХТ позволяют излечить некоторые опухолевые заболевания с помощью одного лишь лекарственного метода.

Взгляд исследователей на лечение лимфомы глазницы с помощью ХТ неоднозначен и неоднократно обсуждался на страницах специальных изданий. Анализ 56 публикаций, проведенный В. S. Yadav и S. C. Sharma, позволил выявить низкую эффективность ХТ при лечении лимфом низкой степени злокачественности, однако определенная роль принадлежит лекарственным препаратам при лечении высокозлокачественных опухолей, а также системной манифестации лимфом всех степеней [26].

Терапия агрессивных опухолей проводится по стандартным схемам — с помощью комбинации препаратов СНОР (циклофосфамид + доксорубицин + винкристин + преднизолон), у пожилых пациентов — с использованием схемы R-СНОР (+ ритуксимаб) [8; 26; 27]. По данным российских авторов, при лечении MALT-лимфом глазницы применение ХТ по программе FMC (флударабин + циклофосфамид + митоксантрон) является альтернативой лучевой терапии (ЛТ), так как хорошо переносится пациентами (гематологическая токсичность средней/легкой степени), эффективно в плане достижения длительных ремиссий (до 41 мес) [16; 28]. ХТ по программам FNC (флударабин + митоксантрон + циклофосфамид) и FMC-R (флударабин + циклофосфамид + митоксантрон + ритуксимаб) без адьювантной ЛТ позволяет получить полные ремиссии у 100% больных с лимфоцитомой глазницы [16]. При высокозлокачественных лимфомах используется агрессивная ХТ с трансплантацией стволовых клеток, что, по данным исследований, способствует продлению ремиссии [8]. Лечение индолентных форм лимфом проводится с помощью моноклональных антител (ритуксимаб) или радиоиммунной терапии (ибритумомаб-тиуксетан с ритуксимабом) [8].

Единичные публикации посвящены успешному использованию цитостатиков при глиоме зрительного нерва как альтернативе калечащего лучевого воздействия у детей с целью стабилизации опухолевого процесса и сохранения зрительных функций. Применялись различные комбинации лекарственных средств, среди которых винкристин, карбоплатин, прокарбазин и др. [8; 13; 29].

Интерес представляет лечение капиллярных гемангиом у детей с помощью лекарственной терапии. Интрастромальное (бетаметазон + триамцинолон), реже — пероральное введение глюкокортикоидов приводит к резорбции опухоли. Однако относительно быстро развивающийся хороший терапевтический эффект в ряде случаев был сопряжен с тяжелыми осложнениями [1; 4; 6; 8].

Таким образом, в офтальмологии при местном опухолевом процессе в глазнице ХТ как монометод имеет достаточно узкие показания.

Более 100 лет назад начались первые попытки внедрения ЛТ в медицину. Применение ионизирующего излучения в практике онкологов позволило оказывать помощь больным, ранее считавшимся безнадежными, избегать калечащих операций, продлевать жизнь и улучшать ее качество. Патогенетическая направленность метода обуславливает непревзойденный эффект при лечении

большинства как злокачественных и доброкачественных новообразований глазницы и глаза, так и неопухолевых поражений. Основное преимущество ЛТ перед хирургическим вмешательством — возможность более широкого локального противоопухолевого воздействия, так как в зону облучения обязательно включают первичный очаг и область субклинического распространения опухоли в окружающих здоровых тканях [25].

К настоящему времени широкое распространение в офтальмоонкологии получил метод дистанционной (наружной) ЛТ. К используемым видам облучения относятся гамма-, рентгено-, нейтроно-, электроно-, протонотерапия. Принципиальное различие воздействия различных видов ионизирующего излучения заключается в пространственном распределении энергии, что обуславливает выбор того или иного вида ЛТ в зависимости от локализации патологического очага.

Так, при прохождении гамма-пучка через кожу максимум дозы излучения создается на глубине 45 мм, при этом снижается лучевая нагрузка на базальный слой эпидермиса. Это позволяет подводить более высокие суммарные очаговые дозы (СОД) излучения, что является положительным моментом при лечении новообразований глазницы, обладающих высокой и умеренной радиочувствительностью (рак, лимфома, ретинобластома, рабдомиосаркома). Лучевые реакции выражены в значительно меньшей степени, чем при проведении рентгенотерапии.

Близкофокусная рентгенотерапия показана для лечения относительно поверхностных поражений (злокачественные опухоли век, лимфомы конъюнктивы, детские гемангиомы); среднестационарное облучение успешно применяется при заболеваниях неопухоловой природы, а дальнестационарная рентгенотерапия эффективна при глубоко расположенных злокачественных опухолях.

Особенности биологического действия нейтронного излучения, заключающиеся в уменьшении зависимости эффекта от стадии клеточного цикла и в низком кислородном эффекте, способствуют лечению злокачественных опухолей, радиорезистентность которых определяется гипоксическими клетками.

Терапия протонным пучком показана для облучения четко отграниченных патологических очагов, расположенных вблизи критических структур, а также глубоко залегающих опухолей, когда в зону облучения попадает значительный объем здоровых тканей [30].

Облучение быстрыми электронами — бета-терапия (20—30 МэВ). Источниками электронов являются линейный ускоритель электронов, бетатрон, микротрон. Максимум поглощенной дозы находится на глубине эффективного пробега электронов, который равен  $1/3$  максимальной энергии (т. е. несколько сантиметров от облучаемой поверхности тела). Метод используется для повторной ЛТ или для лечения опухолей, расположенных рядом с критическими органами [31; 32].

Применение ионизирующего излучения как самостоятельного метода открыло новые возможности лечения многих заболеваний. Для достижения максимального положительного эффекта и снижения риска развития лучевых реакций и осложнений требуется разработать индивидуальный план лечения, определить необходимый вид излучения и технических условий ЛТ.

Радиотерапия на область глазниц может быть рекомендована при лечении псевдо- и неопухолевых заболеваний глазницы. Например, при слабом ответе на иммуносупрессивную терапию у пациентов, страдающих эндокринной офтальмопатией (отечный экзофтальм), идиопатическим воспалением тканей глазницы, для существенного улучшения состояния требуется СОД 20—25 Гр [2; 6; 12; 33]. Эффективность лечения объясняется высокой радиочувствительностью лимфоидных элементов в измененных тканях глазницы. В качестве ионизирующего излучения применяют дистанционную гамма- или электронотерапию.

Хорошие результаты ЛТ обеспечивает при выявлении доброкачественных образований. Например, близкофокусная рентгенотерапия с успехом применяется при капиллярных гемангиомах глазницы в дозе 8—10 Гр у детей и 20 Гр у взрослых [2; 4; 6; 8; 9; 34; 35]. Чрезвычайно редкие случаи рецидива кавернозной гемангиомы в глазнице регрессируют при воздействии малых доз радиации [6; 36].

Эффективность ЛТ при лечении опухолей зрительного нерва ввиду нейроэктодермального происхождения представлялась сомнительной, вследствие чего нейрогенные опухоли относили к низкорadiочувствительным образованиям. Тем не менее о благоприятных клинических результатах рентгенотерапии докладывали многие авторы [37]. В настоящее время дистанционная ЛТ в качестве самостоятельного метода лечения при глиоме зрительного нерва проводится для стабилизации болезни и сохранения зрительных функций, а также при двустороннем процессе, отказе пациента от операции и злокачественном течении заболевания [4; 38]. По данным Р. Т. Finger, при лечении глиом зрительного нерва чаще применяется многопольное фотонное облучение в диапазоне доз от 42 до 54 Гр в режиме мелкого фракционирования [6]. При проксимально локализованных глиомах первичное облучение дает больше преимуществ по сравнению с хирургическим лечением: 10-летняя безрецидивная выживаемость составляет 72—75 и 41—58% соответственно [6; 13; 39]. У. Khafaga и соавт. наблюдали 50 детей с глиомой зрительного нерва, 16 из которых была выполнена радиотерапия в средней дозе 50 Гр; 5- и 10-летняя безрецидивная выживаемость составила 87,5 и 75% соответственно [6; 39]. В некоторых случаях альтернативой традиционным методам может быть стереотаксическая радиохирургия [9; 13; 29].

ЛТ при менингиоме зрительного нерва целесообразна в целях стабилизации процесса при сохраненных зрительных функциях или при инфильтрирующем типе роста в качестве первого этапа лечения; при этом СОД должна быть не менее 50 Гр [1; 4; 40]. Анализируя данные литературы, Р. Т. Finger и соавт. [6] пришли к выводу, что ЛТ применяется при нерезектабельных опухолях, в случае рецидива менингиомы и у пациентов с неудовлетворительным соматическим статусом. Исследования показали, что более щадящим для зрения является применение радиотерапии. Р. Е. Turbin и соавт. провели сравнительный анализ результатов лечения менингиомы зрительного нерва методом хирургического удаления, наружного облучения в дозе 50—55 Гр и их комбинацией. Оценивая результаты исследований по таким параметрам, как сохранение остроты зрения, уровень развития

лучевых осложнений, предотвращение прогрессирования процесса, авторы выявили, что наилучшего эффекта удается достичь при использовании ЛТ глазницы в монорежиме [41]. Наружная радиотерапия в диапазоне доз 45—60 Гр является предпочтительной и по данным многих других авторов [8; 13; 40; 42].

Начиная с 60-х годов XX века в схему лечения рабдомиосаркомы глазницы была включена радиотерапия для улучшения локального контроля. С. М. Notis и соавт. провели ретроспективный анализ результатов лечения 24 пациентов с рабдомиосаркомой глазницы, которые получали только наружную ЛТ, и пришли к выводу, что метод по эффективности не уступает химиолучевой терапии [43]. Однако данное исследование единично, а многочисленные клинические наблюдения подтверждают необходимость комплексного лечения рабдомиосаркомы глазницы, несмотря на относительно благоприятную локализацию.

Наружное облучение при распространении в глазницу злокачественных опухолей век применяется как с радикальной, так и с паллиативной целью (в случаях нерезектабельной опухоли, при рецидивах после калечащих операций, при отказе пациента от радикальных операций, декомпенсации сопутствующих заболеваний [44; 45]). Лечение по радикальной программе в литературе в последние годы ассоциировано с протонотерапией как альтернативой экзентерации в некоторых случаях. Показанием к этому методу служат первичные злокачественные эпителиальные опухоли век стадии Т3—4 и меланогенные новообразования придаточного аппарата глаза стадии Т2—4N0—1, их рецидивы [1; 46—48]. Ю. И. Бородин, проведя лечение пациентов данной категории, применял протонное излучение при меланоме СОД 60—70 Гр за 5—6 фракций, при раках СОД 35—50 Гр за 4—5 фракций. При этом эффективность лечения в группе больных с эпителиальными опухолями век оказалась следующей: полная резорбция отмечена у 73,9% пациентов, частичная — у 9,6%, рецидив — у 16,5%; при меланоме придаточного аппарата глаза полная резорбция опухоли составила 57,6%, частичная — 13,1%, рецидив — 29,3% случаев. Таким образом, протонотерапия при распространенных злокачественных опухолях придаточного аппарата глаза в стадиях Т3—4 позволила сохранить орган зрения у 93% больных [46].

Еще в середине XX века С. Е. Pliff отметил чувствительность лимфомы к облучению и представил результаты лечения пациентов с помощью рентгеновского излучения [7]. Выбор метода лечения неходжкинских лимфом зависит от стадии заболевания и морфологического варианта опухоли. При локализации в глазнице первичных лимфом низкой злокачественности методом выбора является ЛТ, в противном случае показана ХТ или ХТ + ЛТ [27; 49]. В настоящее время применяют гамматерапию или облучение электронами [26; 27; 50]. Анализ литературы, проведенный Р. Finger, позволил выявить, что при лечении пациентов с данной нозологией применяется ЛТ в диапазоне СОД 15—46 Гр [6]. Оптимальной для успешного лечения локализованной лимфомы глазницы, обеспечивающей контроль над болезнью и минимальные осложнения, считается доза 36 Гр [51; 52]. При индолентных лимфомах показана низкодозная ЛТ [26;

53]. В настоящее время распространенной схемой является облучение СОД 30 Гр за 15 фракций в течение 3 нед для опухолей низкой степени злокачественности или 40 Гр за 20 фракций в течение 4 нед для средней степени злокачественности [8; 17; 27; 54]. Высокая эффективность ЛТ подтверждается результатами многочисленных исследований [49; 50; 53; 54; 55].

Общепринятым является мнение, что методом выбора лечения меланом глазницы служит экзентерация. В последние годы в литературе найдены сообщения о попытках проведения органосохраняющего лечения как альтернативы калечащим операциям: при первичных и вторичных меланогенных опухолях применялась протонотерапия в качестве самостоятельной терапии, что оказалось более эффективным и менее опасным, чем другие виды ЛТ [1; 56]. Ю. И. Бородин представил клинический случай лечения пациентки с первичной меланомой у верхушки глазницы: зафиксированы отсутствие лучевых осложнений и положительная динамика в течение 5 мес наблюдения [56]. Неоспоримым преимуществом метода явилось сохранение и функционирование глаза. При рецидиве меланомы в глазницу после энуклеации пораженного глаза облучение рецидивной опухоли протонным пучком (СОД 70—80 Гр) оказалось более эффективным, чем дистанционная лучевая терапия: 86% облученных пережили 5-летний период, 73% живут более 15 лет [1].

В настоящее время наружная ЛТ занимает лидирующую позицию среди консервативных методов лечения новообразований глазницы. Несмотря на очевидные преимущества ЛТ и новые перспективы в терапии тяжелых заболеваний, нельзя забывать и об отрицательных сторонах, присущих в той или иной степени каждому методу. Найти «золотую середину», т. е. проводить радикальное, органосберегающее и сохраняющее функцию лечение, возможно с помощью комбинирования известных методов. Рациональное сочетание хирургического, лучевого, химиотерапевтического методов нашло отражение в международных протоколах лечения некоторых опухолевых заболеваний глазницы и глаза.

Комбинированные подходы, уменьшая негативные эффекты каждого из методов, позволяют сконцентрировать максимум повреждающего воздействия на злокачественные клетки, избежать калечащих операций. Наружная ЛТ, являясь неотъемлемым звеном многокомпонентного лечения, призвана улучшить локальный контроль. Дистанционная гамма-терапия и рентгенотерапия при этом относятся к наиболее распространенным методам. Первоочередное применение облучения в рамках комбинированного лечения продиктовано стремлением к деструкции наиболее злокачественных пролиферирующих клеток и снижению витальных свойств оставшихся, а также сокращением объема опухолевого очага; применяемые малые дозы не ухудшают течения послеоперационного периода. При облучении после хирургического вмешательства в случае низкодифференцированных опухолей, склонных к рецидивированию и метастазированию, нерадикальности операции, рецидиве, как правило, подводятся более высокие дозы по методике мелкого фракционирования с дроблением доз [1; 35]. Расщепление облучения на пред- и послеоперационные этапы проводится гораздо реже. На практике пред-

почтение отдается послеоперационному облучению опухолью.

Неполная резекция плеоморфной аденомы слезной железы, предшествующее проведение биопсии, нарушение целостности капсулы опухоли в ходе операции являются факторами риска развития рецидива и служат показаниями к адьювантной радиотерапии. Т. Yamasaki выявил следующую закономерность: в течение 15 лет после хирургического удаления аденомы слезной железы в 30% случаев развиваются рецидивы опухоли, которые в 20% случаев малигнизируются в течение следующих 30 лет [57], что, по-видимому, является основанием для проведения адьювантной ЛТ как меры, предупреждающей рецидив опухоли.

Постоперационную ЛТ по поводу менингиомы зрительного нерва рекомендуется применять как второй этап лечения для профилактики рецидивов опухоли [4; 9], а, по мнению некоторых авторов, комбинация хирургического удаления и наружного облучения предпочтительна при лечении прогрессирующей глиом зрительных путей [38].

По данным, полученным Международной группой по изучению рабдомиосаркомы (IRS I-IV), сочетание ЛТ (СОД 45—60 Гр в течение 5—7 нед) и ХТ является методом выбора при лечении рабдомиосаркомы глазницы, что позволяет достичь 3-летней выживаемости 90%, а 5-летней — 80—90% [1; 6; 9; 21; 43; 58]. Хирургическое вмешательство выполняется в объеме биопсии или радикального удаления опухоли в операбельных случаях как первичный этап лечения либо на высоте эффекта ХТ, т. е. спустя 16 нед [59; 60]. В качестве лучевого компонента лечения применяется дистанционная гамма-терапия СОД 27—58 Гр [24], реже — протонотерапия СОД 50—55 Гр [61]. Используются различные схемы ХТ, состоящие из 3—4 препаратов (винкристин, дактиномицин, этопозид, циклофосфамид и др.) кратностью 4—8 курсов в качестве послеоперационного или расщепленного лечения [24; 58; 62].

Выявлена корреляция между выживаемостью и клинической стадией заболевания [21]. Эффективность лечения зависит также от морфологии опухоли [58]. Комбинированный органосохраняющий подход российских исследователей в виде хирургического лечения в сочетании с ПХТ (комбинации винкристина, дактиномицина, доксорубицина и др.) и с ЛТ (СОД 45—58 Гр) позволяет достичь результатов, сопоставимых с таковыми у зарубежных коллег: безрецидивная выживаемость первичных пациентов составила 83% при сроке наблюдения 120 мес, общая выживаемость — 75% при сроке наблюдения 110 мес. У пациентов с рецидивами безрецидивная и общая выживаемость совпадает, составляя 63% при сроке наблюдения 103 мес [63].

Частота роста в глазницу внутриглазной ретинобластомы или рецидив новообразования после энуклеации составляет 2,5—12%, что без лечения влечет 94—100% летальных исходов в период до 14 мес [8; 64]. Степень инвазии опухоли может быть различной, и это определяет тяжесть прогноза и тактику лечения [8; 65]. Все больше специалистов признают, что тактика ведения таких пациентов должна быть комбинированной. При выявлении экстрабульбарного узла показана экзентерация

глазницы с последующим химиолучевым лечением [1; 66]. При рецидиве опухоли в глазнице после энуклеации R. R. Goble предлагает проводить эксцизионную биопсию узла с последующей химиолучевой терапией (СОД 34—50 Гр); в сроки наблюдения от 8 мес до 7 лет рецидива не выявлено [14]. Эффективным оказался данный подход в практике других хирургов (СОД 46—60 Гр) [64]; в некоторых случаях выполнялась экзентерация [67].

Широкое применение ЛТ ограничено высокой чувствительностью развивающегося детского организма к ионизирующему излучению, что приводит к возникновению ряда серьезных осложнений, в том числе развитию вторых опухолей. Облучение применяют по строгим показаниям: рецидив опухоли в глазнице, опухоль по линии отсечения зрительного нерва при энуклеации [66]. ЛТ проводят с помощью гамма-установок или с помощью электронного облучения линейными ускорителями, которое является более щадящим. «Золотым стандартом» лечения ретинобластомы глазницы является комплекс мероприятий, состоящий из ЛТ (СОД 34—60 Гр) + ПХТ или радикального хирургического вмешательства (эксцизии при микроскопическом размере очага, экзентерации при обширном поражении) + ЛТ + ПХТ (различные адьювантные и неоадьювантные схемы) [1; 6; 8; 64; 66].

ЛТ играет ключевую роль при лечении распространенных в глазницу злокачественных новообразований придатков глаза. А. Hsu выделил следующие показания к наружному облучению при лечении инвазивных опухолей век и конъюнктивы: высокая активность опухоли по данным гистологического исследования, рецидивирующий характер процесса, микроскопические признаки периневральной инвазии, а также неполного удаления опухоли [68]. По данным Р. Т. Finger, в случаях инвазии опухоли (базалиома, карцинома и меланома век) придатков глаза в орбиту выполняют резекцию новообразования с последующей ЛТ (электронотерапия 34—65 Гр). Это обеспечивает полное удаление опухоли; в ряде случаев до основного лечения может быть проведена химиотерапия [6].

Некоторые авторы рекомендуют при базалиомах Т4 проводить пред- и послеоперационное гамма-облучение в сумме не более 70 Гр, а при гематогенной диссеминации — ХТ [47]. И. Е. Панова и соавт. предложили предоперационную (за 2—3 нед) гамма-терапию (СОД 34—38 Гр) при лечении эпителиальных опухолей век Т3—4 [69]. Хорошие непосредственные результаты при лечении данной патологии могут быть получены в случае комбинации криодеструкции, локальной СВЧ-гипертермии (44,0—45,0 °С) и ЛТ (рентгенотерапия 42,6 Гр / бета-терапия 180 Гр при поверхностных формах, гамма-терапия 29,8 Гр или их сочетание СОД 47,1 Гр при узловых формах) [15]. ЛТ при рабдомиосаркоме локализации на веке и глазнице проводится в случае неэффективности основного лечения и состоит в гамма-облучении (СОД 40—60 Гр) [47]. По данным К. Hayashi, лечение пациентов с лимфомой и саркомой глазницы эффективно при комбинированном методе, при котором применялась электронотерапия в дозе 30 и 35 Гр соответственно 5-летняя безрецидивная выживаемость составила 78,8% [70]. Меланогенные эпibuльбарные опухоли и опухоли век, распространенные в глазницу, по некоторым данным,



успешно лечатся с помощью экзентерации с предварительной протонной ЛТ.

Показанием к комбинированному лечению злокачественных лимфом глазницы служит высокая степень злокачественности ввиду большой вероятности скрытого генерализованного процесса [8; 27; 49]. ХТ (циклофосфамид + доксорубин + винкристин + преднизолон + блеомицин) + ЛТ до достижения СОД 30 Гр применялась в случаях средней и высокой злокачественности лимфом [8; 71]. Лечение диссеминированных форм лимфом низкой степени злокачественности начинают с препаратов первого ряда (циклофосфамид + винкристин + преднизолон или винбластин + хлорамбуцил + прокарбазин + преднизолон внутрь). ЛТ при этом проводят при поражении глазницы или неполной регрессии опухоли глазницы после ХТ. Необходимость в дополнительной ЛТ на область пораженной глазницы при лечении лимфом низкой степени злокачественности была значительно выше, чем при лечении лимфом высокой степени злокачественности [27]. Исследования показали, что комбинация ХТ + ЛТ обеспечивает 94—100% 5-летнюю безрецидивную выживаемость при I стадии и 72—78% — при II стадии заболевания [8]. В случае хирургического удаления лимфом глазницы (циторедуктивная операция) показано постоперационное облучение как мера, предупреждающая рецидив [72], однако чаще всего хирургическое вмешательство ограничивается выполнением экзентераторной операции.

Р. Г. Нукін и соавт. провели ретроспективный анализ результатов лечения (энуклеация + ЛТ до достижения СОД 50 Гр) пациентов с вторичной меланомой глазницы: общая выживаемость достигла 51% в течение 5 лет и 33% за 15 лет; при этом отмечено 5,8% случаев рецидива в глазнице [73]. Результаты других исследователей [74; 75] свидетельствуют о повышении выживаемости в 2 раза в течение 5 лет у пациентов, которым было проведено постэнуклеационное облучение в 6000 рад. В настоящее время при выявлении экстрабульбарного распространения меланомы сосудистой оболочки глаза одни исследователи считают возможным проведение комбинированного лечения: постэнуклеационная адъювантная ЛТ СОД 45—50 Гр [6; 8; 76]; другие являются сторонниками экзентерации глазницы с ЛТ (СОД 55 Гр) [77; 78].

При злокачественных опухолях слезной железы прогноз для жизни пациентов весьма серьезный — смертность достигает 45—70%, а 5- и 10-летняя выживаемость составляет 45 и 25% соответственно [79]. В настоящее время достоверно известно, что при опухолях слезной железы повышения выживаемости и локального контроля над опухолью удается достичь при добавлении к хирургическому лечению ЛТ [8; 11; 19; 80; 81]. Современный алгоритм терапии данной патологии складывается из широкой резекции опухоли или экзентерации + ЛТ (гамма-, рентгенотерапия) на ложе опухоли в дозе 50—60 Гр [1; 6; 8; 13; 35]. Роль ХТ (цисплатин, доксорубин, винкристин, циклофосфамид) в данной клинической ситуации возрастает [8].

Таким образом, дистанционная ЛТ занимает важнейшее место в лечении заболеваний глазницы онкологического профиля и псевдоопухолевых процессов. В качестве монотерапии наружное облучение применя-

ется при высокой радиочувствительности опухоли, при отказе или невозможности применения другого вида лечения, при рецидивирующем процессе как паллиативная мера. Показаниями к применению ЛТ в составе комбинированного лечения являются высокая степень злокачественности новообразования, распространенный и инфильтративный характер процесса, наличие рецидивной опухоли, высокий риск развития метастатического поражения. Многообразие видов наружной ЛТ обеспечивает возможность применения облучения практически при любой локализации опухоли, в ряде случаев является альтернативой калечащим операциям — энуклеации, экзентерации глазницы. В свете современных тенденций к проведению органосохраняющего и сберегающего функцию лечения ЛТ является незаменимым методом.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бровкина А. Ф. Офтальмоонкология: руководство для врачей. — М.: Медицина, 2002. — 424 с.
2. Роль лучевой терапии в комбинированном лечении заболеваний органа зрения / Корытова Л. И., Алексеев В. Н., Ильин Н. В., Виноградова Ю. Н. // *Клин. офтальмол.* — 2002. — Т. 3—4. — С. 164—168.
3. Павленко Е. С., Панова И. Е., Суло И. С. Злокачественные опухоли орбиты: некоторые эпидемиологические аспекты, клиническое течение, диагностика (обзор литературы) [Электронный ресурс] // Национальный офтальмологический проект. Архив новостей (дата публикации 10.04.2010). — URL: <http://www.eyenews.ru/news.php> (дата обращения 25.12.2010).
4. Бровкина А. Ф. Болезни орбиты. — 2-е изд. — М.: МИА, 2008. — 256 с.
5. Линник Л. Ф., Яровой А. А., Булгакова Е. С. Удаление опухолей орбиты методом костно-пластической орбитотомии по методу Кренлейна—Берке // *Вестн. ОГУ.* — 2007. — № 78. — С. 139—140.
6. Finger P. T. Radiation Therapy for Orbital Tumors: Concepts, Current Use, and Ophthalmic Radiation Side Effects // *Surv. Ophthalmol.* — 2009. — Vol. 54, N 5. — P. 545—568.
7. Iliff C. E. Tumors of the orbit // *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* — 1957. — N 55. — P. 505—541.
8. Karcioğlu Z. A. Orbital Tumors. Diagnosis and Treatment. — New York: Springer Science + Business Media, Inc., 2005. — P. 133—433.
9. Liesegang T. J., Skuta G. L., Cantor L. B. Basic and clinical science course. Section 7, 2007—2008. Orbit, eyelids and lacrimal system. — San Francisco: American academy of Ophthalmology, 2007. — 346 p.
10. Davies W. S. Pleomorphic adenoma and adenocarcinoma of the lacrimal gland, with report of 13 cases // *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* — 1954—1955. — N 52. — P. 467—496.
11. Ten-year follow-up of a case series of primary epithelial neoplasms of the lacrimal gland: clinical features, surgical treatment and histopathological findings / Santos R. R., Damasceno R. W. F., Lopes de Pontes F. S., Cursino S. R. T., Nishiwaki-Dantas M. C., Filho V. J., Correa Dantas P. E. // *Arq. Bras. Oftalmol.* — 2010. — Vol. 73, N 1. — P. 33—39.
12. Chao K. S. C., Perez C. A., Brady L. W. Radiation oncology: management decisions. — 2nd ed. — Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001. — P. 210—216.
13. Halperin E. C., Perez C. A., Brady L. W. Perez and Brady's principles and practice of radiation oncology. — 5th ed. — Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2008. — 2368 p.
14. Goble R. R., McKenzie J., Kingston J. E. Orbital recurrence of retinoblastoma successfully treated by combined therapy // *Br. J. Ophthalmol.* — 1990. — N 74. — P. 97—98.
15. Буйко А. С., Сафроненкова И. А., Питерова О. В. Эпителиальные злокачественные опухоли кожи век стадий Т3—4: комбинированное лечение или скальпель? // *Офтальмол. журн.* — 2002. — № 1. — С. 30—34.
16. Красильникова Б. Б. Первичные лимфатические опухоли орбиты и придаточного аппарата глаза: Автореф. дис... канд. мед. наук. — М., 2009. — С. 20.

17. A retrospective analysis of different modalities for treatment of primary orbital non-Hodgkin's lymphomas / Esik O., Ikeda H., Mukai K., Kaneko A. // *Radiother. Oncol.* — 1996. — Vol. 38, N 1. — P. 13—18.
18. Shamma H. F., Blodi F. C. Orbital extension of choroidal and ciliary body melanomas // *Arch. Ophthalmol.* — 1977. — Vol. 95, N 11. — P. 2002—2005.
19. Ducrey N., Villemure J. G., Jaques B. Cystic adenocarcinomas of the lacrimal gland // *Klin. Monbl. Augenheilkd.* — 2002. — Vol. 219, N 4. — P. 231—234.
20. Jones I. S., Reese A. B., Krout J. Orbital rhabdomyosarcoma: an analysis of 62 cases // *Tr. Am. Ophth. Soc.* — 1965. — Vol. 63. — P. 223—255.
21. Primary ophthalmic rhabdomyosarcoma in 33 patients / Shields C. L., Shields J. A., Honavar S. G., Demirci H. // *Tr. Am. Ophth. Soc.* — 2001. — N 99. — P. 133—143.
22. Rahman I., Cook A. E., Leatherbarrow B. Orbital exenteration: a 13 year Manchester experience // *Br. J. Ophthalmol.* — 2005. — N 89. — P. 1335—1340.
23. Mortality following exenteration for malignant tumours of the orbit / Rahman I., Maino A., Cook A. E., Leatherbarrow B. // *Br. J. Ophthalmol.* — 2005. — Vol. 89. — P. 1445—1448.
24. Комплексное лечение рабдомиосаркомы орбит у детей / Глеков И. В., Поляков В. Г., До Н. Ф., Ушакова Т. Л., Максимова О. В. // *Сибирский онкол. журн.* — 2006. — Прил. 1. — С. 34.
25. Ганцев Ш. Х. Онкология: учебник для медицинских ВУЗов. — М.: МИА, 2006. — С. 109—151.
26. Yadav B. S., Sharma S. C. Orbital lymphoma: role of radiation // *Indian J. Ophthalmol.* — 2009. — Vol. 57, N 2. — P. 91—97.
27. Гришина Е. Е. Злокачественные лимфомы орбиты. Диагностика и лечение с позиции офтальмолога // *РМЖ (клиническая офтальмология)*. — 2006. — Т. 7, №1. — С. 14—16.
28. Эффективность полихимиотерапии по программе FMC в лечении MALT-лимфом орбиты / Красильникова Б. Б., Кравченко С. К., Гришина Е. Е., Кременецкая А. М. // *Тез. докл. VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Федоровские чтения — 2009»*, г. Москва, 1—3 июля 2009 г. — С. 371.
29. Fractionated Gamma Knife Radiosurgery for Optic Nerve Tumors / Kurt G., Tonge M., Borcek A. O., Karahacioglu E., Gurel O., Baykaner K., Ceviker N., Aykol S. // *Turkish Neurosurg.* — 2010. — Vol. 20. — N 2. — P. 241—246.
30. Павлов А. С., Фадеева М. А., Вайнберг М. Ш. Лучевая терапия // *Малая медицинская энциклопедия. Том 3 / Покровский В. И. (ред.)*. — М.: Науч. изд-во «Большая российская энциклопедия», 1992. — С. 150.
31. Кондричина С. Н., Балашов А. Т. Основы лучевой терапии (учебное пособие). — Петрозаводск: ПетрГУ, 2001. — С. 14.
32. Линденбратен Л. Д., Королюк И. П. Медицинская радиология (основы лучевой диагностики и лучевой терапии). — 2-е изд. — М.: Медицина, 2000. — С. 638.
33. Лучевая терапия неопухолевых заболеваний органа зрения / Вайнштейн Е. С., Бровкина А. Ф., Бурдянская Е. И., Зарубей Г. Д. // *Клиническая рентгенодиагностика / Зедгенидзе Г. А. (ред.)*. — М.: Медицина, 1985. — С. 480—486.
34. Буторина А. В. Современное лечение гемангиом у детей / *Передовые технологии медицины на стыке веков*. — М., 2000. — С. 355—361.
35. Опухоли защитного аппарата глаза, глазного яблока и глазницы / Вайнштейн Е. С., Бровкина А. Ф., Бурдянская Е. И., Зарубей Г. Д. // *Клиническая рентгенодиагностика. Том 5 / Зедгенидзе Г. А. (ред.)*. — М.: Медицина, 1985. — С. 134—162.
36. Mierzwa M. L., Barrett W. L., Gluckman J. L. Radiation therapy for recurrent orbital hemangioma // *Head Neck.* — 2003. — Vol. 25, N 5. — P. 412—415.
37. Соколова О. Н., Волинская Ю. Н. Опухоли зрительного нерва и хиазмы. — М.: Медицина, 1975. — 224 с.
38. Борисова И. А. Глиомы зрительных нервов, хиазмы и гипоталамической области (обзор литературы) // *Украинский нейрохирург. журн.* — 2000. — № 1 (9). — С. 16—20.
39. Optic gliomas: a retrospective analysis of 50 cases / Khafaga Y., Hassounah M., Kandil A., Kanaan I., Allam A., El Husseiny G., Kofide A., Belal A., Al Shabanah M., Schultz H., Jenkin D. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2003. — Vol. 56, N 3. — P. 807—812.
40. Бровкина А. Ф. Менингиома зрительного нерва // *РМЖ (клиническая офтальмология)*. — 2001. — № 1. — С. 3—4.
41. A long-term visual outcome comparison in patients with optic nerve sheath meningioma managed with observation, surgery, radiotherapy, or surgery and radiotherapy / Turbin R. E., Thompson C. R., Kennerdell J. S., Cockerham K. P., Kupersmith M. J. // *Ophthalmology.* — 2002. — Vol. 109, N 5. — P. 890—899.
42. Melian E., Jay W. M. Primary radiotherapy for optic nerve sheath meningioma // *Semin. Ophthalmol.* — 2004. — Vol. 19, N 3—4. — P. 130—140.
43. Orbital Rhabdomyosarcoma / Karcioğlu Z. A., Hadjistilianou D., Rozans M., DeFrancesco S. // *Canc. Control.* — 2004. — Vol. 11, N 5. — P. 328—333.
44. Sebaceous Carcinoma of the Ocular Region: A Review / Shields J. A., Demirci H., Marr B. P., Eagle R. C., Shields C. L. // *Surv. Ophthalmol.* — 2005. — Vol. 50, N 2. — P. 103—122.
45. Veness M. J., Biankin S. Perineural spread leading to orbital invasion from skin cancer // *Australas Radiol.* — 2000. — Vol. 44, N 3. — P. 296—302.
46. Бородин Ю. И. Протонотерапия в лечении злокачественных опухолей придаточного аппарата глаза: Автореф. дис... канд. мед. наук. — М., 2010. — С. 22.
47. Лихванцева В. Г., Анурова О. А. Опухоли век: клиника, диагностика, лечение. — М.: ГЭОТАР-медиа, 2007. — 448 с.
48. Seregard S. Conjunctival Melanoma // *Surv. Ophthalmol.* — 1998. — Vol. 42, N 4. — P. 321—350.
49. Makepeace A. R., Fermont D. C., Bennett M. H. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the orbit // *J. Royal Society Med.* — 1988. — Vol. 81. — P. 640—642.
50. Primary radiotherapy for localized orbital MALT lymphoma / Le Q. T., Eulau S. M., George T. I., Hildebrand R., Warneke R. A., Donaldson S. S., Hoppe R. T. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2002. — Vol. 52, N 3. — P. 657—663.
51. Radiotherapy for orbital lymphoma: outcome and late effects / Bischof M., Karagiozidis M., Krempien R., Treiber M., Neuhof D., Debus J., Zierhut D. // *Strahlenther. Onkol.* — 2007. — Vol. 183, N 1. — P. 17—22.
52. Radiation therapy in primary orbital lymphoma: a single institution retrospective analysis / De Cicco L., Cella L., Liuzzi R., Solla R., Farella A., Punzo G., Tranfa F., Strianese D., Conson M., Bonavolont G., Salvatore M., Pacelli R. // *Radiat. Oncol.* — 2009. — Vol. 4. — P. 60.
53. Orbital marginal zone B-cell lymphoma of MALT: radiotherapy results and clinical behavior / Suh C. O., Shim S. J., Lee S. W., Yang W. I., Lee S. Y., Hahn J. S. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2006. — Vol. 65, N 1. — P. 228—233.
54. Orbital Lymphoma: Results of Radiation Therapy / Lau H. Y., Chua E. T., Yang T. L., Chua E. J. // *Ann. Acad. Med. Singapore.* — 1998. — Vol. 27. — P. 474—477.
55. Localized orbital lymphoma / Galieni P., Polito E., Leccisotti A., Marotta G., Lasi S., Bigazzi C., Bucalossi A., Frezza G., Lauria F. // *Haematologica.* — 1997. — Vol. 82, N 4. — P. 436—439.
56. Протонная лучевая терапия опухолей сосудистой оболочки глаза и орбиты / Бородин Ю. И., Вальский В. В., Саакян С. В., Канчели И. Н., Кленов Г. И., Ломанов М. Ф., Луговцов О. В., Луговцова О. Г., Похвата В. П., Хорошков В. С. // *Альманах клин. мед.* — 2008. — Т. XVII, Ч. 1. — С. 292—295.
57. Multiple Intracranial Metastases Following Malignant Evolution in Recurrent Pleomorphic Adenoma of the Lacrimal Gland / Yamasaki T., Kikuchi H., Ymabe H., Yamashita J. // *Neurol. Med. Chir. (Tokyo).* — 1990. — Vol. 30. — P. 1038—1042.
58. Shields J. A., Shields C. L. Rhabdomyosarcoma: Review for the Ophthalmologist // *Surv. of Ophthalmol.* — 2003. — Vol. 48, N 1. — P. 39—57.
59. Максимова О. В., Ушакова Т. Л., Поляков В. Г. Программное лечение локальных форм злокачественных мягкотканых опухолей орбиты у детей // *Сиб. онкол. журн.* — 2006. — Приложение № 1. — С. 64—65.
60. Рабдомиосаркома орбиты у детей / Поляков В. Г., Ушакова Т. Л., Горовцова О. В., Глеков И. В., Шишков П. В. // *Тез. докл. VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Федоровские чтения — 2009»*, г. М., 1—3 июля 2009 г. — С. 381—382.
61. Fractionated, three-dimensional, planning-assisted proton-radiation therapy for orbital rhabdomyosarcoma: a novel technique / Hug E. B., Adams J., Fitzek M., De Vries A., Munzenrider J. E. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2000. — Vol. 47, N 4. — P. 979—984.

62. The role of combined chemotherapy in the treatment of rhabdomyosarcoma in children / Heyn R. M., Holland R., Newton W. A. Jr., Tefft M., Breslow N., Hartmann J. R. // *Cancer*. — 1974. — Vol. 34. — P. 2128—2142.

63. Результаты лечения мягкотканых опухолей орбиты у детей / Поляков В. Г., Ушакова Т. Л., Горюцова О. В., Шишков Р. В. // Тез. докл. VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Федоровские чтения — 2009», г. Москва, 1—3 июля 2009 г. — С. 382—383.

64. Hungerford J., Kingston J., Plowman N. Orbital recurrence of retinoblastoma // *Ophthalmic Paediatr. Genet.* — 1987. — Vol. 8, N 1. — P. 63—68.

65. Polans A. S., Albert D. M. *Ocular oncology*. — New York: Marcel Dekker, Inc., 2003. — P. 489—499.

66. Саакян С. В. Ретинобластома (клиника, диагностика, лечение). — М.: Медицина, 2005. — 200 с.

67. Kiratli H., Bilgi S., Ozerdem U. Management of massive orbital involvement of intraocular retinoblastoma // *Ophthalmology*. — 1998. — Vol. 105, N 2. — P. 322—326.

68. Postoperative adjuvant external-beam radiation therapy for cancers of the eyelid and conjunctiva / Hsu A., Frank S. J., Ballo M. T., Garden A. S., Morrison W. H., Rosenthal D. I., Hatf E., Esmaeli B. // *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* — 2008. — Vol. 24, N 6. — P. 444—449.

69. Комбинированное лечение больных с распространенными стадиями злокачественных эпителиальных новообразований кожи век / Панова И. Е., Важеннин А. В., Пилат А. В., Крепышева М. В., Павленко Е. С. // *Офтальмохирургия*. — 2007. — № 3. — С. 35—37.

70. Electron Therapy for Orbital and Periorbital Lesions Using Customized Lead Eye Shields / Hayashi K., Hatsuno K., Yoshimura R., Iida T., Ayukawa F., Toda K., Taniguchi H., Shibuya H. // *Ophthalmologica*. — 2009. — № 223. — P. 96—101.

71. Primary lymphoma of the eye / Hahn J. S., Suh C. O., Lee S. Y., Yang W. I. // *Yonsei Med. J.* — 1998. — Vol. 39. — P. 196—201.

72. Reese A. B. *Tumors of the eye*. 2nd ed. — New York: Hoeber Medical Division, Harper & Row, 1963.

73. Postenucleation orbital radiotherapy for the treatment of malignant melanoma of the choroid with extrascleral extension / Hykin P. G., McCartney A. C. E., Plowman P. N., Hungerford J. L. // *Br. J. of Ophthalmol.* — 1990. — Vol. 74. — P. 36—39.

74. Lommatzsch P., Dietrich B. The effect of orbital irradiation on the survival rate of patients with choroidal malignant melanoma // *Ophthalmologica*. — 1976. — Vol. 173. — P. 49—52.

75. Sobanski J., Zeydler L. Decreased mortality of patients with intranuclear melanoma after enucleation of the eyeball followed by orbital x-ray irradiation // *Polish. Med. Jr.* — 1972. — Vol. 11. — P. 1512—1516.

76. Blanco G. Diagnosis and treatment of orbital invasion in uveal melanoma // *Can. J. Ophthalmol.* — 2004. — Vol. 39, N 4. — P. 388—396.

77. Primary orbital melanoma associated with a blue nevus / Odashiro A. N., Arthurs B., Pereira P. R., Filho J. P., Belfort E., Burnier M. N. Jr. // *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* — 2005. — Vol. 21, N 3. — P. 247—248.

78. Primary malignant orbit melanoma / Patrocinio L. G., Lourenco C., do Prado Silva C., Barra D. B., Patrocinio J. A. // *Rev. Bras. Otorrinolaringol.* — 2006. — Vol. 72, N 5. — P. 716.

79. Adenoid cystic carcinoma of the lacrimal gland: report of a case / Uzura S., Matsumura K., Watanabe K., Matsuda M. // *Nippon Geka Hokaikan*. — 1990. — Vol. 59, N 3. — P. 272—277.

80. Combined therapeutic approach to malignant lacrimal gland tumors / Byers R. M., Berkeley R. G., Luna M., Jesse R. H. // *Am. J. Ophthalmol.* — 1975. — Vol. 79, N 1. — P. 53—55.

81. Naugle T. Jr, Tepper D. J., Haik B. G. Adenoid cystic carcinoma of the lacrimal gland: a case report // *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* — 1994. — Vol. 10, N 1. — P. 45—48.

