

ВЕСТНИК

3-4

РОНЦ им. Н. Н. Блохина

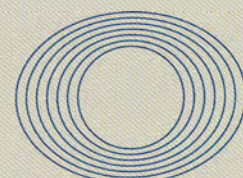
ТОМ 25

2014

JOURNAL

of N. N. BLOKHIN RUSSIAN
CANCER RESEARCH CENTER

Журналу — 25 лет



Федеральное государственное бюджетное учреждение
РОССИЙСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ Н. Н. БЛОХИНА
Российской академии медицинских наук

ВЕСТНИК

РОНЦ им. Н.Н. Блохина

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

Том 25, №3–4 (94)
Июль–декабрь 2014 г.

Учредитель:
Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение «Российский онкологический научный центр
имени Н.Н. Блохина»

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:
М. И. Давыдов, *академик РАН, проф., д. м. н.*

Редакционная коллегия:
В. Ю. Сельчук, *проф., д. м. н.* (зам. главного редактора)
К. А. Барышников, *к. м. н.* (отв. секретарь)
М. Д. Алиев, *академик РАН, проф., д. м. н.*
А. Ю. Барышников, *проф., д. м. н.*
Л. В. Демидов, *проф., д. м. н.*
Б. И. Долгушин, *чл.-корр. РАН, проф., д. м. н.*
Д. Г. Заридзе, *чл.-корр. РАН, проф., д. м. н.*
И. Б. Зборовская, *к. б. н.*
А. И. Карселадзе, *проф., д. м. н.*
Б. П. Копнин, *проф., д. б. н.*
М. А. Красильников, *проф., д. б. н.*
В. В. Кузнецов, *проф., д. м. н.*
В. П. Летягин, *проф., д. м. н.*
В. Б. Матвеев, *проф., д. м. н.*
А. М. Мудунов, *д.м.н.*
Э. Р. Мусаев, *д.м.н.*
М. И. Нечушкин, *проф., д. м. н.*
А. В. Петровский, *к.м.н.*
Б. К. Поддубный, *проф., д. м. н.*
В. Г. Поляков, *академик РАН, проф., д. м. н.*
А. О. Расулов, *проф., д. м. н.*
И. С. Стилиди, *чл.-корр. РАН, проф., д. м. н.*
Н. Н. Тупицын, *проф., д. м. н.*
Е. Г. Турнянская, *к.м.н.*
С. А. Тюляндин, *проф., д. м. н.*
Ю. В. Шишкин, *проф., д. м. н.*

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере
связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
Свидетельство ПИ № ФС77-51914 29.11.2012
Подписной индекс в каталоге агентства «Роспечать» 46782
Цена договорная
Координаторы ИГ РОНЦ: Е.Г. Турнянская, Б.Б. Крюков
Адрес редакции: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24
Тел.: +7-499-324-5537. E-mail: vestnikronc@mail.ru
Подписано в печать 22.12.2014. Формат 60 × 90/8. Усл. печ. л. 9.
Тираж 1000 экз.
Печат и постпечатный Печатный центр "Удача"
115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23
© ФГБНУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина», 2014
При перепечатке материалов ссылка на
«Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина» обязательна

JOURNAL

of N.N. Blokhin RCRC

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

Volume 25, N 3–4 (94)
July–December 2014

Founder:
Federal State Budgetary Scientific Institution
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center

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

Editorial Board:
V. Y. Selchuk, *MD, PhD, DSc, Professor* (Deputy Editor-in-Chief)
K. A. Baryshnikov, *MD, PhD* (Executive Editor)
M. D. Aliev, *MD, PhD, DSc, Academician of RAS, Professor*
A. Y. Baryshnikov, *MD, PhD, DSc, Professor*
L. V. Demidov, *MD, PhD, DSc, Professor*
B. I. Dolgushin, *MD, PhD, DSc, Associate Member of RAS, Professor*
A. I. Karseladze, *MD, PhD, DSc, Professor*
B. P. Kopnin, *MD, PhD, DSc, Professor*
M.A. Krasilnikov, *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*
A. M. Mudunov, *MD, PhD, DSc,*
E.R. Musaev, *MD, PhD, DSc,*
M. I. Nechushkin, *MD, PhD, DSc, Professor*
A. V. Petrovskiy, *MD, PhD*
B. K. Poddubniy, *MD, PhD, DSc, Professor*
V. G. Polyakov, *MD, PhD, DSc, Academician RAS, Professor*
A. O. Rasulov, *MD, PhD, DSc, Professor*
I. S. Stilidi, *MD, PhD, DSc, Associate Member of RAS, Professor*
Y. V. Shishkin, *MD, PhD, DSc, Professor*
S. A. Tjulandin, *MD, PhD, DSc, Professor*
N. N. Tupitsyn, *MD, PhD, DSc, Professor*
E. G. Turnyanskaya, *MD, PhD*
D. G. Zaridze, *MD, PhD, DSc, Associate Member of RAS, 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 ФС77-51914 29.11.2012
Subscription index in catalogue of Rospechat Agency 46782
Price as per contract
Coordinators: E.G. Turnyanskaya, B.B. Krukov
Address of the Editorial Office: 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478.
Tel.: +7-499-324-5537. E-mail: vestnikronc@mail.ru
Permitted for print 22.12.2014. Format 60 × 90/8. Bulk 9 printed sheets.
Circulation 1000 copies.
Print and postprint Polygraphcenter "Luck"
115478 RF, Moscow, Kashirskoye sh. 23,
© N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, 2014
No reproduction is permitted without reference to the Journal of N. N. Blokhin
Russian Cancer Research Center