Поступила 04.02.2011

*Olesya Valentinovna Golubeva<sup>1</sup>, Max Isaakovich Garbuzov<sup>2</sup>,  
Andrey Alexandrovich Yarovoy<sup>3</sup>, Svetlana Sergeevna Kleyankina<sup>4</sup>,  
Olga Viktorovna Makhanova<sup>5</sup>*

## THE ROLE OF DISTANT THERAPY IN THE TREATMENT OF ORBITAL TUMORS

<sup>1</sup> *Postgraduate Student, Chair of Eye Diseases, MSMDU RF HM, Ophthalmooncology Department, S. N. Fyodorov EM Center (59a, Beskudnikovskiy blv., Moscow, RF, 127486)*

<sup>2</sup> *MD, PhD, DSc, Professor, Chair of Oncology and Radiotherapy, MSMDU RF HM, Radiology Department, A. A. Ostroumov SCH No. 33 (7, ul. Stromynka, Moscow, RF, 107014)*

<sup>3</sup> *MD, PhD, DSc, Head, Ophthalmooncology Department, S. N. Fyodorov EM Center (59a, Beskudnikovskiy blv., Moscow, RF, 127486)*

<sup>4</sup> *Physician, Ophthalmooncology Department, S. N. Fyodorov EM Center (59a, Beskudnikovskiy blv., Moscow, RF, 127486)*

<sup>5</sup> *Physician, Radiology Department, A. A. Ostroumov SCH No. 33 (7, ul. Stromynka, Moscow, RF, 107014)*

Address for correspondence: Golubeva Olesya Valentinovna, Ophthalmooncology Department, S. N. Fyodorov EM Center, 59a, Beskudnikovskiy blv., Moscow, RF, 127486; e-mail: O.V.Golubeva@mail.ru

This overview addresses contemporary approaches to the treatment of orbital tumors. The author specially focuses on distant radiotherapy as a pathogenetically reasonable and widely used treatment modality in ophthalmooncology. Basing on selected literature she is attempting to analyze efficacy of radiotherapy alone or in combination with other modalities in the treatment of orbital tumors.

**Key words:** orbital tumor, radiotherapy, surgical treatment, chemotherapy, multimodality treatment.

Владимир Эдуардович Гурцевич<sup>1</sup>, Вера Николаевна Степина<sup>2</sup>,  
Наталья Борисовна Сенюта<sup>3</sup>, Елена Васильевна Гончарова<sup>4</sup>,  
Лиана Ногаровна Щербак<sup>5</sup>, Татьяна Егоровна Душенькина<sup>6</sup>,  
Ирина Анатольевна Репкина<sup>7</sup>, Нина Васильевна Белоусова<sup>8</sup>,  
Татьяна Тихоновна Конгратьева<sup>9</sup>, Севил Багатуровна Алиева<sup>10</sup>,  
Азер Алиевич Ахундов<sup>11</sup>, Евгений Григорьевич Матякин<sup>12</sup>,  
Борис Константинович Поддубный<sup>13</sup>, Наталья Александровна Пробатова<sup>14</sup>,  
Александр Ильич Пачес<sup>15</sup>

### ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ К ВИРУСУ ЭПШТЕЙНА—БАРР В ДИАГНОСТИКЕ РАКА НОСОГЛОТКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И 30-ЛЕТНИЙ ОПЫТ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ)

- <sup>1</sup> Профессор, г. м. н., заслуженный деятель науки РФ, заведующий, лаборатория вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>2</sup> Д. м. н., старший научный сотрудник, лаборатория вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>3</sup> К. м. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>4</sup> К. м. н., научный сотрудник, лаборатория вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>5</sup> К. м. н., научный сотрудник, лаборатория вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>6</sup> Ведущий инженер, лаборатория вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>7</sup> Ведущий инженер, лаборатория вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>8</sup> Профессор, г. м. н., ведущий научный сотрудник, эндоскопическое отделение НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>9</sup> 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)
- <sup>10</sup> К. м. н., старший научный сотрудник, радиологическое отделение НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>11</sup> Д. м. н., старший научный сотрудник, хирургическое отделение №11 (опухолей верхних дыхательно-пищеварительных путей) НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>12</sup> Профессор, г. м. н., заведующий, отделение хирургическое №11, (опухолей верхних дыхательно-пищеварительных путей) НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>13</sup> Профессор, г. м. н., заведующий, эндоскопическое отделение НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>14</sup> Профессор, г. м. н., ведущий научный сотрудник, патологоанатомическое отделение НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>15</sup> Профессор, г. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение хирургическое № 4 (опухолей головы и шеи) 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, лаборатория вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Гурцевич Владимир Эдуардович; e-mail: vladgurtsevitch@yahoo.com

Подведен итог многолетних исследований по оценке эффективности серологической диагностики рака носоглотки методом непрямой иммунофлуоресценции с помощью титров и спектра гуморальных антител к белкам литической инфекции вируса Эпштейна—Барр. Изучена сыворотка/плазма крови 648 больных с клинически и гистологически установленным диагнозом рака носоглотки, 177 больных с увеличенными лимфатическими узлами в области шеи без выявленного первичного очага опухоли, а также 171 больного с другими опухолями головы и шеи. Показана высокая информативность для диагностики и дифференциальной диагностики недифференцированного варианта рака носоглотки антител класса IgG к капсидному и раннему, а также антител класса IgA к капсидному антигенам вируса. Созданное на базе совокупного анализа этих маркеров решающее правило позволяло в эндемичных для указанного заболевания регионах (каковыми являются Россия и страны бывшего СССР) выявлять недифференцированный вариант рака носоглотки с достоверностью 90%.

**Ключевые слова:** вирус Эпштейна—Барр, рак носоглотки, метод непрямой иммунофлуоресценции, капсидный и ранний антигены вируса, диагностика, дифференциальная диагностика.

В течение последних 25 лет наблюдается значительная экспансия опухолей, ассоциированных с вирусом Эпштейна—Барр (ВЭБ). К их числу кроме хорошо известной африканской лимфомы Беркитта относят определенные варианты лимфомы Ходжкина, целый ряд лимфом, возникающих у больных с иммунодефицитными состояниями различного происхождения, в том числе у больных со СПИДом. Не исключается вирусное происхождение некоторых морфологических форм рака желудка и опухолей гладкомышечного происхождения. Результаты молекулярно-эпидемиологических исследований свидетельствуют, что для большинства указанных опухолей ассоциация с ВЭБ варьирует в зависимости от географического происхождения больного, воздействия на организм канцерогенных факторов (паразитарных инфекций, пищевых канцерогенов), а также так называемых собственно хозяйских факторов. К числу последних относят ослабленный иммунный ответ на вирусную инфекцию, ослабленный локальный иммунный ответ, определенный HLA-генотип хозяина, наследственная предрасположенность, действия эпигенетических механизмов, приводящих к метилированию генов опухолевых супрессоров, других генов и т. д. [1—4]. По данным молекулярных и морфологических исследований, в некоторых ассоциированных с ВЭБ опухолях вирус присутствует только в отдельных опухолевых клетках. В связи с этим возникает вопрос о роли вируса в патогенезе таких опухолей.

От перечисленных новообразований существенно отличается рак носоглотки (РНГ) — опухоль эпителиального происхождения, описанная впервые Regaud и Schmincke в 1921 г. РНГ диагностируют во всем мире с различной частотой. В западных странах это новообразование регистрируют редко (менее 0,5 случая на 100 000 населения в год). Примерно с такой же частотой РНГ встречается и на территории бывшего СССР, включая Россию. В частности, в структуре злокачественных новообразований в России в 2006 г. опухоли носоглотки у мужчин составляли 0,15%, а у женщин 0,08% [5]. В то же время в некото-

рых регионах Юго-Восточной Азии, Северной Африки, в Гренландии и на Аляске заболеваемость РНГ достигает 25—30 случаев на 100 000 населения в год [6—8].

Согласно классификации ВОЗ [9] РНГ морфологически подразделяется на 3 типа: ороговевающий рак (keratinising squamous cell carcinoma) и неороговевающий рак (non-keratinising squamous cell carcinoma), в состав которого как подтип входит недифференцированный рак носоглотки — нРНГ (undifferentiated carcinoma). Для неороговевающего рака обычно характерна обильная лимфоидная инфильтрация, состоящая из лимфоцитов, гистиоцитов, эозинофилов и других реактивных клеточных элементов [10]. Эти опухоли также получили название «лимфоэпителиальный рак» или «лимфоэпителиома». В настоящее время ассоциация с ВЭБ некератинизирующего рака, особенно недифференцированного типа, хорошо доказана. Практически все случаи нРНГ являются ВЭБ-положительными независимо от страны проживания и этнической принадлежности больного. Важно также отметить, что вирус присутствует во всех опухолевых клетках в отличие от ряда других патологий, ассоциированных с этим вирусом, причем вирусный геном у этих больных можно обнаружить уже на ранних стадиях опухолевого процесса [11]. Для большинства больных нРНГ характерны повышенные титры гуморальных антител (АТ) к ВЭБ [12; 13], которые поднимаются до высоких уровней задолго до установления диагноза [14]. Эти находки позволили предположить, что ВЭБ может участвовать в патогенезе нРНГ еще в доклинической фазе болезни. На основании этих данных, а также результатов лабораторных исследований, доказавших трансформирующий (онкогенный) потенциал ВЭБ [15], этот вирус экспертами Международного агентства по изучению рака (МАИР) был отнесен к 1-й группе канцерогенов, т. е. к факторам доказанной канцерогенности для человека.

Цель настоящего исследования — подвести итог 30-летнего изучения гуморального ответа к ВЭБ у больных с опухолями головы и шеи и показать высокую информативность серологических маркеров вируса для диагностики нРНГ.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили сыворотка или плазма крови 648 больных с морфологически установленным диагнозом РНГ, 177 больных с лимфатиче-

© Гурцевич В. Э., Степина В. Н., Сенюта Н. Б., Гончарова Е. В., Щербак Л. Н., Душенькина Т. Е., Репкина И. А., Белоусова Н. В., Кондратьева Т. Т., Алиева С. Б., Ахундов А. А., Матякин Е. Г., Поддубный Б. К., Пробатова Н. А., Пачес А. И., 2011  
УДК 616.327.2-006.6-073.524:578.825.13(048.8)

скими узлами в области шеи из невыявленного первичного очага, а также 171 больного другими опухолями головы и шеи (ДОГШ), не локализованными в носоглотке. Материал был собран в период с 1980 по 2010 г. в отделениях опухолей головы и шеи, верхних дыхательно-пищеварительных путей, радиологическом и эндоскопии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. В качестве контрольных были исследованы сыворотки от 586 здоровых лиц 12 возрастных групп, в каждой из которых число лиц колебалось от 16 до 95. Образцы крови здоровых детей были получены из детской клинической больницы № 2 им. И. В. Русакова. Образцы крови от взрослых лиц были получены на Центральной станции переливания крови Москвы, в отделении переливания крови РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН и в доме престарелых № 1 г. Москвы. Кроме того, в качестве контрольных были также сыворотки от больных сифилисом (32 образца) и туберкулезом (28 образцов), полученные из инфекционной клинической больницы № 1 Москвы.

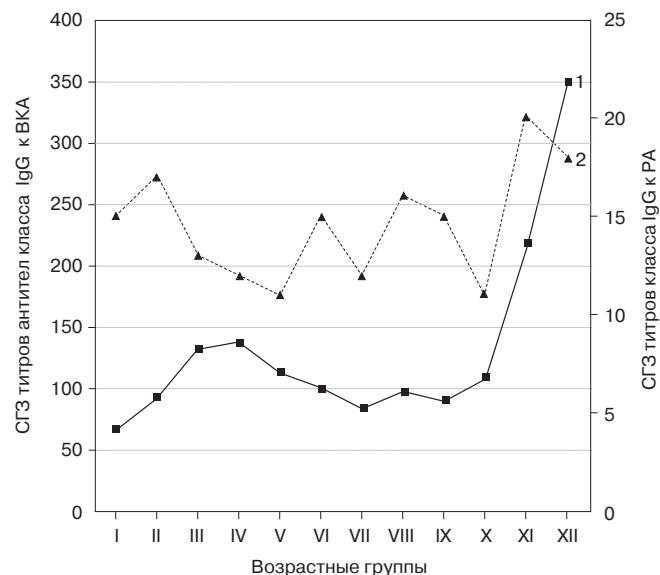
### Реакция непрямой иммунофлуоресценции

Для тестирования исследуемых сывороток или плазмы крови на наличие АТ к белкам раннего антигенного комплекса ВЭБ и для определения их титров использовали клеточные линии: РЗНР1, продуцирующую вирус и синтезирующую его капсидный антиген (ВКА), который является структурным компонентом вирусного капсида, и вируснепродуцирующую клеточную линию Raji, синтезирующую после обработки индукторами ранний антиген (РА) вируса. Для получения клеток, продуцирующих РА и ВКА, клеточную линию Raji, обрабатывали ТРА (12-О-тетрадеканойл-форбол-13-ацетат) в концентрации 20 нг/мл в сочетании с бутиратом Na в дозе 3 мкМ/мл в течение 3—5 дней, а клеточную линию РЗНР1 — только ТРА в течение 3—6 дней в той же дозе. В результате обработки индукторами в каждой клеточной линии имелось примерно 10% антигенсодержащих клеток. После отмывки в PBS клеточную суспензию каждой линии наносили на предметные стекла в виде изолированных капель, которые высушивали на воздухе и фиксировали охлажденным ацетоном. Приготовленные препараты до использования хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . При постановке реакции на каждую каплю фиксированных клеток наносили соответствующие 10-кратные разведения сыворотки от 1 : 10 до 1 : 2560, а в качестве контроля — известные высокопозитивную или негативную сыворотки в разведении 1 : 20. Препараты инкубировали во влажной камере в течение 30 мин при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ , отмывали PBS и вновь инкубировали при тех же условиях с АТ против глобулинов IgG или IgA человека (Sigma США; ИЭМ им. Н. Ф. Гамалея, Россия). Реакцию оценивали с помощью флуоресцентного микроскопа фирмы «Opton» (Япония). Наличие АТ к вирусу определяли по ярко-зеленому свечению клеток на фоне негативных клеток. Титром АТ считали то последнее разведение сыворотки или плазмы, в котором обнаруживали не менее 5% специфически флуоресцирующих клеток (при четких позитивном и негативном контролях). В каждой группе обследуемых лиц подсчитывали средние геометрические значения (СГЗ) титров АТ.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Известно, что ВЭБ является убиквитарным герпес-вирусом человека, инфицированность которым взрослого населения планеты превышает 90%. Первичное инфицирование этим вирусом происходит в ранние годы жизни и протекает, как правило, бессимптомно. Инфицирование ВЭБ в более поздние годы может привести к клиническому синдрому под названием «инфекционный мононуклеоз» (ИМ) — доброкачественному лимфопролиферативному заболеванию, которое завершается, как правило, самовыздоровлением [16; 17]. После первичного инфицирования вирус в организме персистирует в течение всей жизни хозяина и в большинстве случаев без клинических проявлений. При этом у каждого индивидуума экспрессия вируса устанавливается на определенном уровне и контролируется иммунной системой организма. Между организмом человека и вирусом устанавливается некий баланс: ослабление иммунитета ведет к усилению экспрессии вируса, и наоборот, уровень экспрессии вируса снижается при восстановлении иммунитета. Указанную закономерность мы могли наблюдать при изучении гуморального ответа к ВЭБ среди 12 возрастных групп практически здоровых лиц (рис. 1).

Из представленного графика следует, что титры АТ класса IgG к ВКА и РА после их появления в возрасте 6 мес становятся максимальными к 2—4 годам. В последующие годы титры вирус-специфических АТ колеблются незначительно. Существенное повышение титров АТ обнаружено лишь у лиц старше 55 лет, особенно в группе лиц старше 70 лет, функциональная активность иммунитета у которых существенно снижена.



**Рисунок 1.** Динамика титров АТ к ВЭБ в различных возрастных группах населения России. 1 — СГЗ титров АТ класса IgG к ВКА; 2 — СГЗ титров АТ класса IgG к РА. I—XII — возрастные группы: I — 0—0,5 года; II — 0,6—2 года; III — 3—4 года; IV — 5—9 лет; V — 10—14 лет; VI — 15—19 лет; VII — 20—24 года; VIII — 25—34 года; IX — 35—44 года; X — 45—54 года; XI — 55—69 лет; XII — 70 лет и старше.

В нашей работе особое внимание было уделено РНГ, недифференцированный вариант которого (нРНГ), по данным ряда зарубежных авторов, в эндемичных регионах сопровождается высокими уровнями ВЭБ-специфических АТ [18—20]. Данные об ассоциации РНГ с ВЭБ в неэндемичных регионах в середине 70-х годов XX века, т. е. к началу проведения этого исследования, были представлены лишь в отдельных публикациях, которые немногочисленны и в настоящее время [12; 21; 22]. При проведении аналогии с лимфомой Беркитта, которая характеризуется выраженной ассоциацией с ВЭБ в эндемичных для нее регионах и практическим отсутствием такой ассоциации в неэндемичных, оставался открытым вопрос о степени ассоциации ВЭБ с РНГ в неэндемичных регионах и обуславливало необходимость его самостоятельного углубленного изучения. При этом было показано, что ороговевающий вариант рака в регионах с высоким уровнем заболеваемости РНГ в 100% случаев ассоциирован с ВЭБ, тогда как в регионах с низким уровнем заболеваемости такая ассоциация с вирусом обнаружена только в 1/3 случаев [10].

Для объективной оценки иммунного ответа к ВЭБ у больных РНГ в России и странах бывшего СССР, где заболевание встречается редко, нами разработано так называемое решающее правило, основанное на информативности различных серологических маркеров ВЭБ для диагностики нРНГ. В частности, нами ранее установлено, что наиболее информативными являются сочетания определенных титров АТ классов IgG и IgA к ВКА и АТ класса IgG к РА вируса. С помощью многофакторного анализа были определены оптимальные сочетания этих 3 серологических маркеров и выведено решающее правило, позволяющее по характеру иммунного ответа к указанным антигенам осуществлять диагностику нРНГ с достоверностью 90% (табл. 1) [12].

На следующем этапе диагностическая значимость серологических маркеров ВЭБ решающего правила была проверена в группах больных с клинически и морфологически установленным диагнозом нРНГ, а также больных с другой патологией, включая ДОГШ (табл. 2). По приведенным данным, у 73 (95%) из 77 больных нРНГ гуморальный ответ к вирусу был характерным для этого заболевания: титры и спектр вирус-специфических АТ согласно решающему правилу соответствовали диагнозу нРНГ. Число позитивных случаев, т. е. случаев с типичными для нРНГ спектром и титрами АТ в группе больных ДОГШ составило 8% (13 из 171), а у больных сифилисом 6% (2 из 32). Ни одного позитивного случая не было обнаружено в группах больных туберкулезом (28) и доноров крови (83).

Используя решающее правило, мы изучили гуморальный ответ к ВЭБ у 648 больных с патологией в области носоглотки. Из указанного числа у 402 (62%) диагноз нРНГ был подтвержден серологически и клинически, а у остальных 246 (38%) на основании выявленных низких титров и ограниченного спектра антивирусных АТ этот вариант РНГ был отвергнут. Следует отметить, что титры АТ к ВЭБ в известной степени отражали размер опухоли и степень ее метастазирования в регионарные лимфатические узлы, т. е. коррелировали с опухолевой нагрузкой (табл. 3). Исключение составили больные с максимально

Таблица 1

**Решающее правило для дифференциальной диагностики РНГ по титрам АТ классов IgG и IgA к антигенам ВЭБ<sup>a</sup>**

Специфичность антител	№ группы	Разведение сыворотки	Диагностический вес значений титров антител, усл. ед.
АТ класса IgG к ВКА	1	1:160	-48
	2	1:320	-51
	3	1:640	42
	4	>1:640	57
АТ класса IgG к РА	1	1:20	-60
	2	1:40, 1:80	34
	3	>1:80	26
АТ класса IgA к ВКА	1	0	-135
	2	1:10	61
	3	>1:10	74

<sup>a</sup> Диагностические веса, соответствующие титрам АТ классов IgG и IgA, необходимо сложить, определить сумму 3 чисел и сравнить с нулем. Положительная сумма с достоверностью 90% указывает на наличие у больного РНГ, отрицательная — с той же достоверностью свидетельствует о ДОГШ или ином заболевании.

распространенным опухолевым процессом, часто находящиеся в предтерминальной стадии, у которых титры АТ классов IgG и IgA существенно снижены по сравнению с менее развернутыми формами болезни. Вероятно, это объясняется угнетением функциональной активности иммунной системы у таких больных.

При обследовании больных нРНГ в динамике характер иммунного ответа к ВЭБ, как правило, отражал клиническое состояние больного. Успешная терапия, приводящая к регрессии опухоли и наступлению ремиссии, сопровождалась снижением титров АТ ко всем ассоциированным с ВЭБ антигенам. В период стойкой ремиссии титры АТ к антигенам ВЭБ могут достигать иногда значений, присущих здоровым лицам. Однако следует отметить некоторую инертность антивирусного иммунного ответа в отражении динамики опухолевого процесса, определяемую временем, которое необходимо для выработки специфических для вируса АТ. Ниже в качестве примера мы приводим гуморальные ответы к ВЭБ у больных нРНГ с разными вариантами течения болезни в ответ на химио- и химиолучевую терапию. При этом на оси абсцисс указаны временные интервалы, прошедшие после исходного тестирования больного на антитела к ВЭБ (нулевая точка). На левой оси ординат представлены титры АТ класса IgG к ВКА ВЭБ, а на правой — IgG к РА и

Таблица 2  
Дифференциальная диагностика РНГ с помощью решающего правила

Обследованные группы	Число наблюдений	Наличие титров и спектра ВЭБ-специфических АТ, характерных для РНГ	
		число случаев	%
Больные РНГ	77	73	95
Больные ДОГШ	171	13	8
Больные сифилисом	32	2	6
Больные туберкулезом	28	0	0
Доноры крови	83	0	0

IgA к ВКА. Примеры серологического ответа на положительный эффект от примененного лечения представлены на рис. 2, А и 2, Б (случаи РНГ590 и РНГ85). Применение у этих больных химиолучевой и лучевой терапии, которая по данным клинического наблюдения в течение соответственно 7 и 12 лет привела к ремиссии, сопровождалась значительным снижением титров АТ ко всем тестируемым антигенам вируса. В случае РНГ590 через 1 год достигнута ремиссия: резорбция опухоли в носоглотке и метастазов в лимфатических узлах (опухоль — 100%; лимфатические узлы — 80%), а затем и полная клиническая ремиссия на протяжении следующих 6 лет (со 2-го по 7-й годы; см. рис. 2, А). В случае РНГ85 ремиссия достигнута также через год. Она длилась на протяжении последующих 11 лет (со 2-го по 12-й годы; см. рис. 2, Б).

Повышение титров АТ к антигенам ВЭБ в период ремиссии или положительного эффекта терапии (в виде уменьшения размеров опухоли и/или метастазов в шейных лимфатических узлах) свидетельствует об угрозе рецидива опухолевого процесса. Часто повышение титров АТ опережает от полугода до 2 лет клиническое проявление рецидива. Динамика титров АТ к ВЭБ у больных при прогрессировании опухолевого процесса отражена на рис. 3, А и 3, Б (случаи РНГ374 и РНГ47). В первом случае через 0,5 года после курса химиолучевой терапии достигнута ремиссия — резорбция опухоли в носоглотке и метастазов в лимфатических узлах (опухоль — 80%; лимфатические узлы — 50%). Через 1 год отмечен рецидив опухоли в носоглотке, в лимфатических узлах — стабилизация, проведен курс полихимиотерапии (ПХТ); со 2-го по 5-й год достигнута ремиссия (опухоль — 100%; лимфатические узлы — 80%), через 6 лет снова рецидив опухоли в носоглотке, проведен курс ПХТ; с 7-го по 8-й год — клиническая ремиссия (см. рис. 3, А). Во втором случае через 6 мес после химиолучевой терапии отмечен продолженный рост опухоли в носоглотке, проведен курс ПХТ, через 9 мес достигнута клиническая ремиссия (опухоль — 80%; лимфатические узлы — 50%), через 22 мес — рецидив опухоли в носоглотке, вновь курс ПХТ и через 26 мес — клиническая ремиссия (см. рис. 3, Б).

Из представленных данных следует, что химиолучевая терапия, проведенная у этих больных, оказывала лишь частичный эффект, сопровождаемый временным снижением уровня антивирусных АТ, последующий его резкий подъем указывал на дальнейшее прогрессирование заболевания.

Нарастание титров АТ к антигенам ВЭБ или их стабилизация после терапии свидетельствует об отсутствии лечебного эффекта. Подобная картина гуморального ответа у больных с прогрессированием опухолевого процесса отображена на рис. 4, А и 4, Б (случаи РНГ625 и РНГ49). Из представленных графиков видно, что титры АТ ко всем антигенам вируса, несмотря на проведенную терапию, постепенно нарастали, косвенно отражая прогрессирование опухолевого процесса: в случае РНГ625 через 3 мес после химиолучевой терапии отмечен продолженный рост опухоли в носоглотку и проведен курс ПХТ, через 8 мес достигнута клиническая ремиссия (опухоль — 80%; лимфатические узлы — 80%), но через 17 мес вновь развился рецидив опухоли в носоглотке, проведен курс ПХТ (см. рис. 4, А). В случае РНГ49 клиническая ремиссия достигнута через 0,5—1 год после химиолучевой терапии: резорбция опухоли в носоглотке и метастазов в лимфатических узлах (опухоль — 100%; лимфатические узлы — 80%), через 2—2,5 года развился рецидив опухоли в носоглотке, по поводу чего проведен курс ПХТ (см. рис. 4, Б).

У больных в предтерминальной и терминальной стадиях болезни с тяжелым поражением клеточного и гуморального иммунитета титры специфических для вируса АТ имели тенденцию к резкому падению. Примером

Таблица 3  
Гуморальный ответ больных РНГ к ВЭБ в зависимости от степени распространенности опухолевого процесса<sup>а</sup>

Характеристика опухоли	Число наблюдений	АТ класса IgG к		АТ класса IgA к
		ВКА	РА	ВКА
T1	2	905	57	40
T2	9	1010	64	25
T3	26	1345	102	66
T4	28	881	132	49
N0	13	580	45	40
N1	22	1128	139	74
N2	18	2100	145	88
N3	11	905	113	22

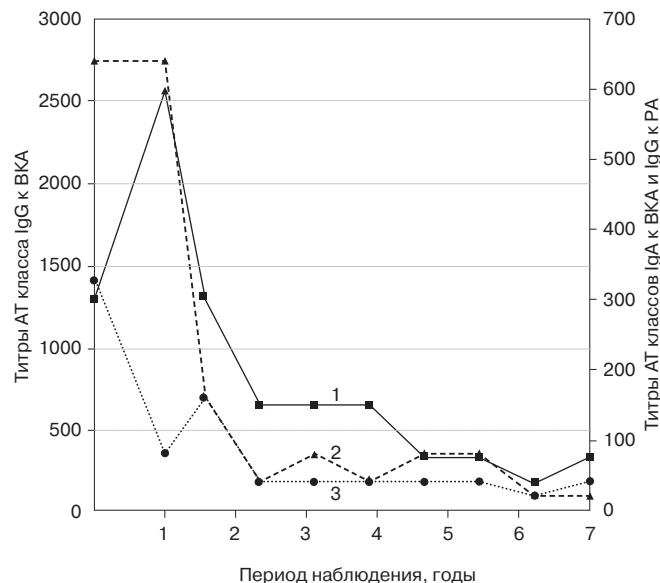
<sup>а</sup> Представлены СГЗ титров АТ.



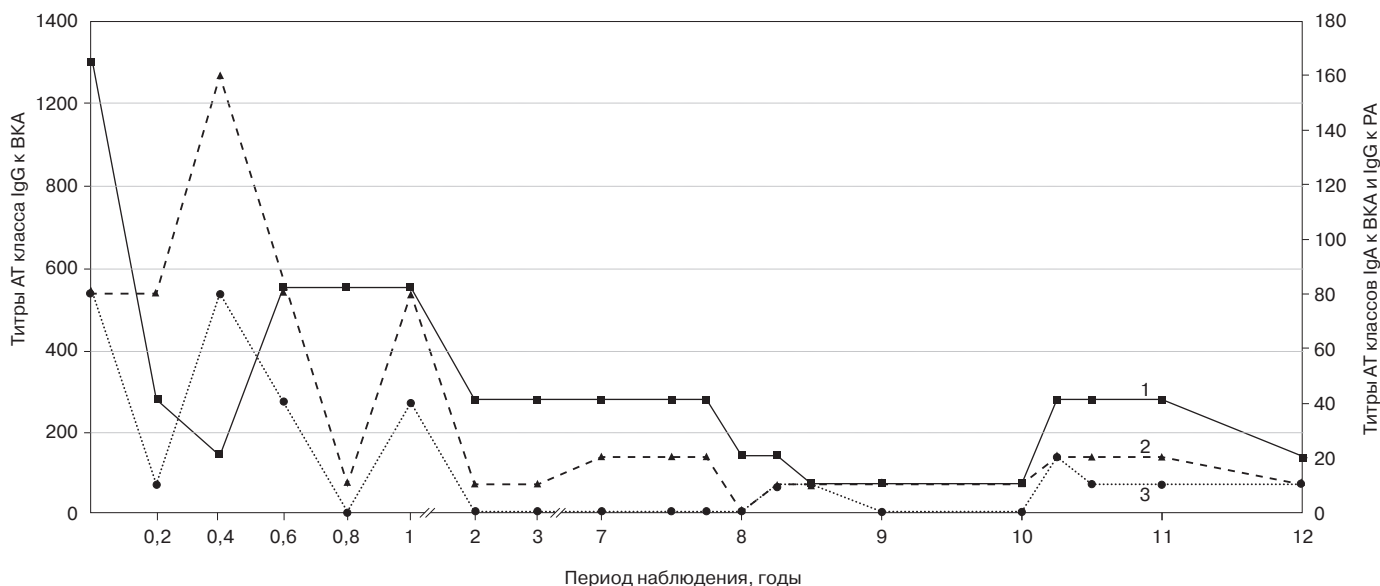
гуморального ответа к ВЭБ при агрессивно протекающем заболевании, завершившемся летальным исходом, несмотря на последовательное проведение лучевой и химиолучевой терапии, можно было наблюдать у больного РНГ97 (рис. 5): через 3 мес после курса химиолучевой терапии отмечен продолженный рост опухоли в носоглотку, по поводу чего проведен курс ПХТ, и через 5 мес достигнута клиническая ремиссия (опухоль — 80%; лимфатические узлы — 50%); через 8 мес выявлены метастазы в плечевой кости, проведена химиолучевая терапия; через 9 мес обнаружены метастазы в головном

мозге и вновь проведена химиолучевая терапия, однако через 10 мес больной умер от прогрессирования основного заболевания. Исходно высокие титры АТ, особенно АТ класса IgG к ВКА и РА, за несколько месяцев до выявления метастазов в плечевой кости и в головном мозге подверглись резкому снижению, предварив летальный исход на 10-м месяце наблюдения за больным.

Клинические наблюдения позволили выявить, что если локализация опухоли ограничивается носоглоткой, то прогноз для больного более благоприятный, чем при ее распространенной форме, при которой в опухолевый



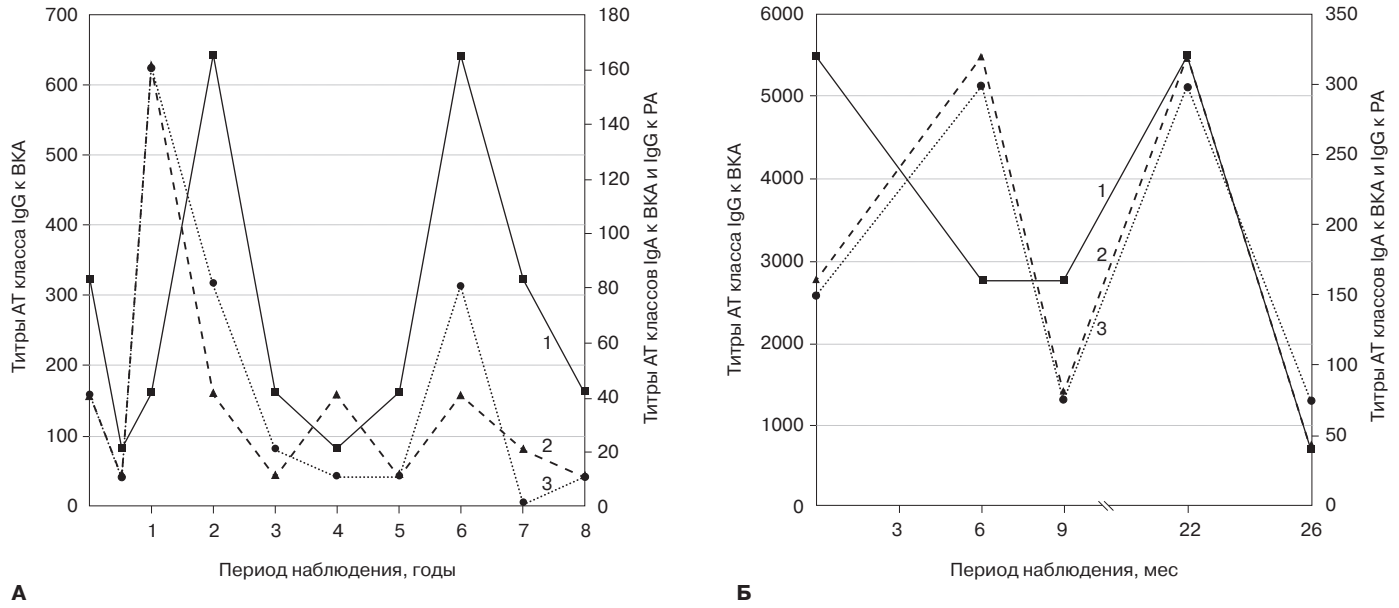
**А**



**Б**

**Рисунок 2. Динамика титров АТ к ВЭБ у больных РНГ в состоянии длительной ремиссии опухолевого процесса.** 1 — титры АТ класса IgG к ВКА; 2 — титры АТ класса IgG к РА; 3 — титры АТ класса IgA к ВКА.

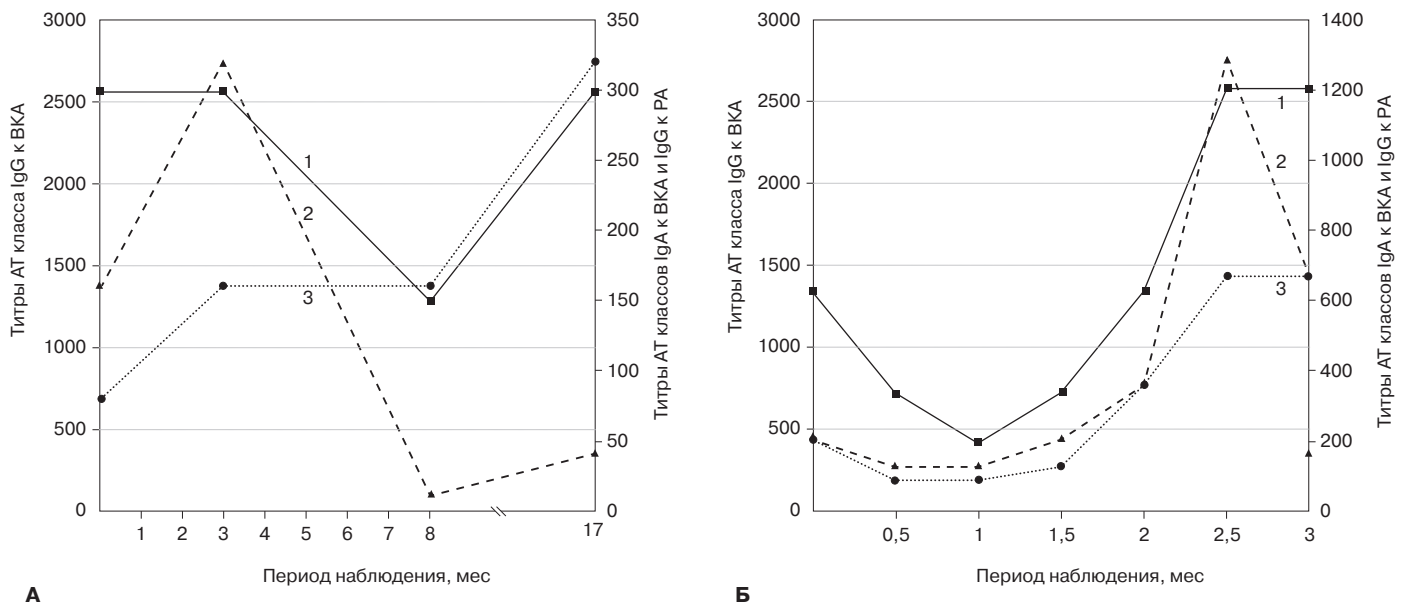
**А.** Больной Т., 28 лет (РНГ590): ремиссия опухолевого процесса в течение 7-летнего наблюдения; клинический статус при поступлении Т2N1M0, II стадия. **Б.** Больной М., 67 лет (РНГ85): ремиссия опухолевого процесса в течение 12-летнего наблюдения. Клинический статус при поступлении: Т3N1M0, III стадия.



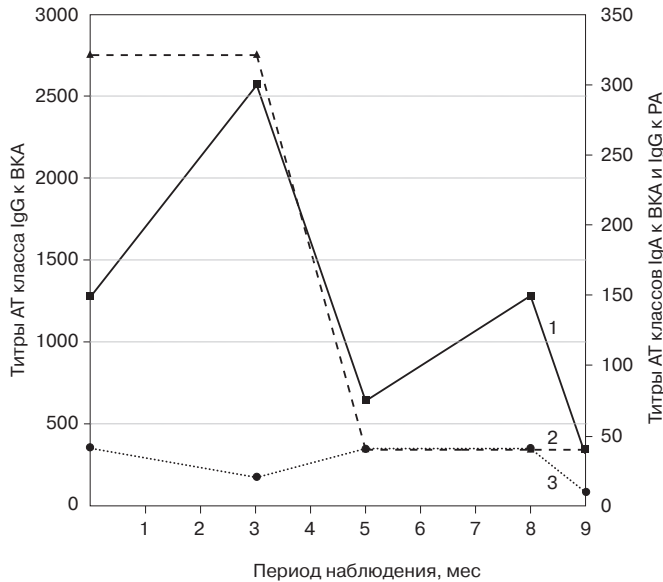
**Рисунок 3. Динамика титров АТ к ВЭБ у больных РНГ с чередующимися ремиссиями и рецидивами опухолевого процесса.** 1 — титры АТ класса IgG к ВКА; 2 — титры АТ класса IgG к РА; 3 — титры АТ класса IgA к ВКА.  
**А.** Больной Я., 41 года (РНГ374); клинический статус при поступлении: T4N3M0, IV стадия. **Б.** Больная К., 26 лет (РНГ47); клинический статус при поступлении: T3N1M0, IV стадия.

процесс вовлечены окружающие мягкие ткани, кости, лимфатические узлы и имеются метастазы в отдаленных органах [23]. Однако клиническое проявление болезни в результате ее длительного бессимптомного течения и анатомо-топографических особенностей носоглотки, а также несовершенства традиционных, широко применяемых диагностических тестов существенно запаздывает.

Об этом свидетельствует то, что 70—80% больных поступают в стационар для лечения уже на III—IV стадии болезни [20; 24]. Особенно трудны для диагностики случаи нРНГ, при которых опухоль в носоглотке эндоскопически не выявляется и проявление заболевания ограничивается лишь увеличением шейных лимфатических узлов. В этой ситуации необходимы дополнительные методы



**Рисунок 4. Динамика титров АТ к ВЭБ у больных РНГ в состоянии рецидива опухолевого процесса.** 1 — титры АТ класса IgG к ВКА; 2 — титры АТ класса IgG к РА; 3 — титры АТ класса IgA к ВКА.  
**А.** Больная К., 50 лет (РНГ49); клинический статус при поступлении: T3N1M0, III стадия. **Б.** Больной Г., 27 лет (РНГ 625); клинический статус при поступлении: T4N2M0, IV стадия.



**Рисунок 5.** Динамика титров АТ к ВЭБ у больного РНГ при прогрессировании опухолевого процесса, приведшего к летальному исходу. Больной П. 34 лет (РНГ97); клинический статус при поступлении: T4N3M0, IV стадия. 1 — титры АТ класса IgG к ВКА; 2 — титры АТ класса IgG к ПА; 3 — титры АТ класса IgA к ВКА.

исследования, способствующие более раннему выявлению болезни. Таким методом стал серологический тест на наличие в сыворотке крови больных диагностических титров, специфических для ВЭБ АТ. В наших многолетних исследованиях иммунный ответ к ВЭБ был изучен у 177 больных с увеличенными шейными лимфатическими узлами в отсутствие опухоли в носоглотке при эндоскопическом исследовании. Из указанного числа больных у 97 (54,8%) обнаружены диагностические для нРНГ титры АТ к ВЭБ. В этих случаях серологический диагноз нРНГ нуждался в морфологическом подтверждении, которое оказалось возможным при дополнительном углубленном эндоскопическом исследовании.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что при динамическом наблюдении за опухолевым процессом у больных РНГ наиболее информативными являются АТ класса IgA к ВКА ВЭБ. У здоровых лиц этой специфичности обнаруживаются редко — в 2—10% случаев, в то время как у больных РНГ — в 90% случаев. Чувствительность и специфичность АТ класса IgA к ВКА для диагностики РНГ, по данным других авторов, составили 90 и 89,5% соответственно [18], что практически совпадает с результатами наших исследований. О диагностической ценности АТ класса IgA к ВКА свидетельствует и то, что скрининговое обследование для выявления этих специфических для вируса АТ в разведениях  $\geq 1 : 10$ , проведенное среди здоровой популяции в эндемичных по РНГ регионах (Китай, Гонг-Конг), позволило выявлять больных с опухолями до клинического проявления болезни. При этом повышенные титры указанных АТ к ВЭБ у этих лиц были обнаружены и поддерживались на высоком уровне часто

за 10 лет до установления диагноза [20], что явилось залогом эффективности терапевтических мероприятий.

Дискуссия о типе клеток, в которых персистирует ВЭБ (а именно об эпителиальных клетках носоглотки или В-клетках), позволила прийти к выводу о том, что основным резервуаром вируса в организме человека являются покоящиеся В-клетки памяти, которые являются объектом первичной инфекции этим вирусом [25; 26]. И хотя репликация ВЭБ четко определяется в поверхностных слоях эпителия волосатоклеточной лейкоплакии, поражения языка у больных со СПИДом, доказательства наличия персистирующей латентной инфекции при этой патологии отсутствуют [27]. Возникает вопрос, как и когда происходит заражение эпителиальных клеток носоглотки в процессе патогенеза РНГ. В результате исследований ВЭБ не был обнаружен ни в нормальных эпителиальных клетках носоглотки, ни в клетках, прилежащих к ВЭБ-позитивным опухолям этой анатомической области [28; 29].

В то же время наличие ВЭБ было доказано в носоглоточных карциномах *in situ*, которые предшествуют возникновению РНГ [30]. Совокупность результатов проведенных исследований позволяет предположить, что инфицирование эпителиальных клеток носоглотки ВЭБ происходит до начала инвазивного роста, но, скорее всего, не является первым этапом в патогенезе РНГ. Данное предположение поддерживается и результатами работ, проведенных *in vitro*. Они показали, что инфицирование ВЭБ эпителиальных клеток возможно только в случае, если клетки приобретают недифференцированный фенотип [31]. Таким образом, напрашивается вывод о том, что эпителиальные клетки могут становиться чувствительными к инфицированию ВЭБ, приобретая недифференцированный фенотип в результате воздействия на них факторов окружающей среды. Примером таких факторов могут служить нитрозамины, содержащиеся в соленой рыбе, которую с детских лет употребляют в Китае, канцерогенные вещества, входящие в состав табачного дыма, при курении, а также онкогенные варианты вирусов папилломы человека, попадающие в ротовую полость главным образом при орально-генитальных контактах [32—35].

Еще одна тема, которая до сих пор активно обсуждается, — механизм, с помощью которого вирус проникает в эпителиальную клетку. Рецептор, способствующий инфицированию В-клеток ВЭБ, CD-21, в эпителиальных клетках человека *in vivo* не экспрессируется [36], хотя в опытах *in vitro* низкая степень экспрессии CD-21 была все же зарегистрирована рядом исследователей [37; 38]. При этом показано, что заражение эпителиальных клеток происходит эффективно лишь при прямом контакте (слиянии) с инфицированными вирусом В-клетками [39]. Присутствие в слизистой оболочке носоглотки лимфоцитов, продуцирующих ВЭБ в результате литической инфекции, действительно предполагает возможность реализации механизма заражения этим вирусом эпителиальных клеток *in vivo* [29].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты наших исследований показали, что развитие нРНГ у больных в России и странах бывшего СССР,

как и в эндемичных регионах, сопровождается выработкой АТ к ВЭБ в высоких титрах. Это может быть использовано в качестве важного серологического маркера для диагностики нРНГ. По нашим данным, высокую диагностическую ценность имеют АТ к ВКА классов IgG и IgA и АТ класса IgG к РА вируса. Решающее правило, полученное на основе многофакторного анализа этих 3 маркеров серологического ответа к ВЭБ, позволило нам диагностировать нРНГ с достоверностью 90%. Динамическое наблюдение за титрами и спектром АТ, специфических для ВЭБ, позволяло также следить за клиническими проявлениями болезни и служить прогностическим фактором. Высокие титры АТ или их повышение свидетельствовали о прогрессировании заболевания, их снижение после лечения — о ремиссии патологического процесса.

Ввиду клинической особенности РНГ — раннего метастазирования в лимфатические узлы шеи без визуально и часто эндоскопически выявляемой патологии в носоглотке — диагностика этого новообразования часто бывает затруднена или ошибочна. С развитием в последние годы молекулярной диагностики, особенно с применением количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, а также метода определения концентрации вирусной ДНК в плазме крови больных методом ПЦР в реальном времени, стало доступно большее число показателей для обнаружения АТ и антигенов, специфических для ВЭБ, которые могут быть использованы в качестве маркеров для диагностики и терапии РНГ [40—42].

Исследования, однако, показали, что не все из этих маркеров обладают достаточной диагностической чувствительностью и точностью, не говоря уже о непростых условиях широкого применения этих методов в клинике. Клиницисты же нуждаются в технически доступном, простом и надежном подходе к диагностике и дифференциальной диагностике нРНГ. В этом плане тест на серологические маркеры ВЭБ, определяющий титры и спектр АТ к комплексу антигенов литической инфекции вируса, может стать незаменимым дополнительным методом, существенно расширяющим стандартные подходы к диагностике и мониторингу нРНГ. Наш 30-летний опыт серологической диагностики этой патологии, полученный на базе клинических отделений РОНЦ им. Н. Н. Блохина, свидетельствует в пользу такого заключения.

*Работа поддержана грантом РФФИ (проект №10-04-00060а).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. The extent of genetic diversity of Epstein-Barr virus and its geographic and disease patterns: a need for reappraisal / Chang C. M., Yu K. J., Mbulaiteye S. M., Hildesheim A., Bhatia K. // *Virus Res.* — 2009. — Vol. 143. — P. 209—221.
2. Cho W. C. Nasopharyngeal carcinoma: molecular biomarker discovery and progress // *Mol. Cancer.* — 2007. — Vol. 6. — P. 1—9.
3. Li J., Qian C. N., Zeng Y. X. Regulatory T cells and EBV associated malignancies // *Int. Immunopharmacol.* — 2009. — Vol. 9. — P. 590—592.
4. HLA associations with nasopharyngeal carcinoma / Li X., Fasano R., Wang E., Yao K. T., Marincola F. M. // *Curr. Mol. Med.* — 2009. — Vol. 9. — P. 751—765.
5. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ // *Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.* — 2008. — Т 19, №2 (прил. 1).

6. Nasopharyngeal carcinoma in Alaskan Eskimos Indians, and Aleuts: a review of cases and study of Epstein-Barr virus, HLA, and environmental risk factors / Lanier A., Bender T., Talbot M., Wilmet S., Tschopp C., Henle W., Henle G., Ritter D., Terasaki P. // *Cancer* — 1980. — Vol. 46. — P. 2100—2106.
7. Yu M. C. Nasopharyngeal carcinoma: epidemiology and dietary factors // *IARC Sci. Publ.* — 1991. — Vol. 105. — P. 39—47.
8. Yu M. C., Yuan J. M. Epidemiology of nasopharyngeal carcinoma // *Semin. Cancer Biol.* — 2002. — Vol. 12. — P. 421—429.
9. Pathology and genetics head and neck tumors / Barnes L., Eveson J. W., Reichart P., Sidransky D. (ed.) — Lyon: IARC Press, 2005.
10. Brennan B. Nasopharyngeal carcinoma // *Orphanet. J. Rare Dis.* — 2006. — Vol. 1. — P. 23—28.
11. Epstein-Barr virus carriage by nasopharyngeal carcinoma in situ // Yeung W. M., Zong Y. S., Chiu C. T., Chan K. H., Sham J. S., Choy D. T., Ng M. H. // *Int. J. Cancer.* — 1993. — Vol. 53. — P. 746—750.
12. Epstein-Barr viral serology in nasopharyngeal carcinoma patients in the USSR and Cuba, and its value for differential diagnosis of the disease // Ustevitch V., Ruiz R., Stepina V., Plachov I., Le Riverend E., Glazkova T., Lavoue M. F., Paches A., Aliev B., Mazurenko N. // *Int. J. Cancer.* — 1986. — Vol. 37. — P. 375—381.
13. Niedobitek G. Epstein-Barr virus infection in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma // *Mol. Pathol.* — 2000. — Vol. 53. — P. 248—254.
14. Ho H. C., Ng M. H., Kwan H. C. Factors affecting serum IgA antibody to Epstein-Barr viral capsid antigens in nasopharyngeal carcinoma // *Br. J. Cancer.* — 1978. — Vol. 37. — P. 356—362.
15. Expression of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces B cell lymphoma in transgenic mice / Kulwichit W., Edwards R. H., Davenport E. M., Baskar J. F., Godfrey V., Raab-Traub N. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 1998. — Vol. 95. — P. 11 963—11 968.
16. Evans A. S. Clinical syndromes associated with EB virus infection // *Adv. Intern. Med.* — 1972. — Vol. 18. — P. 77—93.
17. Epstein-Barr virus (EBV) infection in infectious mononucleosis: virus latency, replication and phenotype of EBV-infected cells / Niedobitek G., Agathangelou A., Herbst H., Whitehead L., Wright D. H., Young L. S. // *J. Pathol.* — 1997. — Vol. 182. — P. 151—159.
18. Combined determination of Epstein-Barr virus-related antibodies and antigens for diagnosis of nasopharyngeal carcinoma / Luo Y. L., Ou G. P., Chi P. D., Liang Y. N., Liu Y. H., Huang M. Y. // *Ai. Zheng.* — 2009. — Vol. 28. — P. 76—78.
19. Diagnostic value of Epstein-Barr virus capsid antigen-IgA in nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis // Li S., Deng Y., Li X., Chen Q. P., Liao X. C., Qin X. // *Chin. Med. J. (Engl.).* — 2010. — Vol. 123. — P. 1201—1205.
20. Detection of Stage I nasopharyngeal carcinoma by serologic screening and clinical examination / Ji M. F., Yu Y. L., Cheng W. M., Zong Y. S., Ng P. S., Chua D. T., Ng M. H. // *Chin. J. Cancer.* — 2011. — Vol. 30. — P. 120—123.
21. Clinical values of multiple Epstein-Barr virus (EBV) serological biomarkers detected by xMAP technology / Gu A. D., Lu L. X., Xie Y. B., Chen L. Z., Feng Q. S., Kang T., Jia W. H., Zeng Y. X. // *J. Transl. Med.* — 2009. — Vol. 7. — P. 73—81.
22. Epstein-Barr virus detection in nasopharyngeal carcinoma: implications in a low-risk area // Breda E., Catarino R. J., Azevedo I., Lobao M., Monteiro E., Medeiros R. // *Braz. J. Otorhinolaryngol.* — 2010. — Vol. 76. — P. 310—315.
23. Prognostic value of paranasopharyngeal extension of nasopharyngeal carcinoma. A significant factor in local control and distant metastasis / Chua D. T., Sham J. S., Kwong D. L., Choy D. T., Au G. K., Wu P. M. // *Cancer.* — 1996. — Vol. 78. — P. 202—210.
24. Современная диагностика рака носоглотки / Белоусова Н. В., Поддубный Б. К., Унгиадзе Г. В., Кондратьева Т. Т., Архипов В. В., Пробатова Н. А., Гурцевич В. Э., Степина В. Н., Щербак Л. Н., Михайлова Н. А., Новикова Е. В. // *Современ. онкол.* — 2000. — Т. 2. — № 3. — С. 78—82.
25. Niedobitek G., Young L. S. Epstein-Barr virus persistence and virus-associated tumours // *Lancet.* — 1994. — Vol. 343. — P. 333—335.
26. Thorley-Lawson D. A., Miyashita E. M., Khan G. Epstein-Barr virus and the B cell: that's all it takes // *Trends Microbiol.* — 1996. — Vol. 4. — P. 204—208.
27. Epstein-Barr virus infection in oral hairy leukoplakia: virus replication in the absence of a detectable latent phase / Niedobitek G.,

Young L. S., Lau R., Brooks L., Greenspan D., Greenspan J. S., Rickinson A. B. // J. Gen. Virol. — 1991. — Vol. 72. — P. 3035—3046.

28. Analysis of Epstein-Barr virus infection in nasopharyngeal biopsies from a group at high risk of nasopharyngeal carcinoma / Sam C. K., Brooks L. A., Niedobitek G., Young L. S., Prasad U., Rickinson A. B. // Int. J. Cancer. — 1993. — Vol. 53. — P. 957—962.

29. Evidence for lytic infection by Epstein-Barr virus in mucosal lymphocytes instead of nasopharyngeal epithelial cells in normal individuals / Tao Q., Srivastava G., Chan A. C., Chung L. P., Loke S. L., Ho F. C. // J. Med. Virol. — 1995. — Vol. 45. — P. 71—77.

30. Clonal proliferations of cells infected with Epstein-Barr virus in preinvasive lesions related to nasopharyngeal carcinoma / Pathmanathan R., Prasad U., Sadler R., Flynn K., Raab-Traub N. // N. Engl. J. Med. — 1995. — Vol. 333. — P. 693—698.

31. In vitro production of stable Epstein-Barr virus-positive epithelial cell clones which resemble the virus:cell interaction observed in nasopharyngeal carcinoma / Knox P. G., Li Q. X., Rickinson A. B., Young L. S. // Virology. — 1996. — Vol. 215. — P. 40—50.

32. Mass spectrometric identification of a phorbol diester 12-O-hexadecanoylphorbol-13-acetate, an Epstein-Barr virus-activating substance, in the soil collected from under *Sapium sebiferum* / Takeda N., Ohigashi H., Hirai N., Koshimizu K., Suzuki M., Tatematsu A., Osato T., Mizuno F. // Cancer Lett. — 1991. — Vol. 59. — P. 153—158.

33. Liebowitz D. Nasopharyngeal carcinoma: the Epstein-Barr virus association // Semin. Oncol. — 1994. — Vol. 21. — P. 376—381.

34. Role of the RARRES1 gene in nasopharyngeal carcinoma / Kwok W. K., Pang J. C., Lo K. W., Ng H. K. // Cancer Genet. Cytogenet. — 2009. — Vol. 194. — P. 58—64.

35. Enhancive effect of N,N'-dinitrosopiperazine on inducing precancerous lesion on nasal and/or nasopharyngeal epithelia of TgN(p53mt-

LMP1)/HT mice / Tian D. F., He Y. C., Lu F. G., Tang F. Q. // J. Zhejiang Univ. Sci. B. — 2009. — Vol. 10. — P. 172—179.

36. Identification of a human epithelial cell surface protein sharing an epitope with the C3d/Epstein-Barr virus receptor molecule of B lymphocytes / Young L. S., Dawson C. W., Brown K. W., Rickinson A. B. // Int. J. Cancer. — 1989. — Vol. 43. — P. 786—794.

37. Characterization of an Epstein-Barr virus receptor on human epithelial cells / Birkenbach M., Tong X., Bradbury L. E., Tedder T. F., Kieff E. J. // Exp. Med. — 1992. — Vol. 176. — P. 1405—1414.

38. Epstein-Barr virus infection and replication in a human epithelial cell system / Li Q. X., Young L. S., Niedobitek G., Dawson C. W., Birkenbach M., Wang F., Rickinson A. B. // Nature. — 1992. — Vol. 356. — P. 347—350.

39. Bayliss G. J., Wolf H. Epstein-Barr virus-induced cell fusion // Nature. — 1980. — Vol. 287. — P. 164—165.

40. Quantitative analysis of aberrant p16 methylation using real-time quantitative methylation-specific polymerase chain reaction / Lo Y. M., Wong I. H., Zhang J., Tein M. S., Ng M. H., Hjelm N. M. // Cancer Res. — 1999. — Vol. 59. — P. 3899—3903.

41. Tan E. L., Looi L. M., Sam C. K. Evaluation of plasma Epstein-Barr virus DNA load as a prognostic marker for nasopharyngeal carcinoma // Singapore Med. J. — 2006. — Vol. 47. — P. 803—807.

42. Plasma EBV DNA clearance rate as a novel prognostic marker for metastatic recurrent nasopharyngeal carcinoma / Wang F. H., Twu C. W., Chen H. Y., Jan J. S., Jiang R. S., Chao J. Y., Liang K. L., Chen K. W., Wu C. T., Lin J. C. // Clin. Cancer Res. — 2010. — Vol. 16. — P. 1016—1024.

Поступила 20.03.2011

*Vladimir Eduardovich Gurtsevich<sup>1</sup>, Vera Nikolayevna Stepina<sup>2</sup>,  
Natalia Borisovna Senyuta<sup>3</sup>, Elena Vasilievna Goncharova<sup>4</sup>,  
Liana Nodarovna Scherbak<sup>5</sup>, Tatiana Egorovna Dushenkina<sup>6</sup>,  
Irina Anatolievna Repkina<sup>7</sup>, Nina Vasilievna Belousova<sup>8</sup>,  
Tatiana Tikhonovna Kondratyeva<sup>9</sup>, Sevil Bagaturovna Aliyeva<sup>10</sup>,  
Azer Aliyevich Akhundov<sup>11</sup>, Evgeniy Grigoryevich Matyakin<sup>12</sup>,  
Boris Konstantinovich Poddubny<sup>13</sup>, Natalia Alexandrovna Probatova<sup>14</sup>,  
Alexander Ilyich Paches<sup>15</sup>*

## HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO EPSTEIN—BARR VIRUS IN THE DIAGNOSIS OF NASOPHARYNGEAL CARCINOMA (LITERATURE REVIEW AND 30-YEAR AUTHORS' OWN EXPERIENCE)

<sup>1</sup> MD, PhD, DSc, Professor, RF Honored Scientist, Head, Viral Carcinogenesis Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>2</sup> MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Viral Carcinogenesis Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>3</sup> MD, PhD, Leading Researcher, Viral Carcinogenesis Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>4</sup> MD, PhD, Researcher, Viral Carcinogenesis Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>5</sup> MD, PhD, Researcher, Viral Carcinogenesis Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>6</sup> Leading Engineer, Viral Carcinogenesis Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>7</sup> Leading Engineer, Viral Carcinogenesis Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

- <sup>8</sup> MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Professor, Endoscopy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)
- <sup>9</sup> MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Professor, Clinical Cytology Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)
- <sup>10</sup> MD, PhD, Senior Researcher, Radiology Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)
- <sup>11</sup> MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Surgery No. 11 (Upper Respiratory and Digestive Tract Tumors) Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)
- <sup>12</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Head, Surgery No. 11 (Upper Respiratory and Digestive Tract Tumors) Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)
- <sup>13</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Head, Endoscopy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)
- <sup>14</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher, Pathology Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)
- <sup>15</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher, Surgery No. 4 (Head and Neck Tumor) Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

Address for correspondence: Gurtsevich Vladimir Eduardovich, Viral Carcinogenesis Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478; e-mail: vladgurtsevich@yahoo.com

This is a summary of many-year efficacy study in serologic diagnosis of nasopharyngeal carcinoma by indirect immunofluorescence using titers and spectra of antibodies to Epstein—Barr lytic infection virus proteins. Sera/plasmas from 648 patients with clinically and histologically verified nasopharyngeal carcinoma, 177 patients with cervical lymph node enlargement with unknown primary tumors and 171 patients with other head and neck tumors were analyzed. IgG antibodies to capsid and early viral antigens and IgA antibodies to capsid viral antigen are shown to have a high informative value for the diagnosis and differentiation of undifferentiated nasopharyngeal carcinoma. The solution rule developed on the basis of integral analysis of these markers is effective in detection of the undifferentiated carcinoma in non-endemic regions (Russia and former USSR republics) with a 90% significance.

**Key words:** Epstein—Barr virus, nasopharyngeal carcinoma, indirect immunofluorescence, capsid and early virus antigens, diagnosis, differential diagnosis.

---

**Сергей Яковлевич Проскуряков<sup>1</sup>, Ольга Николаевна Матчук<sup>2</sup>,  
Ирина Александровна Замулаева<sup>3</sup>**

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ПОДХОДОВ К ЛЕЧЕНИЮ МЕЛАНОМЫ

<sup>1</sup> Д. б. н., заведующий, лаборатория радиационной фармакологии  
ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России (249036, РФ, г. Обнинск, ул. Королева, г. 4)

<sup>2</sup> Научный сотрудник, лаборатория радиационной биохимии  
ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России (249036, РФ, г. Обнинск, ул. Королева, г. 4)

<sup>3</sup> Профессор, г. б. н., заведующая, лаборатория пострадиационного восстановления  
ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России (249036, РФ, г. Обнинск, ул. Королева, г. 4)

Адрес для переписки: 249036, РФ, г. Обнинск, ул. Королева, д. 4,  
ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России, лаборатория пострадиационного восстановления,  
Замулаева Ирина Александровна; e-mail: zamulaeva@mail.ru

В обзоре представлены данные о вошедших в клиническую практику антимеланомных средствах и перспективных разработках, в которых использованы как биохимические особенности данной опухоли, так и ее иммуногенные свойства. Обсуждается значение «опухолевых стволовых клеток» и «клеток, инициирующих опухоль в иммунодефицитных мышах», биохимической и функциональной гетерогенности меланомы и ее роль в системной антимеланомной терапии.

**Ключевые слова:** химиотерапевтические препараты, специфические сигнальные пути, активация антимеланомного иммунитета, опухолевые стволовые клетки.

Из трех основных форм злокачественных опухолей кожи злокачественная меланома представляет собой особо опасное заболевание вследствие высокого риска смертельного исхода. Хотя хирургическое лечение больных на ранней стадии позволяет достичь более 90% 5-летней выживаемости, результаты лечения метастатической меланомы остаются неудовлетворительными. К настоящему времени проведено почти 1000 клинических испытаний [<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/melanoma.html>], направленных на улучшение диагностики и эффективности терапии этого заболевания. Несмотря на это, при вовлечении в процесс регионарных лимфатических узлов около 60% пациентов со злокачественной меланомой умирают от прогрессирования заболевания, а при наличии отдаленных метастазов 5-летняя выживаемость составляет не более 5% [1]. Высокая резистентность опухолевых клеток к препаратам системного действия, применяющимся в настоящее время для адъювантной терапии у больных с высоким риском рецидива заболевания и при лечении диссеминированных стадий, обуславливает необходимость поиска новых антимеланомных препаратов. Поэтому в настоящее время широко развернуты исследования, нацеленные на модификацию специфических молекулярных, биохимических и иммунологических характеристик меланомы. При этом отме-

чается необходимость поиска эффективных воздействий на популяцию опухолевых стволовых клеток.

### О ГИПОТЕЗЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ И ЕЕ РОЛИ В ВЫБОРЕ МИШЕНЕЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ

Меланомы, как и другие злокачественные новообразования, характеризующиеся значительной морфофункциональной гетерогенностью, состоят из субпопуляций клеток, которые могут по-разному отвечать на противоопухолевые воздействия [2—6]. Указанная гетерогенность регистрируется в условиях не только *in vivo* (что является, например, результатом различного уровня оксигенации в разных участках опухоли), но и *in vitro* (как следствие внутренней гетерогенности опухолевых клеток). Для объяснения внутренней гетерогенности предложены конкурирующие модели опухолевых стволовых клеток (ОСК) и клональной эволюции. Недавно были предприняты попытки объединения этих моделей [7; 8]. Несмотря на общепринятое представление о том, что гетерогенность опухолевых клеток является важным фактором, способным существенно влиять на эффективность лечения, при разработке новых противоопухолевых препаратов /воздействий внутренняя гетерогенность практически не учитывается, за редким исключением [9].

В соответствии с определением Американской ассоциации раковых исследований [10], ОСК — это клетка внутри опухоли, которая обладает способностью к само-

обновлению и производит фенотипически гетерогенные линии опухолевых клеток, которые и составляют опухоль. В последние годы активно развивается представление о том, что ОСК представлены в опухоли с очень низкой частотой и являются единственными клетками, способными поддерживать рост опухоли. Гипотеза ОСК, сохраняющая свою жизнеспособность в течение последних 15 лет, аргументируется в основном тем, что опухолевые клетки не одинаковы по способности восстанавливать рост исходной опухоли при трансплантации иммунодефицитным мышам [11]. В первоначальном виде в этом предположении утверждалось, что ОСК представляют собой мутировавший вариант нормальных стволовых клеток соответствующей ткани. Такие клетки живут в течение длительного времени и поэтому, весьма вероятно, могут накапливать достаточное для злокачественной трансформации число генетических изменений. Впоследствии появились данные в поддержку другого предположения о том, что ОСК не обязательно происходят из клеток стволового типа.

Если гипотеза ОСК справедлива в отношении меланомы, то выяснение биологических особенностей этих клеток может иметь ключевое значение для разработки новых, более эффективных методов лечения данного заболевания. Однако до сих пор не существует согласованного протокола для выявления стволовых клеток меланомы (ОСК-м), как, впрочем, и ОСК других злокачественных новообразований. При этом признается, что «золотым стандартом» для ретроспективного определения количества ОСК человека (в том числе ОСК-м) является серийная ксенотрансплантация в организм мышей с тяжелым иммунодефицитом, а для ОСК лабораторных животных — сингенная трансплантация [10]. Именно такой подход позволяет доказать наличие всех указанных выше признаков ОСК. Попытки по трансплантации разного количества опухолевых клеток позволяют определить частоту так называемых клеток, инициирующих опухоль (tumor-initiating cells), обладающих свойствами ОСК. Ряд авторов подвергают критике этот термин из-за его двусмысленности и предпочитают называть клетки, способные формировать опухоль при трансплантации, туморогенными (tumorigenic cells) или распространяющими опухоль (tumor-propagating cells) [10; 12—16].

Попытки определить частоту появления клеток, инициирующих меланому, привели к противоречивым результатам, которые, в частности, зависели от генотипа использованных иммунодефицитных животных-реципиентов. Так, недавно было показано, что эта частота может быть повышена на несколько порядков при использовании особой линии мышей, а также при введении опухолевых клеток вместе с внеклеточным матриксом (матригелем) и при увеличении продолжительности наблюдения за животными-реципиентами [17]. В цитируемой работе для ксенотрансплантации клеток меланомы от 12 пациентов использовали две линии мышей: NOD/SCID и NOD/SCID IL2R $\gamma^{\text{null}}$ . Последняя линия характеризуется более глубокой иммунодепрессией, обусловленной отсутствием активности NK-клеток. Было установлено, что при культивировании в мышцах NOD/SCID частота клеток, инициирующих опухоль, составляла при-

мерно  $10^{-6}$  при наблюдении за реципиентами в течение 8 нед и  $9 \times 10^{-6}$  при наблюдении в течение 32 нед.

Однако еще более важно, что при трансплантации мышам NOD/SCID IL2R $\gamma^{\text{null}}$  частота образования клеток, инициирующих опухоль, повышалась в 5000 раз, составляя в среднем 1 из 9 (11%) опухолевых клеток, а при трансплантации вместе с матригелем увеличивалась до 25%. При пересадке одиночных клеток меланомы, выделенных из ксенотрансплантатов от 4 пациентов, под кожу мышцей NOD/SCID IL2R $\gamma^{\text{null}}$  от 12 до 65% клеток формировали опухоль. В общей сложности из 254 трансплантированных одиночных клеток было зарегистрировано развитие 69 (27%) опухолей. Полученные данные свидетельствуют о том, что, весьма вероятно, дополнительная модификация метода ксенотрансплантации может еще больше увеличить частоту образования клеток, инициирующих опухоль. Вместе с тем трудно исключить результаты экспериментов, в которых клетки, инициирующие опухоль, на той же модели мышей-реципиентов (NOD/SCID IL2R $\gamma^{\text{null}}$ ), по-прежнему регистрировались с низкой частотой [18].

Опыты по сингенной трансплантации клеток также подтверждают, что клетки, инициирующие меланому, не являются редкими. В этой связи следует упомянуть опубликованные в прошлом году работы двух групп исследователей [13; 19]. Авторы первой работы доказали возможность формирования опухоли у 80% реципиентов (мышей линии C57BL/6) при пересадке всего 10 клеток меланомы B16-F10 внутривенно (при внутривенном или подкожном введении требуется на порядок больше клеток) [19]. В работе [13] были использованы три новые модели мышинной меланомы, полученные с помощью меланоцитспецифической рекомбинации генов, которые, как полагают, играют важную роль в формировании и прогрессировании меланомы (Cdkn2a, PTEN,  $\beta$ -катенин, BRAF). Одиночные клетки из возникших новообразований были способны воспроизводить опухоль у соответствующих животных с высокой вероятностью в зависимости от иммунофенотипа. Так, клетки CD34+ в ряде экспериментов формировали опухоль у всех реципиентов. Подобные результаты были получены также для других солидных опухолей и лейкоза мышей [12; 20—22].

В связи с этим по-прежнему остается нерешенным вопрос о том, являются ли ОСК единственным источником прогрессирования опухоли и ее метастазирования или вместе с ними в этом процессе участвуют и более коммитированные опухолевые клетки, способные к репрограммированию (дедифференцировке), по крайней мере, в экспериментальных исследованиях. Возможно, особенности, характерные для стволовых плюрипотентных клеток [23], не являются необходимым условием для клеток, инициирующих опухоль.

Установлено, что ряд субпопуляций меланомных клеток экспрессируют такие маркерные белки нормальных стволовых и прогениторных клеток, как СТА [24], BMP [25; 26], Notch-рецепторы [27], Wnt [28], нестин, CD133, CD166, CD34, c-kit, ABCB5 [29—44]. В последнее время активно изучается возможность использования ряда перечисленных и некоторых других белков (CD44, CD24, p75 и др.) для идентификации ОСК-м для проспективного исследования этих клеток. В табл. 1 кратко рас-



Таблица 1

## Краткая характеристика трех наиболее исследованных белков как возможных маркеров ОСК-м

Маркер	Источник опухолевых клеток	Доля опухолевых клеток, экспрессирующих маркер	Туморогенный потенциал и другие характеристики	Результаты экспериментов по снижению экспрессии маркера или его связыванию с соответствующими антителами
CD133 (промин-1) — транс-мембранный гликопротеин, экспрессируется недифференцированными клетками, включая эндотелиальные предшественники, гемопозитические стволовые клетки, фетальные стволовые клетки и т. д.	Первичный очаг и метастазы меланомы человека и мыши, стабильные линии меланомы человека и мыши	Около 100% в клеточной линии WM115 [81]. От доли процента до нескольких процентов в клинических образцах и культурах опухолевых клеток человека и мыши [13, 17, 29, 37—39]. Экспрессия обнаружена только у пациентов с метастазами [40]	Клетки, инициирующие опухоль (КИО), обнаружены: • исключительно в популяции CD133+ [38]; • не только среди клеток CD133+, но и среди клеток CD133 [41]; • частота КИО выше в популяции клеток CD133+, чем среди клеток CD133-; • в популяции CD133+ частота КИО может быть выше, быть равной или ниже, чем в популяции клеток CD133 в разных мышинных моделях меланомы [13]; • опухолевый потенциал клеток CD133+ и CD133 не отличается [17]	Снижение скорости роста опухоли, уменьшение миграционной активности опухолевых клеток, снижение метаболизма, снижение способности формировать меланосферы в специфических условиях <i>in vitro</i> [42]
ABC5 (Р-гликопротеин, относящийся к суперсемейству АТФ-связывающих транспортеров)	Первичный очаг и метастазы меланомы человека, а также стабильные линии меланомы человека	От 3 до 13% клеток в 2 стабильных линиях меланомы человека [29, 37]. От 2 до 20% клеток во всех исследованных клинических образцах независимо от метастазирования [16]	Частота КИО была в несколько десятков раз выше в популяции клеток ABC5+, чем среди клеток ABC5 [16]. Клетки ABC5+ были способны восстанавливать гетерогенность опухоли в отличие от ABC5-клеток [16]. Доказана коэкспрессия с CD133, нестином и другими маркерами [3, 14]. Клетки ABC5+ ингибируют IL-2-зависимую активацию Т-лимфоцитов и поддерживают индукцию регуляторных Т-клеток CD4+CD25+FoxP3+ [43]	Ингибирование формирования и роста опухоли [16], значительное увеличение цитотоксического эффекта доксорубина [29]
CD20 (маркер В-клеточной линии дифференцировки)	Первичный очаг и метастазы меланомы человека и мыши, стабильные линии меланомы человека и мыши	Экспрессия не обнаружена в меланоме 7 пациентов [17] и 3 в моделях меланомы мышей [13]. В среднем 0,4% в операционном материале примерно половины больных меланомой [16]. Маркер экспрессируется в опухолях примерно 20% пациентов с метастазами [44]. Маркер экспрессируется частью (10—42%) клеток меланосфер, происходящих лишь из первичных или стабильных линий меланом, и только крайне малая часть (0,06—0,92%) прикреплённых клеток тех же линий экспрессирует этот маркер [44]	Клетки меланосфер, в которых была обнаружена экспрессия CD20, были способны дифференцироваться в адипогенном, хондрогенном, остеогенном направлениях и обладали более высоким опухолевым потенциалом, чем прикреплённые клетки тех же линий или клетки меланосфер, не экспрессирующие этот маркер [44]	Эксперименты не проводились, но предполагается, что использование антител к CD20 может быть эффективным методом воздействия на меланому [81]

смотрены результаты исследования возможных маркеров ОСК-м, наиболее часто встречающихся в литературе. Практически по каждому из приведенных в таблице маркеров получены плохо согласующиеся данные [34].

Такие результаты, естественно, стимулируют появление новых терминов, например «предполагаемые или возможные (putative) клетки, индуцирующие опухоль», для обозначения клеточных субпопуляций, выделенных по экспрессии некоторых маркеров и/или способности ретранспортировать флуоресцентную метку. В целом следует отметить, что подобная ситуация с неизбежностью приводит к необходимости дальнейшего поиска оптимальных сочетаний известных и новых маркеров ОСК-м [14; 35; 36]. Можно полагать, что методы, позволяющие изолировать опухолевые клетки, потенциально способные инициировать меланому, предоставят возможность выявлять в таких клетках молекулярные мишени для более эффективной терапии столь злокачественной опухоли.

### ИНГИБИТОРЫ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ

В 40—60% меланом зарегистрированы мутации генов *NRAS* и *BRAF*, вызывающие активацию соответствующих сигнальных путей, которые представляются перспективными в качестве мишеней для фармакологического воздействия [45; 46]. К препаратам, ингибирующим сигнальный путь *RAS/RAF/MEK*, можно отнести сорафениб (sorafenib), танеспимицин (tanespimycin), *RAF265* и др.

Второе рождение (II фаза клинических испытаний у пациентов с метастатической меланомой) переживает препарат талидомид. Он вызывает целый ряд биохимических эффектов, опосредующих подавление роста опухоли: ингибирование экспрессии *TNF- $\alpha$* , подавление ангиогенеза, увеличение уровня *IFN- $\gamma$* , ингибирование функций *IL-6* и *IL-12* и т. д. [47].

Исследуется возможность применения ингибиторов протонных насосов, вызывающих закисление клеток, для хемосенсибилизации меланом [48]. В связи с этим предпринимаются попытки использования в качестве противоопухолевого препарата (при меланоме, раке шейки матки, фибросаркоме) цис-урокаиновой кислоты (cis-Urocanic acid, cis-UCA) — эндогенного соединения, содержащегося в коже человека и способного закислять цитозоль путем транспорта протонов. Ее применение вызывало некроз и подавление пролиферативной активности клеток меланомы человека, привитой иммунодефицитным мышам [49].

Не остаются забытыми исследования, направленные на ре- и/или дедифференцировку злокачественных новообразований и меланомы в частности. Значительную активность в отношении этих эффектов проявили пентациклические тритерпены — вторичные метаболиты ряда растений (например, бетулиновая кислота) [50].

Длительное время продолжают исследования известного фармакологического препарата — пентоксифиллина, являющегося ингибитором фосфодиэстеразы и модификатором продукции цитокинов. Свое метастатическое действие этот препарат проявлял через влияние на экспрессию специфических интегринавых рецепторов в меланомных клетках линии *V16-F10* и агрегацию микрофиламентов [51—54].

В некоторых типах меланомы была показана активация рецепторной тирозинкиназы (*KIT*), вызываемая мутациями, как и в других формах злокачественных новообразований, поэтому ингибиторы *KIT* представляют в последнее время большой интерес для разработки методов направленной на определенный вид клеток («таргетной») терапии меланомы [55]. Новым направлением такой терапии меланомы является модификация эпигенетических процессов в малигнизированных клетках, которая приводит к экспрессии танатогенных механизмов, определяющих их деструкцию или дифференцировку [56].

### ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СРЕДСТВА И ВАКЦИНЫ

Особый интерес в последнее время проявляется к иммуномодулирующим средствам, противоопухолевым вакцинам и полихимиотерапии с их использованием. Одним из испытываемых способов продления жизни пациентов с высоким риском рецидивирования заболевания является адьювантная терапия с применением интерферона-альфа (*IFN- $\alpha$ 2a*). Исследованный ранее дакарбазин (химиопрепарат для лечения метастатической меланомы) оказался неэффективным в адьювантном лечении ни в виде монотерапии, ни в комбинации с другими неспецифическими иммунотерапевтическими препаратами, например с бациллой Кальметта—Герена (*BCG*) [57]. Однако метаанализ показал, что *IFN- $\alpha$ 2a* в низких дозах может быть эффективным антимеланомным препаратом в адьювантном режиме [58; 59].

Расширяется другая, огромная область создания методов, основанных на стимуляции противоопухолевой активности Т-лимфоцитов *CD8+*. В их числе ДНК-вакцины, которые позволяют стимулировать экспрессию характерного опухолевого антигена, в частности тирозиназы меланомных клеток [60]. Перспективным методом может быть регуляция протеосомного процесса тирозиназы, результатом которого является усиление ограниченных эпитопов генерации I класса главного комплекса гистосовместимости, продуцируемых из этого белка [61]. В последнее время изучается новый класс иммуномодуляторов, подавляющих действие опухоли на антиопухолевую реакцию микроокружения [62; 63], в частности на цитотоксические Т-лимфоциты, экспрессирующие антиген *CTLA-4*. Гуманизированные антитела к этому антигену проявили антимеланомную активность, и один из их видов, ипилимумаб, статистически значительно увеличивающий общую выживаемость пациентов с метастатической меланомой [64], проходит регистрацию в Агентстве по контролю за продуктами питания и лекарственными препаратами США (FDA).

В полном смысле иммунотерапией метастатической меланомы является Т-клеточная терапия (adoptive T-cell therapy, АСТ), при которой в Т-клетки могут быть генетически интегрированы специфические рецепторы. В этом направлении перспективным представляется использование Т-клеток с интегрированными в них опухолеспецифическими рецепторами Т-клеток, хотя и здесь еще достаточно нерешенных проблем [65]. Следует отметить, что подобное иммуномодулирующее действие помимо прямого цитотоксического проявляет препарат 5-фторурацил, усиливающий противоопухолевую актив-

ность Т-клеток [66]. Механизм иммуномодулирующего действия 5-фторурацила связан с избирательной гибелью супрессорных клеток миелоидного происхождения, накапливающихся в опухоли и подавляющих противоопухолевую активность CD8+ Т-клеток. Элиминация супрессорных клеток миелоидного происхождения приводила к увеличению количества IFN- $\gamma$  (продуцируемого клетками CD8+, которые инфильтрировали опухоль) и повышению Т-зависимого противоопухолевого ответа *in vivo* [66].

Значение исследования противоопухолевых свойств CD8+ Т-лимфоцитов усиливается накоплением данных о том, что в противовес устоявшейся догме диссеминация опухоли начинается на самых ранних стадиях ее прогрессирования. При этом в ряде случаев образовавшиеся микрометастазы могут сохраняться на протяжении многих лет под цитостатическим давлением Т-лимфоцитов CD8+ [67—69].

В этом же направлении разрабатываются способы более эффективного представления Т-лимфоцитам антигенов меланомы с помощью технологии дендритных клеток (DC-cell based technology), нагруженных определенными опухолевыми антигенами. Применение технологии дендритных клеток представляется перспективным с учетом центральной роли этих клеток в активации специфических Т-лимфоцитов [70]. В экспериментах на животных такие технологии инициировали специфический иммунный ответ, однако в ряде клинических испытаний показано отсутствие эффекта их применения у больных метастатической меланомой [70—73]. Такие технологии комбинируют с использованием цитокинов, антител и «таргетных» препаратов (IL-2, IL-21, anti-VEGF, anti-CTLA4 и др.) для подавления иммуносупрессивного влияния опухоли [74; 75].

Определенные надежды связаны с применением ДНК-вакцин, кодирующих опухолеассоциированные антигены (gp100, тирозиназа, IL-13R $\alpha$ 2 и др.). В доклинических и клинических испытаниях показана индукция антигенспецифического клеточного и гуморального иммунного ответа после ДНК-вакцинации животных-опухоленосителей или больных меланомой [60; 76; 77]. В целях повышения эффективности ДНК-вакцин применяется множество подходов, среди которых следует отметить одновременное введение ДНК, кодирующей цитокины (IL-15, GM-CSF и др.), трансфекцию дендритных клеток *in vitro*, ксеногенную иммунизацию и т. д. [76].

Вместе с тем подобные исследования, направленные на создание биопрепаратов или вакцин на основе какого-либо одного высоко представленного опухолевого антигена, кажутся недостаточными для существенного улучшения противоопухолевой терапии. По-видимому, более перспективным является другое направление в создании противоопухолевых биопрепаратов (или вакцин), в частности антимиеланомных. Это направление заключается в использовании следующих веществ:

- 1) полиантигенных лизатов меланомы (той или иной степени очистки);
- 2) стресс-индуцируемых полипептидов (шаперонов) в качестве процессирующих и антигенпредставляющих комплексов [78; 79].

Очевидно, что опухолевые лизаты содержат не только специфические антигены, но и пептиды, экспрессиру-

ющиеся в нормальных клетках, а это может ослаблять и разобщать противоопухолевую иммунную реакцию. Поэтому представляется обоснованным предположение о том, что соотношение опухолевых и нормальных антигенов можно увеличить при использовании лизатов клоногенных (*in vitro*) клеток меланомы [80; 81]. При реализации данного предложения предстоит решить задачу увеличения клоногенной активности клеток из образцов опухолей человека.

Основанием для использования шаперонов при создании противоопухолевых вакцин служат наблюдения о существенной дисрегуляции функций эндоплазматической сети в трансформированных и малигнизированных клетках (ER-стресс), которые связаны с изменениями в трансляции ключевых белков, регулирующих пролиферацию и адгезию, а также с генетической нестабильностью опухолей и нарушениями редокс-гомеостаза [82—84]. Следствиями ER-стресса является образование агрегатов несложных или неправильно сложенных белков [85], что инициирует синтез и активацию шаперонов [85; 86] и других регуляторов адаптации к стрессу [87]. Как свидетельствуют экспериментальные данные, многие злокачественные опухоли экспериментальных животных и человека содержат в 100—1000 раз больше шаперонов, чем нормальные ткани. Несмотря на двойственную природу шаперонов (среди них GRP78, GRP94, GRP170, HSP70, HSP27, HSP90 и др.) — и как регуляторов правильной топологии белков, и как участников анти- и проапоптотических процессов, их способность играть эффективную антигенпредставляющую роль в противоопухолевой вакцинотерапии не вызывает сомнений [88—90].

Все большее внимание привлекает технология получения и применения лизатов меланомы, обогащенных шаперонами (chaperone-rich cell lysate, CRCL), которые при этом могут использоваться в терапии как самостоятельно, так и при нагрузке экзогенными опухолеспецифическими пептидами, например полученными из белка BCR/ABL хронического миелоидного лейкоза [91—93]. Клинические испытания подтверждают перспективность этого метода [94—95]. CRCL используют также в противомеланомной терапии на основе дендритных клеток. Оригинальный подход был продемонстрирован при сочетании внутриопухолевого введения незрелых дендритных клеток и локальной гипертермии меланомы [96].