СОДЕРЖАНИЕ

Обращение главного редактора.....	4
-----------------------------------	---

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

<i>М.И. Давыдов, Д.Г. Заридзе</i> СКРИНИНГ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ	5
<i>Ю.С. Мардынский, А.Г. Коноплянников</i> СОВРЕМЕННЫЕ ЗАДАЧИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ	17
<i>А.Г. Бадалян, М.А. Кропотов</i> ОБЪЕМ ОПУХОЛИ КАК ФАКТОР ПРОГНОЗА ПРИ ХИМИО- И ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ РОТО- И ГОРТАНОГЛОТКИ	21
<i>В.Е. Шевченко, Н.Е. Арноцкая, Н.Е. Левченко, К.П. Лактионов</i> СОВРЕМЕННЫЕ ПРОТЕОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИДЕНТИФИКАЦИИ НОВЫХ БИОМАРКЕРОВ РАКА ЭНДОМЕТРИЯ	27
<i>Д.А. Кориунов, З.В. Петрова, И.В. Кондакова</i> ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ МИШЕНИ В ГЛИКОЛИТИЧЕСКОМ МЕТАБОЛИЗМЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ	35

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Ю.А. Борцкова, Г.Б. Смирнова, Н.В. Андропова, Н.Т. Райхлин, Е.М. Трещалина, З.С. Шпрах</i> НОВЫЙ ФИТОАНТИЭСТРОГЕН СЕКОИЗОЛАРИЦИРЕЗИНОЛ	43
1. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ НА ОПУХОЛЕВЫХ МОДЕЛЯХ IN VIVO	47
2. РАЗРАБОТКА ПЕРОРАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПОД КОНТРОЛЕМ ЭФФЕКТИВНОСТИ	51
<i>И.В. Уласов, Н.В. Каверина, А.Ю. Барышников, З.Г. Кадагидзе</i> ПОДАВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК АДЕНОВИРУСНЫМИ ВЕКТОРАМИ	55
<i>А.И. Черткова, Е.Г. Славина, И.П. Ганьшина, А.А. Борунова, В.А. Нуртдинова, Э.К. Шоуа, З.Г. Кадагидзе</i> ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РМЖ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ HER-2 В ПРОЦЕССЕ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ТРАСТУЗУМАБОМ И ЛАПАТИНИБОМ	59
<i>Е.Л. Пименова</i> ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ В СООТВЕТСТВИИ С ГИСТОЛОГИЧЕСКИМ ВАРИАНТОМ И СТЕПЕНЬЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ОПУХОЛИ	65

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Е.Л. Чойнзонов, Л.Ф. Писарева, Л.Д. Жуйкова, И.Н. Одинцова, О.А. Ананина</i> ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ НА ТЕРРИТОРИИ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ (2004–2013 гг.)	67
--	----

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

П.А. Зейналова, Е.Н. Шолохова, Е.А. Османов, Н.Н. Тупицын

CD20 НАЯ ДИФфуЗНАЯ В-КРУПНОКЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА

1. ВЕРИФИКАЦИЯ И ДЕТАЛИЗАЦИЯ ДИАГНОЗА.....71
2. ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕДКИХ ВАРИАНТОВ ДВКЛ.....74
3. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КЛЕТОК ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ.....81

А.Г. Абдуллаев, Б.Е. Полоцкий, М.И. Давыдов

КОМБИНИРОВАННЫЕ ОПЕРАЦИИ В СОЧЕТАНИИ

С ВНУТРИПОЛОСТНОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ

В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПСЕВДОМИКСОМой И МЕЗОТЕЛИОМой БРЮШИНЫ:

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ.....87

М.И. Волкова, В.Б. Матвеев, М.М. Давыдов, А.В. Климов, В.А. Черняев, С.А. Калинин, М.В. Петерс

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ПОЧКИ

БЕЗ ОПУХОЛЕВОЙ ВЕНОЗНОЙ ИНВАЗИИ И ОТДАЛЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ.....91

Р.В. Гаряев, О.С. Костяк

ЧАСТОТА ТРОМБОЗА ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

ПРИ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО ИЛИ КОЛЕННОГО СУСТАВА

ИЛИ ПРИ ТОТАЛЬНОМ ПРОТЕЗИРОВАНИИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ.....99

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

О.Н. Стрельцова, Л.А. Мецержакова, Е.В. Тарачкова, В.О. Панов, И.Е. Тюрин

МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ

В ДИАГНОСТИКЕ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОЙ ОПУХОЛИ ПЛАЦЕНТАРНОГО ЛОЖА.....107

Ю.В. Чикинцев, О.Ю. Аникеева, Е.А. Дробязгин, К.С. Тевс, А.С. Кудрявцев, О.А. Пашиковская

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТКИ С ПЕРВИЧНЫМ РАКОМ ТРАХЕИ.....111

А.Б. Лукьянченко, Н.А. Фалалеева, К.А. Романова

ПЕРВИЧНАЯ НЕХОДЖКИНСКАЯ ЛИМФОМА ПЕЧЕНИ.....115

Правила публикации статей.....20; 64; 86

Содержание журнала за 2014 г.....98

Ю.С. Сидоренко (к 75-летию со дня рождения).....114

Дорогие друзья!

Близится к концу 2014 год. Не за горами приятные предпраздничные хлопоты, подарки, поздравления и новогодние каникулы. Позвольте от души присоединиться. С новым 2015 годом!

Оглядываясь на уходящий год, принято подводить его итоги - что сделано, чего удалось достичь, что еще только предстоит сделать. Как и в предыдущие годы, каждый день мы делали все для борьбы со смертельно опасным недугом: изучали болезни, писали научные труды, осваивали новые технологии – и, конечно, лечили своих пациентов. Но кроме привычной, рутинной работы были в уходящем году и яркие, незабываемые события. Особо хочу отметить в этой связи успех VIII Съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии, который прошел в Казани в сентябре этого года при непосредственном участии нашего центра. Научное мероприятие собрало в Татарстане свыше 2500 специалистов из 23 стран мира; на нем прозвучало порядка 500 докладов, были обсуждены ключевые проблемы и достижения онкологии, проведен конкурс молодых ученых, совещание директоров крупнейших онкологических учреждений стран СНГ и многое другое. Пользуясь случаем, хотел бы поблагодарить всех, кто принимал участие в подготовке и проведении съезда.

Впрочем, жизнь врача-онколога – не только съезды, научные конференции и изучение новых передовых практик лечения. Это прежде всего ежедневная борьба за жизни пациентов. И здесь у нас пока остаются те же беды, что и в прошлом, и в позапрошлом году. Главный бич – поздняя выявляемость онкозаболеваний, из-за которой мы в основном занимаемся продлением, а не спасением жизни пациентов. В России из 100 000 населения раком болеют 274 человека, а в США – 400. При этом показатель летальности на первом году после установления диагноза у нас 26%, а в США – всего 18,5%. Перспективные виды лучевой терапии (протоны, тяжелые ионы и другие) у нас по-прежнему недоступны. Современных лекарств не хватает – и даже не потому, что нет денег, а из-за позднего их поступления на рынок и длительной регистрации. В комбинированном и комплексном лечении нуждаются не менее 70% больных, но получают его только 32%. Несмотря на все эти сложности, мы движемся вперед, преодолеваем бюрократию, добиваемся финансирования – и лечим людей. Результаты работы каждый год доказывают, что главный актив российской онкологии – люди, врачи, ученые, молодые специалисты, без которых рак не победит даже самое современное оборудование. Я хотел бы поблагодарить всех сотрудников РОНЦ им. Н.Н. Блохина, всех онкологов России и СНГ за самоотдачу, с которой вы трудитесь. Еще многое предстоит сделать, и останавливаться на достигнутом нельзя – ведь от нашей работы зависят жизни многих людей.



С наступающим вас Новым годом!

Директор ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина",
академик РАН

М.И. Давыдов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 616–006.6–7

© Давыдов М. И., Заридзе Д. Г., 2014

Михаил Иванович Давыдов¹, Давид Георгиевич Заридзе²**СКРИНИНГ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ**¹академик РАН, д.м.н., профессор, директор, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», главный внештатный онколог Министерства здравоохранения РФ (115478 Москва, Каширское шоссе, д. 24²д.м.н., профессор, зам. директора, заведующий, отдел эпидемиологии и профилактики ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»**Адрес для переписки:** РФ, 115448 Москва, Каширское шоссе, д. 24, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Заридзе Давид Георгиевич;**e-mail:** dgzaridze@crc.umos.ru

Цели скрининга в онкологии – раннее выявление бессимптомного рака и его лечение. Скрининг должен приводить к снижению смертности от той формы рака, для выявления которой он проводится. Оценивать эффективность скрининга на основании улучшения выживаемости нельзя. В результате рандомизированных исследований эффективными признаны скрининг рака шейки матки (цитологическое исследование и тестирование на ВПЧ), маммографический скрининг рака молочной железы, скрининг рака толстой кишки (копрологический тест на скрытую кровь и сигмоидоскопия), скрининг рака легкого (низкодозовая спиральная КТ, СКТ). Рентгенография (флюорография) грудной клетки и тестирование на простатоспецифический антиген не являются эффективными методами скрининга рака легкого и рака предстательной железы. Скрининг рекомендуется проводить в специализированных центрах, в которых работает высококвалифицированный персонал. На всех этапах скрининговой программы врачи, медицинский и технический персонал должны строго следовать разработанному регламенту (инструкции, методические рекомендации). Необходимо информировать участников скрининга о положительных и возможных отрицательных сторонах (осложнениях), которые могут возникнуть в результате уточняющей диагностики и лечения.

Ключевые слова: скрининг, рак молочной железы, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак предстательной железы, рак легкого.

Цели скрининга в онкологии – раннее активное выявление бессимптомного рака и его лечение. Необходимо четко отличать скрининг от ранней диагностики, т. е. выявления заболевания у пациентов, которые сами обратились за медицинской помощью и чаще всего имеют те или иные жалобы и симптомы. Скрининг не всегда эффективен. Это противоречит укоренившему среди врачей мнению, что любой скрининг должен дать положительный результат [1].

Для оценки эффективности скрининга необходимо проведение контролируемых исследований, желательно с рандомизацией. Об эффективности того или иного метода скрининга можно предварительно судить на основании результатов эмпирических исследований, а именно проспективных (когортных) и ретроспективных (методом случай–контроль). Снижение смертности от рака в регионе, в котором проводился скрининг, по сравнению с регионами, в которых скрининг не проводился, также может служить подтверждением эффективности скринингового теста. Однако для этого требуются длительное наблюдение за популяцией. Кроме того, необходимо исключить другие возможные причины снижения смертности.

Известно, что эффективность цитологического скрининга РШМ ретроспективно подтверждена на основании сравнения смертности от рака этого органа в Финляндии, где проводился массовый цитологический скрининг среди всего женского населения, и Норвегии, где организованной программы скрининга РШМ не было [2].