В течение многих лет предлагаемые противоопухолевые вакцины либо не давали соответствующий эффект, либо он был слишком незначителен. Перспективным шагом в данном направлении может быть применение новых адъювантов, которые будут способствовать генерации более мощного противоопухолевого иммунного ответа организма, в том числе тех адъювантов, которые были проверены в сочетании с антипатогенными вакцинами для человека [97]. В табл. 2 кратко суммированы основные подходы к химио- и иммунотерапии меланомы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ ряда характеристик меланомы свидетельствует о том, что в этой опухоли наблюдается существенная гетерогенность по биохимическим и функциональным признакам клеточных субпопуляций,

Таблица 2  
**Основные подходы к химио- и иммунотерапии меланомы**

Класс препаратов	Примеры	Основные мишени (механизмы действия препаратов)	Ссылка
Химиопрепараты и цитокины	Дакарбазин, цисплатин, винбластин, паклитаксел и др.	Клеточные структуры, определяющие пролиферацию (повреждение ДНК, веретена деления и др.)	[1; 47; 74]
	IL-2, INF- $\alpha$	Стимуляция цитотоксического и цитостатического действия иммуноцитов	
Исучаемые модификаторы сигнальных путей	Облимерсен	Bcl-2 (подавление синтеза указанного антиапоптотического белка, апоптоз)	[47; 70; 74; 98—100]
	Госсипол	Bcl-2 (апоптоз)	
	YM155	Сурвивин (апоптоз)	
	Иматиниб, сунитиниб, дазатиниб	Тирозинкиназные рецепторы (RTK) (ингибирование проангиогенных рецепторов, пролиферации и выживаемости опухолевых клеток)	
	Рапамицин	mTOR (подавление пролиферации, ингибирование Akt-сигнального пути, метаболический стресс)	
	Сорафениб	Киназы (ингибирование MAPK, VEGFR-1,-2,-3, аутофосфорилирования PDGFR- $\beta$ , приводящее к подавлению пролиферации опухолевых клеток и ангиогенеза)	
	PLX 4032 RAF265	Мутантный B-RAF (ингибирование сигнального пути RAF/RAS/MEK, подавление пролиферации, индукция апоптоза)	
	AZD6244	MEK1,2 (ингибирование сигнального пути RAF/RAS/MEK)	
	Танеспимицин	HSP90 (эндоплазматический шок)	
	Типифарниб	Фарнезилтрансфераза (подавление RAS-зависимой выживаемости опухолевых клеток)	
	Бевацизумаб	VEGF (подавление ангиогенеза и VEGF-индуцированного ингибирования T- и DC-клеточных функций)	
Анти-CTLA4 (ипилиму-маб, тремелимумаб)	Ингибиторный корецептор цитотоксических лимфоцитов CTLA4 /CD152 (повышение T-клеточной активации антиген-презентирующими клетками, повышение количества меланомаспецифических цитотоксических T-клеток)		
Перспективные иммуномодулирующие средства и вакцины	T-клетки после генно-инженерной интродукции опухолеспецифических T-клеточных рецепторов	Прямое цитотоксическое действие на опухолевые клетки	[65]
	Дендритные клетки, обработанные опухолеспецифическими антигенами, ДНК, лизатами опухолевых клеток, в том числе обогащенными шаперонами, и др.	Более эффективное представление опухолеспецифических антигенов T-клеткам, стимуляция цитотоксического и цитостатического действия T-клеток	[72; 73; 92]

способных инициировать новообразования в организме иммунодефицитных животных. Это дает основания сделать вывод, что монотерапия, использующая традиционные и новейшие химиопрепараты, а тем более иммуномодулирующие средства, в том числе вакцины, основанные на применении какого-либо одного антигена, не может существенно повысить эффективность терапии меланомы. Успех в разработке антимеланомных химиотерапевтических веществ, по-видимому, может быть достигнут в результате поиска соединений, либо оказывающих цитостатический эффект на ОСК, либо инициирующих их (и их ранних потомков) к дифференцировке. В той же, если не в большей, степени это касается и иммуномодулирующих средств, создаваемых для подавления антииммунной защиты меланомы и повышения противоопухолевой полиантигенной активности иммуноцитов, что в итоге может привести к излечению этого в высшей степени резистентного к терапии заболевания.

*Авторы приносят благодарность за полезное обсуждение и замечания проф. А. С. Саенко, а также сайту <http://molbiol.ru> за информационную поддержку.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (государственный контракт № 14.740.11.0180).*

#### ЛИТЕРАТУРА

- Malignant melanoma in the 21st century, part 2: staging, prognosis, and treatment / Markovic S. N., Erickson L. A., Rao R. D., Weenig R. H., Pockaj B. A., Bardia A., Vachon C. M., Schild S. E., McWilliams R. R., Hand J. L., Laman S. D., Kottschade L. A., Maples W. J., Pitterkow M. R., Pulido J. S., Cameron J. D., Creagan E. T., Melanoma Study Group of the Mayo Clinic Cancer Center // *Mayo Clin. Proc.* — 2007. — Vol. 82, N 4. — P. 490—513.
- Heterogeneous phenotype of human melanoma cells with in vitro and in vivo features of tumor-initiating cells / Perego M., Tortoreto M., Tragni G., Mariani L., Deho P., Carbone A., Santinami M., Patuzzo R., Mina P. D., Villa A., Pratesi G., Cossa G., Perego P., Daidone M. G., Alison M. R., Parmiani G., Rivoltini L., Castelli C. // *J. Invest. Dermatol.* — 2010. — Vol. 130, N 7. — P. 1877—1886.
- Schatton T., Frank M. Cancer stem cells and human malignant melanoma // *Pigment Cell Melanoma Res.* — 2008. — Vol. 21, N 1. — P. 39—55.
- Melanoma, a tumor based on a mutant stem cell? / Grichnik J. M., Burch J. A., Schulties R. D., Shan S., Liu J., Darrow T. L., Vervaert C. E., Seigler H. F. // *J. Invest. Dermatol.* — 2006. — Vol. 126. — P. 142—153.
- Grichnik J. M. Melanoma, neovogenesis, and stem cell biology // *J. Invest. Dermatol.* — 2008. — Vol. 128, N 10. — P. 2365—2380.
- Melanoma-initiating cells: a compass needed / Rafaelli Y., Bhoumik A., Roop D. R., Ronai Z. A. // *EMBO Rep.* — 2009. — Vol. 10, N 9. — P. 965—972.
- Campbell L. L., Polyak K. Breast tumor heterogeneity: cancer stem cells or clonal evolution? // *Cell Cycle.* — 2007. — Vol. 6, N 19. — P. 2332—2338.
- Adams J. M., Strasser A. Is tumor growth sustained by rare cancer stem cells or dominant clones? // *Cancer Res.* — 2008. — Vol. 68, N 11. — P. 4018—4021.
- Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening / Gupta P. B., Onder T. T., Jiang G., Tao K., Kuperwasser C., Weinberg R. A., Lander E. S. // *Cell.* — 2009. — Vol. 138, N 4. — P. 645—659.
- Cancer stem cells — perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells / Clarke M. F., Dick J. E., Dirks J. E., Eaves C. J., Jamieson C. H., Jones D. L., Visvader J., Weissman I. L., Wahl G. M. // *Cancer Res.* — 2006. — Vol. 66, N 19. — P. 9339—9344.
- Die hard: are cancer stem cells the Bruce Willises of tumor biology? / Fäbiän A., Barok M., Vereb G., Szölösi J. // *Cytometry A.* — 2009. — Vol. 75A, N 1. — P. 67—74.
- Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells / Kelly P. N., Dakic A., Adams J. M., Nutt S. L., Strasser A. // *Science.* — 2007. — Vol. 317, N 5836. — P. 337.
- Characterization of melanoma cells capable of propagating tumors from a single cell / Held M. A., Curley D. P., Dankort D., McMahon M., Muthusamy V., Bosenberg M. W. // *Cancer Res.* — 2010. — Vol. 70, N 1. — P. 388—397.
- La Porta C. Cancer stem cells: lessons from melanoma // *Stem Cell Rev.* — 2009. — Vol. 5, N 1. — P. 61—65.
- Vezzoni L., Parmiani G. Limitations of the cancer stem cell theory // *Cytotechnology.* — 2008. — Vol. 58, N 1. — P. 3—9.
- Identification of cells initiating human melanomas / Schatton T., Murphy G. F., Frank N. Y., Yamaura K., Waaga-Gasser A. M., Gasser M., Zhan Q., Jordan S., Duncan L. M., Weishaupt C., Fuhlbrigge R. C., Kupper T. S., Sayegh M. H., Frank M. H. // *Nature.* — 2008. — Vol. 451, N 7176. — P. 345—349.
- Efficient tumour formation by single human melanoma cells / Quintana E., Shackleton M., Sabel M. S., Fullen D. R., Johnson T. M., Morrison S. J. // *Nature.* — 2008. — Vol. 456, N 7222. — P. 593—598.
- Chemotherapy-resistant human AML stem cells home to and engraft within the bone-marrow endosteal region / Ishikawa F., Yoshida S., Saito Y., Hijikata A., Kitamura H., Tanaka S., Nakamura R., Tanaka T., Tomiyama H., Saito N., Fukata M., Miyamoto T., Lyons B., Ohshima K., Uchida N., Taniguchi S., Ohara O., Akashi K., Harada M., Shultz L. D. // *Nat. Biotechnol.* — 2007. — Vol. 25, N 11. — P. 1315—1321.
- Cancer stem cells sustaining the growth of mouse melanoma are not rare / Zhong Y., Guan K., Zhou C., Ma W., Wang D., Zhang Y., Zhang S. // *Cancer Lett.* — 2010. — Vol. 292, N 1. — P. 17—23.
- The mammary progenitor marker CD61/beta3 integrin identifies cancer stem cells in mouse models of mammary tumorigenesis / Vailant F., Asselin-Labat M., Shackleton M., Forrest N. C., Lindeman G. J., Visvader J. E. // *Cancer Res.* — 2008. — Vol. 68, N 19. — P. 7711—7717.
- Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin / Tamase A., Miraguchi T., Naka K., Tanaka S., Kinoshita M., Hoshii T., Ohmura M., Shugo H., Ooshio T., Nakada M., Sawamoto K., Onodera M., Matsumoto K., Ohshima M., Asano M., Saya H., Okano H., Suda T., Hamada J., Hirao A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 2009. — Vol. 106, N 40. — P. 17 163—17 168.
- Development of a novel mouse glioma model using lentiviral vectors / Marumoto T., Tashiro A., Friedmann-Morvinski D., Scadeng M., Soda Y., Gage F. H., Verma I. M. // *Nat. Med.* — 2009. — Vol. 15, N 1. — P. 110—116.
- Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling / Bittner M., Meltzer P., Chen Y., Jiang Y., Seftor E., Hendrix M., Radmacher M., Simon R., Yakhini Z., Ben-Dor A., Sampas N., Dougherty E., Wang E., Marincola F., Gooden C., Lueders J., Glatfelter A., Pollock P., Carpten J., Gillanders E., Leja D., Dietrich K., Beaudry C., Berens M., Alberts D., Sondak V. // *Nature.* — 2000. — Vol. 406, N 6795. — P. 536—540.
- Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer / Simpson A. J., Caballero O. L., Jungbluth A., Chen Y. T., Old L. J. // *Nat. Rev. Cancer.* — 2005. — Vol. 5, N 8. — P. 615—625.
- Bone morphogenic proteins are overexpressed in malignant melanoma and promote cell invasion and migration / Rothhammer T., Poser I., Soncin F., Bataille F., Moser M., Bosserhoff A. K. // *Cancer Res.* — 2005. — Vol. 65, N 2. — P. 448—456.
- Functional implication of BMP4 expression on angiogenesis in malignant melanoma / Rothhammer T., Bataille F., Spruss T., Eissner G., Bosserhoff A. K. // *Oncogene.* — 2007. — Vol. 26, N 28. — P. 4158—4170.
- Activation of Notch1 signaling is required for beta-catenin-mediated human primary melanoma progression / Balint K., Xiao M., Pinnix C. C., Soma A., Veres I., Juhasz I., Brown E. J., Capobianco A. J., Herlyn M., Liu Z. J. // *J. Clin. Invest.* — 2005. — Vol. 115, N 11. — P. 3166—3176.
- Wnt5a signaling directly affects cell motility and invasion of metastatic melanoma / Weeraratna A. T., Jiang Y., Hostetter G., Rosenblatt K., Duray P., Bittner M., Trent J. M. // *Cancer Cell.* — 2002. — Vol. 1, N 3. — P. 279—288.
- ABC5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma / Frank N. Y., Margaryan A., Huang Y., Schatton T., Waaga-Gasser A. M., Gasser M., Sayegh M. H., Sadee W.,

- Frank M. H. // *Cancer Res.* — 2005. — Vol. 65, N 10. — P. 4320—4333.
30. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma / Hendrix M. J., SefTOR E. A., Hess A. R., SefTOR R. E. // *Nat. Rev. Cancer.* — 2003. — Vol. 3, N 6. — P. 411—421.
31. Increased expression of stem cell markers in malignant melanoma / Klein W. M., Wu B. P., Zhao S., Wu H., Klein-Szanto A. J., Tahan S. R. // *Mod. Pathol.* — 2007. — Vol. 20, N 1. — P. 102—107.
32. Activated leukocyte cell adhesion molecule/CD166, a marker of tumor progression in primary malignant melanoma of the skin / Van Kempen L. C., van den Oord J. J., van Muijen G. N., Weidle U. H., Bloemers H. P., Swart G. W. // *Am. J. Pathol.* — 2000. — Vol. 156, N 3. — P. 769—774.
33. The stem cell marker nestin predicts poor prognosis in human melanoma / Piras F., Perra M. T., Murtas D., Minerba L., Floris C., Maxia C., Demurtas P., Ugalde J., Ribatti D., Sirigu P. // *Oncol. Rep.* — 2010. — Vol. 1, N 1. — P. 17—24.
34. Identifying tumor stem-like cells in mouse melanoma cell lines by analyzing the characteristics of side population cells / Dou J., Wen P., Hu W., Li Y., Wu Y., Liu C., Zhao F., Hu K., Wang J., Jiang C., He X., Gu N. // *Cell Biol. Int.* — 2009. — Vol. 33, N 8. — P. 807—815.
35. Rambow F., Larue L. The quest for the melanoma stem cell: still more questions than answers. // *Pigment Cell Melanoma Res.* — 2010. — Vol. 23, N 3. — P. 307—309.
36. Cancer stem cells in solid tumors: elusive or illusive? / Welte Y., Adjaye J., Lehrach H. R., Regenbrecht C. R. // *Cell Commun. Signal.* — 2010. — Vol. 8, N 1. — P. 6.
37. Regulation of progenitor cell fusion by ABCB5 P-glycoprotein, a novel human ATP-binding cassette transporter / Frank N. Y., Pendse S. S., Lapchak P. H., Margaryan A., Shlain D., Doeing C., Sayegh M. H., Frank M. H. // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278, N 47. — P. 47 156—47 165.
38. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumorigenic potential / Monzani E., Facchetti F., Galmozzi E., Corsini E., Benetti A., Cavazzin C., Gritti A., Piccinini A., Porro D., Santinami M., Invernici G., Parati E., Alessandri G., La Porta C. A. // *Eur. J. Cancer.* — 2007. — Vol. 43, N 5. — P. 935—946.
39. Isolation and identification of cancer stem-like cells from murine melanoma cell lines / Dou J., Pan M., Wen P., Li Y., Tang Q., Chu L., Zhao F., Jiang C., Hu W., Hu K., Gu N. // *Cell. Mol. Immunol.* — 2007. — Vol. 4, N 6. — P. 467—472.
40. Expression of CD133+ cancer stem cells in childhood malignant melanoma and its correlation with metastasis / Al Dhaybi R., Sartelet H., Powell J., Kokta V. // *Mod. Pathol.* — 2010. — Vol. 23, N 3. — P. 376—380.
41. Wu Y., Wu P. Y. CD133 as a marker for cancer stem cells: progress and concerns // *Stem Cells Dev.* — 2009. — Vol. 18, N 8. — P. 1127—1134.
42. Rappa G., Fodstad O., Lorico A. The stem cell-associated antigen CD133 (Prominin-1) is a molecular therapeutic target for metastatic melanoma // *Stem Cells.* — 2008. — Vol. 6, N 12. — P. 3008—3017.
43. Modulation of T-cell activation by malignant melanoma initiating cells / Schatton T., Schtte U., Frank N. Y., Zhan Q., Hoerning A., Robles S. C., Zhou J., Hodi F. S., Spagnoli G. C., Murphy G. F., Frank M. H. // *Cancer Res.* — 2010. — Vol. 70, N 2. — P. 697—708.
44. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas / Fang D., Nguen T. K., Leishear K., Finko R., Kulp A. N., Hotz S., Van Belle P. A., Xu X., Elder D. E., Herlyn M. // *Cancer Res.* — 2005. — Vol. 65, N 20. — P. 9328—9337.
45. Flaherty K. T., Hodi F. S., Bastian B. C. Mutation-driven drug development in melanoma // *Curr. Opin. Oncol.* — 2010. — Vol. 22, N 3. — P. 178—183.
46. Sosman J. A., Margolin K. A. Inside life of melanoma cell signaling, molecular insights, and therapeutic targets // *Curr. Oncol. Rep.* — 2009. — Vol. 11, N 5. — P. 405—411.
47. Tawbi H., Nimmagadda N. Targeted therapy in melanoma // *Bio-logs.* — 2009. — Vol. 3. — P. 475—484.
48. Fais S. Proton pump inhibitor-induced tumour cell death by inhibition of a detoxification mechanism // *J. Intern. Med.* — 2010. — Vol. 267, N 5. — P. 515—525.
49. Protodynamic Intracellular Acidification by cis-Urocanic Acid Promotes Apoptosis of Melanoma Cells In Vitro and In Vivo / Laihia J. K., Kallio J. P., Taimen P., Kujari H., Kahäri V. M., Leino L. // *J. Invest. Dermatol.* — 2010. — Vol. 130, N 10. — P. 2431—2439.
50. Laszczyk M. N. Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy // *Planta Med.* — 2009. — Vol. 75, N 15. — P. 1549—1560.
51. Dua P., Ingle A., Gude R. P. Suramin augments the antitumor and antimetastatic activity of pentoxifylline in B16F10 melanoma // *Int. J. Cancer.* — 2007. — Vol. 121, N 7. — P. 1600—1608.
52. Gude R. P., Ingle A. D., Rao S. G. Inhibition of lung homing of B16F10 by pentoxifylline, a microfilament depolymerizing agent // *Cancer Lett.* — 1996. — Vol. 106, N 2. — P. 171—176.
53. Jain M., Ratheesh A., Gude R. P. Pentoxifylline inhibits integrin-mediated adherence of 12(S)-HETE and TNFalpha-activated B16F10 cells to fibronectin and endothelial cells // *Chemotherapy.* — 2010. — Vol. 56, N 1. — P. 82—88.
54. Ratheesh A., Ingle A., Gude R. P. Pentoxifylline modulates cell surface integrin expression and integrin mediated adhesion of B16F10 cells to extracellular matrix components // *Cancer Biol. Ther.* — 2007. — Vol. 6, N 11. — P. 1743—1752.
55. Garrido M. C., Bastian B. C. KIT as a therapeutic target in melanoma // *J. Invest. Dermatol.* — 2010. — Vol. 130, N 1. — P. 20—27.
56. Induction of hepatic differentiation of mouse bone marrow stromal stem cells by the histone deacetylase inhibitor VPA / Chen Y., Pan R. L., Zhang X. L., Shao J. Z., Xiang L. X., Dong X. J., Zhang G. R. // *J. Cell. Mol. Med.* — 2008. — Vol. 13, N 8. — P. 2582—2592.
57. Mature results of a phase III randomized trial of bacillus Calmette-Guerin (BCG) versus observation and BCG plus dacarbazine versus BCG in the adjuvant therapy of American Joint Committee on Cancer Stage I—III melanoma (E1673): a trial of the Eastern Oncology Group / Agarwala S. S., Neuberger D., Park Y., Kirkwood J. M. // *Cancer.* — 2004. — Vol. 100, N 8. — P. 1692—1698.
58. Adjuvant low-dose interferon  $\alpha$ 2a with or without dacarbazine compared with surgery alone: a prospective-randomized phase III DeCOG trial in melanoma patients with regional lymph node metastasis / Garbe C., Radny P., Linse R., Dummer R., Gutzmer R., Ulrich J., Stadler R., Weichenthal M., Eigentler T., Ellwanger U., Hauschild A. // *Ann. Oncol.* — 2008. — Vol. 19, N 6. — P. 1195—1201.
59. Interferon alpha adjuvant therapy in patients with high-risk melanoma: a systematic review and meta-analysis / Mocellin S., Pasquali S., Rossi C. R., Nitti D. // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2010. — Vol. 102, N 7. — P. 493—501.
60. Comparison of two cancer vaccines targeting tyrosinase: plasmid DNA and recombinant alphavirus replicon particles / Goldberg S. M., Bartido S. M., Gardner J. P., Guevara-Patico J. A., Montgomery S. C., Perales M. A., Maughan M. F., Dempsey J., Donovan G. P., Olson W. C., Houghton A. N., Wolchok J. D. // *Clin. Cancer Res.* — 2005. — Vol. 11, N 22. — P. 8114—8121.
61. N-glycosylation enhances presentation of a MHC class I-restricted epitope from tyrosinase / Ostankovitch M., Altrich-Vanlith M., Robila V., Engelhard V. H. // *J. Immunol.* — 2009. — Vol. 182, N 8. — P. 4830—4835.
62. Human melanoma cell secreting human leukocyte antigen-G5 inhibit natural killer cell cytotoxicity by impairing lytic granules polarization toward target cell / Lesport E., Baudhuin J., Lemaout J., Sousa S., Doliger C., Carosella E. D., Favier B. // *Hum. Immunol.* — 2009. — Vol. 70, N 12. — P. 1000—1005.
63. DC-HIL/Glycoprotein Nmb Promotes Growth of Melanoma in Mice by Inhibiting the Activation of Tumor-Reactive T Cells / Tomihari M., Chung J. S., Akiyoshi H., Cruz P. D. Jr., Ariizumi K. (Kiyoshi Ariizumi) // *Cancer Res.* — 2010. — Vol. 70, N 14. — P. 5778—5787.
64. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma / Hodi F. S., O'Day S. J., McDermott D. F., Weber R. W., Sosman J. A., Haanen J. B., Gonzalez R., Robert C., Schadendorf D., Hassel J. C., Akerley W., van den Eertwegh A. J., Lutzky J., Lorigan P., Vaubel J. M., Linette G. P., Hogg D., Ottensmeier C. H., Lebbe C., Pechel C., Quirt I., Clark J. I., Wolchok J. D., Weber J. S., Tian J., Yellin M. J., Nichol G. M., Hoos A., Urba W. J. // *N. Engl. J. Med.* — 2010. — Vol. 363, N 8. — P. 711—723.
65. T cell receptor (TCR) gene therapy to treat melanoma: lessons from clinical and preclinical studies / Coccors M., Straetemans T., Govers C., Lamers C., Sleijfer S., Debets R. // *Expert. Opin. Biol. Ther.* — 2010. — Vol. 10, N 4. — P. 547—562.
66. 5-Fluorouracil selectively kills tumor-associated myeloid-derived suppressor cells resulting in enhanced T cell-dependent antitumor immunity / Vincent J., Mignot G., Chalmin F., Ladoire S., Bruchard M., Chevri-

- aux A., Martin F., Apetoh L., Rébé C., Ghiringhelli F. // *Cancer Res.* — 2010. — Vol. 70, N 8. — P. 52—61.
67. Tumor cells disseminate early, but immunosurveillance limits metastatic outgrowth, in a mouse model of melanoma / Eyles J., Puaux A. L., Wang X., Toh B., Prakash C., Hong M., Tan T. G., Zheng L., Ong L. C., Jin Y., Kato M., Prévost-Blondel A., Chow P., Yang H., Abastado J. P. // *J. Clin. Invest.* — 2010. — Vol. 120, N 6. — P. 2030—2039.
68. Rucken M. Early tumor dissemination, but late metastasis: insights into tumor dormancy // *J. Clin. Invest.* — 2010. — Vol. 120, N 6. — P. 1800—1803.
69. Ossowski L., Aguirre-Ghiso J. A. Dormancy of metastatic melanoma // *Pigment. Cell Melanoma Res.* — 2010. — Vol. 23, N 1. — P. 41—56.
70. Halama N., Zoernig I., Jaeger D. Advanced malignant melanoma: immunological and multimodal therapeutic strategies // *J. Oncol.* — 2010. — Vol. 2010. — P. 1—8.
71. Vuckovic S., Clark G. J., Hart D. N. Growth factors, cytokines and dendritic cell development // *Curr. Pharm. Des.* — 2002. — Vol. 8, N 5. — P. 405—418.
72. Review of clinical studies on dendritic cell-based vaccination of patients with malignant melanoma: assessment of correlation between clinical response and vaccine parameters / Engell-Noerregaard L., Hansen T. H., Andersen M. H., Thor Straten P., Svane I. M. // *Cancer Immunol. Immunother.* — 2009. — Vol. 58, N 1. — P. 1—14.
73. Dendritic cell vaccines in melanoma: from promise to proof? / Lesterhuis W. J., Aarntzen E. H., De Vries I. J., Schuurhuis D. H., Figdor C. G., Adema G. J., Punt C. J. // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* — 2008. — Vol. 66, N 2. — P. 118—134.
74. Begley J., Ribas A. Targeted therapies to improve tumor immunotherapy // *Clin. Cancer Res.* — 2008. — Vol. 14, N 14. — P. 4385—4391.
75. Vaccines as early therapeutic interventions for cancer therapy: neutralising the immunosuppressive tumour environment and increasing T cell avidity may lead to improved responses / Durrant L. G., Pudney V., Spendlove I., Metheringham R. L. // *Expert. Opin. Biol. Ther.* — 2010. — Vol. 10, N 5. — P. 735—748.
76. Shaw D. R., Strong T. V. DNA vaccines for cancer // *Front Biosci.* — 2006. — Vol. 11. — P. 1189—1198.
77. Safety and immunogenicity of a human and mouse gp100 DNA vaccine in a phase I trial of patients with melanoma / Yuan J., Ku G. Y., Gallardo H. F., Orlandi F., Manukian G., Rasalan T. S., Xu Y., Li H., Vyas S., Mu Z., Chapman P. B., Krown S. E., Panageas K., Terzulli S. L., Old L. J., Houghton A. N., Wolchok J. D. // *Cancer Immun.* — 2009. — Vol. 9. — P. 5.
78. Heat shock protein peptide complex 96-based vaccines in melanoma: How far we are, how far we can get / di Pietro A., Tosti G., Ferrucci P. F., Testori A. // *Hum. Vaccin.* — 2009. — Vol. 5, N 11. — P. 727—737.
79. Superior antitumor response induced by large stress protein chaperoned protein antigen compared with peptide antigen / Wang X. Y., Sun X., Chen X., Facciponte J., Repasky E. A., Kane J., Subjeck J. R. // *J. Immunol.* — 2010. — Vol. 184, N 11. — P. 6309—6319.
80. Tubiana M., Koscielny S. On clonogenic tumour cells and metastasis-forming cells // *Nat. Rev. Cancer.* — 2008. — Vol. 8, N 12. — P. 990.
81. Zabierowski S. E., Herlyn M. Melanoma stem cells: the dark seed of melanoma. // *J. Clin. Oncol.* — 2008. — Vol. 26, N 17. — P. 2890—2894.
82. Solimini N. L., Luo J., Elledge S. J. Non-oncogene addiction and the stress phenotype of cancer cells // *Cell.* — 2007. — Vol. 130. — P. 986—988.
83. Feldman D. E., Chauhan V., Koong A. C. The unfolded protein response: a novel component of the hypoxic stress response in tumors // *Mol. Cancer Res.* — 2005. — Vol. 3. — P. 597—605.
84. Hosoi T., Ozawa K. Endoplasmic reticulum stress in disease: mechanisms and therapeutic opportunities // *Clin. Sci. (Lond.)*. — 2009. — Vol. 118. — P. 19—29.
85. Ligand binding and hydration in protein misfolding: insights from studies of prion and p53 tumor suppressor proteins / Silva J. L., Vieira T. C., Gomes M. P., Bom A. P., Lima L. M., Freitas M. S., Ishimaru D., Cordeiro Y., Foguel D. // *Acc. Chem. Res.* — 2010. — Vol. 43. — P. 271—279.
86. Kaufman R. J. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease // *J. Clin. Invest.* — 2002. — Vol. 110. — P. 1389—1398.
87. Kumsta C., Jakob U. Redox-regulated chaperones // *Biochemistry.* — 2009. — Vol. 48. — P. 4666—4676.
88. Primary tumor tissue lysates are enriched in heat shock proteins and induce the maturation of human dendritic cells / Somersan S., Larsson M., Fonteneau J. F., Basu S., Srivastava P., Bhardwaj N. // *J. Immunol.* — 2001. — Vol. 167. — P. 4844—4852.
89. Graner M. W., Bigner D. D. Therapeutic aspects of chaperones/heat-shock proteins in neuro-oncology // *Expert Rev. Anticancer Ther.* — 2006. — Vol. 6. — P. 679—695.
90. Whitesell L., Lindquist S. L. HSP90 and the chaperoning of cancer // *Nat. Rev. Cancer.* — 2005. — Vol. 5. — P. 761—772.
91. Chaperone-rich cell lysate embedded with BCR-ABL peptide demonstrates enhanced anti-tumor activity against a murine BCR-ABL positive leukemia / Kislin K. L., Marron M. T., Li G., Graner M. W., Katsanis E. // *FASEB J.* — 2007. — Vol. 21. — P. 2173—2184.
92. Treatment for metastatic malignant melanoma: old drugs and new strategies / Mouawad R., Seibert M., Michels J., Bloch J., Spano J. P., Khayat D. // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* — 2010. — Vol. 74. — P. 27—39.
93. Jilaveanu L. B., Aziz S. A., Kluger H. M. Chemotherapy and biologic therapies for melanoma: do they work? // *Clin. Dermatol.* — 2009. — Vol. 27. — P. 614—625.
94. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous tumor-derived heat shock protein gp96-peptide complexes: clinical and immunologic findings / Belli F., Testori A., Rivoltini L., Maio M., Andreola G., Sertoli M. R., Gallino G., Piris A., Cattelan A., Lazzari I., Carraba M., Scita G., Santantonio C., Pilla L., Tragni G., Lombardo C., Arienti F., Marchiani A., Queirolo P., Bertolini F., Cova A., Lamaj E., Ascani L., Camerini R., Corsi M., Cascinelli N., Lewis J. J., Srivastava P., Parmiani G. // *J. Clin. Oncol.* — 2002. — Vol. 20. — P. 4169—4180.
95. Chapman P. B. Vaccinating patients with autologous tumor // *J. Clin. Oncol.* — 2002. — Vol. 20. — P. 4139—4140.
96. Intratumoural injection of dendritic cells in combination with local hyperthermia induces systemic antitumour effect in patients with advanced melanoma / Guo J., Zhu J., Sheng X., Wang X., Qu L., Han Y., Liu Y., Zhang H., Huo L., Zhang S., Lin B., Yang Z. // *Int. J. Cancer* — 2007. — Vol. 120. — P. 2418—2425.
97. Immune mechanisms of protection: can adjuvants rise to the challenge? / McKee A. S., MacLeod M. K., Kappler J. W., Marrack P. // *BMC Biol.* — 2010. — Vol. 8. — P. 37.
98. Small molecules and targeted therapies in distant metastatic disease / Hersey P., Bastholt L., Chiarion-Sileni V., Cinat G., Dummer R., Eggermont A. M. M., Espinosa E., Hauschild A., Quir I., Robert C., Schadendorf D. // *Ann. Oncol.* — 2009. — Vol. 20, Suppl. 6. — P. Vi35—40.
99. Discovery of a selective inhibitor of oncogenic BRAf kinase with potent antimelanoma activity / Tsai J., Lee J. T., Wang W., Zhang J., Cho H., Mamo S., Bremer R., Gillette S., Kong J., Haass N. K., Sproesser K., Li L., Smalley K. S., Fong D., Zhu Y. L., Marimuthu A., Nguyen H., Lam B., Liu J., Cheung I., Rice J., Suzuki Y., Luu C., Settachatgul C., Shelloe R., Cantwell J., Kim S. H., Schlessinger J., Zhang K. Y., West B. L., Powell B., Habets G., Zhang C., Ibrahim P. N., Hirth P., Artis D. R., Herlyn M., Bollag G. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 2008. — Vol. 105. — P. 3041—3046.
100. AZD6244 (ARRY-142886) vs temozolomide (TMZ) in patients (pts) with advanced melanoma: an open-label, randomized, multicenter, phase II study / Dummer R., Robert C., Chapman P. B., Sosman J. A., Middleton M., Bastholt L., Kemsley K., Cantarini M. V., Morris C., Kirkwood J. M. // 2008 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. — *J. Clin. Oncol.* — 2008. — Vol. 26 (suppl. 15). — Abstr. 9033.

Поступила 09.12.2010

*Sergey Yakovlevich Proskuryakov<sup>1</sup>, Olga Nikolayevna Matchuk<sup>2</sup>,  
Irina Alexandrovna Zamulayeva<sup>3</sup>*

## CONTEMPORARY STATE AND PROSPECTS FOR DEVELOPMENT OF NOVEL APPROACHES TO MELANOMA TREATMENT

<sup>1</sup> MD, PhD, DSc, Radiation Pharmacology Laboratory, MRRC RF HSM (4, ul. Koroleva, Obninsk, RF, 249036)

<sup>2</sup> Researcher, Radiation Biochemistry Laboratory, MRRC RF HSM (4, ul. Koroleva, Obninsk, RF, 249036)

<sup>3</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Head, Postradiation Rehabilitation Laboratory, MRRC RF HSM  
(4, ul. Koroleva, Obninsk, RF, 249036)

Address for correspondence: Zamulayeva Irina Alexandrovna, Postradiation Rehabilitation Laboratory,  
MRRC RF HSM, 4, ul. Koroleva, Obninsk, RF, 249036; e-mail: zamulaeva@mail.ru

This is an overview of conventional melanoma therapies and approaches under development that are based both on melanoma biochemical features and immunogenic capacity. The paper discusses tumor stem cells and tumor-initiating cells in immunodeficient mice, melanoma biochemical and functional heterogeneity and its role in systemic therapy of melanoma patients.

**Key words:** chemotherapeutics, specific signaling pathways, antimelanoma immunity activation, tumor stem cells.

---



Татьяна Леонидовна Ушакова<sup>1</sup>**СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ РЕТИНОБЛАСТОМЫ**<sup>1</sup> К. м. н., старший научный сотрудник, отделение опухолей головы и шеи НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, отделение опухолей головы и шеи, Ушакова Татьяна Леонидовна; e-mail: ushtat07@mail.ru

Энуклеация, дистанционная и контактная лучевая терапия, различные виды лазерного лечения и криотерапия — самые распространенные виды лечения интраокулярной ретинобластомы. В последние 15 лет системная неоадьювантная химиотерапия применяется для расширения возможностей органосохраняющего лечения с ограничением использования дистанционного облучения. Несмотря на широкий выбор лечебных методик, почти в 50% случаев приходится удалять глаз. Первоначальная (инициальная) энуклеация глаза остается актуальной при массивной интраокулярной опухоли в отсутствие возможности для возврата зрения, когда наличие специфических патогистологических критериев является показанием к адьювантному лечению. С применением интенсивной мультимодальной терапии, включающей стандартную химиотерапию, высокодозную химиотерапию с трансплантацией стволовых клеток и дистанционную лучевую терапию, связывают повышение выживаемости пациентов с экстраокулярным распространением ретинобластомы по сравнению с опытом лечения в период использования только стандартной химиотерапии и дистанционной лучевой терапии.

**Ключевые слова:** ретинобластома, энуклеация, гистопатологические факторы риска, методы лечения.

Ретинобластома (РБ) — самая распространенная злокачественная опухоль сетчатки нейроэпителиального происхождения у детей. Заболевание встречается у одного на 18 000 (15 000—20 000) новорожденных без различий числа случаев по полу и расовой принадлежности [1]. Существуют наследственная и ненаследственная формы РБ. У больных с наследственной формой РБ имеется высокий риск развития вторых злокачественных опухолей (ВЗО). Благодаря ранней диагностике и совершенствованию методов лечения стало возможным улучшить прогноз заболевания. Общая 5-летняя выживаемость пациентов с РБ при использовании современных методов лечения достигла более 90% [2—7].

**ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ РБ****Энуклеация**

Энуклеация рекомендуется при слепоте и полном отсутствии надежд на эффективность консервативного лечения. В случае выполнения первичной энуклеации гистологические характеристики опухоли являются признаками, определяющими прогноз заболевания и показания к адьювантной терапии [8—17]. Создание программы лечения РБ с учетом гистологических факторов риска стало одной из задач исследования, выполненного в 2001—2008 гг. в НИИ детской онкологии и гематологии

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, в котором 43 пациента с односторонней ретинобластомой (ОРБ) подверглись первичной (инициальной) энуклеации. При включении в исследование медиана возраста больных составила  $28 \pm 17,6$  мес. Факторы риска были определены на основе гистологических протоколов. Из 43 пациентов 17 были отнесены в группу стандартного риска на основании отсутствия или минимальной опухолевой инвазии сосудистой оболочки или преламинарной инвазии зрительного нерва. У 18 из 43 больных имелись факторы среднего риска, такие, как опухолевая инвазия передней камеры глаза, радужки, цилиарного тела, массивная инвазия сосудистой оболочки, интра- и ретроламинарная инвазия зрительного нерва. У 8 из 43 пациентов определены факторы высокого риска: инвазия опухолью линии резекции зрительного нерва и экстрасклеральное распространение опухоли. Обзор гистопатологического материала 43 РБ после энуклеации глаза продемонстрировал, что в 26 (60,5%) случаях имелись гистопатологические факторы риска, определяющие необходимость в адьювантной терапии. Последние включали факторы среднего и высокого риска.

Адьювантная терапия для группы среднего риска состояла из 4 циклов химиотерапии — ХТ (циклофосфамид, этопозид и карбоплатин) с добавлением дистанционной лучевой терапии (ДЛТ) на глазницу при ретроламинарной инвазии зрительного нерва. Из 8 больных с факторами высокого риска 7 получили 4 цикла аналогичной ХТ и

ДЛТ на глазницу. Сбор периферических стволовых клеток крови (ПСКК) осуществляли после первого цикла ХТ. Режим высокодозной химиотерапии (ВХТ) включал бусульфан и мелфалан с последующей аутологичной трансплантацией ПСКК. Один ребенок из группы высокого риска исключен из исследования в связи с отказом родителей от ВХТ. Безрецидивная и общая выживаемость в группе стандартного риска ( $n = 17$ ) составила 100% со средним сроком наблюдения 45 мес. Пятилетняя безрецидивная выживаемость больных в группе среднего риска ( $n = 18$ ) достигла 88,9%, а общая — 80,8%. Пятилетняя безрецидивная и общая выживаемость больных в группе высокого риска ( $n = 7$ ) составила 71,4%.

#### Дистанционная лучевая терапия

Долгое время ДЛТ являлась стандартным методом лечения распространенной интраокулярной РБ. Основными показаниями к ДЛТ являются многоочаговые формы заболевания, большие опухоли, массивные отсевы в стекловидное тело, отслойка сетчатки, расположение опухоли менее чем в 3 мм от макулы или диска зрительного нерва (ДЗН), а также экстраокулярное распространение РБ.

Рекомендуемые суммарные очаговые дозы (СОД) при органосохраняющем лечении зависят от внутриглазного распространения и, по данным разных авторов, должны быть в пределах от 36 до 50 Гр [18—20]. Если подтвержден рост опухоли за пределы решетчатой пластинки или выявлен экстраокулярный рост опухоли, то СОД в послеоперационном периоде составляет 50 Гр. Среди осложнений следует отметить непосредственные, такие, как лучевые дерматит и конъюнктивит, и отдаленные, к которым относятся лагофтальм, корнеальная васкуляризация и кератинизация, «сухой» глаз, катаракта, ретино- и нейропатия, костная мальформация глазниц и возрастающий риск возникновения вторых опухолей. У детей с наследственной РБ после ДЛТ существует риск развития ВЗО: саркомы Юинга, низкодифференцированных нейроэктодермальных опухолей синоназального региона [21], остеосаркомы, фибро- и веретенчаточных сарком [22—24].

К современным методикам дистанционного облучения относятся интенсивная моделированная лучевая терапия (IMRT), стереотаксическое излучение и протонный пучок. IMRT — передовая в настоящее время технология лучевой терапии, используемая для лечения злокачественных опухолей с минимизацией лучевого воздействия на окружающие здоровые ткани [25]. Применение данной технологии позволило разбить излучение на несколько составляющих лучей, что дает возможность радиологам изменять интенсивность каждого луча (увеличивать для опухоли и ограничивать для окружающих здоровых тканей). IMRT — методика, уменьшающая дозу облучения на кости глазницы более чем на  $1/3$  по сравнению с таковой переднебокового фотонного и электронного облучения и на 23% по сравнению с конформальным облучением [26].

Стереотаксическое излучение — вид ДЛТ, или «таргетное» облучение опухоли, имеющей четкие границы, с использованием ее точных детализированных изображений, полученных при компьютерной или магнитно-резонансной томографии.

Протонный пучок — корпускулярное облучение, которое воздействует на опухоль при нацеливании ускоренных протонов. Практически вся радиационная доза выделяется на ткани на последних миллиметрах пробега частиц, т. е. появляется возможность сфокусировать область разрушения клеток с минимизацией воздействия на окружающие ткани [27].

#### Брахитерапия

Это метод контактного облучения, использующий радиоактивные пластинки, которые подводятся к склере под проекцию основания РБ. Применяется при первичных и рецидивных интраокулярных РБ. Общая доза, подводимая аппликатором на верхушку опухоли, составляет 40—80 Гр [28—30; 31]. Показаниями к брахитерапии служат одиночные опухоли диаметром менее 18 мм и толщиной меньше 10 мм при использовании аппликатора  $^{125}\text{I}$  или толщиной меньше 5 мм при использовании аппликатора рутений-106 ( $^{106}\text{Ru}$ ) + родий-106 ( $^{106}\text{Ro}$ ); отсутствие опухолевых отсевов или ограниченное количество отсевов над поверхностью опухоли, отсутствие опухоли над ДЗН. По мнению А. Ф. Бровкиной (2002), максимальный диаметр опухоли не должен превышать 14 мм. Локальные отсевы могут располагаться на расстоянии не более 2 мм над верхушкой опухоли. Задний край опухоли должен отстоять от ДЗН на 3 мм.

Основными необратимыми осложнениями являются ретино- и нейроретинопатия, которые возникают в 3 и 1% случаев соответственно. Возможно развитие катаракты. При данном виде лечения ВЗО не наблюдаются. Компьютерное планирование брахитерапии с учетом размеров опухоли и глаза, локализации образования в каждом конкретном случае, использование микрохирургической техники позволяют максимально снизить частоту и тяжесть возможных осложнений.

В немецкой клинике г. Эссен учеными А. О. Schueler и соавт. (2004) проанализированы результаты лечения 136 пациентов (142 глаза, пораженные опухолью, 178 опухолей), получивших брахитерапию с 1979 по 2001 г. Брахитерапия была первичной в 60 (34%) случаях. Характеристика опухоли перед лечением: высота 3,7 мм, диаметр 5,0 мм, среднее расстояние от границы опухоли до ДЗН равно 4,8 диаметра ДЗН. Средняя доза облучения на уровне верхушки опухоли составила 80 Гр. Пятилетняя безрецидивная выживаемость после брахитерапии  $^{106}\text{Ru}/^{106}\text{Ro}$  составила 93%. Выявлены следующие осложнения брахитерапии: лучевая ретинопатия в 22 (15,5%) глазах, нейропатия — в 12 (8,5%).

#### Криотерапия

По данным S. Suzuki и A. Kaneko (2004) [31], основными показаниями к криотерапии интраокулярной РБ являются периферические локализованные опухоли диаметром менее 3,5 мм и толщиной не более 2 мм. Следует помнить о возможности развития распространенной отслойки сетчатки. Осложнения чаще возникают у пациентов, получающих криотерапию с ДЛТ или системной ХТ [32; 33]. К осложнениям криотерапии также следует отнести тромбоз центральной вены сетчатки, гемофтальм, субатрофию глаза. Результаты криотерапии, по данным J. A. Shields (1989) [34], демонстрируют полный

ответ опухоли на лечение при максимальном диаметре 2,5 мм и толщине 1 мм, при расположении РБ в оптической части сетчатки и в отсутствие отсевов в стекловидное тело.

#### Фотокоагуляция

Фотокоагуляция — метод лазерного лечения РБ, при котором температура в тканях достигает около 60 °С, вызывая коагуляцию белков и немедленную смерть опухолевых клеток. Аргонный лазер используют для формирования ограничительного барьера, начиная от видимых границ опухоли; ширина барьера должна быть не менее 1500 мкм. Аппликаты накладывают черепацеобразно и концентрично от периферии к центру по всей поверхности опухоли с обязательным выключением собственных сосудов опухоли и подходящих к ней сосудов сетчатки. Фотокоагуляция применяется и как самостоятельный, и как дополнительный метод после ХТ. Лечение эффективно при постэкваториальных РБ диаметром менее 3 мм и толщиной 2 мм, без опухолевых отсевов. При многофокусной опухоли возможно комбинированное применение лазера и брахитерапии.