Скрининг должен привести к снижению смертности от той формы рака, для преклинического выявления которой он проводится. Промежуточными признаками эффективности метода являются

увеличение частоты выявления ранних форм и снижение частоты распространенных форм рака, а также повышение выживаемости. Оценивать эффективность скрининга только на основании повышения выживаемости нельзя. Выживаемость всегда выше у тех лиц, которым диагноз поставлен в результате скрининга, а не вследствие обращения к врачу из-за появления симптомов заболевания. Во-первых, продолжительность жизни пациента растет за счет увеличения периода между выявлением заболевания и смертью. Причем это увеличение происходит не в результате истинного удлинения жизни больного т. е. переноса летального исхода на несколько лет вперед, а в результате того, что скрининговый тест отодвигает точку отсчета выживаемости, т. е. время постановки диагноза, назад. В результате скрининга опухоль выявляется за 2–3 года до ее выявления в связи с появлением симптомов. Во-вторых, в скрининговые программы чаще попадают больные с менее агрессивными формами рака и, соответственно, с лучшей выживаемостью. Больные с быстро прогрессирующими формами рака чаще обращаются непосредственно к врачу в связи с ранним появлением симптомов. И, наконец, скрининг часто приводит к гипердиагностике, т. е. выявлению опухолей, которые в отсутствие скрининга никогда не проявляются клинически и, соответственно, такие пациенты имеют прекрасную выживаемость. Таким образом, повышение выживаемости может быть результатом систематических ошибок¹, связанных с перечисленными биологическими и клиническими особенностями злокачественных опухолей [1].

¹В англоязычной литературе эти систематические ошибки принято называть *lead time bias / length bias*.

Для планирования скрининговых программ необходимо учитывать следующие критерии целесообразности его проведения.

1. Планируемая для скрининга форма рака должна быть важной проблемой здравоохранения для страны или региона, в которой проводится скрининг, т. е. заболеваемость и смертность от нее должны быть высокими. Скрининг редких опухолей проводить не рекомендуется. Например, для России по этому критерию целесообразно проводить скрининг РЛ, РМЖ, рака желудка, толстой кишки, РШМ, РПЖ. В то же время целесообразность скрининга рака щитовидной железы сомнительна, так как заболеваемость и смертность от рака этого органа относительно низкая.
2. Скрининг должен быть направлен на выявление образований, которые в отсутствие скрининга прогрессируют и дают метастазы и, соответственно, могут привести к смерти. Нецелесообразно проводить скрининг тех форм рака, которые, несмотря на активное выявление на доклинических стадиях и соответствующее лечение, прогрессируют, метастазируют и приводят к смерти больного. В то же время скрининг, направленный на выявление образований, которые в отсутствие скрининга никогда себя не проявляют и, соответственно, не могут быть причиной заболевания и смерти, являются лишней тратой времени и ресурсов, и, что самое главное, зачастую наносит вред здоровью человека.
3. Скрининговый тест должен иметь высокие чувствительность и специфичность. Чувствительность теста – это вероятность того, что у больного с искомой формой рака применяемый для скрининга тест будет положительным. Специфичность определяет вероятность того, что у лиц, не имеющих рака, тест будет отрицательным. Эффективность скрининга также зависит от того, насколько правильно используемый тест прогнозирует наличие или отсутствие искомого рака, что принято называть ПСТ. Эта способность указывает на вероятность того, что у человека с положительным тестом есть искомый рак. Положительная ПСТ должна с высокой вероятностью прогнозировать, что у человека с положительным тестом есть рак.
4. Чувствительность теста определяется процентом положительных результатов среди всех случаев рака с подтвержденным диагнозом. Специфичность теста – процент отрицательных ответов от числа случаев, при которых диагноз рака не был подтвержден. ПСТ рассчитывается как процент рака среди всех тест-положительных людей. При приемлемых показателях чувствительности и специфичности ПСТ выше для тех форм рака, при которых заболеваемость и смертность в популяции высоки. Чем ниже заболеваемость и смертность, тем ниже ПСТ, а значит – и эффективность скрининга.

5. Метод лечения выявленных при скрининге доклинических образований должен быть обоснован соответствующими клиническими исследованиями и общепризнан. Опыт показал, что тактика лечения выявленных при скрининге образований иногда чрезмерно радикальна и зачастую наносит ущерб здоровью человека.

Маммографический скрининг РМЖ

В литературе опубликованы результаты 8 популяционных РКИ по оценке эффективности маммографического скрининга РМЖ с длительностью наблюдения от 10 до 18 лет. Исследования проведены в США, Англии, Шотландии, Канаде, Швеции и Финляндии [2; 3].

В общей сложности во всех программах участвовали более 600 000 женщин, 50 % из которых ежегодно или 1 раз в 2 года проводилась маммография в двух проекциях, а в некоторых исследованиях и пальпация молочной железы.

На основании анализа РКИ можно сделать вывод, что маммографический скрининговое обследование женщин в возрасте 50–69 лет снижает смертность от РМЖ в группе скрининга по сравнению с контрольной группой на 25% (относительный риск, ОР = 0,75 при 95 %-ном ДИ 0,67÷0,85).

Снижение смертности на 19 % от РМЖ в результате маммографического скринингового обследования женщин в возрасте 40–49 лет происходит только через 10–12 лет после начала скрининговой программы, т. е. у женщин, которые достигают возраста 50 лет (ОР = 0,81 при 95 %-ном ДИ 0,65÷1,01). Чувствительность и специфичность маммографии увеличиваются с возрастом.

Эти показатели выше у женщин в возрасте 50–59 лет (84 и 91 %) и 60–69 лет (85 и 92 %), чем у женщин в возрасте 40–49 лет (77 и 89 %).

У женщин, которым маммография проводилась ежегодно, смертность от РМЖ была на 5 и 11 % ниже, чем в группе женщин, которым маммография проводилась 1 раз в 2 и 1 раз в 3 года соответственно. Математическое моделирование этих данных показало, что уменьшение интервала между маммографиями на 1 год приводит лишь к небольшому (5 %) снижению смертности [4].

Мета-анализ 7 РКИ, включавших данные о 500 000 женщин, которые получили приглашение принять участие в маммографическом скрининге РМЖ, показал снижение смертности на 25 % приглашенных на маммографию женщин. Среди женщин, которые фактически приняли участие в скрининге, смертность снизилась на 30–35 % [2].

Во всех цитируемых работах для скрининга использовались маммографы с аналоговым изображением. Однако последующие исследования с использованием цифровых маммографов подтвердили предыдущие результаты [3].

В популяциях, в которых проводится массовый маммографический скрининг, растет заболеваемость неинвазивной формой внутрипротокового рака *in situ* и за счет этого – общая заболеваемость РМЖ. До распространения маммографического скрининга в начале 1980-х гг. внутрипротоковый рак *in situ* встречался крайне редко и составлял не более 2 % всех случаев РМЖ [2].

В настоящее время около 20 % случаев РМЖ диагностируются на преинвазивной стадии [5]. Недавно появились данные, указывающие на то, что применение МРТ еще более увеличивает частоту выявления внутрипротокового рака *in situ* [6].

Сравнение динамики заболеваемости и смертности от РМЖ в группе, в которой проводился маммографический скрининг, с контрольной (маммографический скрининг не проводился), показало снижение смертности от РМЖ на 20 %, что в абсолютных цифрах соответствует 40 случаям предотвращенной смерти от РМЖ. В то же время в группе скрининга отмечено превышение заболеваемости на 19 %, что в абсолютных цифрах соответствует 129 случаям гипердиагностики РМЖ. Абсолютные цифры рассчитаны для 10 000 женщин, в возрасте 50–69 лет, которые участвовали в маммографическом скрининге в течение 20 лет [7].

По данным разных авторов, доля гипердиагностики, т. е. случаев, когда гистологически подтвержденный РМЖ оказывается клинически незначимым, значительно варьирует и зависит от длительности наблюдения за участниками скрининга. В исследованиях, в которых популяция женщин наблюдалась менее 10 лет, частота гипердиагностики составила 20–30 %. В то же время в результате длительного наблюдения число случаев гипердиагностики сокращается до 10% и менее. R. Smith et al. [8] объясняют этот феномен тем, что в группе скрининга маммография выявляет как клинически значимые, так и латентные, клинически незначимые опухоли. Последние, по мнению некоторых исследователей, в отсутствие скрининга никогда не проявились бы клинически или, по мнению других, проявились бы через годы, а то и через десятки лет, в зависимости от длины периода латентности РМЖ. В то же время заболеваемость РМЖ в контрольной группе определяют исключительно клинически проявляющиеся опухоли. За счет этого заболеваемость в группе скрининга (латентные + клинически проявляющиеся) выше, чем в контрольной. Однако со временем заболеваемость в контрольной группе постепенно догоняет заболеваемость в группе скрининга. В ней по-прежнему продолжают выявлять опухоли на основании клинических проявлений, включая те, которые были бы обнаружены раньше, если бы в этой группе проводился скрининг. В опытной же группе в результате скрининга образовался "дефицит" РМЖ, так как часть из них выявлена на латентной стадии. Из анализа следует, что со временем (возможно, через 10–20 лет) эти латентные опухоли или, по крайней мере, некоторые из них, начнут прогрессировать.

Несмотря на то, что приведенный анализ, казалось бы, снимает проблему «гипердиагностики» РМЖ, возникают новые проблемы как медицинско-го, так и этического характера.

Является ли обнаружение и лечение РМЖ на латентной стадии благом для женщины, даже если учесть, что через определенный промежуток времени, который может исчисляться годами, а иногда и десятками лет, этот рак начнет прогрессировать? На данном этапе наших знаний простой ответ на этот вопрос дать невозможно.

Однако очевидно, что гипердиагностика часто приводит к ненужным, иногда чрезмерным вмешательствам. Кроме того, она является источником неоправданно позитивной статистики 5-летней выживаемости больных РМЖ, выявленных на скрининге у значительной части которых, фактически, не было злокачественной опухоли.

К сожалению, в настоящее время в нашем арсенале нет методов, позволяющих прогнозировать клиническое течение, так называемых клинически незначимых раков. Однако об этой проблеме должны знать врачи, которые участвуют в скри-

нинге, последующем обследовании и лечении больных, у которых выявлен рак.

Качество маммографии зависит от технического состояния оборудования и от подготовки специалистов – медицинских физиков, рентгено-техников, рентгенологов. Контроль качества маммографии посвящены многие руководства [3], и этот предмет требует отдельного детального обсуждения. Однако необходимо подчеркнуть, что качество изображения не должно достигаться за счет увеличения дозы облучения. Поглощенная доза для молочной железы при одном исследовании в одной проекции должна составлять 2,0 МГр или, по крайней мере, не превышать 2,5 МГр. Чувствительность к канцерогенному эффекту облучения выше у женщин моложе 50 лет.

Поэтому интервалы между маммографиями у молодых женщин должны быть максимальными, т. е. не менее 3 лет. Необходимо подчеркнуть, что хорошее, или как минимум, приемлемое техническое состояние маммографов может быть достигнуто только в результате постоянного, а по некоторым параметрам – ежедневного – контроля оборудования службой медицинской физики [3].

Маммография должна проводиться в 2 проекциях: краниокаудальной и медиолатеральной. Квалификация рентгенолога, проводящего исследование, является ключевым фактором для эффективности скрининга. Исследования показали, что результаты оценки маммограмм варьируют даже среди опытных рентгенологов. Квалификация рентгенолога должна подтверждаться на основании соответствия его рентгенологических заключений данным последующего обследования, включая цитологическое и гистологическое исследования.

Маммографический скрининг может быть эффективен только при соблюдении всех требований по контролю его качества. Этому вопросу посвящены десятки руководств, методических рекомендаций, которые публикуются во всех странах, имеющих опыт проведения популяционного маммографического скрининга. К сожалению, в России нет ни опыта маммографического скрининга, ни такого руководства.