Противопоказаниями к операции служат отсевы в стекловидное тело, отслойка сетчатки, кровоизлияния как на поверхности очага, так и вокруг него, что подчеркивается отечественными (А. Ф. Бровкина, 2002; С. В. Саакян, 2005) и зарубежными (С. Shields, 2004; S. Suzuki, 2004) авторами.

#### Транспупиллярная термотерапия (ТТТ)

Методика основана на использовании диодного лазера, с помощью которого опухоль разогревается от 45 до 60 °С в течение 1 мин. Средняя мощность 540 мВ. Высота опухоли не должна превышать 3 мм [35—37]. Добиться эффективного контроля удастся в 83—86% случаев при диаметре основания опухоли менее 3 мм и толщине менее 2 мм. По мнению А. С. Scheffler и D. H. Abramson (2003), ТТТ как единственный метод лечения может быть успешно применена при РБ, диаметр основания которых менее 1,5 диаметра ДЗН. С. Shields и соавт. (1999) отмечают, что ТТТ, как неинвазивная, щадящая по отношению к здоровым тканям и, следовательно, функционально-сберегающая методика, может стать методом выбора при лечении опухолей малых размеров и альтернативой лазерной фотокоагуляции.

#### Химиотермотерапия

Данный метод был предложен в качестве лечения РБ [38; 39]. Химиотермотерапия состоит из комбинации ТТТ с последующей интравенозной инъекцией карбоплатина (560 мг/м<sup>2</sup>). L. Lumbroso и соавт. (2002), используя данный метод лечения, удалось достигнуть опухолевой регрессии в 96,1% случаев и сохранить 97% подвергшихся лечению глаз. Кроме того, было установлено, что фактором риска рецидива заболевания являлся первичный диаметр опухоли более 3,5 мм.

#### Системная химиотерапия

В начале 90-х годов XX века ХТ стала основным методом органосохраняющего лечения РБ в качестве альтернативы наружному облучению. Новизной этого под-

хода являлось применение системной ХТ для редукции опухоли, т. е. подготовка ее к локальным видам лечения, например лазеро- и криотерапии [40]. Одной из распространенных химиотерапевтических комбинаций, используемых различными исследовательскими группами для лечения РБ, является сочетание винкристина с карбоплатином [41—43]. Хорошо зарекомендовал себя режим винкристин + этопозид + карбоплатин (VEC), иногда с добавлением циклофосфида или циклоспорина как блокатора протеина мультирезистентности [44]. ХТ должна сочетаться с дополнительными методами лечения, так как в большинстве случаев РБ и ее отсевы не могут быть вылечены с применением только ХТ, что подтверждается результатами гистопатологических исследований энуклеированных глаз после 2—6 курсов ХТ [45].

В 68% случаев системная ХТ сокращает необходимость в энуклеации и ДЛТ у детей с ОРБ в течение 5 лет от начала лечения, однако, несмотря на хороший непосредственный результат консервативной терапии, спустя 5 лет от ее начала требуется энуклеация или ДЛТ у 11% детей в группах R-E II, III; у 60% детей в группе R-E IV и у 100% детей в группе R-E V [46]. Существует мнение, что у каждого пациента с ОРБ со стадией R-E V, получившего консервативное лечение, может возникнуть рецидив заболевания в течение 5 лет, что заканчивается энуклеацией или ДЛТ [47]. В этом исследовании применялась известная классификация Reese—Ellsworth (1969), в которой описаны пять групп (I—V), определяющие прогноз сохранения глаза. Развитие новых интраретинальных опухолей было выявлено у 24% пациентов через 5 лет после консервативной терапии. В большинстве случаев в данную группу вошли дети с развитием РБ в раннем младенчестве и с наследственной РБ [48]. Помимо циторедуктивного воздействия на опухоль использование системной ХТ дает непосредственные и отдаленные осложнения, в том числе развитие ВЗО [49; 50].

Мы решили усовершенствовать, а именно интенсифицировать, системную ХТ с последующим ограничением ДЛТ с альтернативной заменой на локальное лечение (брахитерапию), что, по нашему мнению, является актуальной задачей повышения эффективности и безопасности органосохраняющего лечения местнораспространенных интраокулярных РБ. Новизной этого подхода явилось применение интенсифицированной ХТ (ИХТ) препаратами циклофосфида, этопозид и карбоплатин в интенсивном режиме для редукции объема опухоли с дальнейшей консолидацией с помощью дополнительных видов лечения. В нашем исследовании в качестве дополнительного лечения применялись ДЛТ (СОД = 46 Гр) и брахитерапия.

Для ДЛТ использовали мегавольтную технику — <sup>60</sup>Со-гамма-терапевтические установки (1,25 МэВ) или фотонное облучение на линейных ускорителях (6 МэВ) — в условиях НИИ детской онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. СОД составляла 46 Гр с использованием 23 фракций по 2 Гр 5 раз в неделю. Брахитерапию выполняли специалисты МНИИ ГБ им. Гельмгольца и МНТК Микрохирургия глаза им. акад. С. Н. Федорова. Применяли аппликаторы <sup>106</sup>Ro/<sup>106</sup>Ru. Поглощенную дозу облучения опухоли рассчитывали с учетом облучения

1—2 мм приопухолевых слоев стекловидного тела (апикальная доза). Суммарная апикальная доза составляла в среднем 76 Гр (от 60 до 94 Гр), склеральная — от 150 до 472 Гр. Толщина опухоли перед брахитерапией в среднем была 3,3 мм (от 1 до 6 мм), диаметр в наибольшем измерении — 8 мм (от 3 до 11 мм).

В исследование по органосохраняющему лечению был включен 21 ребенок (6 с ОРБ и 15 с двусторонней РБ (ДРБ)), средний возраст  $17,2 \pm 15,8$  мес, 9 девочек и 12 мальчиков. Все больные получили 4 курса неоадьювантной ИХТ. В данном исследовании использовали современную международную классификацию интраокулярной РБ, предложенную в Амстердаме в 2001 г., классификация ABC (включает пять групп А, В, С, D и E). Эта классификация позволяет определить возможности сохранения глаза с учетом современных методов лечения. В качестве дополнительного лечения среди 6 детей с ОРБ 4 проведена брахитерапия (группа В,  $n = 2$ ; группа D,  $n = 2$ ), а 2 (группа D,  $n = 2$ ) — ДЛТ. Из 15 пациентов с ДРБ полное программное лечение получили 12 (24 глаза). Выбыли из протокола в связи с отказом от лечения 3 пациента (2 отказа от операции, один отказ от ДЛТ). У 12 детей (24 глаза) выявлены следующие интраокулярные стадии: группа В ( $n = 4$ ), группа С ( $n = 4$ ), группа D ( $n = 10$ ), группа E ( $n = 6$ ). Первоначальная энуклеация более пораженного глаза проведена 8 из 12 пациентов с ДРБ (группа D,  $n = 2$ ; группа E,  $n = 6$ ). Причинами энуклеаций стали глаукома ( $n = 5$ ), массивное поражение глазного яблока с отсутствием зрения ( $n = 3$ ).

Все пациенты после первоначальной энуклеации получили 4 курса ИХТ. Ни один из 8 больных не подвергался ДЛТ на ложе удаленного глаза. Для дополнительного лечения оставшегося глаза в 6 случаях применялась ДЛТ (группа В,  $n = 1$ ; группа С;  $n = 1$ , группа D,  $n = 4$ ) и в 2 случаях (группа С,  $n = 1$ ; группа В,  $n = 1$ ) — брахитерапия. Первичная консервативная терапия проведена у 4 из 12 больных с ДРБ. Органосохраняющее лечение без операции (ДЛТ) удалось провести одному пациенту (правый глаз — группа D, левый глаз — группа В). В связи с неудовлетворительным ответом РБ после 2 курсов ИХТ 3 из 4 детей выполнена энуклеация худшего глаза (группа D,  $n = 3$ ). У 2 из 3 детей после 4 курсов ИХТ проведено дополнительное лечение сохраненного глаза (ДЛТ — группа D,  $n = 1$  и брахитерапия — группа В,  $n = 1$ ), и одному удалось сохранить глаз (группа D,  $n = 1$ ) без дополнительной терапии. Среди ранних осложнений ДЛТ у всех пациентов наблюдался переходящий дерматит век, а среди поздних — несущественная асимметрия лица в связи с замедлением роста костей, образующих глазницу. Лучевая катаракта, снижающая зрительные функции, возникла в 2 из 2 глаз с ОРБ и в 6 из 8 с ДРБ. Осложнениями брахитерапии были переходящие кровоизлияния на верхушке опухоли и локальная хориоретинальная дистрофия вокруг опухолевого очага. Среди осложнений ИХТ отмечены 4 случая токсического действия на желудочно-кишечный тракт и 2 случая — на печень, не превышающие 1-й степени; токсическое влияние на кровь отмечено у всех пациентов с преобладанием 4-й степени у 14 (66,7%) детей. Удалось добиться клинически полной регрессии интраокулярной ОРБ со средним периодом безрецидивного наблюдения 32 мес. Все пациенты живы.

По окончании лечения у всех 12 пациентов с ДРБ наблюдалась клинически полная регрессия опухоли в сохраненном глазу. На момент окончания лечения сохранены 13 глаз у 12 больных с ДРБ (у 11 детей — 11 глаз и у одного — 2 глаза). У 5 из 12 пациентов отмечены интраокулярные рецидивы в сроки от 9 до 34 мес от начала лечения. В 2 из 5 случаев рецидивы возникли после ДЛТ. Была рекомендована энуклеация в связи с массивным субретинальным рецидивом, гемофтальмом и вторичной глаукомой (группа D) в одном случае и массивным витреальным рецидивом (группа D) — во втором. В 2 из 3 рецидивных случаев после брахитерапии (группа В) единственный глаз удалось сохранить, применяя локальную терапию ( $n = 1$  брахитерапия;  $n = 1$  брахитерапия + криотерапия). Оставшемуся одному из 3 пациентов рекомендовалась энуклеация в связи с ретинальным рецидивом с краевым ростом опухоли и развитием вторичной глаукомы (группа С). В итоге у 3 больных с ДРБ возникли показания к удалению единственного глаза. Применяя ИХТ и дополнительные виды лечения с первоначальной энуклеацией 8 (33,3%) из 24 глаз у 12 пациентов, удалось сохранить 10 (62,5%) из 16 оставшихся глаз. Один из 12 пациентов умер от рецидива заболевания и отказа родителей от удаления единственного глаза. Безрецидивная выживаемость больных с ДРБ ( $n = 12$ ) в сроки наблюдения 48 мес составила 58,3%, общая выживаемость в сроки наблюдения 72,9 мес — 90%.

Благодаря ИХТ при органосохраняющем лечении не только сократилась общая продолжительность терапии детей с РБ, но и стало возможным в 7 случаях отказаться от ДЛТ как адьювантного лечения и применять брахитерапию. В одном случае удалось достигнуть полной регрессии РБ с применением только ИХТ.

Интраокулярные рецидивы, выявленные у 5 больных в группе с ДРБ, демонстрируют необходимость поиска новых методов лечения. В то же время выявленные в ранние сроки интраокулярные локальные рецидивы могут быть вылечены и традиционными методами локальной терапии (крио- и брахитерапия).

#### Локальная химиотерапия (ЛХТ)

Еще не выработан единый подход к использованию ЛХТ. Небольшое количество публикаций по данной теме не позволяет сделать однозначных выводов для выработки точных показаний и противопоказаний к ЛХТ. Ее проводят с использованием различных инъекционных методик, таких, как субконъюнктивальные инъекции карбоплатина [51], субтеноновые инъекции карбоплатина [52], внутриглазные инъекции, селективная инъекция глазничной артерии с применением мелфалана [53]; а также витреальная хирургия, при которой используется ирригация химиопрепарата [54]. Субконъюнктивальная ХТ имеет ряд преимуществ: вызывает регрессию ретинальной РБ и отсевов в стекловидное тело, не оказывая системного токсического действия. Недостатками данной методики являются переходящий периорбитальный отек и отсутствие регрессии РБ при субретинальном расположении опухоли.

J. G. Villablanca и соавт. (2001) продемонстрировали эффективность комбинированной системной ХТ по схеме VEC с субтеноновым введением карбоплатина, что по-

зволило сохранить функционирующий глаз у пациентов с местнораспространенной РБ с признаками группы С в 2 из 3 и с признаками группы D в 11 из 19 случаев. При наличии признаков группы E данная комбинация была неэффективной. Средний безрецидивный период в группе С составил 9 мес, в группе D — 8 мес (5—12 мес), в группе E — 9 мес.

Несомненно, наибольшим опытом в проведении внутриартериальной ХТ путем селективной инъекции глазной артерии (SOAI) обладают японские коллеги. Данная методика с использованием баллонного катетера была основана и развита доктором Mohri. В работе T. Yamane и соавт. (2009) отмечено, что в 1989—2007 гг. проведено 1083 SOAI с использованием мелфалана. Степень технического успеха составила 98,6%. По данной методике с успехом пролечены 287 пациентов (ОРБ/ДРБ = 118/169). Большинство SOAI комбинировались с лазеро- и криолечением, а также с инъекциями в стекловидное тело. Эффективность органосохраняющего лечения в зависимости от групп по классификации Reese—Ellsworth достигла следующих результатов: Ia = 81,3% (13 из 16); Ib = 88% (22/25); IIa = 83,3% (30 из 36); IIb = 80,8% (21 из 26); IIIa = 74,3% (26 из 35); IIIb = 72,3% (8 из 11); IVa = 75% (15 из 20); IVb = 80% (16 из 20); Va = 44,8% (30 из 67); Vb = 59,2% (61 из 103). S. Suzuki, A. Kaneko [55] сообщают, что основными местными осложнениями у 343 больных, включенных в исследование с 1987 по 2007 г. (408 глаз, 1470 процедур SOAI с использованием мелфалана 5—20 мг/м<sup>2</sup>), были синдром верхушки глазницы в 2 случаях и диффузная атрофия сосудистой оболочки в 2 случаях. Преходящий отек периорбитальных тканей и рвота встречались в некоторых случаях. В случае первоначальной SOAI без системной ХТ и ДЛТ сохранены 60% глаз (группа B). В 50% случаев (группа D) и в 35% (группа E) удалось избежать энуклеации. Расширение показаний к органосохраняющему лечению интраокулярных РБ путем повышения его эффективности за счет биодоступности химиопрепарата, с одной стороны, и снижения системного токсического действия ХТ, с другой, является основной задачей ЛХТ, например, при внутриглазных рецидивах РБ после попыток традиционного лечения, при опухолевом обсеменении стекловидного тела и при больших опухолях — как альтернатива наружному облучению глаза и энуклеации.

#### ЛЕЧЕНИЕ РБ С ЭКСТРАОКУЛЯРНЫМ РАСПРОСТРАНЕНИЕМ

У отдельных пациентов РБ распространяется на мягкие ткани, окружающие глазное яблоко или определяется в крае резекции зрительного нерва после энуклеации, а также выявляется прехиазмально, в головном мозге, лептоменингеально (по оболочкам головного мозга и ликвору), в регионарных лимфатических узлах и других органах и системах (легкие, кости, костный мозг). Смертность больных РБ обусловлена ВЗО, пинеалобластомой, но чаще метастазированием [56—58]. ВЗО и пинеалобластома характерны для наследственной РБ. Метастазирование встречается как при наследственной, так и при спорадической РБ, являясь основной причиной смерти. Метастатическая РБ встречается менее чем в 10% случаев [59]. Возможность снизить риск развития метастатической РБ появляется при использовании пост-

энуклеационной адьювантной противоопухолевой терапии в зависимости от группы риска [60—63].

Наличие отдаленных метастазов, особенно в ЦНС, служит фактором крайне неблагоприятного прогноза.

Опыт японских коллег в использовании ВХТ с аутологичной трансплантацией ПСКК при лечении детей с метастатической РБ демонстрирует его эффективность у 3 из 5 пациентов [64]. Эти пациенты живут без признаков заболевания уже 113, 107 и 38 мес. Из 5 больных умерли 2, у которых имелось первоначальное вовлечение в опухолевый процесс ЦНС.

I. J. Dunkel и соавт. (2010) показали, что для некоторых пациентов с вовлечением ЦНС эффективна ВХТ с аутологичной пересадкой ПСКК [65]. Из 5 детей 2 живут без признаков заболевания 40 и 101 мес.

Прогноз у больных РБ с экстраокулярным распространением при лечении стандартными режимами ХТ и ДЛТ крайне неблагоприятный. Результаты предшествующих попыток лечения оказались неудовлетворительными. Безрецидивная 2-летняя выживаемость в группе из 16 детей (НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 1996—2000 гг.) составляла 23%. Ввиду высокой чувствительности РБ к ХТ увеличение доз химиотерапевтических препаратов с поддержкой стволовыми клетками становится многообещающим.

С 2001 по 2008 г. в исследование были включены 16 больных РБ с экстраокулярным распространением. Среди данной группы детей с РБ у 8 экстраокулярное распространение определялось микроскопически после энуклеации. Программа лечения включала адьювантную ИХТ, ДЛТ и ВХТ с аутологичной трансплантацией ПСКК. У остальных 8 пациентов имелась РБ с экстраокулярным распространением, выявляемым методами визуализации с цитологическим подтверждением. В таких случаях рекомендовались 2 курса ИХТ, после чего выполнялась операция. Объем операции (энуклеация глаза или поднадкостничная экзентерация глазницы) зависел от эффекта лечения, т. е. от наличия или отсутствия экстраокулярного роста опухоли. После ИХТ (при наличии первичного поражения костного мозга не ранее чем через 1 курс ХТ в отсутствие метастатического поражения костного мозга) собирали ПСКК. Одновременно с ИХТ назначали ДЛТ в послеоперационном периоде сразу на область глазницы и метастазов при их наличии. Лечение завершали ВХТ с аутологичной трансплантацией ПСКК.

Предложенная программа лечения детей с экстраокулярной РБ с использованием ВХТ с аутологичной трансплантацией ПСКК полностью проведена 12 пациентам, что позволило увеличить безрецидивную выживаемость с 23 до 63,6% со средним сроком наблюдения 56,6 мес.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные тенденции в лечении детей с РБ нашли отражение в созданных программах, на основе которых индивидуально определяют тактику лечения в зависимости от группы риска, к которой принадлежит пациент с учетом всех прогностических факторов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Hurwitz R. L., Shields C. L., Shields J. A., Chevez-Barrios P., Hurwitz M. Y., Chintagumpala M. M. Retinoblastoma / P. A. Pizzo,

- D. G. Poplack (eds.) Principles and practice of pediatric oncology. — Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. — P. 825—846.
2. Бровкина А. Ф. Руководство по офтальмоонкологии. — М.: Медицина, 2002. — С. 421.
  3. Дурнов М. А., Голдобенко Г. В. Детская онкология: Учебник (2-е изд.). — М.: Медицина, 2002. — С. 607.
  4. Поляков В. Г. Ретинобластома у детей // Энциклопедия клинической онкологии. — М.: Издательская группа РОНЦ, 2004. — С. 767—771.
  5. Саакян С. В. Ретинобластома (Клиника, диагностика и лечение). — М.: Медицина, 2005. — С. 199.
  6. Treatment of Retinoblastoma: Current Status and Future Perspectives / Rodriguez-Galindo C., Chantada G. L., Haik B. G., Wilson M. W. // Curr. Treat. Options Neurol. — 2007. — Vol. 9, N 4. — P. 294—307.
  7. Shields C. L., Shields J. A. Recent developments in the management of retinoblastoma // J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus. — 1999. — Vol. 36. — P. 8—18.
  8. Поляков В. Г., Ушакова Т. Л. Ретинобластома // Онкология. Национальное Руководство / Под ред. М. Д. Алиева и В. Г. Полякова. — М. GEOTAR-Медиа, 2008. — С. 984—989.
  9. Риск-адаптированная терапия ретинобластомы / Ушакова Т. Л., Максимова О. В., Долгополов И. С., Глеков И. В., Павловская А. И., Хозяйкина О. В., Поляков В. Г., Менткевич Г. Л. // Детская онкол. — 2006. — № 4. — С. 81—85.
  10. Анализ результатов лечения ретинобластомы высокого риска / Ушакова Т. Л., Долгополов И. С., Горюцова О. В., Матвеева И. И., Павловская А. И., Глеков И. В., Пименов Р. И., Бояршинов В. К., Менткевич Г. Л., Поляков В. Г. // Детская онкол. — 2009. — № 3—4. — С. 61—67.
  11. Retinoblastoma patients with high risk ocular pathological features: who needs adjuvant therapy? / Chantada G. L., Dunkel I. J., de Davila M. T., Abramson D. H. // Br. J. Ophthalmol. — 2004. — Vol. 88, N 8. — P. 1069—1073.
  12. Eagle R. C. High-risk features and tumor differentiation in retinoblastoma: a retrospective histopathologic study // Arch. Pathol. Lab. Med. — 2009. — Vol. 133, N 8. — P. 1203—1209.
  13. Redler L. D., Ellsworth R. M. Prognostic importance of choroidal invasion in retinoblastoma // Arch. Ophthalmol. — 1973. — Vol. 90. — P. 294—296.
  14. Invasion of the optic nerve by retinoblastoma: a clinicopathological study / Rootman J., Hofbauer J., Ellsworth R. M., Kitchen D. // Can. J. Ophthalmol. — 1976. — Vol. 11. — P. 106—114.
  15. Proceedings of the consensus meetings from the IRSWG on the pathology guidelines for the examination of enucleated eyes and evaluation of prognostic risk factors in retinoblastoma / Sastre X., Chantada G. L., Doz F., Wilson M. W., de Davila M., Rodriguez-Galindo C., Chintagumpala M., Chévez-Barrios P. // Arch. Path. Lab. Med. — 2009. — Vol. 133, N 8. — P. 1199—1202.
  16. Choroidal invasion of retinoblastoma: metastatic potential and clinical risk factors / Shields C. L., Shields J. A., Baez K. A., Cater J., De Potter P. V. // Br. J. Ophthalmol. — 1993. — Vol. 77. — P. 544—548.
  17. Retinoblastoma: correlation of invasion of the optic nerve and choroid with prognosis and metastases / Stannard C., Lipper S., Sealy R., Sevel D. // Br. J. Ophthalmol. — 1979. — Vol. 63. — P. 560—570.
  18. Белкина Б. М. Клиника, диагностика и лечение ретинобластомы у детей: Дис... д-ра мед. наук. — М., 1993. — 212 с.
  19. Галперин Э., Констаин Л., Тарбелл Н. Лучевая терапия в детской онкологии: Пер. с англ. Щербенко О. И. — М.: Медицина, 1999. — 752 с.
  20. Treatment outcome and dose-response relationship in infants younger than 1 year treated for retinoblastoma with primary irradiation / Fontenesi J., Pratt C. D., Kun L. E., Hustu H. O., Coffey D., Meyer D. // Med. Pediatr. Oncol. — 1996. — Vol. 26. — P. 297—304.
  21. Cope J. U., Tsokos M., Miller R. W. Ewing sarcoma and sinonasal neuroectodermal tumors as second malignant tumors after retinoblastoma and other neoplasms / Med. Pediatr. Oncol. — 2001. — Vol. 36, N 2. — P. 290—294.
  22. Second nonocular tumors in the retinoblastoma survivors: are they radiation-induced? / Abramson D. H., Ellsworth R. M., Kitchin F. D., Tung G. // Ophthalmology. — 1984. — Vol. 91. — P. 1351—1355.
  23. Roarty J. D., McLean I. V., Zimmerman L. E. Incidence of second neoplasms in patients with bilateral retinoblastoma // Ophthalmology. — 1988. — Vol. 95. — P. 1583—1587.
  24. Mortality from second tumors among long-term survivors of retinoblastoma / Eng C., Li F. P., Abramson D. H., Ellsworth R. M., Wong F. L., Goldman M. B., Seddon J., Tarbell N., Boice J. D. // J. Natl. Cancer. Inst. — 1993. — Vol. 85. — P. 1121—1128.
  25. Intensity-modulated radiation therapy for children with intraocular retinoblastoma: potential sparing of the bony orbit / Krasin M. J., Crauford B. T., Zhu Y., Evans E. S., Sontag M. R., Kun L. E., Merchant T. E. // Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol). — 2004. — Vol. 16, N 3. — P. 215—222.
  26. Retinoblastoma — comparative analysis of external radiotherapy techniques, including an IMRT technique / Reisner M. L., Viégas C. M., Graziotin R. Z., Santos Batista D. V., Carneiro T. M., Mendonça de Araújo C. M., Marchiori E. // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. — 2007. — Vol. 67, N 3. — P. 933—941.
  27. Treatment planning with protons for pediatric retinoblastoma, medulloblastoma, and pelvic sarcoma: how do protons compare with other conformal techniques? / Lee C. T., Bilton S. D., Famiglietti R. M., Riley B. A., Mahajan A., Chang E. L., Maor M. H., Woo S. Y., Cox J. D., Smith A. R. // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. — 2005. — Vol. 63, N 2. — P. 362—372.
  28. Episcleral plaque brachytherapy for retinoblastoma / Merchant T. E., Gould C. J., Wilson M. W., Hilton N. E., Rodriguez-Galindo C., Haik B. G. // Pediatr. Blood Cancer. — 2004. — Vol. 43, N 2. — P. 134—139.
  29. 106-Ruthenium/106-Rhodium Brachytherapy of Retinoblastoma / Schuele A. O., Fluehs D., Sauerwein W., Schilling H., Anastassiou G., Bornfeld N. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2004. — Vol. 45. — E-abs. 5191.
  30. Shields C. L., Shields J. A. Diagnosis and management of retinoblastoma // Cancer Control. — 2004. — Vol. 11. — P. 317—327.
  31. Suzuki S., Kaneko A. Management of intraocular retinoblastoma and ocular prognosis // Int. J. Clin. Oncol. — 2004. — Vol. 9. — P. 1—6.
  32. Rhegmatogenous retinal detachment in retinoblastoma patients undergoing chemoreduction and cryotherapy / Anagnoste S. R., Scott I. U., Murray T. G., Kramer D., Toledano S. // Am. J. Ophthalmol. — 2000. — Vol. 129. — P. 817—819.
  33. Lim T. H., Robertson D. M. Presumed rhegmatogenous retinal detachment in patients with retinoblastoma // Retina. — 2000. — Vol. 20. — P. 22—27.
  34. The role of cryotherapy in the management of retinoblastoma / Shields J. A., Parsons H., Shields C. L., Gihlin M. E. // Am. J. Ophthalmol. — 1989. — Vol. 108. — P. 260—264.
  35. Scheffer A. C., Abramson D. H. Transpupillary Thermotherapy as Initial Treatment for Small Intraocular Retinoblastoma // Technique and Predictors of Success Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2003. — Vol. 44. — E-abs. 1575.
  36. Thermotherapy for retinoblastoma / Shields C. L., Santos M. C., Diniz W., Gunduz K., Mercado G., Cater J. R., Shields J. A. // Arch. Ophthalmol. — 1999. — Vol. 117, N 7. — P. 885—893.
  37. Continuing challenges in the management of retinoblastoma with chemotherapy / Shields C. L., Meadows A. T., Leahey A. M., Shields J. A. // Retina. — 2004. — Vol. 24, N 6. — P. 849—862.
  38. Chemothermotherapy in the management of retinoblastoma / Lumbroso L., Doz F., Urbieta M., Levy C., Bours D., Asselain B., Vedrenne J., Zucker J. M., Desjardins L. // Ophthalmology. — 2002. — Vol. 109. — P. 1130—1136.
  39. Chemotherapy plus local treatment in the management of intraocular retinoblastoma / Murphee A. L., Villablanca J. G., Deegan W. F. 3rd., Sato J. K., Malpplowkin M., Fisher A., Parker R., Reed E., Gomer C. J. // Arch. Ophthalmol. — 1996. — Vol. 114. — P. 1348—1356.
  40. Chemotherapy for retinoblastoma: an Expanding area of clinical research / Schouten-van Meeteren A. Y. N., Moll A. C., Imhof S. M., Veerman A. J. P. // Med. Pediatr. Oncol. — 2002. — Vol. 38. — P. 428—438.
  41. Lipson M., Kun L. E., Pratt C. B. Treatment of intraocular retinoblastoma with vincristine and carboplatin // J. Clin. Oncol. — 2003. — Vol. 21. — P. 2019—2025.
  42. Treatment of intraocular retinoblastoma with vincristine and carboplatin / Rodriguez-Galindo C., Wilson M. W., Haik B. G., Merchant T. E., Billups C. A., Shah N., Cain A., Langston J., Lipson M., Kun L. E., Pratt C. B. // J. Clin. Oncol. — 2003. — Vol. 21, N 10. — P. 2019—2025.
  43. Multiagent chemotherapy as neoadjuvant treatment for multifocal intraocular retinoblastoma / Wilson M. W., Rodriguez-Galindo C.,

- Haik B. G., Moshfeghi D. M., Merchant T. E., Pratt C. B. // *Ophthalmology*. — 2001. — Vol. 108, N 11. — P. 2106—2114.
44. Retinoblastoma: a proposal for a multimodal treatment concept for intraocular retinoblastoma in Austria / Sovinz P., Urban C., Lackner H., Benesch M., Langmann G. // *Klin. Wochenschr.* — 2006. — Vol. 118, N 1—2. — P. 22—30.
45. Clinicopathologic features of retinoblastoma after primary chemoreduction / Bechrakis N. E., Bornfeld N., Schueler A., Coupland S. E., Henze G., Foerster M. H. // *Arch. Ophthalmol.* — 1998. — Vol. 116. — P. 887—893.
46. Chemoreduction plus focal therapy for retinoblastoma: factors predictive of need for treatment with external beam radiotherapy or enucleation / Shields C. L., Honavar S. G., Meadows A. T., Shields J. A., Demirci H., Singh A., Friedman D. L., Naduvilath T. J. // *Am. J. Ophthalmol.* — 2002. — Vol. 33, N 5. — P. 657—664.
47. Chemoreduction for unilateral retinoblastoma / Shields C. L., Honavar S. G., Meadows A. T., Shields J. A., Demirci H., Naduvilath T. J. // *Arch. Ophthalmol.* — 2002. — Vol. 120. — P. 1652—1658.
48. Development of new retinoblastomas after 6 cycles of chemoreduction for retinoblastoma in 162 eyes of 106 consecutive patients / Shields C. L., Shelil A., Cater J., Meadows A. T., Shields J. A. // *Arch. Ophthalmol.* — 2003. — Vol. 121. — P. 1571—1576.
49. Draper G. J., Sanders B. M., Kingston J. E. Second primary neoplasms in patients with retinoblastoma // *Br. J. Cancer*. — 1986. — Vol. 53. — P. 661—667.
50. Homozygosity of chromosome 13 in retinoblastoma / Druja T. P., Cavane W., White R., Rapaport J., Petersen R., Albert D., Bruns G. // *N. Engl. J. Med.* — 1984. — Vol. 310. — P. 550—553.
51. Abramson D. H., Frank C. M., Dunkel I. J. A phase I/II study of subconjunctival carboplatin for intraocular retinoblastoma // *Ophthalmology*. — 1999. — Vol. 106. — P. 1947—1950.
52. Villablanca J. G., Jubran R., Murphree A. L. Phase I study of subtenon carboplatin I with systemic high dose carboplatin/etoposide/vincristine (CEV) for eyes with disseminated intraocular retinoblastoma (RB) // *Proceedings of the XIII Biannual Meeting of ISGED and the X International Symposium on Retinoblastoma, Fort Lauderdale, 4 May, 2001.*
53. Ophthalmic arterial injection therapy for retinoblastoma patients by using melphalan: technique and eye preservation rates / Yamane T., Suzuki S., Kaneko A., Mohri M. // *ISOO Meeting Cambridge. Abstracts book*. — UK, 2009. — P. 282.
54. Our recent modifications of local chemotherapies for preservation of eyes with retinoblastoma / Kaneko A., Kaneko T., Moori M., Takeuchi S. // *ISOO Meeting*. — UK, Cambridge: Abstracts book, 2009. — P. 280.
55. Suzuki S., Kaneko A. Ocular and systemic prognosis of selective ophthalmic arterial injection for intraocular retinoblastoma // *ISOO Meeting*. — UK, Cambridge: Abstracts book, 2009. — P. 283.
56. Kopelman J. E., McLean I. W., Rosenberg S. H. Multivariate analysis of risk factors for metastasis in retinoblastoma treated by enucleation // *Ophthalmology*. — 1987. — Vol. 94. — P. 371—377.
57. Singh A. D., Shields C. L., Shields J. A. Prognostic factors in retinoblastoma // *J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus*. — 2000. — Vol. 37. — P. 134—141.
58. Cancer incidence after retinoblastoma: radiation dose and sarcoma risk / Wong F. L., Boice J. D., Abramson D. H., Tarone R. E., Kleinerman R. A., Stovall M., Goldman M. B., Seddon J. M., Tarbell N., Fraumeni J. F., Li F. P. // *JAMA*. — 1997. — Vol. 278. — P. 1262—1267.
59. Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER program 1975—1995 / Ries L. A. G., Smith M. A., Gurney J. G., Linet M., Taura J., Young J. L., Bunin G. R. — NIH Pub. N 99-4649, 1999. — P. 73—78.
60. Новые технологии лечения детей с местнораспространенной, локализованной, метастатической, рецидивной ретинобластомой / Поляков В. Г., Менткевич Г. Л., Ушакова Т. Л., Максимова О. В., Долгополов И. С., Глеков И. В., Павловская А. И., Кошечкина Н. А., Хозяйкина О. В. // *Сб. матер. VIII Рос. онкол. конгр.*, г. Москва, 23—25 ноября 2004 г. — С. 168—169.
61. Retinoblastoma with low risk for extraocular relapse / Chantada G. L., de Dóvila M. T., Fandico A., Manzitti J., Raslawski E., Casak S., Schwartzman E. // *Ophthalmic. Genet.* — Vol. 1999, N 20. — P. 133—140.
62. Results of a Prospective Study for the Treatment of Retinoblastoma / Chantada G., Fandiño A., de Davila M. T., Manzitti J., Raslawski E., Casak S., Schwartzman E. // *Cancer*. — 2004. — Vol. 100, N 4. — P. 834—842.
63. Evaluation of chemoprophylaxis in patients with unilateral retinoblastoma with high-risk features on histopathologic examination / Uusitalo M. S., Van Quill K. R., Scott I. U., Matthay K. K., Murray T. G., O'Brien J. M. // *Arch. Ophthalmol.* — 2001. — Vol. 119, N 1. — P. 41—48.
64. A multidisciplinary treatment strategy that includes high-dose chemotherapy for metastatic retinoblastoma without CNS involvement / Matsubara H., Makimoto A., Higa T., Kawamoto H., Sakiyama S., Hosoно A., Takayama J., Takaue Y. // *Bone Marrow Transplantation*. — 2005. — Vol. 35. — P. 763—766.
65. High-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell rescue for stage 4B retinoblastoma / Dunkel L. J., Chan S. H., Jubrun R., Chantada G. L., Goldman S., Chintagumpala M., Khakoo Y., Abramson D. H. // *Pediatr. Blood Cancer*. — 2010. — Vol. 55, N 1. — P. 149—152.

Поступила 19.03.2011

*Tatiana Leonidovna Ushakova<sup>1</sup>*

## CONTEMPORARY APPROACHES TO THE TREATMENT OF RETINOBLASTOMA

*<sup>1</sup> MD, PhD, Senior Researcher, Head and Neck Tumor Department, Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

Address for correspondence: Ushakova Tatiana Leonidovna, Head and Neck Tumor Department, Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478; e-mail: ushtat07@mail.ru

Enucleation, external beam radiotherapy, plaque radiotherapy, laser photocoagulation and hyperthermia, and cryotherapy are generally employed treatment modalities in patients with retinoblastoma. Neoadjuvant chemotherapy has recently been introduced to avoid external beam radiotherapy. Although many modalities are employed, almost half of retinoblastoma eyes have to be enucleated. Initial enucleation is used in cases with massive intraocular retinoblastoma and poor vision prognosis when histopathologic risk factors are important indications for adjuvant therapy in patients with retinoblastoma. Intensive multi-modality therapy including conventional chemotherapy, high-dose chemotherapy with stem cell rescue and external beam radiation therapy is associated with a better survival rate for patients with extra-ocular disease as compared to historical series using conventional chemotherapy and external beam radiation therapy.

**Key words:** retinoblastoma, enucleation, histopathologic risk factors, treatment modalities.

---



## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Валентина Петровна Дерягина<sup>1</sup>, Наталья Ильинична Рыжова<sup>2</sup>,  
Ирина Сергеевна Голубева<sup>3</sup>

### ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ И ОБРАЗОВАНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ОКСИДА АЗОТА В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ С ПЕРЕВИВАЕМЫМИ ОПУХОЛЯМИ

- <sup>1</sup> К. б. н., старший научный сотрудник, группа профилактики канцерогенных воздействий отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>2</sup> К. б. н., старший научный сотрудник, группа профилактики канцерогенных воздействий отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- <sup>3</sup> К. б. н., ведущий научный сотрудник, группа первичного отбора, лаборатория биохимической фармакологии 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 канцерогенеза РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, группа профилактики канцерогенных воздействий отдела химического канцерогенеза, Дерягина Валентина Петровна; e-mail: Derygina@inbox.ru

В экспериментах на мышах изучены в динамике функциональная активность фагоцитов крови и перитонеальной жидкости, а также образование производных NO — нитратов и нитритов в организме мышей с перевиваемыми карциномой легкого Льюиса и карциномой Эрлиха. Показано, что рост метастазирующей карциномы Льюиса сопровождается подавлением эндогенного образования производных NO и снижением образования активных форм кислорода нейтрофилами крови в спонтанном состоянии. Суммарное количество нитросоединений, выделяемое с мочой у мышей с карциномой Льюиса, было на 22,5—70,7% меньше, чем в контроле. Концентрация нитросоединений в пересчете на нитраты в опухолевой ткани изменялась в пределах  $(2,83—5,16) \times 10^{-6}$  моль/кг ткани и мало зависела от стадии роста карциномы Льюиса. Величина значимого снижения спонтанной хемилюминесцентной активности нейтрофилов крови составила при росте карциномы Льюиса 36,8—87% и карциномы Эрлиха — 44,7%. При этом фагоцитозависимая хемилюминесценция стимулированных нейтрофилов в крови мышей с опухолями была в 1,7—9 раз ( $p < 0,01$ ) больше, чем в контроле. Спонтанная хемилюминесцентная активность перитонеальных макрофагов и моноцитов не отличалась от контроля, а фагоцитозависимая хемилюминесценция стимулированных клеток возрастала в 2,2—4,5 раза ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ) на всех этапах роста карциномы Льюиса.

**Ключевые слова:** мышцы, карцинома легкого Льюиса, карцинома Эрлиха, нейтрофилы, макрофаги, активные формы кислорода, производные оксида азота.

В системе противоопухолевой защиты важная роль принадлежит эффекторным клеткам неспецифической противоопухолевой резистентности, к которым относятся естественные киллерные клетки, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки и др. [1; 2].

© Дерягина В. П., Рыжова Н. И., Голубева И. С., 2011  
УДК 616-006.6-092.9:616.155.3

Являясь первым барьером на пути возникновения, роста и распространения опухолевых клеток, макрофаги и нейтрофилы способны распознавать, подавлять и элиминировать их из организма. Цитотоксическое действие активированных макрофагов и нейтрофилов на опухолевые клетки осуществляется с помощью разных механизмов, в том числе в результате активации NADPH-зависимой оксидазы. Это приводит к образованию ряда

активных форм кислорода (АФК): супероксид-анион-радикала, пероксида водорода, гидроксильного радикала, синглетного кислорода, а также оксида азота и др. Эти соединения обладают мощным окислительным и антимикробным потенциалом и в значительной мере определяют цитостатическое и цитотоксическое действие макрофагов и нейтрофилов, в том числе по отношению к опухолевым клеткам [3; 4]. Существует мнение, согласно которому локальное или системное подавление активности эффекторных клеток естественной резистентности рассматривается как необходимое условие развития опухоли и ее метастазов [5].

Помимо макрофагов и нейтрофилов оксид азота NO секретируется некоторыми клетками и тканями: кардиомиоцитами, гепатоцитами, гладкомышечными элементами сосудов, опухолевой тканью и др. Многократное повышение образования NO при опухолевом росте является следствием активации одной из изоформ NO-синтазы — индуцибельной NO-синтазы (iNOS) под влиянием цитокинов: интерлейкина-1 и интерлейкина-2, интерферона- $\gamma$  или его комбинации с  $\alpha$ - и  $\beta$ -факторами некроза опухоли, а также с липидом А (P) и т. д. [6; 7]. Малые размеры и отсутствие заряда обеспечивают молекуле NO высокую проницаемость через мембраны клеток и субклеточных структур, а наличие одного неспаренного электрона придает ей высокую реакционную способность. Оксид азота вызывает разнонаправленные биологические эффекты, которые определяются многими факторами: природой донора NO, концентрацией, экспозицией, продуктами реакции с ключевыми реагентами (кислород и его активные формы, углекислый газ и др.) и мишенями (металлы, тиолсодержащие аминокислоты, белки и др.).

Роль NO в канцерогенезе также неоднозначна. Повышенное образование NO может обусловить повреждение структуры ДНК, стимулировать ангиогенез, инвазирование и метастазирование опухолей и др. В то же время NO может запускать процессы апоптотической гибели злокачественных клеток [8—11]. Ряд авторов рассматривают восстановление подавленной экспрессии iNOS в качестве терапевтической меры при прогрессировании и метастазировании опухолей [12; 13]. В ранее выполненных нами экспериментальных исследованиях нитропруссид натрия (источник NO) в зависимости от дозы проявлял разнонаправленное действие на рост карциномы Эрлиха (КЭ) [14]. В клинических исследованиях показана целесообразность использования препаратов — доноров NO, способных повышать эффективность ряда клинически значимых способов лечения онкологических заболеваний [12; 15; 16].

Согласно результатам экспериментальных и клинических исследований, экспрессия iNOS резко варьирует в зависимости от гистогенеза, стадии развития опухоли. В связи с этим существенный научный и практический интерес представляет изучение уровней биосинтеза NO в организме на моделях опухолевого роста, а также реакции клеток врожденного иммунитета на рост трансплантированных опухолевых клеток у мышей в зависимости от стадии опухолевого процесса.

Целью настоящего исследования является изучение в динамике функциональной активности нейтрофилов крови и макрофагов перитонеального содержимого, а

также эндогенного образования NO в организме мышей с перевиваемой карциномой Льюиса (КЛ) и КЭ.