Данные РКИ и опыт их применения на практике легли в основу рекомендаций по маммографическому скринингу. Следуя рекомендациям Европейской Комиссии в большинстве стран Европы, организованный массовый популяционный скрининг РМЖ проводится среди женщин 50–59 лет с интервалом 2 года [3]. Специальная комиссия США по профилактике также рекомендует проводить маммографическое скрининговое обследование женщин в возрасте 50–69 лет 1 раз в 2 года [9]. Рекомендации Американского противоракового общества несколько отличаются от предыдущих: проводить маммографическое скрининговое обследование женщин ежегодно, начиная с 40 лет [10]. Маммографический скрининг, как собственно и все остальные методы популяционного скрининга, следует проводить в специализированных учреждениях, в специальных скрининговых центрах, специалистами, квалифицированными в области скрининга.

Скрининг рака толстой кишки

Цель скрининга РТК – выявление аденоматозных полипов и РТК на ранней стадии развития, и, соответственно, снижение заболеваемости и смертности от РТК. Снижение заболеваемости РТК в результате скрининга достигается благодаря выявлению аденоматозных полипов, из которых раз-

живается более 80 % рака. Вероятность малигнизации аденоматозного полипа зависит от его размера. В связи с этим удалению подлежат аденоматозные полипы диаметром более 10 мм.

Для скрининга РТК применяются следующие методы: тест на скрытую кровь (gFOBT – проба с гваяковой смолой или iFOBT – иммунохимический тест), сигмоидоскопия, колоноскопия и виртуальная колоноскопия.

Тест на скрытую кровь

Эффективность скрининга с помощью теста на скрытую кровь (gFOBT) с последующей колоноскопией или сигмоидоскопией при положительных результатах подтверждена в нескольких РКИ.

Одно из первых исследований по оценке эффективности скрининга с использованием теста на скрытую кровь проведено в городе Ноттингем (Англия) в 1981–1991 гг. Оно включало около 153 000 человек в возрасте 45–74 лет. Участникам исследования, входившим в опытную группу ($n = 75\,000$), по протоколу тестирование на скрытую кровь должно было проводиться один раз в 2 года. Однако фактически тестирование удалось провести только 60 % (45 000) лиц, входящих в группу скрининга. Из них у 38 % (28 700) тестирование проведено один раз в 2 года. Участники исследования наблюдались до 1995 г., т. е. 4,5–14,5 года или в среднем 8 лет. Наблюдение не выявило различий по заболеваемости РТК между группой скрининга и контрольной группой, хотя в опытной группе частота развития опухолей на I стадии была выше, чем в контрольной группе (28 и 11 % соответственно). Смертность от РТК в группе скрининга была достоверно ниже на 15 %, чем контрольной группе ($OR = 0,85$ при 95 %-ном ДИ $0,74 \div 0,98$; $p = 0,026$) [11].

В исследовании, проведенном в Дании, 68 000 человек были рандомизированы в контрольную и опытную группы. Участникам последней группы в течение 10 лет раз в 2 года проводилось тестирование на скрытую кровь. Через 19 лет смертность от РТК снизилась в опытной группе на 18 % ($OR = 0,83$ при 95 %-ном ДИ $0,68 \div 0,99$; $p = 0,03$; 11).

Исследования в Миннесоте с участием 46 551 человек показало, что ежегодное тестирование на скрытую кровь снижает смертность от РТК на 33 %. В группе, в которой скрининг проводился раз в 2 года, смертность снизилась на 21 %. Длительное наблюдение (18 лет) выявило также снижение заболеваемости на 20 и 17% в группах, в которых скрининг проводился ежегодно и раз в 2 года соответственно. Необходимо отметить, что для подтверждения диагноза 80 % больных, у которых тест оказался положительным, подверглись колоноскопии, сигмоидоскопии или рентгенографии с двойным контрастированием [12].

Наблюдение за участниками этого исследования в течение 30 лет подтвердило предыдущие результаты. За 30 лет умерли 33 020 (70 %) участников исследования, из них 732 – от РТК. Число умерших от РТК составило 1,8 % в группе, в которой скрининг проводился ежегодно; 2,2 % – в группе, в которой скрининг проводился раз в 2 года и 2,7 % – в контрольной группе. Таким образом, смертность в когорте, в которой тестирование на скрытую кровь проводилось раз в 2 года, снизилась на 32 % ($OR = 0,68$ при 95 %-ном ДИ $0,56 \div 0,82$) и на 44% – в когорте, в которой тестирование проводилось ежегодно. Снижение смертности [13] было более выражено среди мужчин, чем среди женщин ($p = 0,04$).

Суммарный анализ исследований, посвященных оценке эффективности пероксидазного теста показал, что скрининг раз в 2 года или ежегодно снижает смертность от РТК на 15–40 %. Тест на скрытую кровь положителен в среднем у 1–5 % людей, из них у 2–10 % выявляется рак, а у 20–30 % – аденоматозные полипы толстой кишки.

Применение иммунохимического (iFOBT) теста значительно улучшает результаты скрининга. Кроме того, иммунохимический тест не реагирует на чужеродный гемоглобин, который поступает в организм с пищей, а также на «переваренный» гемоглобин, т. е. гемоглобин, источником которого является кровотечение в верхних дыхательных и пищеварительных путях. Чувствительность iFOBT для диагностики рака выше (61–91 %), чем стандартного (Hemoccult II) gFOBT (25–38 %). Специфичность iFOBT по данным разных авторов варьирует от 91 до 98 % и практически слегка ниже, чем специфичность пероксидазных тестов (98–99 %). Чувствительность iFOBT (HemeSelect) для диагностики аденоматозных полипов $\varnothing > 10$ мм в 2 раза выше, чем чувствительность Hemoccult II. В целом [11] чувствительность тестов iFOBT для диагностики больших полипов выше (27–67 % по данным разных авторов), чем чувствительность тестов gFOBT (16–31 %).