В исследовании определены следующие задачи:

- 1) изучить функциональную активность нейтрофилов крови и макрофагов перитонеальной жидкости (ПЖ), определяемую по образованию АФК, в процессе роста КЛ у мышей;
- 2) изучить функциональную активность нейтрофилов крови и макрофагов ПЖ у мышей на поздних стадиях развития КЭ;
- 3) изучить эндогенное образование производных оксида азота — нитритов и нитратов у мышей в процессе роста КЛ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на 106 мышках массой 20—22 г разведки питомника «Столбовая» РАМН, с использованием двух моделей опухолевого роста: перевиваемой КЛ — 60 мышшей-самцов F<sub>1</sub> (C<sub>57</sub>Bl×CBA) и перевиваемой КЭ — 14 мышшей-самцов C<sub>57</sub>Bl и 32 мышшей-самцов F<sub>1</sub>(C<sub>57</sub>Bl×CBA). Мышей содержали в условиях вивария с обычным режимом питания. Опухолевые клетки КЛ и КЭ (штаммы получены из банка РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН) перевивали подкожно методом инокуляции соответственно в правую подмышечную или правую паховую область. Каждой мышше вводили по 50 мг опухолевой взвеси КЛ в среде 199 в разведении 1 : 10 ( $5 \times 10^6$  клеток) или  $10^6$  клеток КЭ в 0,5 мл раствора Хенкса. Мышей F<sub>1</sub> (C<sub>57</sub>Bl×CBA) разделили на 6 равноценных групп: I группа — здоровые (контроль); II—VI группы — мышши с перевиваемой КЛ. Функциональную активность нейтрофилов крови и макрофагов у мышшей I—V групп определяли до перевивки опухоли и после нее на 6, 13, 20 и 27-е сутки. Выделение нитратов и нитритов с мочой за сутки определяли на 2, 9, 16, 21 и 30-й день роста КЛ у мышшей VI группы. Функциональную активность нейтрофилов крови у мышшей с КЭ определяли на 26, 33 и 37-е сутки роста опухоли в 3 опытах.

Схема эксперимента отражена в табл. 1, 2.

Образование АФК фагоцитами крови и ПЖ (нейтрофилами, моноцитами и макрофагами) анализировали хемилюминесцентным методом, используя прибор Билюмат, модель 9500 («Berthold», Германия) [17; 18]. Кровь, полученную после декапитации под эфирным наркозом животных (с добавлением гепарина 10 ед/мл), разводили в 4 раза раствором Хенкса, содержащим буфер НЕРРЕS (5 мг на 100 мл раствора). Резидентные клетки ПЖ получали промыванием брюшной полости раствором Хенкса в объеме 2 мл. Клетки ПЖ осаждались на предметном стекле в термостате при температуре 37 °С в течение 20 мин, затем их фиксировали метанолом и окрашивали по Романовскому—Гимзе. Количество клеток в крови и ПЖ подсчитывали в камере Горяева, клеточный состав определяли в окрашенных мазках по морфологическим критериям.

Для постановки реакции спонтанной хемилюминесценции (СХЛ) и фагоцитоззависимой хемилюминесценции (ФЗХЛ) крови и клеток перитонеального содержимого смешивали с 0,2 мл раствора Хенкса + 0,1 мл люминола (0,56 мМ) + 0,1 мл разведенной крови или 0,1 мл ПЖ. В качестве активатора фагоцитоза использовали зимо-

Таблица 1

**Лейкоцитарный состав крови мышей-самцов C<sub>57</sub>Bl и F<sub>1</sub>(C<sub>57</sub>Bl×CBA) с подкожно перевиваемой КЭ**

Номер опыта (сутки после перевивки опухоли)	Число животных	Число лейкоцитов, × 10 <sup>3</sup> /мкл	Содержание в крови, %			
			эозинофилов	моноцитов	нейтрофилов	лимфоцитов
Опыт 1						
Мыши F <sub>1</sub> контроль	8	4,7 ± 0,6	0,5 ± 0,8 (0,02 ± 0,03)	3,3 ± 2,3 (0,16 ± 0,11)	12,9 ± 4,0 (0,61 ± 0,19)	83,3 ± 4,9 (3,91 ± 0,23)
Мыши F <sub>1</sub> с КЭ (26-е)	8	2,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	0 ± 0	2,4 ± 1,4 (0,07 ± 0,04)	24,5 ± 4,4 (0,69 ± 0,12) <sup>a</sup>	73,1 ± 4,4 (2,04 ± 0,12)
Опыт 3						
Мыши C <sub>57</sub> Bl контроль	5	3,77 ± 0,45	0	8,8 ± 2,6 (0,33 ± 0,1)	12,2 ± 3,2 (0,46 ± 0,12)	79 ± 3,5 (2,98 ± 0,13)
Мыши C <sub>57</sub> Bl с КЭ (37-е)	9	4,61 ± 1,8	0,4 ± 0,7 (0,02 ± 0,04)	12,4 ± 5,8 (0,57 ± 0,27)	45,6 ± 9,4 (2,1 ± 0,43) <sup>a</sup>	41,6 ± 9,6 (1,92 ± 0,44) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> p < 0,01 по сравнению со здоровыми животными.

зан или *Candida albicans*, опсонизированные сывороткой, которую получали от 10—12 здоровых доноров. Люминолзависимую хемилюминесценцию (ХЛ) измеря-

ли в течение 60 мин с интервалом 5 мин. Известно, что хемилюминесцентный ответ крови и ПЖ определяется в основном фагоцитирующими клетками: нейтрофилами,

Таблица 2

**Хемилюминесцентная активность крови мышей C<sub>57</sub>Bl и F<sub>1</sub>(C<sub>57</sub>Bl×CBA) с перевиваемой КЭ**

Номер опыта (сутки после перевивки КЭ)	Число животных	ХЛ, имп./мин на 10 <sup>3</sup> нейтрофилов		
		СХЛ	ФЗХЛ	коэффициент усиления
Опыт 1				
Мыши F <sub>1</sub> контроль	8	63,0 ± 21	379 ± 90 <sup>a</sup>	6,0
Мыши F <sub>1</sub> с КЭ (26-е)	8	73 ± 30	1055 ± 255 <sup>a,б</sup>	14,4
Опыт 2				
Мыши F <sub>1</sub> контроль	8	4,3 ± 1,6	26,4 ± 9,6 <sup>a</sup>	6,1
Мыши F <sub>1</sub> с КЭ (33-е)	8	3,9 ± 2,5	237,6 ± 120,0 <sup>a,б</sup>	60,9
Опыт 3				
Мыши C <sub>57</sub> Bl контроль	5	33,8 ± 4,7	113,8 ± 15,9 <sup>в</sup>	3,4
Мыши C <sub>57</sub> Bl с КЭ (37-е)	8	18,7 ± 13,3 <sup>г</sup>	103,0 ± 77,1 <sup>в</sup>	5,5

<sup>a</sup> Клетки стимулированы зимозаном.

<sup>б</sup> p < 0,01 по сравнению со здоровыми животными.

<sup>в</sup> Клетки стимулированы *C. albicans*.

<sup>г</sup> p < 0,05 по сравнению со здоровыми животными.

макрофагам и моноцитами, способными продуцировать АФК. Учитывая клеточный состав, можно принять, что в крови уровень АФК определяется в основном нейтрофилами. Ввиду малого количества моноцитов в крови и более низкой хемилюминесцентной активности (почти в 10 раз) их вклад в общий хемилюминесцентный отклик крови незначительный [19]. В ПЖ хемилюминесцентный ответ определяется в основном макрофагами и моноцитами, количество которых намного больше, чем нейтрофилов. В то же время при опухолевом росте в ПЖ возможно увеличение доли нейтрофилов, более активно выделяющих АФК. В таком случае при расчете хемилюминесцентной активности (ХЛА) моноцитов и макрофагов необходимо учитывать и активность нейтрофилов. Принимая за единицу ХЛА 1 моноцита или макрофага (ХЛА<sub>м</sub>) и за 10 — ХЛА 1 нейтрофила и обозначая *m*, *n* соответственно число макрофагов и нейтрофилов, приходим к выводу, что:

$$\text{ХЛА ПЖ} - \text{ХЛА}_{\text{пер.жид.}} = \text{ХЛА}_m \times (m + 10n).$$

Отсюда ХЛА одного макрофага или моноцита может определяться как частное от деления:

$$\text{ХЛА}_{\text{пер.жид.}} / (m + 10n).$$

Для сбора мочи по 5 мышей помещали в обменные клетки на сутки, лишив корма при свободном доступе к бидистиллированной воде. Во избежание окисления нитритов в емкости для сбора мочи вносили 0,3 мл 30% гидроксида натрия. Содержание нитритов в моче определяли общеизвестным методом Грисса, а нитраты предварительно восстанавливали свежеприготовленным кадмием до нитритов (рН 9,6) и анализировали тем же методом [20].

Статистическую обработку осуществляли с помощью *t*-критерия Стьюдента и регрессионного анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общее количество лейкоцитов в крови мышей с КЛ увеличивалось на 3-й неделе роста опухоли и достигало своего максимума к концу опыта до  $(8,03 \pm 5,16) \times 10^3/\text{мкл}$ , что в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ) выше, чем у животных контрольной группы. С нарастанием массы опухоли доля нейтрофилов и их абсолютное количество в крови мышей с КЛ также увеличивались, составляя соответственно  $51,6 \pm 9,3\%$  и  $(4,14 \pm 0,75) \times 10^3/\text{мкл}$ , что в 4,2 и 10,1 раза превышало значения контроля. При этом оба показателя находились в положительной линейной зависимости от массы опухоли (коэффициент детерминации *r* составил 0,98 и 0,96 соответственно).

При определении СХЛ выявлено выраженное подавление на 36,8—87,0% образования АФК у мышей с КЛ по сравнению с контролем (табл. 3). В целом СХЛ нейтрофилов крови снижалась по мере развития опухолевого процесса; данные регрессионного анализа свидетельствуют, что СХЛ имеет с массой КЛ отрицательную линейную связь (коэффициент детерминации  $-0,70$ ).

Результаты измерения ФЗХЛ нейтрофилов крови при их активации, которая раскрывает функциональные возможности гранулоцитов, показывают, что у мышей с КЛ эти клетки не утрачивают способность продуцировать метаболиты кислорода. Более того, активность нейтрофилов нарастает к 13-м суткам роста КЛ, превышая в 2,7 раза ( $p < 0,01$ ) этот показатель у кон-

трольных мышей. На более поздних сроках роста опухоли ФЗХЛ нейтрофилов крови медленно снижается, но даже на 27-е сутки (окончание опыта) остается в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ) выше, чем в контроле.

По данным определения количества перитонеальных клеток и их видового состава у мышей с КЛ (табл. 4), к 6-м суткам число клеток несколько увеличивается, затем с 13-х по 20-е сутки уменьшается в 2,3—2,5 раза ( $p < 0,01$ ). На заключительной стадии роста опухоли число перитонеальных клеток увеличивается, но не достигает уровня контроля. Следует отметить, что относительное количество макрофагов + моноцитов в ПЖ, начиная со 2-й недели роста КЛ, увеличивается до 49,5%. В то же время абсолютное количество клеток этого вида было снижено на 35,2—42,9% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с аналогичным показателем у здоровых животных.

При измерении СХЛ перитонеальных макрофагов и моноцитов у мышей с КЛ не выявлены различия по сравнению с аналогичным показателем у мышей контрольной группы (табл. 5). Однако при стимуляции макрофагов зимозаном показатель ФЗХЛ активности на стадии интенсивного роста КЛ и до конца опыта (на 13, 20 и 27-е сутки роста) был в 2,2—4,5 раза ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ) выше, чем у здоровых мышей.

По данным сравнения коэффициентов усиления ХЛ фагоцитов при их стимуляции (рассчитанных как отношение ФЗХЛ к СХЛ) у мышей с КЛ способность нейтрофилов крови положительно реагировать на стимул в 3,9—13,4 раза, а способность перитонеальных макрофагов — в 1,6—3,2 раза выше, чем у мышей контрольных групп (см. табл. 3, 5).

Результаты определения функциональной активности фагоцитов у мышей с подкожно перевиваемой КЭ на поздней стадии ее развития (26, 33 и 37-е сутки) отражены в табл. 1, 2. Как и в экспериментах на мышах с перевиваемой КЛ, рост КЭ характеризовался повышением в 1,9—3,7 раза ( $p < 0,01$ ) относительного количества нейтрофилов крови и тенденцией к снижению их спонтанной активности. Наряду с этим при стимулировании нейтрофилов *S. albicans* или зимозаном регистрировали увеличение в 2,8—9 раз ( $p < 0,01$ ) ФЗХЛ по сравнению с таковой у здоровых мышей. Более высокие (в 1,6—10 раз) коэффициенты усиления хемилюминесцентной активности нейтрофилов у мышей с КЭ (см. табл. 2) указывают на более выраженную потенциальную способность их реагировать на стимул по сравнению с нейтрофилами крови контрольных мышей.

При определении нитратов и нитритов в моче мышей в разные сроки роста КЛ получены результаты, отражающие суммарное количество окисленных продуктов NO, которые образовались в организме (табл. 6). Согласно приведенным данным, только на 2-е сутки после перевивки КЛ отмечали увеличение выделения нитратов и нитритов с мочой, что может свидетельствовать об интенсификации их эндогенного образования. В дальнейшем, начиная со 2-й недели роста КЛ и по 30-е сутки включительно у мышей с опухолями общее выделение нитросоединений (НС) было снижено на 22,5—70,7%. На всех сроках контроля у мышей с КЛ регистрировали уменьшение экскреции с мочой как нитритов, так и нитратов.

Таблица 3  
СХЛ и ФЗХЛ нейтрофилов крови мышей F<sub>1</sub> с перевиваемой КЛ<sup>a</sup>

Группа, (сутки после перевивки опухоли)	ХЛ, имп./мин на 10 <sup>3</sup> нейтрофилов			Масса опухоли, г
	СХЛ	ФЗХЛ	коэффициент усиления ХЛ	
I. Контроль — здоровые мыши	78,6 ± 51,6	471,2 ± 159,2	6,0	0
Опыт, мыши с КЛ				
II (6-е)	27,3 ± 9,0 <sup>б</sup>	643,0 ± 256,7	23,6	0,15 ± 0,07
III (13-е)	49,7 ± 30,1	1284,2 ± 854 <sup>б</sup>	25,8	1,73 ± 0,61
IV (20-е)	15,0 ± 6,7 <sup>б</sup>	1003,6 ± 407 <sup>б</sup>	66,9	4,5 ± 1,6
V (27-е)	10,2 ± 6,1 <sup>б</sup>	816,7 ± 245,5 <sup>б</sup>	80,1	7,17 ± 1,28

<sup>a</sup> Приведены среднеарифметические значения ± стандартное отклонение (SD). В группах по 10 животных.

<sup>б</sup> p < 0,01 (при сравнении с соответствующим значением у животных контрольной группы; критерий Стьюдента).

Концентрация нитритов в опухолевой ткани была в пределах  $(2,82—4,65) \times 10^{-6}$  моль/кг ткани, причем в процессе развития КЭ она монотонно нарастала. В то же время в большинстве образцов нитраты не определялись или концентрация их была низкой (табл. 7). Суммарная концентрация нитритов и нитратов в опухолевой ткани не превышала  $5,16 \times 10^{-6}$  моль/кг ткани (в пересчете на NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) и практически не зависела от стадии роста КЛ. При сравнении с опухолевой тканью солидной КЭ, в которой концентрация НС составила  $4,84 \times 10^{-5}$  моль/кг,

выявлено, что опухолевая ткань КЛ содержала в 9,4 раза меньше НС [14].

Результаты, полученные в настоящей работе, согласуются с ранее опубликованными данными других исследователей, которые показали достоверное снижение базового образования АФК нейтрофилами крови у хомяков со спонтанной лимфосаркомой кишечника или опухолями, вызванными инокуляцией высокометастатических опухолевых клеток ХЭТР-МАН-8 [21, 22]. Г. И. Дейчман и соавт. связывают подавление СХЛ с супрессорным дей-

Таблица 4  
Клеточный состав ПЖ мышей F<sub>1</sub> с перевиваемой КЛ

Группа (сутки после перевивки опухоли)	Число животных	Количество клеток, × 10 <sup>3</sup> /мкл	Содержание в ПЖ, % (10 <sup>3</sup> /мкл)			
			макрофаги + моноциты	нейтрофилы	тучные клетки	лимфоциты
I. Контроль — здоровые мыши	9	2,69 ± 0,77	33,9 ± 6,0 (0,91 ± 0,16)	0,7 ± 1,0 (0,02 ± 0,03)	2,7 ± 1,4 (0,07 ± 0,04)	62,7 ± 6,2 (1,69 ± 0,17)
Опыт, мыши с КЛ						
II (6-е)	8	3,64 ± 2,15	29,4 ± 4,4 (1,07 ± 0,16)	0,1 ± 0,2 (0,01 ± 0,02)	1,6 ± 1,0 (0,06 ± 0,04)	68,9 ± 4,1 (2,5 ± 0,15)
III (13-е)	9	1,09 ± 0,32 <sup>a</sup>	47,8 ± 4,7 (0,52 ± 0,05) <sup>a</sup>	0,7 ± 0,9 (0,01 ± 0,01)	1,6 ± 1,2 (0,02 ± 0,02)	49,9 ± 4,8 (0,54 ± 0,05)
IV (20-е)	10	1,19 ± 0,23 <sup>a</sup>	49,5 ± 6,8 (0,59 ± 0,08) <sup>a</sup>	1,4 ± 1,0 (0,01 ± 0,01)	1,6 ± 1,1 (0,02 ± 0,01)	47,5 ± 7,1 (0,57 ± 0,08)
V (27-е)	8	1,87 ± 1,05	43,6 ± 4,7 (0,82 ± 0,09) <sup>a</sup>	1,6 ± 1,4 (0,03 ± 0,02)	2,1 ± 1,6 (0,04 ± 0,03)	52,7 ± 5,8 (0,98 ± 0,1)

<sup>a</sup> p < 0,01 по сравнению с контрольной группой (критерий Стьюдента).

Таблица 5

**Хемилюминесцентная активность макрофагов ПЖ мышей с перевиваемой КЛ**

Группа (сутки после перевивки опухоли)	Число животных	ХЛ, имп./мин на 10 <sup>8</sup> макрофагов		
		СХЛ	ФЗХЛ	коэффициент усиления
I. Контроль — здоровые мыши	10	5,8 ± 1,9	24,4 ± 7,5	4,2
Опыт, мыши с КЛ				
II (6-е)	8	6,1 ± 3,4	42,0 ± 29,8	6,9
III (13-е)	8	8,2 ± 2,8	110,0 ± 73,2 <sup>a</sup>	13,4
IV (20-е)	10	4,5 ± 2,9	53,6 ± 33,3 <sup>b</sup>	11,9
V (27-е)	8	7,9 ± 1,5	54,5 ± 31,8 <sup>b</sup>	6,9

<sup>a</sup> p < 0,01 по сравнению с контрольной группой (критерий Стьюдента).

<sup>b</sup> p < 0,05 по сравнению с контрольной группой (критерий Стьюдента).

ствием на нейтрофилы ПГЕ<sub>2</sub>, образование которого усилено при росте опухоли. В другой работе показано, что нейтрофилы могут лизировать опухолевые клетки без предварительной стимуляции, но при обязательной длительной инкубации с мишенями и высоким соотношении эффектора и мишени [23]. Если данные о супрессии спонтанной активности периферических нейтрофилов мышей с КЛ, полученные в нашем опыте, экстраполировать применительно к опухоли-ассоциированным нейтрофилам, то можно ожидать снижения их активности, что означало бы снижение лизисных свойств нейтрофилов по отношению к опухолевым клеткам. Что касается

объяснения результатов гиперпродукции АФК стимулированными нейтрофилами и макрофагами, то обнаруженный в исследовании рост люминолзависимой ХЛ нейтрофилов и моноцитов крови при их стимуляции у больных с лимфомой Ходжкина авторы связывают с усилением экспрессии рецепторов для зимозана (С3bi). Цитокины, такие, как гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, могут стимулировать экспрессию этих рецепторов на гранулоцитах и макрофагах и увеличивать ХЛ [24—26].

Необходимо иметь в виду, что оценка эндогенного синтеза NO по показателю выделения с мочой произ-

Таблица 6

**Выделение НС с мочой у мышей F<sub>1</sub>(C<sub>57</sub>Bl/6J×CBA) с КЛ**

Группы, сутки роста КЛ	Выделение НС, мкг/кг массы мыши (моль/кг) <sup>a</sup>			Сравнение с контролем, %
	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	суммарное выделение, в эквиваленте NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	
Контроль (здоровые мыши)	12,7 (2,76 × 10 <sup>-7</sup> )	107,27 (1,68 × 10 <sup>-6</sup> )	124,41 (1,94 × 10 <sup>-6</sup> )	0
Мыши с КЛ				
2-е	13,64 (2,96 × 10 <sup>-7</sup> )	219,09 (3,42 × 10 <sup>-6</sup> )	237,5 (3,71 × 10 <sup>-6</sup> )	+ 90,9
9-е	0	49,09 (7,67 × 10 <sup>-7</sup> )	49,09 (7,67 × 10 <sup>-7</sup> )	-60,5
16-е	2,73 (5,93 × 10 <sup>-8</sup> )	32,73 (5,11 × 10 <sup>-7</sup> )	36,41 (5,69 × 10 <sup>-7</sup> )	-70,7
21-е	0	75,45 (1,18 × 10 <sup>-6</sup> )	75,45 (1,18 × 10 <sup>-6</sup> )	-39,4
30-е	0	96,36 (1,51 × 10 <sup>-6</sup> )	96,36 (1,51 × 10 <sup>-6</sup> )	-22,5

<sup>a</sup> Приведено среднеарифметическое значение двух определений в суточной моче от 5 мышей. (-) — снижение выделения НС; (+) — увеличение выделения НС.

Таблица 7

Концентрация НС в опухолевой ткани мышей с КЛ<sup>а,б</sup>

Сутки роста КЛ	Концентрация нитритов и нитратов в опухоли, мг/кг ткани [моль/кг]		
	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	в пересчете на NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
14-е	0,13 ± 0,05 [(2,83 ± 1,09) × 10 <sup>-6</sup> ]	0,0	0,18 ± 0,07 [(2,83 ± 1,09) × 10 <sup>-6</sup> ]
21-е	0,17 ± 0,07 [(3,70 ± 1,52) × 10 <sup>-6</sup> ]	0,1 ± 0,04 [(1,56 ± 0,6) × 10 <sup>-6</sup> ]	0,33 [5,16 × 10 <sup>-6</sup> ]
28-е	0,21 ± 0,07 [(4,56 ± 1,52) × 10 <sup>-6</sup> ]	0,0	0,28 ± 0,09 [(4,43 ± 1,4) × 10 <sup>-6</sup> ]

<sup>а</sup> Концентрация нитратов и нитритов выражена как среднеарифметическое значение ± стандартное отклонение (n = 6).

<sup>б</sup> На 7-е сутки не определяли.

водных NO (нитриты, нитраты) является интегральной. Она включает эндогенно синтезированный NO, необходимый для нормальной работы сердечно-сосудистой, иммунной, эндокринной и нервной систем организма. Считают, что синтез NO конститутивными изоформами NO-синтаз (I и III) не сопровождается токсическими эффектами NO и его производных, поскольку концентрация NO не превышает 10<sup>-7</sup> [27].

Воспаление, опухолевый рост могут резко увеличить образование НС вследствие индукции II изоформы NO-синтазы. В нашем опыте выделение нитритов и нитратов с мочой мышей с КЛ не превышало соответственно 2,96 × 10<sup>-7</sup> и 3,42 × 10<sup>-6</sup> моль/кг массы тела. Концентрация как нитритов, так и нитратов в опухолевой ткани мышей также была на низком уровне (см. табл. 7). Примечательно, что полученные нами ранее результаты отражали усиление экскреции НС с мочой в 15,5 раза у мышей с КЭ, причем выделение НС находилось в положительной линейной зависимости от объема КЭ. Это послужило основанием для испытания противоопухолевого действия ингибиторов NO-синтазы на данной модели опухолевого роста. При введении внутрибрюшинно неспецифических ингибиторов iNOS — N-нитро-L-аргинина, аминоксидина одного или в комбинации с ацетилсалициловой кислотой нами получено достоверное замедление роста солидной КЭ у мышей [14]. По-видимому, подавление образования производных NO в организме мышей с КЛ во время роста опухоли может указывать на отсутствие активации NO-синтаз. Учитывая это, можно высказать предположение о том, что применение ингибиторов iNOS на модели КЛ будет малоэффективным, скорее КЛ будет чувствительна к экзогенному поступлению доноров NO.

Следует также отметить, что для более полного выявления связи между развитием опухоли и эндогенным образованием NO у мышей с опухолью необходимо дополнительно оценить ряд факторов. Прежде всего это касается скрытого NO, который может существовать в виде соединений NO с белками и комплексов гемоглобина с NO. Известно, что NO образуется в реакции окисления L-аргинина — аминокислоты, которая одновременно является предшественником эндогенного синтеза полиаминов. Это предполагает существование единого механизма регулирования относительных скоростей синтеза NO и полиаминов [28]. Повышенный синтез полиаминов,

который существует при развитии опухолей, может истощать субстрат для NO-синтаз, тем самым оказывать корригирующее действие на активность этих ферментов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что рост метастазирующей КЛ у мышей сопровождается подавлением эндогенного синтеза производных NO и снижением образования АФК нейтрофилами крови в спонтанном состоянии. Не выявлено изменения спонтанной активности перитонеальных макрофагов и моноцитов на разных сроках роста КЛ. В то же время способность к образованию АФК стимулированными нейтрофилами крови и макрофагами ПЖ не только не утрачивается, но возрастает на всех контрольных сроках роста КЛ и на поздней стадии развития КЭ.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бильянский Б. Т., Володько Н. А., Шпарык Я. В. Иммунологические механизмы естественной противоопухолевой резистентности. — Киев: Наукова думка, 1991. — 248 с.
2. Меджитов Р., Джаневей Ч. Врожденный иммунитет // Казанский мед. журн. — 2005. — № 3. — С. 161—167.
3. Nauseef W. M. Biological roles for the NOX family NADPH oxidases // J. Biol. Chem. — 2008. — Vol. 283. — P. 16 961—16 965.
4. Rossi F., Zatti M. Biochemical aspects of phagocytosis in polymorphonuclear leucocytes. NADH and NADPH oxidation by the granules of resting and phagocytosing cells // Experientia. — 1964. — Vol. 20. — P. 21—23.
5. Дейчман Г. И. Роль естественной резистентности в реакции организма на возникновение, рост и метастазирование опухолей / Итоги науки и техники / ВИНТИ. Сер. Онкология. — 1984. — Т. 13. — С. 46—97.
6. Оксид азота в неопластическом процессе / Проскураков С. Я., Конопляников А. Г., Иванников А. И., Скворцов В. Г., Цыб А. Ф. // Вопр. онкол. — 2001. — Т. 47, № 3. — С. 257—269.
7. Laudanski P., Anchim T., Wolczynski S. The role of nitric oxide in carcinogenesis and progression of neoplastic processes // Ginekol. Pol. — 2001. — Vol. 72, N 4. — P. 251—60.
8. Недоспасов А. А. Биогенный NO в конкурентных отношениях // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 881—904.
9. Lala P. K. and Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression // The Lancet Oncol. — 2001. — Vol. 2, N 3. — P. 149—156.
10. Nitric oxide-donating aspirin prevents pancreatic cancer in a hamster tumor model / Ouyang N., Williams J. L., Tsioulis G. J., Gao J., Latropoulos M. J., Kopelovich L., Kashfi K., Rigas B. // Cancer Res. — 2006. — Vol. 66, N 8. — P. 4503—4511.

11. Xie K., Huang S. Contribution of nitric oxide-mediated apoptosis to cancer metastasis inefficiency // *Free Radic. Bio. Med.* — 2003. — Vol. 34, N 8. — P. 969—986.
12. Therapeutic potential of nitric oxide in cancer / Bonavida B., Khineche S., Huerta-Yepez S., Garban H. // *Drug Resist. Updat.* — 2006. — Vol. 9, N 3. — P. 157—173.
13. iNOS as therapeutic target for treatment of human tumors / Fitzpatrick B., Mehibel M., Cowen R. L. and Stratford I. J. // *Nitric oxide.* — 2008. — Vol. 19, N 2. — P. 217—224.
14. Дерягина В. П., Рыжова Н. И. Действие модуляторов NO-синтазы на рост перевивной аденокарциномы Эрлиха // *Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.* — 2007. — Т. 18, № 2. — С. 32—37.
15. Nitric oxide and some nitric oxide donor compounds enhance the cytotoxicity of cisplatin / Wink D. A., Cook J. A., Christodoulou D., Pacelli R., Kim S., DeGraff W., Gamson J., Vodovotz Y., Russo A., Mitchell J. B. // *Nitric Oxide.* — 1997. — Vol. 1, N 1. — P. 88—94.
16. Nitric oxide enhancement of melphalan-induced cytotoxicity / Cook J. A., Krishna M. C., Pacelli R., DeGraff W., Liebmann J., Mitchell J. B., Russo A., Wink D. A. // *Br. J. Cancer.* — 1997. — Vol. 76, N 3. — P. 325—334.
17. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Истамов Х. И. Экологическая иммунология. — М.: ВНИРО, 1995. — 219 с.
18. Дерягина В. П., Машковцев Ю. В., Ильницкий А. П. Экспериментальное изучение функциональной активности нейтрофилов и макрофагов в условиях воздействия нитрита натрия // *Биомед. хим.* — 2003. — Т. 49, № 1. — С. 19—26.
19. Chemiluminescence of granulocytes and monocytes in diluted whole blood samples: tumor marker? / Heberer M., Ernst M., Durig M., Harder F. // *Cancer Detect. Prev.* — 1983. — Vol. 6, N 1—2. — P. 273—280.
20. Cortas N.K. and Wakid N.W. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method // *Clin. Chem.* — 1990. — Vol. 36. — P. 1440—1443.
21. Дейчман Г. И., Ключарева Т. Е., Кашкина Л. М. Подавляющая резистентность активность трансформированных клеток сирийского хомячка и их способность к метастазированию // *Бюл. exper. биол.* — 1981. — № 11. — С. 596—598.
22. Кашкина Л. М., Прилуцкая М. О. Выделение активных форм кислорода нейтрофилами крови сирийских хомячков с первичными и перевиваемыми опухолями // *Экспер. онкол.* — 1988. — Т. 10, № 5. — С. 73—75.
23. Бережная Н. М., Чехун В. Ф. Иммунология злокачественного роста. — Киев: Наукова думка, 2005. — С. 421.
24. Increased luminol-enhanced chemiluminescence of blood monocytes and granulocytes in Hodgkins disease / Tullgren O., Giscombe R., Holm G., Johansson B., Mellstedt H., Bjorkholm M. // *Clin. Exp. Immunol.* — 1991. — Vol. 85. — P. 436—440.
25. Barth J., Entzian P., Petermann W. Increased release of free oxygen radicals by phagocytosing and nonphagocytosing cells from patients with active pulmonary sarcoidosis as revealed by luminol-dependent chemiluminescence // *Klin. Wochenschr.* — 1988. — Vol. 66, N 7. — P. 292—297.
26. Мальцева В. Н., Сафронова В. Г. Неоднозначная роль нейтрофилов в онкогенезе // *Цитология.* — 2009. — Vol. 51, N 6. — P. 467—474.
27. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Охотин В. Е., Косицын Н. С. — М.: Наука, 1997. — 156 с.
28. Граник В. Г., Григорьев Н. Б. Оксид азота (NO). — М.: Вузовская книга, 2004. — 360 с.

Поступила 16.02.2011



*Valentina Petrovna Deryagina<sup>1</sup>, Natalia Ilyinichna Ryzhova<sup>2</sup>,  
Irina Sergeyevna Golubeva<sup>3</sup>*

## PHAGOCYTE FUNCTIONAL ACTIVITY AND PRODUCTION OF NITRIC OXIDE COMPOUNDS IN MOUSE MODELS OF TUMOR XENOGRAPTS

<sup>1</sup> MD, PhD, Senior Researcher, Carcinogenic Exposure Prevention Group, Chemical Carcinogenesis Department, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>2</sup> MD, PhD, Senior Researcher, Carcinogenic Exposure Prevention Group, Chemical Carcinogenesis Department, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>3</sup> MD, PhD, Leading Researcher, Primary Selection Group, Biochemical Pharmacology Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

Address for correspondence: Deryagina Valentina Petrovna, Carcinogenic Exposure Prevention Group, Chemical Carcinogenesis Department, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478; e-mail: Derygina@inbow.ru

Changes in functional activity of phagocytes from blood and peritoneal fluid, and production of NO compounds — nitrates and nitrites, were studied in mouse models of Lewis carcinoma of the lung and Ehrlich carcinoma of the lung. Growth of metastatic Lewis carcinoma of the lung was shown to be associated with inhibition of endogenous production of NO compounds and decreased spontaneous release of free oxygen radicals by blood neutrophils. Total amount of nitric compounds in urine from Lewis carcinoma-bearing mice was 22.5—70.7% lower than in the control. Concentration of nitric compounds as calculated for nitrates in tumor tissue varied from  $(2.83—5.16) \times 10^6$  mol/kg tissue and was poorly associated with Lewis carcinoma stage. Significant decrease in spontaneous chemiluminescence of blood neutrophils associated with tumor growth was 36.8—87% for Lewis carcinoma and 44.7% for Ehrlich carcinoma. Spontaneous chemiluminescence of peritoneal macrophages and monocytes was similar to that in the control, while phagocyte-dependent chemiluminescence of stimulated cells rose 2.2- to 4.5-fold ( $p < 0.05$ ;  $p < 0.01$ ) at all stages of Lewis carcinoma growth.

**Key words:** mice, Lewis carcinoma of the lung, Ehrlich carcinoma of the lung, neutrophils, macrophages, free oxygen radicals, nitric oxide compounds.

Татьяна Павловна Рябых<sup>1</sup>, Татьяна Владимировна Осипова<sup>2</sup>,  
Зинаида Александровна Соколова<sup>3</sup>, Николай Борисович Паклин<sup>4</sup>,  
Владимир Иванович Грабко<sup>5</sup>

## ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КОММЕРЧЕСКОЙ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ СУСПЕНЗИОННЫХ МИКРОЧИПОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА БЕЛКОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ МАРКЕРОВ

<sup>1</sup> Д. б. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

<sup>2</sup> К. б. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

<sup>3</sup> Младший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

<sup>4</sup> К. т. н., доцент, кафедра общей, теоретической физики и методики преподавания физики, РГУ им. С. А. Есенина (390000, РФ, г. Рязань, ул. Свободы, г. 46)

<sup>5</sup> К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория биологически активных наноструктур, ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России (123098, РФ, г. Москва, ул. Гамалеи, г. 18)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, лаборатория экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей, Рябых Татьяна Павловна, e-mail: tatpav44@yandex.ru

Разработанные в последнее время диагностические системы на основе микрочипов позволяют проводить одновременную количественную оценку сразу нескольких опухолевых маркеров, что может существенно улучшить диагностику злокачественных новообразований. На массиве из 95 образцов сыворотки крови онкологических больных и пациентов контрольной группы проведена оценка диагностических характеристик новой коммерческой системы на основе суспензионных микрочипов «WideScreen™ Human Cancer Panel 1» («Tumor markers») фирмы «Novagen» (США). Измеренные уровни маркеров сопоставлены с результатами, полученными в отечественной мультиплексной системе «ОМ-биочип» и в традиционных иммуноферментных системах, рассчитанных на определение одного опухолевого маркера. Показано, что новая система позволяет получать данные, которые коррелируют с результатами, полученными при измерении каждого индивидуального маркера в соответствующей иммуноферментной системе ( $t$  0,616—0,978;  $p < 0,0001$ ), и результатами, полученными в системе на основе планарных микрочипов «ОМ-биочип» ( $t$  0,768—0,828;  $p < 0,0001$ ). Методом ROC- и логистического регрессионного анализа проведено разграничение больных со злокачественными новообразованиями и пациентов контрольной группы. Оценка диагностической чувствительности и специфичности, а также определение площади под ROC-кривыми показали, что новая система на 6 опухолевых маркеров с учетом возраста пациента имеет достоверно более высокую диагностическую эффективность по сравнению с системами для определения каждого единичного опухолевого маркера (площади под ROC-кривыми 0,920 и 0,553—0,787 соответственно;  $p < 0,003$ ). Таким образом, применение мультиплексных диагностических систем в формате микрочипов для анализа опухолевых маркеров в перспективе позволит существенно улучшить диагностику рака.

**Ключевые слова:** биологические микрочипы, опухолевые маркеры, диагностика, ROC-анализ.

Возможность ранней диагностики опухолей по серологическим маркерам является вопросом принципиальной важности [1]. Тем не менее белковые опухолевые

маркеры, широко используемые в клинической практике, не находят, за редкими исключениями, применения при скрининговом обследовании населения в целях вы-

явления злокачественной опухоли из-за их невысокой чувствительности и специфичности. Показано, однако, что одновременная количественная оценка уровней сразу нескольких опухолевых маркеров может повысить их диагностическую эффективность [2—4].

Разработанные в последнее время отечественные [5] и зарубежные [6] мультиплексные (многопараметрические) системы на основе микрочипов позволяют проводить одновременную количественную оценку десятков и сотен биомаркеров в минимальном объеме сыворотки крови и могут стать технологиями, которые позволят существенно улучшить диагностику злокачественных новообразований.

Недавно нами была оценена диагностическая эффективность отечественной системы «ОМ-биочип» на основе технологии планарных гидрогелевых микрочипов [5] для одновременного определения уровней 6 опухолевых маркеров: альфа-фетопротейн (АФП), раково-эмбриональный антиген (РЭА), простат-специфический антиген общий и свободный (ПСАобщ., ПСАсв.), хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) и нейрон-специфическая енолаза (НСЕ). Показано, что ее эффективность при разграничении больных со злокачественными новообразованиями и пациентов контрольной группы существенно выше, чем при использовании каждого отдельного маркера [7].

В последние годы широкое распространение в мире получила технология суспензионных микрочипов (xMAP-технология), позволяющая одновременно определять до 100 биомаркеров в ячейке микропланшета и используемая для диагностики различных заболеваний. В настоящее время на российском рынке появилась коммерческая система «WideScreen™ Human Cancer Panel 1» («Tumor markers») — (далее «Панель-ОМ1») фирмы «Novagen» (США), предназначенная для применения в онкологии и рассчитанная на одновременное определение следующего спектра опухолевых маркеров: АФП, РЭА, СА 125, СА 15-3, СА 19-9 и пролактина (табл. 1).

Целью нашего исследования являлись оценка диагностической эффективности новой многопараметрической коммерческой системы «Панель-ОМ1» и сопоставление уровней маркеров с результатами, полученными в мультиплексной системе «ОМ-биочип» и в традиционных иммуноферментных системах, рассчитанных на определение одного опухолевого маркера.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Пациенты и образцы сыворотки крови

В исследование включены 95 пациентов с установленными диагнозами, из них 61 больной со злокачественными новообразованиями (колоректальный рак — у 38, рак желудка — у одного, рак яичников — у 8, рак молочной железы — у 14), 27 больных с доброкачественными новообразованиями и неопухолевыми заболеваниями (полипоз кишечника — у 7, хронический колит — у 3, хронический панкреатит — у 9, цирроз печени — у 4, дивертикулез кишечника — у одного, ревматизм — у 2, ишемическая болезнь сердца — у одного) и 7 здоровых доноров.

Для 90 пациентов были получены данные о возрасте. Средний возраст составил  $57 \pm 11,9$  года в группе больных со злокачественными новообразованиями и  $66 \pm 15,9$  года в контрольной группе.

Образцы крови онкологических больных были предоставлены лабораторией клинической иммунологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, образцы крови больных неопухолевыми заболеваниями получены в ГКБ №60 г. Москвы, образцы крови здоровых доноров — в гематологическом научном центре РАМН и в НИИ СП им. Н. В. Склифосовского.

Сыворотку получали путем центрифугирования образцов крови при 1500 g в течение 15 мин с последующим замораживанием и хранением при температуре  $-80^\circ\text{C}$  вплоть до проведения анализа.

### Мультиплексные диагностические системы

В работе использовали диагностические системы на основе технологии x-MAP и на основе планарных гидрогелевых микрочипов.

**Диагностическая система на основе xMAP (Multi-analyte Profiling)-технологии.** Технология xMAP (суспензионные биочипы) предполагает использование микросфер (гранул из полистирола диаметром 5,6 мкм) в качестве твердой фазы для иммобилизации моноклональных антител. Образец (сыворотку крови) вносят в ячейку 96-луночного планшета, в которой происходит иммуноанализ с использованием микросфер. Внутри каждой микросферы содержится смесь красного и инфракрасного красителей в определенных соотношениях. На микросфере, содержащей на своей поверхности карбоксильные группы, способные вступать в реакцию с образованием ковалентных связей с лигандами, иммобилизуют захватывающие антитела, которые специфически связывают определенную компоненту анализа (в нашем случае — опухолевого маркера). Затем к реакционной смеси добавляют биотинилированные вторичные антитела, также специфически взаимодействующие с компонентой анализа. После этого добавляют конъюгат стрептавидина с фикоэритрином, что позволяет регистрировать сигнал флуоресценции фикоэритрина на тех микросферах, на которых произошло первичное связывание интересующей компоненты анализа. Анализ осуществляется на специальном лазерном проточном анализаторе флуоресцентных сигналов. Выпускаемые в настоящее время системы теоретически позволяют проводить количественное определение до 100 различных аналитов за один анализ [6].

В работе использовали коммерческую систему «Панель-ОМ1» фирмы «Novagen» (США), рассчитанную на одновременное определение 6 опухолевых маркеров: АФП, СА 125, СА 15-3, СА 19-9, РЭА и пролактина. Регистрацию флуоресцентных сигналов от микросфер проводили с помощью автоматизированного мультиплексного иммуноанализатора «BioPlex System». Анализ результатов выполняли с использованием компьютерной программы «BioPlex Manager Software 4.1.4» и пакета прикладных программ Microsoft Excel 2003.

**Диагностическая система на основе технологии гидрогелевых микрочипов.** Используемая в работе система в формате микрочипа на основе трехмерных гидрогелей [5] «ОМ-биочип» предназначена для одновременного

Таблица 1

**Характеристики опухолевых маркеров [20]<sup>a</sup>**

Название маркера		Повышенные уровни у больных злокачественными опухолями	Границы нормы	Патологические значения
полное	сокращенное			
Раковоэмбриональный антиген	РЭА	Колоректальный рак, рак желудка, легкого, мочевого пузыря, метастазы в печени	0—5 нг/мл	≥ 8 нг/мл
Альфа-фетопроtein	АФП	Первичный рак печени, яичников, опухоли яичка, метастазы в печени, тератома и др.	0—5 МЕ/мл	≥ 10 МЕ/мл
Раковый антиген СА 125	СА 125	Рак яичников, матки, молочной железы, поджелудочной железы, печени, желудка, колоректальный рак и др.	0—30 МЕ/мл	≥ 40 МЕ/мл
Раковый антиген СА 15-3	СА 15-3	Рак молочной железы, бронхогенная карцинома, рак желудка, печени, яичников, поджелудочной железы, матки	0—22 МЕ/мл	≥ 30 МЕ/мл
Раковый антиген СА 19-9	СА 19-9	Рак поджелудочной железы, желчного пузыря, печени, желудка, молочной железы, яичников, матки, колоректальный рак, метастазы в печени	0—30 МЕ/мл	≥ 40 МЕ/мл
Пролактин (гормон, основным органом-мишенью которого являются молочные железы)	Пролактин	Опухоли гипофиза, пролактиномы	1—25 нг/мл (женщины). 1—20 нг/мл (мужчины)	≥ 100 нг/мл

<sup>a</sup> Опухолевые маркеры и их обследование. — Prague: Immunotech Info Line.

количественного определения 6 опухолевых маркеров: ПСАобщ., ПСАсв., АФП, РЭА, НСЕ и ХГЧ (разработана в ИМБ им. В. А. Энгельгардта РАН, наборы приобретены в ООО «Биочип-ИМБ»). Каждый биочип представляет собой матрицу трехмерных полусферических гелевых элементов, разделенных между собой гидрофобной поверхностью предметного стекла, в которых иммобилизованы моноклональные антитела к опухолевым маркерам, а также соответствующие антигены [8].