Сигмоидоскопия

В $2/3$ всех случаев РТК локализуется в сигмовидной и прямой кишке. Поэтому выявление и удаление полипов и локализованных форм рака в этих отделах толстой кишки, по определению, должны привести к снижению как смертности, так и заболеваемости. Результаты эмпирических исследований дали обнадеживающие результаты. Два исследования методом случай–контроль показали, что риск смерти от рака дистального отдела ободочной и прямой кишки статистически значимо достоверно снижен (на 70–80 %) у лиц, которым проведена 1 сигмоидоскопия и более [14]. В многоцентровом исследовании, проведенном в Юте, показано статистически достоверное (на 44–47 %) снижение смертности от РТК среди населения, которому проводился сигмоидоскопический скрининг [15]. Необходимо отметить, что выявление аденоматозного полипа или рака в сигмовидной или прямой кишке служило показанием к колоноскопии.

В 2010 г. опубликованы результаты первого РКИ по оценке эффективности сигмоидоскопии для скрининга РТК [16]. В группе скрининга, т. е. группе, участникам которой была проведена сигмоидоскопия, было 40 674 человека, в контрольной – 113 000. Лица, у которых были обнаружены аденома или рак, локализованные в дистальных отделах толстой кишки, рассматривались как имеющие повышенный риск развития проксимального рака, в связи с чем им проводилась колоноскопия. В результате 11-летнего наблюдения заболеваемость РТК в группе скрининга снизилась на 33 % ($OR = 0,67$ при 95 %-ном ДИ $0,60 \div 0,76$), смертность – на 43 % ($OR = 0,57$ при 95 %-ном ДИ $0,45 \div 0,72$). Заболеваемость раком дистальных отделов, т. е. сигмовидной и прямой кишки, снизилась на 50 % (при 95 %-ном ДИ $0,42 \div 0,59$). Однако скрининг не повлиял на заболеваемость и смертность от рака проксимальных отделов толстой кишки. Авторы исследования пришли к заключению, что сигмоидоскопия – эффективный метод скрининга РТК и что ее достаточно проводить раз в жизни в возрасте 55–64 лет.

Еще два РКИ подтвердили эффективность одной сигмоидоскопии в жизни в возрасте 55–60 лет [17; 18]. Рандомизированное исследование, проведенное в Италии, показало, что одна сигмоидоскопия в течение жизни в возрасте 55–64 лет статистически достоверно снижает заболеваемость и смертность от РТК. Когорта участников исследования (34 272 человека) наблюдалась в среднем 11 лет. Заболеваемость РТК составила 144 и 176 на 100 000 человеко-лет в группе скрининга и контрольной группе соответственно ($OR = 0,69$ при 95 %-ном ДИ $0,56 \div 0,86$). Смертность от РТК в группе скрининга и контрольной была 35 и 44 на 100 000 человеко-лет соответственно ($OR = 0,62$ при 95 %-ном ДИ $0,40 \div 0,96$). Таким образом, одно сигмоидоскопическое исследование в возрасте 55–64 лет снижает на 31 % заболеваемость и на 38 % смертность от РТК [17].

В проведенном в США рандомизированном исследовании PLCO участвовали 154 900 мужчин и женщин в возрасте 55–74 лет. Участникам группы скрининга планировалось проведение сигмоидоскопии в начале исследования, через 3 и 5 лет. Однако фактически только 83,5 % участников этой группы была выполнена сигмоидоскопия в начале исследования, а 54 % – сигмоидоскопия проведена повторно через 3 и 5 лет. Наблюдение за участниками исследования в течение в среднем 11,5 года показало снижение заболеваемости в группе скрининга на 21 % ($OR = 0,794$ при 95 %-ном ДИ $0,72 \div 0,85$; $p < 0,001$). В группе скрининга отмечено снижение заболеваемости как дистальным ($OR = 0,71$ при 95 %-ном ДИ от 0,64 до 0,80; $p < 0,001$), так и проксимальным РТК ($OR = 0,86$ при 95 %-ном ДИ $0,76 \div 0,97$; $p = 0,01$). Смертность от РТК в группе скрининга также была на 26% статистически достоверно ниже, чем контрольной группе ($OR = 0,74$ при 95% ДИ от 0,63 до 0,87; $p < 0,001$). Снижение смертности от дистального рака, т. е. рака сигмовидной и прямой кишки была ниже на 50 % ($OR = 0,50$ при 95 %-ном ДИ $0,38 \div 0,64$; $p < 0,001$). Различий по смертности от рака проксимального отдела между группами скрининга и контрольной не было [18].

Таким образом, есть основания рекомендовать проведение массового, организованного скрининга РТК с использованием сигмоидоскопии. Естественно, перед его внедрением необходимы подготовка кадров и проведение пилотных популяционных исследований на ограниченных территориях с небольшим населением.

Колоноскопия

В США и других западных странах растет смертность от рака проксимальных отделов толстой кишки, в то время как заболеваемость и смертность от рака дистальных отделов толстой кишки снижается [19]. Скорее всего, это частично связано с неэффективностью скрининга для рака проксимальных отделов толстой кишки. Данные РКИ о влиянии колоноскопии на заболеваемость и смертность от рака проксимальных отделов толстой кишки нет, но по результатам некоторых эмпирических исследований можно заключить, что колоноскопия не снижает риск развития заболевания и смерти от рака проксимальных отделов толстой кишки [15; 20]. В проанализированных выше РКИ колоноскопия проводилась только в случае положительного результата сигмоидоскопии: в английском исследовании – у 5 %, в итальянском – у 8 %, в США – у 22 % участников группы скри-

нинга [16–18]. Соответственно только в американском исследовании обнаружено статистически достоверное снижение заболеваемости (но не смертности) от рака проксимального отдела [18].