Концентрации антигенов определяли с помощью сэндвич-варианта иммуноанализа (одностадийный вариант) с флуоресцентной детекцией. На микрочип с иммобилизованными моноклональными антителами наносили раствор антигена или сыворотки крови одновременно со смесью вторых моноклональных антител к шести опухолевым маркерам, меченных флуоресцентным красителем (Cy 5). Флуоресцентные сигналы анализировали с помощью портативного лазерного анализатора биочипов «Чипдетектор-01» (ИМБ РАН, Россия).

**Анализ с помощью иммуноферментных тест-систем.** В качестве систем сравнения использовали иммунометрические тест-системы на СА 125, СА 15-3, СА 19-9, АФП, РЭА («CanAg», «Fujirebio Diagnostics», Швеция) и на пролактин («DRG Diagnostics», Германия).

**Статистический анализ.** Рассматривали способность новой системы отличать больных со злокачественными новообразованиями от контрольной группы: больных с доброкачественными новообразованиями, неопухолевыми заболеваниями и здоровых доноров. При оценке диагностической эффективности тест-системы применяли ли-

нейный регрессионный, многофакторный логистический регрессионный анализ и анализ характеристических кривых (Receiver Operating Characteristic curve analysis, ROC-анализ) [9; 10]. Для каждого отдельного маркера, а также для комбинации опухолевых маркеров были построены ROC-кривые — графики зависимости доли истинноположительных случаев (чувствительность теста) от доли ложноположительных случаев (100 — специфичность) при различных пороговых величинах. ROC-кривые сравнивали с помощью определения площади под кривыми — AUC (Area Under Curve), которая изменялась от 0,5 (диагональ, проходящая через начало координат, — минимальная площадь под кривой, минимальная диагностическая эффективность) до 1 («идеальная» модель, максимальная площадь под кривой, максимальная диагностическая эффективность).

Статистические расчеты были выполнены с использованием статистического пакета MedCalc для Windows, версия 9.3.5.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Поскольку диагностическая система для анализа опухолевых маркеров «Панель-ОМ1» («Novagen», США) появилась на отечественном рынке впервые, мы сочли необходимым провести валидизацию новой системы: сопоставление полученных результатов с «золотым стандартом». Мы сравнили уровни опухолевых маркеров в образцах, получаемые при их одновременном определении с помощью новой системы, с концентрациями, получаемыми для тех же образцов в традиционных иммунофер-

ментных системах (ИФА-системах), предназначенных для определения одного опухолевого маркера. Полученные результаты были проанализированы с помощью линейной регрессии и оценки коэффициента корреляции.

Согласно данным, представленным в табл. 2, имеется значимая корреляция уровней маркеров, измеренных в системах двух видов: коэффициенты корреляции изменяются от 0,616 для АФП до 0,978 для СА 125 ( $p < 0,0001$ ). Абсолютные значения уровней маркеров, измеренных в новой системе ( $y$  в уравнении регрессии), достаточно близки к уровням, измеренным в ИФА-системах ( $x$  в уравнении регрессии): коэффициенты при  $x$  изменяются от 0,75 до 1,89, т. е. близки к 1. Исключение составляет СА 19-9: уровни маркера, измеренные в системе «Панель-ОМ1», занижены по сравнению с концентрациями, измеренными в системе «Fujirebio Diagnostics», в 3 раза (коэффициент при  $x$  равен 0,3). При этом коэффициент корреляции уровней маркера, измеренных в двух системах, весьма высок: 0,871 ( $p < 0,0001$ ).

Следовательно, данные, полученные для каждого опухолевого маркера при их одновременном определении в мультиплексной системе, сопоставимы с данными, полученными при измерении каждого индивидуального маркера в соответствующей ИФА-системе.

Поскольку две изучаемые нами диагностические системы — зарубежная («Панель-ОМ1») и отечественная («ОМ-Биочип») — были рассчитаны, в частности, на определение двух одинаковых опухолевых маркеров — АФП и РЭА, представляло интерес провести сопоставление результатов их определения в двух мультиплексных системах.

Данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют о корреляции уровней РЭА и АФП, измеренных в двух системах: коэффициенты корреляции составляют 0,828 и 0,768 соответственно ( $p < 0,0001$ ).

Следовательно, данные, полученные в новой диагностической системе, сопоставимы с результатами, получен-

Таблица 2

**Уровни опухолевых маркеров, измеренные в одних и тех же образцах сыворотки крови с помощью системы «Панель-ОМ1» («Novagen, США») и соответствующих ИФА-систем: результаты регрессионного и корреляционного анализа**

Маркер	Число образцов сыворотки крови	Уравнение регрессии	r	p
РЭА	87	$y = 1,71x - 2,64$	0,949	< 0,0001
СА125	37	$y = 0,81x + 8,05$	0,978	< 0,0001
СА 15-3	36	$y = 0,85x + 2,72$	0,892	< 0,0001
СА 19-9	64	$y = 0,3x + 4,33$	0,871	< 0,0001
АФП	81	$y = 0,75x + 1,26$	0,616	< 0,0001
Пролактин	36	$y = 1,89x - 9,08$	0,850	< 0,0001

Таблица 3

**Уровни АФП и РЭА, измеренные в образцах сыворотки крови в системах «Панель-ОМ1» и «ОМ-Биочип»: результаты регрессионного и корреляционного анализа**

Маркер	Число образцов сыворотки	Уравнение регрессии	r	p
РЭА	59	$y = 0,82x + 3,72$	0,828	< 0,0001
АФП	64	$y = 0,51x + 2,06$	0,768	< 0,0001

ными в другой мультиплексной системе — отечественной системе «ОМ-Биочип».

Результаты сравнения с традиционными ИФА-системами и с системой в формате микрочипа позволили перейти к оценке диагностической эффективности новой системы.

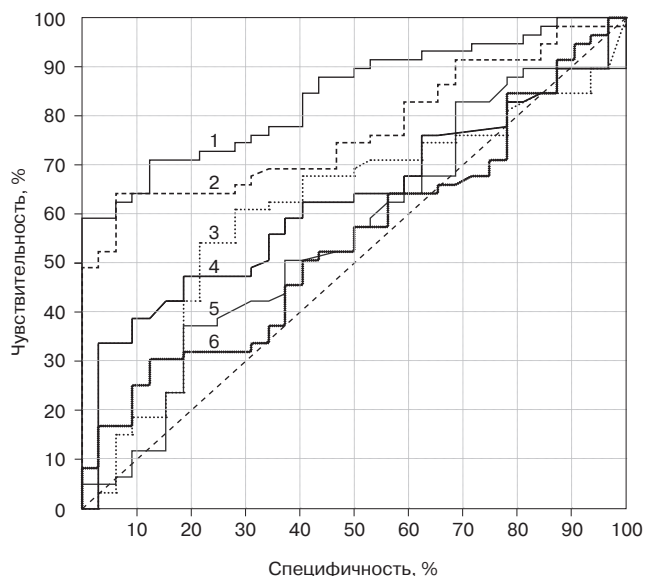
Диагностическая эффективность системы — это ее способность разграничивать обследуемые группы, например больных со злокачественными новообразованиями и пациентов контрольной группы (здоровых доноров, больных с доброкачественными новообразованиями и неопухолевыми заболеваниями).

В настоящее время наилучшим способом оценки диагностической эффективности системы является так называемый ROC-анализ [9; 10]. Он позволяет, во-первых, оценить чувствительность (долю истинно положительных случаев от общего числа положительных случаев) и специфичность (долю истинно отрицательных случаев от общего числа отрицательных случаев) теста, а во-вторых, сопоставить диагностическую эффективность нескольких тестов с помощью сравнения площади под ROC-кривыми (AUC). В зависимости от величины площади под кривой качество диагностической системы имеет несколько градаций от неудовлетворительного (AUC 0,5—0,6) до отличного (AUC 0,9—1).

При оценке диагностической эффективности мультиплексных систем, каковыми являются микрочипы, был применен математический аппарат множественной логической регрессии [10].

Оценивали, насколько эффективно новая система способна разграничивать больных со злокачественными новообразованиями и без таковых. Эффективность модели оценивали на основании величины площади под ROC-кривой.

На рис. 1 представлены ROC-кривые для каждого из нескольких опухолевых маркеров, измеренных в системе «Панель-ОМ1», и комбинации из 6 опухолевых маркеров, полученной с помощью логистического регрессионного анализа (LR6). Видно, что ROC-кривая LR6 расположена к верхнему левому углу графика, соответствующему 100% чувствительности и 100% специфичности ближе, чем ROC-кривые для каждого индивидуального маркера. Величины площади под ROC-кривыми представлены в табл. 4. Из нее видно, что площади под кривыми для каждого из 6 опухолевых маркеров, за исключением РЭА, находятся в пределах 0,553—0,634. Это свидетельствует о неудовлетворительной, статистически незначимой диагностической эффективности каждого индивидуального маркера.



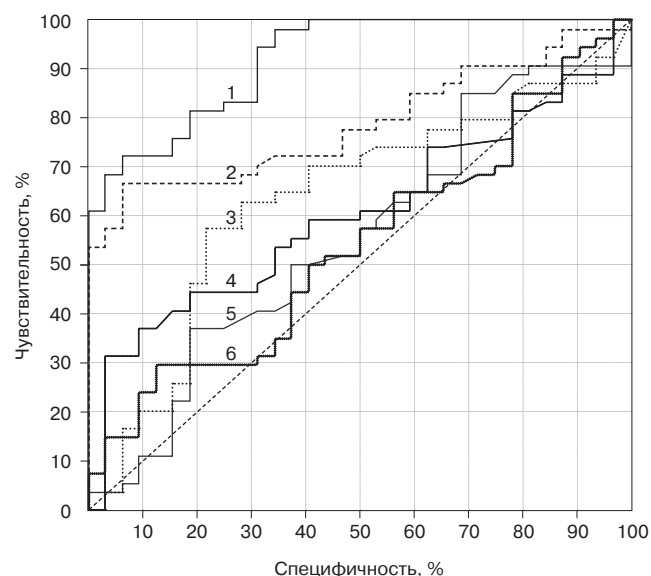
**Рисунок 1. Результаты сопоставления диагностической эффективности мультиплексной системы «Панель-ОМ1» (6 переменных) с эффективностью единичных опухолевых маркеров посредством определения площади под ROC-кривыми: разграничение больных со злокачественными новообразованиями и пациентов контрольной группы. LR6: АФП + СА 125 + СА 15-3 + СА 19-9 + РЭА + пролактин. 1 — LR6; 2 — РЭА; 3 — СА 19-9; 4 — СА 125; 5 — АФП; 6 — СА 15-3.**

Площадь под кривой для РЭА составляет 0,787, что указывает на эффективность этого маркера. Возможно, это связано с преобладанием больных колоректальным раком в исследуемой группе. Площадь под кривой LR6, соответствующей комбинации из 6 опухолевых маркеров, составляет 0,856 и достоверно превышает площади под ROC-кривыми для каждого из 6 индивидуальных опухолевых маркеров (см. табл. 4).

Использование дополнительного параметра «возраст пациента» позволяет увеличить площадь под ROC-кривой до 0,920, что свидетельствует об отличной диагностической эффективности системы из 7 маркеров (LR7). Эта площадь значительно превосходит площади для всех 7 переменных (рис. 2.; см. табл. 4) и практически приближается к 1.

Поскольку из всех индивидуальных маркеров наибольшую площадь под ROC-кривой и, следовательно, наибольшую диагностическую эффективность имел РЭА, чувствительность и специфичность этого маркера на изучаемом массиве данных были сопоставлены с чувствительностью и со специфичностью комбинаций маркеров, полученных с помощью логистического регрессионного анализа (табл. 5). Обычно проводят сравнение специфичности теста при одинаковом значении чувствительности (близком или равном 90%). Из табл. 5 видно, что комбинация из 6 опухолевых маркеров позволяет получить более высокую специфичность по сравнению с использованием одного РЭА (48,44% против 31,25%), тогда как использование 7 маркеров позволяет увеличить специфичность до 68,75%.

Следовательно, результаты оценки диагностической чувствительности и специфичности, а также площади под



**Рисунок 2. Сопоставление диагностической эффективности мультиплексной системы «Панель-ОМ1» (7 переменных) с эффективностью единичных опухолевых маркеров посредством определения площади под ROC-кривыми: разграничение больных со злокачественными новообразованиями и пациентов контрольной группы. LR7: LR6 + возраст пациента. 1 — LR7; 2 — РЭА; 3 — СА 19-9; 4 — СА 125; 5 — АФП; 6 — СА 15-3.**

ROC-кривыми свидетельствуют, что мультиплексная система «Панель-ОМ1» имеет достоверно более высокую диагностическую эффективность по сравнению с единичными опухолевыми маркерами при выявлении больных со злокачественными новообразованиями.

Таким образом, использование коммерческой мультиплексной системы «Панель-ОМ1» позволяет увеличить диагностическую эффективность по сравнению с использованием систем, предназначенных для определения единичных опухолевых маркеров.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Опухолевые маркеры призваны помочь ответить на вопросы клинициста, первыми из которых являются: 1) имеется ли у пациента злокачественное новообразование; 2) если да, то какой орган поражен [11; 12]. Поскольку большинство индивидуальных опухолевых маркеров не обладает чувствительностью и специфичностью, достаточными для ответа на эти вопросы, в последнее время большие надежды связывают с микрочипами — мультиплексными системами, позволяющими одновременно определять сразу несколько опухолевых маркеров [13; 14].

Нами показано, что отечественная диагностическая система «ОМ-биочип» на 6 опухолевых маркеров по сравнению с использованием каждого единичного маркера позволяет существенно повысить диагностическую эффективность [7]. В настоящей работе аналогичные результаты получены для другой комбинации опухолевых маркеров и другой — зарубежной коммерческой мультиплексной — системы, основанной на применении суспензионных микрочипов.

В последнее время в печати появилась серия работ, в которых различные системы, основанные на технологии суспензионных чипов, применяют для анализа опухолевых маркеров в сыворотке крови [15–17], слюне [18] и слезной жидкости [19] и сопоставляют уровни измеренных биомаркеров с концентрациями, полученными в традиционных однопараметрических системах ELISA [18]. Показано, что предлагаемые авторами панели из нескольких опухолевых маркеров эффективны при выявлении ранних стадий рака яичников [16] и немелкоклеточного рака легкого [17].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новая диагностическая система на основе суспензионных микрочипов «Панель-ОМ1» для одновременного определения 6 опухолевых маркеров позволяет получать данные, которые коррелируют с результатами, полученными при измерении каждого индивидуального маркера в соответствующей иммуноферментной системе, а также с результатами, полученными в системе на основе планарных микрочипов «ОМ-биочип».

На значительном массиве образцов сыворотки крови показано, что по сравнению с системами, использующими единичные маркеры, новая система позволяет достоверно увеличить диагностическую эффективность при разграничении больных со злокачественными новообразованиями и пациентов контрольной группы.

Таблица 4  
Результаты оценки диагностической эффективности системы «Панель-ОМ1» посредством определения площади под ROC-кривой: разграничение больных со злокачественными новообразованиями и пациентов контрольной группы

Маркер	Площадь под ROC-кривой	p	
		отличия от LR6	отличия от LR7
АФП	0,553 (0,442–0,660)	< 0,001	< 0,001
СА 125	0,602 (0,491–0,706)	< 0,001	< 0,001
СА 15-3	0,539 (0,428–0,647)	< 0,001	< 0,001
СА 19-9	0,634 (0,523–0,735)	0,002	< 0,001
РЭА	0,787 (0,686–0,868)	0,046	< 0,003
Пролактин	0,591 (0,480–0,696)	0,001	< 0,001
Возраст пациента	0,676 (0,566–0,773)	0,027	< 0,001
LR6	0,856 (0,764–0,922)	—	0,040
LR7	0,920 (0,841–0,967)	—	—

LR6 — АФП + СА125 + СА 15-3 + СА 19-9 + РЭА + пролактин; LR7 — то же + возраст пациента.

Таблица 5

Чувствительность и специфичность РЭА и комбинаций маркеров, полученных с помощью логистического регрессионного анализа при разграничении на больных со злокачественными новообразованиями и пациентов контрольной группы

Маркер	Чувствительность, %	Специфичность, %
РЭА	89,83	31,25
LR6	89,83	48,44
LR7	90,74	68,75

Полученные нами результаты и данные литературы свидетельствуют в пользу того, что применение мультиплексных диагностических систем в формате планарных и суспензионных микрочипов для анализа опухолевых маркеров позволит существенно улучшить диагностику рака, а это в конечном счете приведет к повышению эффективности лечения онкологических больных.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Абелев Г. И. Иммунология опухолей человека // Канцерогенез / Под ред. Д. Г. Заридзе. — М.: Медицина, 2004. — С. 474–482.
2. Optimal combination of seven tumor markers in prediction of advanced stage at first examination of patients with non-small cell lung cancer / Ando S., Kimura H., Iwai N., Shima M., Ando M., Kuriyama T. // *Anticancer Res.* — 2001. — Vol. 21. — P. 3085–3092.
3. The predictive value of a combination of tumor markers in monitoring patients with ovarian cancer / Lahousen M., Stettner H., Pickel H., Urdl W., Pirstner P. // *Cancer.* — 1987. — Vol. 60, N 9. — P. 2228–2232.
4. Clinical significance of the number of positive tumor markers in assisting the diagnosis of lung cancer with multiple tumor marker assay / Muzushima Y., Hirata H., Isumi S., Hoshino K., Konishi K., Morikage T., Maruyama M., Yamashita N. and Yano S. // *Oncology.* — 1990. — Vol. 47. — P. 43–48.
5. Мирзабеков А. Д., Рубина А. Ю., Паньков С. В. Композиция для полимеризационной иммобилизации биологически значимых соединений и способ ее осуществления / Пат. W0 03/033539 // Бюл. изобр. — 2003. — № 32.
6. Vignali D. A. A. Multiplexed particle-based flow cytometric assays // *J. Immunol. Methods.* — 2000. — Vol. 243, N 1–2. — P. 243–255.
7. Диагностика рака с использованием системы в формате микрочипа для одновременного количественного определения шести опухолевых маркеров / Рябых Т. П., Соколова З. А., Пақлин Н. Б., Осипова Т. В. // ДАН. — 2011. — Т. 437, № 5. — С. 1–4.
8. Биологический микрочип для одновременного количественного иммунологического анализа маркеров онкологических заболеваний в сыворотке крови человека / Саватеева Е. Н., Деметьева Е. И., Цыбульская М. В., Осипова Т. В., Рябых Т. П., Турыгин А. Ю., Юрасов Р. А., Заседаев А. С., Рубина А. Ю. // Бюл. эксп. биол. — 2009. — Т. 147, № 6. — С. 679–683.
9. Zweig M. H., Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine // *Clin. Chem.* — 1993. — Vol. 39. — P. 561–577.
10. Пақлин Н., Орешков В. Бизнес-аналитика: от данных к знаниям. — СПб.: Питер, 2009. — 624 с.
11. Diamandis E. P. Tumor markers: past, present, and future // *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical Applications* / Diamandis E. P., Fritsche H. A., Lilja H., Chan D. W., Schwartz M. K. (eds.). — Washington, DC: AACCC Press, 2002. — P. 3–8.
12. Voorzanger-Rousselot N., Garnero P. Biochemical markers in oncology. Part I: Molecular basis. Part II: Clinical uses // *Cancer Treatment Rev.* — 2007. — Vol. 33. — P. 230–283.
13. Биочипы для медицинской диагностики / Чечеткин В. Р., Про-

копенко Д. В., Макаров А. А., Заседателев А. С. // Рос. нанотехнол. — 2006. — Т. 1, № 1—2. — С. 13—28.

14. Осипова Т. В., Рябых Т. П., Барышников А. Ю. Диагностические микрочипы: их применение в онкологии // Рос. биотер. журн. — 2006. — Т. 5, № 3. — С. 72—81.

15. Hensley M. L. A step forward for two-step screening for ovarian cancer // J. Clin. Oncol. — 2010. — Vol. 28, N 13. — P. 2128—2130.

16. Development of a multimarker assay for early detection of ovarian cancer / Yurkovetsky Z., Skater S., Lomakin A., Nolen B., Pulsipher T., Modugno F., Marks J., Godwin A., Gorelik E., Jacobs I., Menon U., Lu K., Badgwell D., Bast Jr R. C., Lokshin A. E. // J. Clin. Oncol. — 2010. — Vol. 28, N 13. — P. 2159—2166.

17. A multy-analyte serum test for the detection of non-small cell lung cancer / Farlow E. C., Vercillo M. S., Coon J. S., Basu S., Kim A. W., Fa-

ber L. P., Warren W. H., Bonomi P., Liptay M. J., Borgia J. A. // Br. J. Cancer. — 2010. — Vol. 103. — P. 1221—1228.

18. Multiplexed immunobead-based assay for detection of oral cancer protein biomarkers in saliva / Arrelano-Garcia M. E., Hu S., Wang J., Henson B., Zhou H., Chia D., Wong D. T. // Oral Dis. — 2008. — Vol. 14, N 8. — P. 705—712.

19. Sharma R. K., Rogojina A. T., Chalam K. V. Multiplex immunoassay analysis of biomarkers in clinically accessible quantities of human aqueous humor // Mol. Vision. — 2009. — Vol. 15. — P. 60—69.

20. Опухолевые маркеры и их обследование. — Immunotech. A Beckman Coulter Company. Info Line, 1998. — С. 1—27.

Поступила 18.03.2011

*Tatiana Pavlovna Ryabykh<sup>1</sup>, Tatiana Vladimirovna Osipova<sup>2</sup>,  
Zinaida Alexandrovna Sokolova<sup>3</sup>, Nikolay Borisovich Paklin<sup>4</sup>,  
Vladimir Ivanovich Grabko<sup>5</sup>*

## ASSESSMENT OF DIAGNOSTIC POTENTIALS OF A COMMERCIAL MULTIPLEX SUSPENSION MICROCHIP-BASED SYSTEM FOR QUANTITATIVE ANALYSIS OF PROTEIN TUMOR MARKERS

<sup>1</sup> MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Tumor Experimental Diagnosis and Biotherapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Treatment Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>2</sup> MD, PhD, Leading Researcher, Tumor Experimental Diagnosis and Biotherapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Treatment Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>3</sup> Junior Researcher, Tumor Experimental Diagnosis and Biotherapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Treatment Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>4</sup> PhD, Associate Professor, Chair of General, Theoretical Physics and Physics Teaching Methodology, S. A. Esenin RSU (46, ul. Svobody, Ryazan, RF, 390000)

<sup>5</sup> MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Biologically Active Nanostructure Laboratory, N. F. Gamaleya Epidemiology and Microbiology Research Institute (18, ul. Gamaleyi, Moscow, RF, 123098)

Address for correspondence: Ryabykh Tatiana Pavlovna, Tumor Experimental Diagnosis and Biotherapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Treatment Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478; e-mail: tatpav44@yandex.ru

New microchip-based diagnostic systems are used to measure several tumor markers simultaneously that may help to improve considerably cancer diagnosis. Ninety five sera from cancer patients and control individuals were used to assess diagnostic potentials of a new commercial suspension microchip-based system WideScreen™ Human Cancer Panel 1 (Tumor Markers) (Novagen, USA). Tumor marker measurements were compared with those obtained using a Russian multiplex system OM-biochip and conventional single marker enzyme immunoassays. Data obtained with the new system correlated with results of each individual marker measurement made with a respective enzyme immunoassay ( $r$  0.616 to 0.978;  $p < 0.0001$ ) and results obtained using a planar microchip-based system OM-biochip ( $r$  0.768 to 0.828;  $p < 0.0001$ ). The patient population was divided into cancer and control groups on the basis of ROC- and logistic regression analyses. Assessment of diagnostic sensitivity and specificity and measurement of area under the ROC curve demonstrated that the new 6-marker age-specific system has a significantly higher diagnostic efficacy as compared to single-marker systems (areas under ROC curves 0.920 and 0.553—0.787, respectively;  $p < 0.003$ ). It is therefore may be expect that multiplex microchip-based diagnostic systems for tumor marker measurement may help to improve considerably cancer diagnosis.

**Key words:** biologic microchips, tumor markers, diagnosis, ROC-analysis.



## КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Татьяна Петровна Генинг<sup>1</sup>, Татьяна Владимировна Абакумова<sup>2</sup>,  
Инна Ивановна Антонеева<sup>3</sup>, Снежанна Олеговна Генинг<sup>4</sup>

### НЕЙТРОФИЛЬНЫЙ СТАТУС ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ IA СТАДИИ

<sup>1</sup> Профессор, д. б. н., заведующая, кафедра физиологии и патофизиологии Ульяновского государственного университета (432000, РФ, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, г. 42)

<sup>2</sup> К. б. н., ассистент, кафедра физиологии и патофизиологии Ульяновского государственного университета (432000, РФ, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, г. 42)

<sup>3</sup> Д. м. н., доцент, кафедра онкологии и лучевой диагностики Ульяновского государственного университета (432000, РФ, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, г. 42)

<sup>4</sup> Студентка медицинского факультета Ульяновского государственного университета (432000, РФ, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, г. 42)

Адрес для переписки: 432001, РФ, г. Ульяновск, ул. Крымова, д. 63, кв. 403,  
Генинг Татьяна Петровна; e-mail: Naum-53@yandex.ru

Для оценки морфофункционального состояния нейтрофильных лейкоцитов использовали периферическую кровь 32 женщин с первичным раком шейки матки IA стадии. При исследовании по оценке активности миелопероксидазы, щелочной и кислой фосфатаз, уровня катионных белков в нейтрофилах периферической крови, а также при определении доли активных нейтрофилов в спонтанном варианте НСТ-теста у больных по сравнению с донорами выявлено повышение абсолютного количества нейтрофилов при одновременном снижении в них исследуемых показателей.

**Ключевые слова:** рак шейки матки, нейтрофильные лейкоциты.

Частота развития самого опасного для здоровья и жизни женщины заболевания — рака шейки матки (РШМ) составляет 18,8 на 100 000 женского населения [1]. При этом, если прирост заболеваемости РШМ за последние 5 лет в России составлял 0,9 на 100 000, то в Ульяновской области этот показатель достигал 6,1 на 100 000 женского населения.

Нейтрофильные лейкоциты (НфЛ) являются непременными участниками процесса формирования и развития опухоли. НфЛ первыми мигрируют к опухоли на ранних стадиях формирования [2; 3], инфильтрируют ее и становятся компонентами стромы [4]. Данные о роли НфЛ в канцерогенезе противоречивы. Ряд работ свидетельствует о проопухолевой активности НфЛ [5; 6], в то время как существуют клинические и экспериментальные данные, подтверждающие цитостатическое и цитотоксическое действие НфЛ на клетки опухоли [7].

В организме НфЛ могут находиться в двух состояниях — исходном и активированном. Переход НфЛ из

одного состояния в другое осуществляется через промежуточную стадию — прайминг [8], в ходе которого изменяется уровень клеточного метаболизма, в частности увеличиваются цитотоксичность и бактерицидность микрофагов. Праймирование НфЛ может происходить под влиянием опухолевых клеток [9; 10].

Целью исследования была оценка морфофункционального статуса НфЛ периферической крови на начальной стадии РШМ.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследуемая группа состояла из 32 первичных больных РШМ IA стадии по классификации Международной федерации акушеров и гинекологов (FIGO), подвергавшихся обследованию в гинекологическом отделении Ульяновского областного клинического онкологического диспансера. Подбор пациенток проводили по строго определенным критериям: возраст 30—45 лет (включительно); отсутствие острых воспалительных инфекционных и неинфекционных заболеваний; отсутствие в анамнезе хирургических вмешательств давностью менее года (включая стоматологические). Контрольную группу составили практически здоровые женщины в возрасте 30—45 лет.

НфЛ выделяли из венозной крови путем центрифугирования на двойном градиенте фикола-урографина (1,117 и 1,077 г/мл) и ресуспендировали в забуференном физиологическом растворе.

Исследование фагоцитарной активности НфЛ проводили стандартным методом с использованием дрожжевых клеток. Рассчитывали фагоцитарный индекс (ФИ) по Гамбургеру — процент фагоцитирующих НфЛ через 5, 30 и 60 мин инкубации, фагоцитарное число (ФЧ) по Райту [11] и индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ):  $ИЗФ = ФЧ\ 5' / ФЧ\ 60'$ . Кроме того, в НфЛ цитохимически определяли активность миелопероксидазы (МПО) с бензидином [12], уровень катионных белков (КБ) по Шубичу [13], щелочной фосфатазы (ЩФ) по Rutenburg [14], долю активных нейтрофилов (ДАН) в спонтанном варианте с восстановлением нитросинего тетразолия (НСТ-тест) [15]. Результаты выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК).

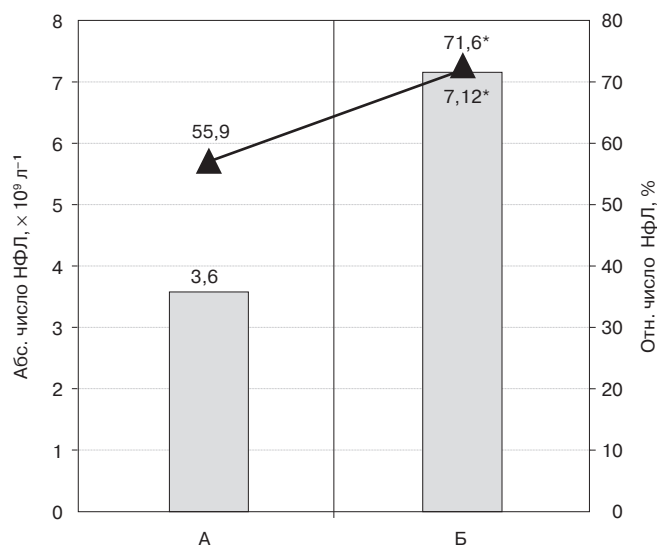
Для оценки ригидности исследовали поверхность НфЛ на сканирующем зондовом микроскопе (СЗМ) «Solver Pro» («NT-MDT», Зеленоград) в полуконтактном режиме. Использовали фирменные кремниевые зонды с жесткостью 0,20 Н/м. Радиус закругления кончика зонда составлял примерно 50 нм.

Для определения значимости различий между группами использовали U-критерий Манна—Уитни.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований установлено, что при РШМ IA стадии по сравнению с контролем значительно повышается абсолютное количество НфЛ в периферической крови (рис. 1).

Число фагоцитирующих клеток (30 мин) у больных РШМ составило  $45,1 \pm 6,24\%$  и значительно отличалось от такового у доноров ( $70,8 \pm 0,36\%$ ). ФЧ (30 мин) НфЛ в кро-



**Рисунок 1. Абсолютное и относительное число нейтрофилов у больных РШМ IA стадии.** Звездочкой отмечены статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой.

**А.** Контроль. **Б.** РШМ IA стадии.

ви больных было ниже, чем в крови доноров ( $1,5 \pm 0,03$  и  $2,0 \pm 0,12$  усл. ед. соответственно). При этом фагоцитоз у больных, вероятно, идет по незавершенному типу, так как  $ИЗФ < 1$  (0,76).

Непосредственная цитотоксическая активность НфЛ проявляется при активации секреторной дегрануляции — высвобождении протеолитических ферментов и других белков из гранул и меньших запасующих оргanelл [6]. У НфЛ имеются 4 типа гранул: азурофильные, содержащие МПО и относящиеся к регуляторно-секреторным гранулам, специфические, содержащие лактоферрин и коллагеназу, желатиназные и секреторные гранулы, возникающие на стадии зрелого НфЛ.

Азурофильные гранулы содержат нейтральные протеазы, в том числе МПО. Именно эти гранулы мобилизуются при фагоцитозе и участвуют в образовании фаголизосом [16]. Уменьшение уровня МПО в НфЛ может рассматриваться как следствие снижения способности к завершенному фагоцитозу [17].

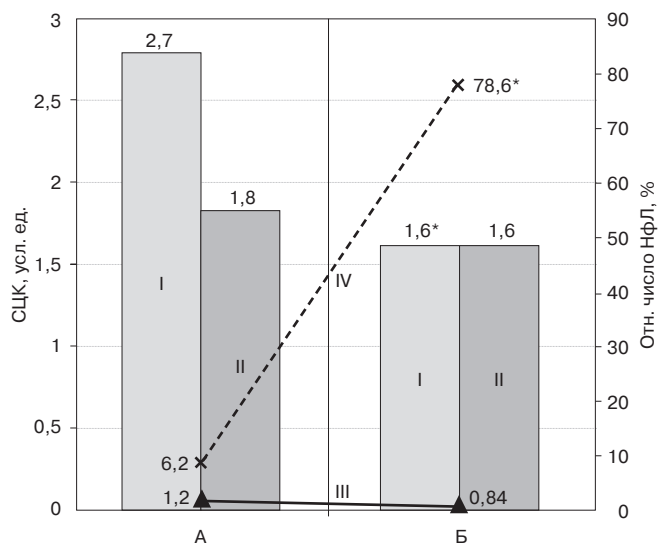
Специфические гранулы содержат КБ, которые обеспечивают микробицидное действие НфЛ в анаэробных условиях в отсутствие респираторного взрыва. Мы констатировали снижение активности МПО ( $1,6 \pm 0,004$  СЦК против  $2,7 \pm 0,07$  СЦК в контроле) и уровня КБ ( $1,6 \pm 0,03$  СЦК против  $1,8 \pm 0,06$  СЦК в контроле), обуславливающих кислородзависимую и анаэробную бактерицидность НфЛ. В анаэробном метаболизме НфЛ активное участие принимают и гидролитические ферменты специфических гранул, в частности ЩФ. Участвуя в гидролизе нуклеиновых кислот и фосфопротеинов, она готовит клетку для дальнейшего воздействия КБ [18]. Активность ЩФ в НфЛ у больных РШМ была несколько сниженной по сравнению с таковой в НфЛ доноров ( $0,84 \pm 0,101$  СЦК против  $1,20 \pm 0,070$  СЦК в контроле).

Кислородзависимую активность НфЛ определяют по реакции восстановления НСТ. Спонтанный вариант теста характеризует степень «функционального раздражения» НфЛ *in vivo*. Увеличение количества НСТ-положительных клеток свидетельствует о напряженности окислительно-восстановительных процессов в клетке. При оценке НфЛ в спонтанном НСТ-тесте выявлено, что число активных клеток в периферическом кровотоке у больных РШМ значительно выше, чем у доноров ( $78,6 \pm 9,34$  и  $6,2 \pm 0,95\%$  соответственно) (рис. 2).

Методом СЗМ была исследована цитоархитектоника НфЛ (рис. 3) и выяснено, что ригидность их мембраны при РШМ значительно не отличается от таковой у НфЛ доноров ( $232,7 \pm 34,51$  и  $241,2 \pm 25,51$  Па соответственно).

Снижение этого показателя ряд исследователей связывают с изменением фагоцитарной активности НфЛ [19]. В наших исследованиях, несмотря на выраженные отличия показателей фагоцитоза, изменения ригидности по сравнению с таковой в контроле не были статистически значимыми.

Таким образом, у больных РШМ IA стадии увеличивается абсолютное количество НфЛ при изменении их функционального состояния: снижении бактерицидной активности и повышении количества НфЛ, продуцирующих активные формы кислорода. Фагоцитарная активность снижается, а фагоцитоз идет по незавершенному типу.



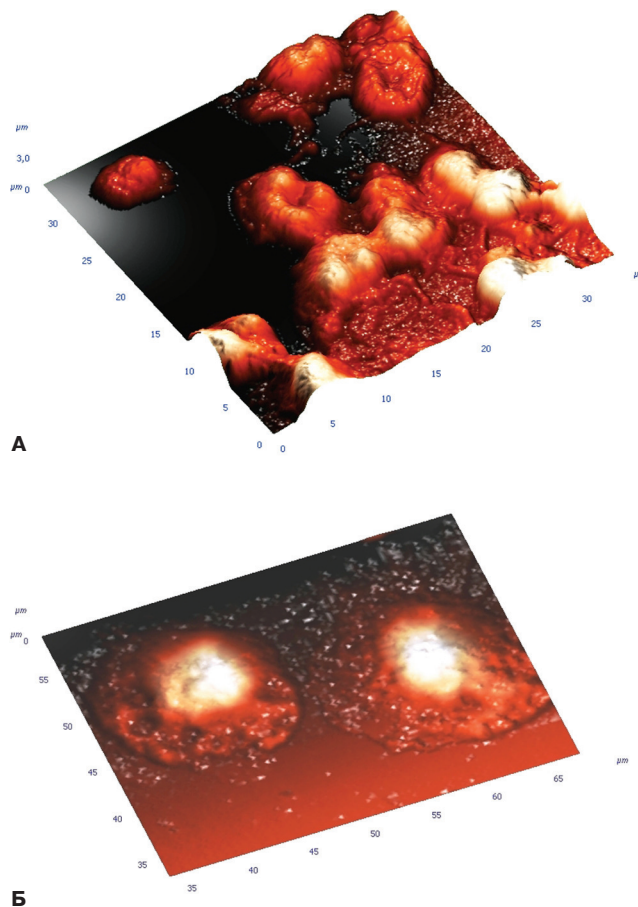
**Рисунок 2. Функциональная активность НФЛ у больных РШМ IA стадии.** Звездочкой отмечены статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой. I — активность МПО; II — уровень КБ; III — активность ЩФ; IV — показатель НСТ-теста.

**А.** Контроль. **Б.** РШМ IA стадии.

Работа поддержана грантами ФЦП «Научно-педагогические кадры инновационной России на 2009—2013 гг.».

**ЛИТЕРАТУРА**

- Афанасьев М. С., Алешкин В. А., Афанасьев С. С. «Вирусно-бактериальная природа дисплазии и рака шейки матки» // Вестн. РАМН. — 2004. — № 6. — С. 35—40.
- Ovarian cancer cell modulate human blood neutrophils response to activation in vitro / Klink M., Jastrzebska K., Nowak M., Bednarska K., Szpakowski M., Szylo K., Sulowska Z. // Scand. J. Immunol. — 2008. — Vol. 68. — P. 328—336.
- Regression of an established tumor genetically modified to release granulocyte colony-stimulating factor requires granulocyte-T cell cooperation and T cell-produced interferon gamma / Stoppacciaro A., Melani C., Parenza M., Mastracchio A., Bassi C., Baroni C., Parmiani G., Colombo M. P. // J. Exp. Med. — 1993. — Vol. 178, N 1. — P. 151—161.
- Mueller M.M., Fusenig N.E. Friends or foes — bipolar effects of the tumour stroma in cancer // Nat. Rev. Cancer. — 2004. — Vol. 4, N 11. — P. 839—849.
- Human neutrophils facilitate tumor cell transendothelial migration / Wu Q.D., Wang J.H., Condron C., Bouchier-Hayes D., Redmond H. P. // Amer. J. Physiol. Cell. — 2001. — Vol. 280, N 4. — P. 814—822.
- Role of Bv8 in neutrophil-dependent angiogenesis in a transgenic model of cancer progression / Shojaei F., Singh M., Thompson J. D., Ferrara N. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2008. — Vol. 105. — P. 2640—2645.
- Clark R. A. Activation of the neutrophils kill microbes // Ann. Rev. Immunol. — 1999. — Vol. 23. — P. 197—223.
- Клебанов Г. И., Владимиров Ю. А. Клеточные механизмы прайминга и агрегации фагоцитов // Успехи совр. биол. — 1999. — Т. 119, № 3. — С. 462—475.
- Jgney F. H., Behrens C. K., Krammer P. H. CD 95L mediates tumor counterattack in vitro but induces neutrophil-independent tumor rejection in vivo // Int. J. Cancer. — 2004. — Vol. 113. — P. 78—87.
- Neutrophils promote aerogenous spread of lung adenocarcinoma with bronchioloalveolar carcinoma features / Witko-Sarsat V., Rieu P., Descamps-Latscha B., Lesavre P., Halbwachs-Mecarelli L. // Clin. Cancer. Res. — 2000. — Vol. 13. — P. 3518—3527.
- Медведев А. Н., Маянский А. Н., Чаленко В. В. Способ иссле-



**Рисунок 3. НФЛ периферической крови (фиксация метанолом, трехмерное изображение).**

**А.** Доноры. **Б.** Больные РШМ IA стадии.

дования поглотительной фазы фагоцитоза // Лаб. дело. — 1991. — № 2. — С. 19—20.

- Долгушин И. И., Бухарин О. В. Нейтрофилы и гомеостаз. — Екатеринбург, 2001. — 278 с.
- Шубич М. Г., Нагоев Б. С. Щелочная фосфатаза лейкоцитов в норме и патологии. — М.: Медицина, 1980. — 224 с.
- Фагоцитарная активность нейтрофилов у больных множественной миеломой / Чубукина Ж. В., Бубнова Л. Н., Глазнова Т. В., Павлова И. Е., Розанова О. Е., Бессмельцев С. С. // Рос. алергол. журн. — 2010. — № 5, вып. 1. — С. 336—337.
- Шубич М. Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего // Цитология. — 1974. — Т. 16, № 10. — С. 1321—1322.
- Segal A. How neutrophils kill microbes // Ann. Rev. Immunol. — 2005. — Vol. 23. — P. 197—223.
- Пауков В. С., Кауфман О. Я. Структурно-функциональная характеристика нейтрофильных лейкоцитов и их роль в формировании воспалительных иммунных процессов // Арх. пат. — 1983. — № 5. — С. 3—13.
- Шубич М. Г., Нестерова И. В. О специфичности цитохимического выявления кислой фосфатазы в нейтрофильных лейкоцитах // Лаб. дело. — 1980. — № 3. — С. 150—154.
- Исследование морфологии и ригидности мембран нейтрофильных гранулоцитов в режиме реального времени методом сканирующей зондовой микроскопии / Плескова С. Н., Гущина Ю. Ю., Звонкова М. Б., Хомутова А. Е. // Бюл. exper. биол. — 2006. — Т. 141, № 6. — С. 760—762.

Поступила 16.02.2011

*Tatiana Petrovna Gening<sup>1</sup>, Tatiana Vladimirovna Abakumova<sup>2</sup>,  
Inna Ivanova Antoneyeva<sup>3</sup>, Snezhana Olegovna Gening<sup>3</sup>*

## **NEUTROPHIL STATUS IN PATIENTS WITH STAGE IA CERVICAL CANCER**

<sup>1</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Head, Chair of Physiology and Pathophysiology,  
Ulyanovsk State University (42, ul. Lva Tolstogo, Ulyanovsk, RF, 432000)

<sup>2</sup> MD, PhD, Assistant, Chair of Physiology and Pathophysiology,  
Ulyanovsk State University (42, ul. Lva Tolstogo, Ulyanovsk, RF, 432000)

<sup>3</sup> MD, PhD, DSc, Associate Professor, Chair of Oncology and Radiation Diagnosis,  
Ulyanovsk State University (42, ul. Lva Tolstogo, Ulyanovsk, RF, 432000)

<sup>4</sup> Student, Medical Faculty, Ulyanovsk State University  
(42, ul. Lva Tolstogo, Ulyanovsk, RF, 432000)

Address for correspondence: Gening Tatiana Petrovna, app. 403, bld. 43, ul. Krymova, Ulyanovsk, RF, 432001;  
e-mail: Naum-53@yandex.ru

Neutrophil morphological and functional status was analyzed in peripheral blood from 32 women with stage IA primary cervical cancer. Measurement of myeloperoxidase activity, alkaline and acid phosphatase, cationic proteins in peripheral neutrophils and fraction of active neutrophils in spontaneous NST test demonstrated elevation in absolute neutrophil count and decrease in the parameters tested in cancer patients as compared with healthy donors.

**Key words:** cervical cancer, neutrophils.

---

Юлия Владимировна Синягина<sup>1</sup>, Иннеса Викторовна Нечушкина<sup>2</sup>,  
Лия Анатольевна Марьина<sup>3</sup>, Михаил Иванович Нечушкин<sup>4</sup>

## РЕЗУЛЬТАТЫ ВНУТРИПОЛОСТНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РАБДОМИОСАРКОМЫ ВЛАГАЛИЩА И ШЕЙКИ МАТКИ У ДЕТЕЙ

<sup>1</sup> Врач, отделение амбулаторных методов диагностики и лечения НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

<sup>2</sup> Д. м. н., ученый секретарь, ведущий научный сотрудник отдела общей онкологии НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

<sup>3</sup> Профессор, г. м. н., врач, отделение радиохирургии НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

<sup>4</sup> Профессор, г. м. н., заведующий, отделение радиохирургии 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 амбулаторных методов диагностики и лечения НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Синягина Юлия Владимировна; e-mail: doctor\_o@progttech.ru

Цель исследования состояла в повышении эффективности лечения, снижении количества рецидивов путем внедрения внутриполостной лучевой терапии в программу комплексной терапии у детей, больных рабдомиосаркомой влагалища и шейки матки. Комплексное лечение с включением внутриполостной лучевой терапии проводили 33 девочкам с рабдомиосаркомой влагалища и шейки матки в возрасте от 1 года до 15 лет. Внутриполостную лучевую терапию проводили по методике «simple afterloading» (<sup>60</sup>Co) 25 детям, по методике «remote afterloading» (<sup>192</sup>Ir) на аппарате «microselectron-HDR» — 8 детям. Клиническая оценка терапевтического эффекта внутриполостной лучевой терапии рабдомиосаркомы влагалища и шейки матки с использованием источников различной активности и изоэффективного по режимам фракционирования дозы позволила выявить уменьшение числа ранних лучевых повреждений (25%) при использовании <sup>192</sup>Ir по методике «remote afterloading» по сравнению с ранее применяемым источником <sup>60</sup>Co по методике «simple afterloading» (100%) и поздних лучевых повреждений (12,5%) при использовании <sup>192</sup>Ir по методике «remote afterloading» по сравнению с ранее применяемым источником <sup>60</sup>Co по методике «simple afterloading» (48,3%). Общая пятилетняя выживаемость детей с рабдомиосаркомой влагалища и шейки матки, которым проводился полный объем комплексного лечения с включением внутриполостной лучевой терапии, составила 82,75%. Пятилетняя общая и безрецидивная выживаемость при T1a—1b стадии рабдомиосаркомы влагалища и шейки матки составила 94,1%, при T2a стадии — 85,71%, при T2b стадии — 40%. Таким образом, впервые для лечения пациентов в возрасте от 1 года до 15 лет были разработаны и внедрены схемы комплексной терапии с включением внутриполостной лучевой терапии, что привело к увеличению эффективности лечения, выживаемости пациентов раннего детского возраста, а также значительно улучшило качество жизни девочек.

**Ключевые слова:** рабдомиосаркома, влагалище и шейка матки, внутриполостная лучевая терапия, дети.

Одной из особенностей детского возраста является преобладание саркоматозных образований над эпителиальными (в отличие от таковых у взрослых) [1; 2]. Рабдомиосаркома (РМС) наиболее часто встречается среди морфологических вариантов сарком мягких тка-

ней и составляет 15—20% всех опухолевых образований у детей [3]. На долю РМС приходится около 50% всех сарком мягких тканей у детей и более 50—70% встречается в возрасте младше 5 лет [4; 5]. По данным обзора отечественных и зарубежных публикаций, в 12—24% случаев РМС локализуется в мочеполовых органах [6—8]. Наибольшая частота возникновения опухолей влагалища у детей отмечается в возрасте от 3 до 5 лет, а шейки матки у подростков — на втором десятилетии жизни [9—12].

Ранее ведущим методом лечения больных РМС считался только хирургический, но даже при выполнении калечащих операций излечивалось не более 10% больных, а при применении полихимиотерапии (ПХТ) — только 25% [5]. По данным иностранной литературы, в случае опухолей влагалища и шейки матки у детей проводились хирургические вмешательства в объеме экзентерации таза, гистерэктомии, вагинэктомии [12]. Для более эффективного лечения после удаления опухоли использовали ПХТ, что улучшало общие результаты лечения, однако не избавляло от рецидивов [14]. Дистанционная лучевая терапия (ЛТ) применялась в комбинациях с ПХТ. Для предотвращения лучевой кастрации выполнялась овариопексия, но лучевые повреждения полностью предотвратить не удавалось [15].

Накоплен клинический опыт по использованию внутриполостной лучевой терапии (ВПЛТ) у женщин с опухолями половых органов, описаны различные методики и режимы облучения. В связи с эффективностью лечения данным методом была поставлена задача использовать ВП ЛТ и у детей. ЛТ, основанная на принципе последовательного двухэтапного введения эндостатов и источников излучения, известна в мировой литературе под названием «afterloading».

Эффективность брахитерапии определяется непрерывностью облучения, возможностью создания высокой очаговой дозы с равномерным облучением всей зоны патологического объекта при минимальном воздействии на окружающие здоровые ткани и жизненно важные органы, что позволяет снизить частоту лучевых повреждений и достичь высокой выживаемости больных [16].

Необходимо отметить следующие достоинства ВПЛТ: достаточно высокая эффективность лечения; сокращение длительности сеансов облучения до нескольких минут; обеспечение условий оптимального облучения первичного очага за счет сохранения постоянного положения источников ввиду жесткой фиксации эндостатов; возможность визуального рентгенологического, дозиметрического контроля, что позволяет точно воспроизводить выбранные параметры облучения [17—19]; сведение до минимума лучевых нагрузок на медицинский персонал. У взрослых благодаря применению данного метода достигнуто улучшение результатов лечения, выживаемость (при раке влагалища и шейки матки) увеличилась на 20—30% [20].

Отмеченные у взрослых данные о снижении частоты развития осложнений и лучевых повреждений после применения ВПЛТ делают этот метод привлекательным и альтернативным для использования у детей.

Целью настоящего исследования явились повышение эффективности лечения, снижение частоты развития рецидивов путем внедрения ВПЛТ в программу комплексной терапии детей с РМС влагалища и шейки матки.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования послужили данные клинических наблюдений 33 девочек с РМС влагалища и шейки матки в возрасте от 1 года до 15 лет, которым проводилось комплексное лечение с использованием ВПЛТ по методике «simple afterloading» ( $^{60}\text{Co}$ ) и «remote

afterloading» ( $^{192}\text{Ir}$ ) на аппарате высокой мощности дозы «MicroSelectron-HDR».

Средний возраст детей с РМС влагалища и шейки матки составил  $3,2 \pm 0,6$  года. В 75,8% случаев опухоль локализовалась во влагалище, в 24,2% — на шейке матки. Средний возраст детей с поражением влагалища составил  $2,7 \pm 0,6$  года, средний возраст девочек с поражением шейки матки —  $4,7 \pm 2,1$  года. Диагноз эмбриональной РМС установлен у 100% больных, из них ботриоидный вариант эмбриональной РМС — у 57,6%.

При поступлении в НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН предъявлялись следующие жалобы: выделения из половых путей различного характера (78,8%), болевой синдром (18,2%), нарушение мочеиспускания (33,3%), инфекции мочеполового тракта в виде вульвовагинитов и циститов (33,3%). Для установления диагноза проводили вагиноскопию и ректальное исследование всем больным, биопсию экзозифитной части опухоли. Успешная первичная биопсия была у 64% больных, у остальных проводили повторные биопсии. Для определения распространенности процесса использовали ультразвуковое исследование, рентгеновскую компьютерную томографию и магнитно-резонансную томографию.

Средние размеры опухоли составили  $4,32 \pm 2,23$  см. У большинства детей выявлены стадии заболевания T1a (48,5%) и T2a (24,2%). Стадия T2b определена у 15,2% больных. Опухоль исходила из передней стенки влагалища в 40% случаев, из задней стенки — в 32% и у 48% пациенток занимала всю длину влагалища. Учитывая такой характер распространения опухоли по стенкам влагалища и его длине, можно предполагать не только экзозифитный, но и инфильтративный рост опухоли у большинства детей с поражением влагалища и шейки матки.

Поражение влагалищной части шейки матки выявлено в 75% случаев, тогда как рост из цервикального канала — в 25%. При поражении шейки матки у 75% больных отмечено распространение опухоли на своды влагалища.

Даже при наличии благоприятной T1a стадии локализация опухоли на передней стенке влагалища отмечена в 43,75% случаев, у 31,25% больных поражала более  $\frac{2}{3}$  длины влагалища и у 31,25% занимала всю длину влагалища.

Ввиду анатомических особенностей детского возраста, расположения уретры непосредственно на передней стенке влагалища по всей ее длине удаление опухоли без калечащего характера хирургического вмешательства выполнить невозможно.

При анализе клинических историй болезни отмечено, что у 30,3% больных по месту жительства диагноз не был верифицирован и только у 21,2% предположено опухолевое поражение половых органов. Средние сроки установления диагноза по месту жительства составили  $8,27 \pm 1,75$  мес.

После морфологического подтверждения опухолевого поражения влагалища и шейки матки 33 больным в НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН проведено комплексное лечение с включением ВПЛТ.

Всем детям с диагнозом РМС влагалища после проведения биопсии и получения результатов гистологического исследования на первом этапе лечения проводили

2 курса ПХТ для сокращения размеров экзофитной части опухоли. Большинство больных получали ПХТ по схеме: винкристин + циклофосфамид + дактиномицин (VAC), затем химиотерапия была видоизменена, и использована схема винкристин + ифосфамид + дактиномицин. В схемах комплексного лечения РМС влагалища и шейки матки у обследованных детей на заключительном этапе использовали 6—8 курсов ПХТ данными препаратами.

После сокращения размеров опухоли ее экзофитную часть во влагалище удаляли. При поражении шейки матки на первых этапах исследования удаляли матку без придатков. Однако было выявлено прогрессирование в области маточной трубы, поэтому объем операции был расширен. При поражении шейки матки стали выполнять экстирпацию матки с маточными трубами и верхней третью влагалища. Такой объем хирургического вмешательства определяли в связи с возможным риском подслизистого роста опухоли, который невозможно контролировать при клиническом осмотре, с помощью дополнительных методов обследования.

Анализ результатов операций у детей с опухолями влагалища и шейки матки показал, что иссечение опухоли после химиотерапии как подготовки к проведению ЛТ выполнено у 72% детей с опухолевыми поражениями влагалища. Хирургическое вмешательство не проводилось у 28% больных в связи с сокращением размеров экзофитной части опухоли после ПХТ. Экстирпация матки без придатков с верхней третью влагалища выполнена у 25% девочек, экстирпация матки с маточными трубами и верхней третью влагалища — у 75,0% детей с опухолевым поражением шейки матки. Учитывая необходимость проведения ЛТ, у 16% больных провели овариопексию для предупреждения лучевой кастрации.

Таким образом, целью химиотерапевтического лечения явилось сокращение размеров опухоли до 50% и более в зависимости от первичного размера. Это создавало условия для определения локализации процесса и выработки дальнейшей тактики лечения. Удаление экзофитной части опухоли — необходимое условие для проведения брахитерапии — современного метода ЛТ.

Дистанционная ЛТ включена в схему комплексного лечения РМС шейки матки после двух курсов ПХТ у девочек. В 75% случаев проведен этап дистанционного облучения малого таза. В 25% случаев после операции проводили ВПЛТ без использования предоперационной дистанционной ЛТ в связи с регрессией опухоли после ПХТ.

ВПЛТ у детей была впервые применена при лечении опухолей влагалища, а затем и шейки матки. Методика «simple afterloading» ( $^{60}\text{Co}$ ) применена у 72% детей с 1982 по 1990 г., «remote afterloading» ( $^{192}\text{Ir}$ ) — у 28% детей с 1990 по 2005 г. с диагнозом РМС влагалища. ВПЛТ при РМС шейки матки применена после дистанционной ЛТ и удаления опухоли. Методика «simple afterloading» ( $^{60}\text{Co}$ ) проведена в 87,5% случаев, «remote afterloading» ( $^{192}\text{Ir}$ ) — в 12,5% случаев с РМС шейки матки.

#### Методики лечения

Контактное облучение влагалища осуществляли с применением  $^{60}\text{Co}$  по методике «simple afterloading» или  $^{192}\text{Ir}$  по методике «remote afterloading». Для ВПЛТ исполь-

зовали специально изготовленный влагалищный линейный жестко фиксированный аппликатор из органического стекла для облучения стенок влагалища и культуры влагалища.

Радиоактивный источник  $^{60}\text{Co}$  по методике «simple afterloading» использовали активностью 12,5—21,6 мг/экв. Сеансы проводили 1 раз в 2—3 нед влагалищным аппликатором с применением источника кобальта общей длиной 65 или 45 мм и дозированием на глубину 5 мм от слизистой оболочки влагалища из расчета по 85% изодозе. Мощность дозы в точке дозирования находилась в пределах 37,9—92,6 сГр/ч. Длительность одной укладки колебалась от 20 до 30 ч. Разовая очаговая доза (РОД) составила 20—25 иГр по 2—3 фракции до суммарной очаговой дозы (СОД) 50—60 иГр.

По методике «remote afterloading» использовали радиоактивный источник  $^{192}\text{Ir}$  с номинальной активностью 10 Ки. Общая продолжительность лечения в зависимости от активности составляла несколько минут. Сеансы проводили 2—3 раза в неделю с использованием влагалищных аппликаторов с одним или тремя проводниками на аппарате «MicroSelectron-HDR», РОД = 5 Гр, количество фракций 6—7 до СОД 50 иГр. Программу облучения рассчитывали предварительно на компьютерной системе планирования.

При поражении шейки матки проводили предоперационное наружное облучение малого таза. Дистанционная ЛТ первичного опухолевого очага и зон регионарного метастазирования (параметрий, наружные, внутренние и общие подвздошные лимфатические узлы) проводилась на гамма-терапевтических аппаратах «Рокус-46», «ЛУЭВ-15М» (15—18 МэВ), размеры полей составляли 4×10 и 12×16 см. Использованы стандартные методики, применяемые в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН: режим фракционирования — РОД 1,8—2,0 Гр, режим облучения — ежедневно с интервалом между фракциями 24 ч 5 раз в неделю, СОД 20 Гр. Длительность дистанционного лучевого лечения составляла от 12 до 15 дней. Затем использовали ВПЛТ методиками «simple afterloading» ( $^{60}\text{Co}$ ) и «remote afterloading» ( $^{192}\text{Ir}$ ). Облучали культуру влагалища. Применяли такие же режимы облучения, как и при локализации опухоли в области влагалища.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Клиническую оценку терапевтического эффекта комплексного лечения с включением ВПЛТ радиоизотопами  $^{60}\text{Co}$  и  $^{192}\text{Ir}$  и изодозной по режимам фракционирования дозы выполняли по следующим критериям: оценивали результаты общей выживаемости в сроках от 5 до 20 лет в зависимости от локализации, стадии, используемых методик, СОД, а также степень ранних и поздних лучевых повреждений.

В течение первого года после лечения выявлены рецидивы у 10,3% детей. Прогрессирование в виде метастазирования в лимфатические узлы и маточные трубы отмечено у 6,7% больных. Прогрессирование опухолевого процесса отмечалось спустя 8 мес при поражении подвздошных лимфатических узлов и спустя 1 год при прогрессировании по маточной трубе. У всех детей (17,25%), умерших спустя 2—2,5 года после лечения, имелись рецидивы или метастазы.

Общая 5- и 10-летняя выживаемость детей с РМС влагалища и шейки матки, которым проводился полный объем комплексного лечения с включением ВПЛАТ, составила 82,75% (рис. 1). Важно отметить, что у детей с РМС влагалища и шейки матки рецидивы и прогрессирование отмечены в течение 2 лет.

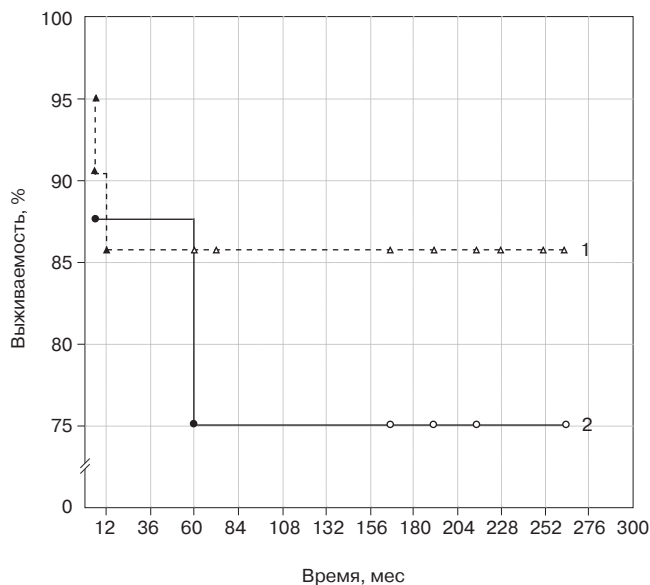
Так, в группе больных с локализацией опухоли в области влагалища живы в течение 5 и 10 лет 85,70%. В отличие от группы больных с поражением шейки матки, выживаемость в течение 5 лет составляет 75% (рис. 2).

Нами проанализирована выживаемость в зависимости от стадии опухолевого процесса. Согласно полученным данным, 5-летняя выживаемость неуклонно снижалась по мере увеличения степени распространенности опухолевого процесса. Общая выживаемость в группе T1a—1b составила 94,1%, при T2a — 85,71%, при T2b — 60% (рис. 3).

В группе больных, которым проведено лечение по методике «simple afterloading» ( $^{60}\text{Co}$ ), 5-летняя выживаемость составляет 80%, в отличие от группы больных, лечившихся по методике «remote afterloading» ( $^{192}\text{Ir}$ ), у которых данный показатель составляет 100% (рис. 4). Отмечена тенденция к уменьшению продолжительности жизни у больных, получивших ЛТ по методике «simple afterloading» ( $^{60}\text{Co}$ ).

При получении СОД от 40 до 49 иГр 5—10-десятилетняя выживаемость составила 76,55%, при СОД от 50 до 60 иГр — 87,5% и осталась на том же уровне в течение 10 и более лет (рис. 5). Выживаемость больных детей в зависимости от СОД значительно хуже при СОД менее 49 иГр.

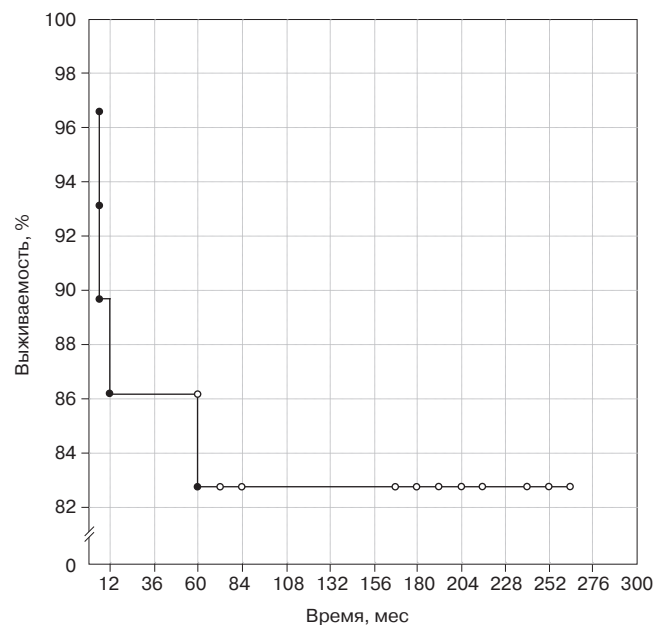
Частоту и степень проявления ранних и поздних лучевых повреждений оценивали согласно классификации радиотерапевтической онкологической группы совместно с Европейской радиотерапевтической онкологической группой по исследованию и лечению рака EORTC/RTOG.



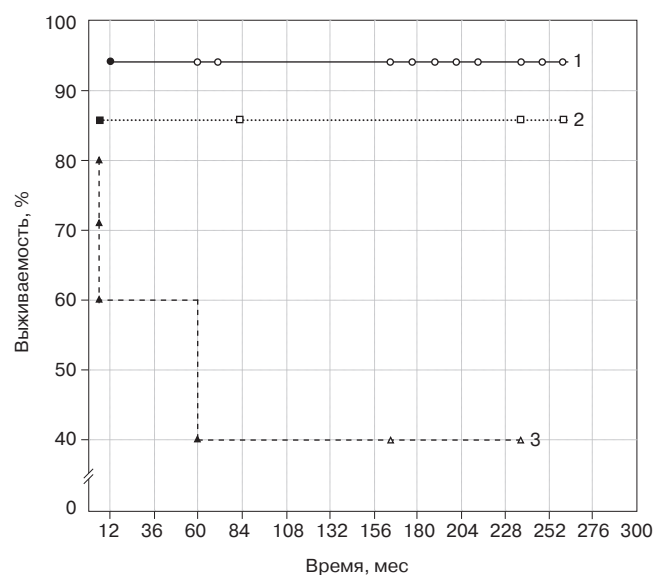
**Рисунок 2. Выживаемость больных в зависимости от локализации поражения (n = 29) (p > 0,05).** Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — РМС влагалища; 2 — РМС шейки матки.

ской группой по исследованию и лечению рака EORTC/RTOG.

При лечении по методике «simple afterloading» ( $^{60}\text{Co}$ ) эпителиит влагалища I степени развился в 92% случаев, II степени — в 8%. Катаральный цистит отмечен у 56% больных, ректит — у 16%. При лечении по методике «remote afterloading» ( $^{192}\text{Ir}$ ) отмечалось развитие эпителиита влагалища I степени только в 25% случаях, катарального ци-



**Рисунок 1. Общая выживаемость детей с РМС влагалища и шейки матки.** Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные.



**Рисунок 3. Выживаемость больных в зависимости от стадии заболевания (p = 0,02102 по сравнению с опухолями T1a—1b).** Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — T1a—1b; 2 — T2a; 3 — T2b.



Таблица 1

Ранние лучевые повреждения в зависимости от методик контактного облучения (n = 33), абс.<sup>a</sup>

Лучевое повреждение	I степень (катаральная форма)		II степень (эрозивно-десквамативная форма)		III степень (язвенно-некротическая форма)	
	<sup>60</sup> Co	<sup>192</sup> Ir	<sup>60</sup> Co	<sup>192</sup> Ir	<sup>60</sup> Co	<sup>192</sup> Ir
Эпителиит влагалища	23 (92) <sup>б</sup>	2 (25) <sup>б</sup>	2 (8,0)	—	—	—
Циститы	14 (56) <sup>б</sup>	1 (12,5) <sup>б</sup>	—	—	—	—
Ректиты	4 (16) <sup>б</sup>	—	—	—	—	—

<sup>a</sup> В скобках указаны проценты.

<sup>б</sup> Частота развития лучевых повреждений достоверно выше при лечении <sup>60</sup>Co «simple afterloading» по сравнению с лечением <sup>192</sup>Ir «remote afterloading» (p < 0,05).

стита — в 12,5%. Осложнений не было у 62,5% больных (табл. 1).

Таким образом, наиболее выраженные ранние лучевые повреждения отмечены в группе больных, у которых контактное облучение проведено по методике «simple afterloading» (<sup>60</sup>Co), в отличие от детей, получавших лечение по методике «remote afterloading» (<sup>192</sup>Ir), у которых данные виды осложнений практически отсутствуют.

Все поздние повреждения возникли при использовании ВПЛТ по методике «simple afterloading» (<sup>60</sup>Co) в период начала ее применения с 1982 г.

Поздние лучевые повреждения отмечены в виде стриктур влагалища у 48,3% детей. Стриктуры уретры отмечались у 21,4% и стриктура кишки у 7,1% девочек. При локализации опухоли в нижней трети влагалища развились стриктуры данной области у 57,1%, у остальных 43,0% детей со стриктурой влагалища опухоль за-

нимала totally все влагалище. Из 14 (48,3%) больных детей после ВПЛТ по методике «simple afterloading» 6 потребовались реконструктивно-пластические операции: у 3 детей с заращениями влагалища проводили рассечения рубцовых сужений нижней трети влагалища для оттока менструальной крови, у 2 пластика влагалища и уретры, у одной — кишки.

Свищи возникли в 3 (10,3%) случаях. На фоне воспалительных изменений и без противовоспалительной терапии по месту жительства больным проводили бужирование уретры, осложнившееся формированием в 2 случаях уретровагинального, в одном случае сочетанием влагалищно-прямокишечного и пузырно-влагалищного свищей (табл. 2).

Таким образом, из 14 девочек с развившимися осложнениями в виде стриктур влагалища только у одной возникла стриктура нижней трети влагалища после лечения

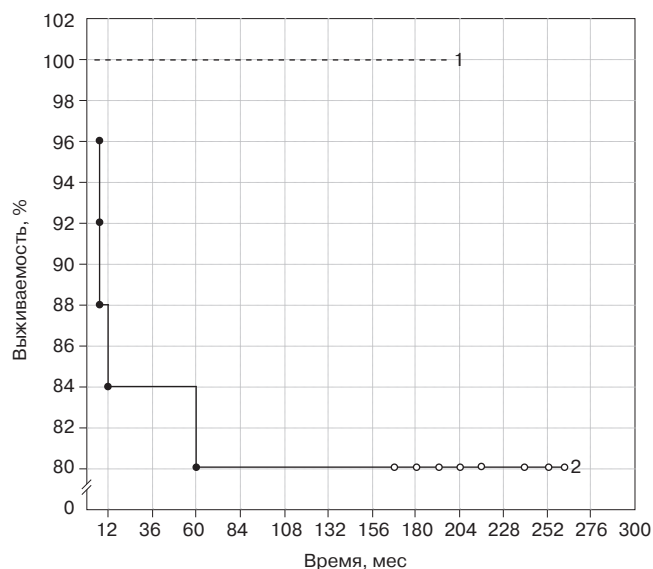


Рисунок 4. Выживаемость в зависимости от используемых радиоизотопов и методик ВПЛТ (n = 29) (p > 0,05). Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — <sup>192</sup>Ir; 2 — <sup>60</sup>Co.

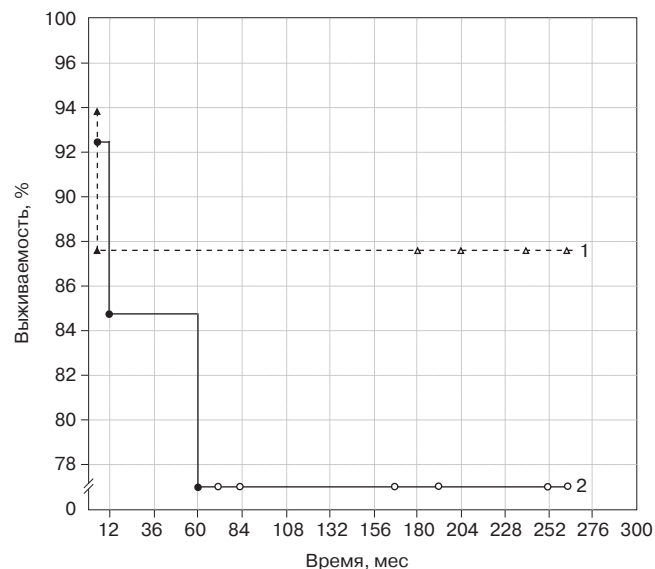


Рисунок 5. Выживаемость больных детей в зависимости от СОД двух методик ВПЛТ (p = 0,28464). Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — до 50 иГр; 2 — 50—60 иГр.

Таблица 2

## Поздние лучевые повреждения после ВПЛТ

Поздние лучевые реакции	Число больных	
	абс.	%
Стриктура влагалища	14 <sup>a</sup>	48,3
Стриктура уретры	3	10,3
Стриктура кишки	1	3,5
Заращения влагалища	6	20,7

<sup>a</sup> Отмечалась в одном случае при применении методики «remote afterloading».

по методике «remote afterloading» (<sup>192</sup>Ir). Остальным 13 девочкам со стриктурами влагалища проводили лечение по методике «simple afterloading» (<sup>60</sup>Co), в том числе уретры — у 3, кишки — у одной, заращения влагалища — у 6.

При наблюдении наших пациенток в подростковом периоде у всех отмечено формирование женского фенотипа. Вторичные половые признаки у детей этой группы развивались правильно и в соответствии со сроками полового развития. Развитие вторичных половых признаков (молочные железы, подмышечное и лобковое оволосение), а также скачок роста наблюдались у всех детей соответственно возрасту. У девочек, получавших лечение с использованием контактного облучения, менархе соответствовало возрастным промежуткам у здоровых детей. Только у одной девочки с женским фенотипом и правильным развитием вторичных половых признаков после реконструктивно-пластических операций по поводу заращения влагалища и стриктуры уретры отсутствовала менструация. У одного ребенка менструация отмечена даже на 8 мес раньше, чем у ее сестры однойцевой близнеца.

В подростковом возрасте из-за стенозов влагалища возникли осложнения в виде гематометры у 3 пациенток, которым было проведено рассечение рубцов. В нашем наблюдении отмечено наступление беременности у женщины, в детстве перенесшей РМС влагалища. Беременность протекала без осложнений, родился здоровый ребенок путем кесарева сечения. Рождение ребенка женщиной, которой проведено лечение по поводу РМС влагалища в детстве, подтверждает, что детородная функция у больных этой категории сохранена.

## ВЫВОДЫ

Разработан и внедрен метод ВПЛТ в схемы комплексного лечения РМС влагалища и шейки матки у детей. Изготовлены индивидуальные детские аппликаторы, позволяющие провести контактное облучение. Лечение проведено у 75,8% детей с РМС влагалища и у 24,2% с поражением шейки матки. Оптимальная разовая доза за фракцию составляет 5 Гр в режиме 2—3 раза в неделю до СОД 50 иГр. При сравнении двух методик констатированы преимущества методики «remote afterloading» (<sup>192</sup>Ir):

сокращение общей продолжительности облучения до нескольких минут, отсутствие необходимости длительной седации и иммобилизации ребенка, снижение частоты развития лучевых повреждений. Применение методики «remote afterloading» (<sup>192</sup>Ir) по сравнению с методикой «simple afterloading» (<sup>60</sup>Co) позволило снизить частоту развития ранних лучевых повреждений: эпителиита влагалища со 100 до 25%, цистита с 56 до 12,5%.

Поздние лучевые повреждения отмечены в основном при использовании ВПЛТ по методике «simple afterloading» (<sup>60</sup>Co) в виде стриктуры влагалища в 48,3%, стриктуры уретры — в 21,4%, стриктуры кишки — в 7,1% случаев. Общая и безрецидивная 5- и 10-летняя выживаемость детей, получивших полный объем комплексного лечения с включением метода ВПЛТ, составила 82,75%: при стадии T1a—1b — 94,1%, при стадии T2a — 85,71%, при стадии T2b — 40%. У детей с локализацией опухоли во влагалище 5- и 10-летняя выживаемость составляет 85,70%, при опухоли шейки матки — 75%. В группе больных, которым проведено лечение <sup>60</sup>Co по методике «simple afterloading», 5- и 10-летняя выживаемость составляет 80%, по сравнению с группой больных, лечившихся <sup>192</sup>Ir по методике «remote afterloading», у которых данный показатель составил 100%. Выживаемость при получении СОД от 40 до 49 иГр в течение 5 лет составила 76,55%, в течение 10 лет и более — 76,55%. При использовании СОД от 50 до 60 иГр выживаемость в течение 5—10 лет составила 87,5%. Рецидивы отмечены в 10,3% случаев.

Отсутствие признаков лучевой кастрации, правильное развитие вторичных половых признаков, возможность сохранения детородной функции и полученные результаты лечения позволяют рекомендовать данный метод ЛТ к широкому использованию в специализированных учреждениях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лучевая терапия в детской онкологии. Пер. с англ. / Гальперин Э. К., Констайн Л. С., Тарбел Н. Дж., Канн Л. Е. — М.: Медицина, 1999. — 748 с.
2. Шароев Т. А. Рабдомиосаркома // Клинические лекции по детской онкологии / Под ред. акад. РАМН Л. А. Дурнова — М.: МИА, 2004. — С. 185—226.
3. Magne N., Haie-Meder C. Brachytherapy for genital-tract rhabdomyosarcomas in girls: technical aspects, reports, and perspectives // *Lancet Oncol.* — 2007. — Vol. 8, N 8. — P. 725—729.
4. Hayes-Jordan A., Andrassy R. Rhabdomyosarcoma in children // *Curr. Opin. Pediatr.* — 2009. — Vol. 21, N 3. — P. 373—378.
5. Мышанова Н. М. Лучевая терапия в комплексном лечении рабдомиосарком у детей: Дис... канд. мед. наук. — М, 1986. — 175 с.
6. Шароев Т. А. Рабдомиосаркома у детей (клиника, диагностика, лечение): Дис... д-ра мед. наук. — М., 2000. — 236 с.
7. Ланцковский Ф. Рабдомиосаркомы и другие саркомы мягких тканей // Ланцковский Ф. Детская онкология и гематология. Пер. с англ. — М.: Лори, 2005. — С. 518—544.
8. Karakas Z., Agaoglu L., Biner B. Results of rhabdomyosarcoma treatment in a developing country // *Acta. Med. Okayama.* — 2000. — Vol. 54, N 4. — P. 173—177.
9. Нечушкина И. В. Опухоли половых органов // Руководство по детской онкологии / Под ред. Л. А. Дурнова, Т. А. Шароева. — М.: Миклош, 2003. — С. 448—462.
10. Embryonal rhabdomyosarcoma of the uterine cervix / Koukourakis G. V., Kouloulis V., Zacharias G., Maravelis G., Papadimitriou C., Platoni K., Gouliamos A. // *Clin. Transl. Oncol.* — 2009. — Vol. 11, N 6. — P. 399—402.
11. Sarcoma botryoides of the female genital tract / Copeland L. J., Gershenson D. M., Saul P. B., Sneige N., Stringer C. A., Edwards C. L. //

Obstet. Gynecol. — 1985. — Vol. 66, N 2. — P. 262—266.

12. Sarcoma botryoides of the uterine cervix in a young woman / Atlante M., Dionisi B., Cioni M., Di Ruzza D., Sedati P., Mariani L. // Eur. J. Gynaecol. Oncol. — 2000. — Vol. 21, N 5. — P. 504—506.

13. Ghaemmaghami F., Karimi Zarchi M., Ghasemi M. Lower genital tract rhabdomyosarcoma: case series and literature review // Arch. Gynecol. Obstet. — 2008. — Vol. 278, N 1. — P. 65—69.

14. Rhabdomyosarcoma in Karachi 1998—2002 / Bhurgri Y., Bhurgri A., Puri R., Ashraf S., Qidwai A., Ashraf K., Ahmed N., Mazhar A., Bhurgri H., Usman A., Faridi N., Malik J., Ahmed R., Muzaffar S., Kayani N., Pervez S., Hasan S. H. // Asian. Pac. J. Cancer. Prev. — 2004. — Vol. 5, N 3. — P. 284—290.

15. Bergeron C., Ranchere-Vince D., Berard-Marec P. Update on rhabdomyosarcoma in children // Bull. Cancer. — 2002. — Vol. 89, N 1. — P. 108—112.

16. Роль лучевой терапии в комплексном лечении рабдомиосаркомы влагалища и шейки матки у девочек / Нечушкина И. В.,

Нечушкин М. И., Харитоновна Т. В., Батурич Н. А. // V Всерос. съезд онкологов, г. Казань, 4—7 октября 2000 г. — Т. 3. — С. 233—234.

17. Кравец О. А., Марьина Л. А., Нечушкин М. И. Результаты лучевой терапии рака шейки матки // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — Т. 21, № 1. — 2010. — С. 58—64.

18. Рак шейки и тела матки. Лучевая терапия с использованием  $^{252}\text{Cf}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{137}\text{Cs}$  / Марьина Л. И., Чехонадский В. Н., Нечушкин М. И., Киселева М. В. — М.: Вентана-Граф, 2004. — 430 с.

19. Inverse planning approach for 3D MRI based pulse-dose rate intracavitary brachytherapy in cervix cancer / Chajon E., Dumas I., Touleimat M., Magné N., Coulot J., Verstraet R., Lefkopoulos D., Haie-Meder C. // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. — 2007. — Vol. 69. — N 3. — P. 955—961.

20. Гранов А. М., Винокуров В. Л. Лучевая терапия в онкогинекологии и онкоурологии. — СПб: Фолиант, 2002. — 352 с.

Поступила 15.03.2011

*Yulia Vladimirovna Synyagina<sup>1</sup>, Innesa Viktorovna Nechushkina<sup>2</sup>,  
Lia Anatolievna Maryina<sup>3</sup>, Mikhail Ivanovich Nechushkin<sup>4</sup>*

## OUTCOMES OF INTRACAVITARY RADIOTHERAPY IN MULTIMODALITY TREATMENT OF CHILDREN WITH VAGINAL OR CERVICAL RHABDOMYOSARCOMA

<sup>1</sup> Physician, Outpatient Diagnosis and Treatment Department, Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>2</sup> MD, PhD, DSc, Scientific Secretary, Leading Researcher, General Oncology Department, Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>3</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Physician, Radiosurgery Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

<sup>4</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Head, Radiosurgery Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

Address for correspondence: Synyagina Yulia Vladimirovna, Outpatient Diagnosis and Treatment Department, Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478; e-mail: doctor\_o@progtech.ru

The purpose of this study was to improve treatment efficacy and to reduce recurrence via introduction of intracavitary radiotherapy into multimodality treatment programs for children with vaginal or cervical rhabdomyosarcoma. Multimodality treatment including intracavitary radiotherapy was given to 33 girls with vaginal or cervical rhabdomyosarcoma aged 1 to 15 years. The intracavitary irradiation was carried out by a simple afterloading approach with  $^{60}\text{Co}$  to 25 and by remote afterloading with  $^{192}\text{Ir}$  using a *Microselectron-HDR* to 8 patients. Clinical assessment of response to intracavitary irradiation with different activity sources and isoeffective by dose fractionation in children with vaginal or cervical rhabdomyosarcoma demonstrated that the use of  $^{192}\text{Ir}$  in the remote afterloading mode was associated with a lower rate (25%) of early radiation morbidity as compared to previously applied  $^{60}\text{Co}$  in the simple afterloading mode (100%) and a lower rate (12.5%) of late radiation complications as compared to previously applied  $^{60}\text{Co}$  in the simple afterloading mode (48.3%). Overall 5-year survival of children with vaginal or cervical rhabdomyosarcoma completing multimodality treatment programs with intracavitary irradiation was 82.75%. Overall and disease-free survival was 94.1% in stage T1a—1b, 85.71% in stage T2a and 40% in stage T2b vaginal or cervical rhabdomyosarcoma. So, it was the first experience of development and application of multimodality treatment regimens including intracavitary irradiation in the treatment of children 1 to 15 years of age that resulted in improvement of treatment efficacy, survival and quality of life of early childhood patients.

**Key words:** rhabdomyosarcoma, vagina and uterine cervix, intracavitary radiotherapy, children.

## ЮБИЛЕИ

### ПРОФЕССОР М. И. НЕЧУШКИН

(к 60-летию со дня рождения)

8 июня 2011 г. исполнилось 60 лет профессору Михаилу Ивановичу Нечушкину. Михаил Иванович родился в поселке Надежда Сусуманского района Магаданской области. В 1974 г. он окончил I Московский медицинский институт им. И. М. Сеченова, после этого работал по распределению врачом-хирургом в Загорской ЦРБ.

В 1978 г. М. И. Нечушкин поступил в клиническую ординатуру Онкологического научного центра АМН СССР. С этого времени его профессиональная жизнь прочно связана с этим учреждением, в котором он прошел путь от младшего научного сотрудника до руководителя отделения радиохирургии НИИ клинической онкологии.

В 1986 г. Михаил Иванович защитил кандидатскую диссертацию «Внутриканевая лучевая терапия в комбинированном и комплексном лечении рака молочной железы центральной и медиальной локализации», в 1988 г. избран по конкурсу на должность старшего научного сотрудника, а в 1992 г. — на должность заведующего отделением радиохирургии НИИ клинической онкологии. В 2001 г. М. И. Нечушкин защитил докторскую диссертацию «Лечение больных раком молочной железы центральной и медиальной локализации с использованием радиохирургических методик».

Проф. М. И. Нечушкин — активный хирург, новатор, клиницист с большим опытом практической деятельности, один из пионеров разработки и внедрения в отечественную клиническую практику целого ряда уникальных методик контактной лучевой терапии, ставшей неотъемлемым компонентом современной лучевой терапии злокачественных опухолей. Под руководством М. И. Нечушкина в отделении радиохирургии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН разработаны органосохраняющее лечение рака молочной железы с внутритканевым облучением ложа опухоли; контактное облучение парастеральной зоны при раке молочной железы центральной и медиальной локализации посредством катетеризации внутренней грудной артерии; расширенные операции с последующим внутритканевым облучением по поводу рака тела и шейки матки; органосохраняющие операции с последующим внутритканевым облучением по поводу опухолей мягких тканей, языка, полости рта;



внутрипросветное облучение опухолей внепеченочных желчных протоков; внутритканевое облучение по поводу рака пищевода и бронхов; внутритканевое облучение по поводу рака предстательной железы; хирургическое лечение ректовагинальных и ректовезикальных свищей у онкологических больных после комбинированного и комплексного лечения; комбинированные операции на органах малого таза при распространенном раке прямой кишки и шейки матки. Совместно с Институтом детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН

разрабатываются методики радиохирургического лечения рабдомиосаркомы шейки матки и влагалища, а также сарком мягких тканей туловища и конечностей.

В 2000 г. за активную практическую деятельность М. И. Нечушкин удостоен почетного звания «Заслуженный врач Российской Федерации», а в 2004 г. за разработку комплексного лечения рака внепеченочных желчных протоков удостоен Премии Правительства РФ.

Михаил Иванович стоял у истоков создания журнала «Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина», в течение 14 лет был его ответственным секретарем и сейчас продолжает активно работать в редакционной коллегии журнала. Помимо этого М. И. Нечушкин является членом редколлегии журнала «Опухоли женской репродуктивной системы», а также членом Ученого совета по защите докторских диссертаций РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. Под руководством проф. М. И. Нечушкина защищены 3 докторские и 31 кандидатская диссертации. Он автор более 300 печатных работ и нескольких монографий.

Свой юбилей Михаил Иванович встречает в расцвете творческих сил, полный неиссякаемой энергии и новых планов. Многочисленные друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют его с днем рождения, желают ему крепкого здоровья, счастья и бодрости на долгие годы. Талант и энтузиазм Михаила Ивановича — залог исполнения этих пожеланий.

*Коллектив РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН  
Редакция журнала  
«Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН»  
Коллеги, ученики и друзья*

## 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](http://www.ronc.ru) и [www.elibrary.ru](http://www.elibrary.ru).

Адрес редакции: 115478, РФ, Москва, Каширское шоссе, д. 24,  
редакция журнала «Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН».  
Телефон редакции: +7-495-324-5537. E-mail: [vestnikronc@mail.ru](mailto:vestnikronc@mail.ru)