Массовое применения колоноскопии не может быть рекомендовано как метод скрининга рака, в первую очередь, в связи с отсутствием влияния на смертность от рака проксимального отдела толстой кишки, а также с возможными осложнениями [21]. Частота перфорации даже в опытных руках составляет 4 случая на 10 000 исследований. Однако в некоторых европейских странах, например в Германии, колоноскопический метод рекомендован для скрининга. В США рекомендуется проводить колоноскопию один раз в 10 лет в возрасте 55–64 лет.

Виртуальная колоноскопия или колонография

Метод позволяет изучать компьютерное изображение просвета и слизистой оболочки толстой кишки, полученного с помощью КТ или МРТ. Чувствительность этого метода в значительной степени зависит от размера новообразования в толстой кишке. Чувствительность колонографии сравнима с таковой колоноскопии и равна 92 % при полипах ≥ 10 мм, 78 % – при полипах размером 5–9 мм и 67 % при размерах полипа не более 5 мм. Специфичность метода также зависит от размера новообразования и равна 90 % при аденомах ≥ 10 мм и более [17].

Скрининг рака шейки матки

Скрининг РШМ направлен на выявления не только ранних форм рака, но и, в первую очередь, предраковых изменений, в частности – интраэпителиальных неоплазий (CIN I, II и III) различной степени дисплазии и интраэпителиального рака *in situ*. Прогрессирования интраэпителиальной неоплазии в рак – медленный процесс. Обычно он длится более 10 лет. Особенностью скрининга РШМ является тот факт, что его эффективность определяется снижением заболеваемости и смертности, а не только смертности. Наиболее широко используемым типом скрининга РШМ является цитологический (в зарубежной литературе – тест по Папаниколау, *Pap smear*), который получил распространение в 1960-х гг. Его эффективность подтверждена в результате длительного наблюдения за динамикой заболеваемости и смертности в скандинавских странах [22].

Массовый, наиболее хорошо организованный и регулярный скрининг РШМ в этом регионе проводился в Исландии, Швеции и Финляндии.

В этих странах за 20 лет произошло значительное снижение заболеваемости и смертности от РШМ. В Норвегии, в которой не было организованного скрининга, за этот период снижение заболеваемости и смертности от РШМ оказалось незначительным.

Показано, что эффективность скрининга РШМ зависит от многих параметров, в первую очередь – от степени охвата женского населения, от возраста женщин, вовлеченных в скрининговую программу, и длительности интервала между скрининговыми тестами. Например, в Исландии цитологическим скринингом РШМ было охвачено 80 % женщин в возрасте 25–69 лет, что привело к снижению смертности на 100; 77; 66 и 66% в возрастных группах 30–39; 40–49; 50–59; 60–69 лет соответственно. В Финляндии в скрининге приняли участия 75 % всех женщин в возрасте 30–55 лет,

что также привело к значительному снижению смертности от РШМ [22].

На эффективность скрининга влияет длительность интервала между скрининговыми тестами. Исследования показали, что оптимальными являются интервалы 3–5 лет. Скрининговое обследование женщин в возрасте 25–64 лет с интервалом 5 лет приводит к снижению смертности на 84 %, с интервалом 3 года – на 91 %, а ежегодный скрининг – на 93 %.

Эффективность цитологического скрининга РШМ получила подтверждение в исследованиях методом "случай–контроль" и когортных. Риск развития инвазивного рака в 5–10 раз выше у женщин, которые никогда не участвовали в скрининге. Риск также зависит от времени, прошедшего после последнего скринингового теста.

Однако по сравнению с ежегодным скринингом скрининг каждые 3 года не влияет на риск развития инвазивного рака [22].

В результате разработки новых технологий для выявления ДНК ВПЧ появилась возможность использования этих технологий для скрининга РШМ. В разных программах тестирование на ВПЧ используется в совокупности с цитологическим исследованием в различной последовательности или самостоятельно с последующим генотипированием либо без него.

ПЦР позволяет выявлять ДНК ВПЧ в более 90 % рака и 75–85 % CIN с выраженной дисплазией. Исследование с участием 2009 женщин, проведенное в Англии, показало, что 44 % CIN с дисплазией II–III степени, которые не были диагностированы цитологически, выявлены при ПЦР-диагностике ДНК ВПЧ 16; 18; 31 и 33 типов. Еще у 22 % ВПЧ-положительных женщин обнаружена CIN со слабо выраженной дисплазией. Однако у 25 % больных CIN с дисплазией II–III степени результаты ПЦР-тестирования на ДНК ВПЧ были отрицательными [23].

J. Cox et al. [24] провели анализ эффективности различных стратегий скрининга РШМ и пришли к следующим результатам: наиболее чувствительным методом скрининга РШМ является тестирование на ВПЧ с помощью тест-системы, которая включает 14 типов ВПЧ высокого риска. В результате такого тестирования выявлено 86 % всех CIN_{II} и 90 % всех CIN_{III}. Однако доля ложноположительных результатов при этом методе тестирования также высока (почти 40 %). Тестирование на ВПЧ после цитологического исследования и только цитологическое исследование имели примерно одинаковую низкую чувствительность. В результате применения первого метода (тестирования на ВПЧ после цитологии) выявлено 51 и 56 % CIN_{II} и CIN_{III} соответственно, а в результате применения второго метода скрининга (только цитологического исследования) – 53 и 58% соответственно.

По мнению большинства авторов разработка тестов с высокой чувствительностью и специфичностью является нецелесообразной целью. Чувствительность тестов на ВПЧ очень высока. Однако, к сожалению, специфичность значительно ниже, т. е. высок процент ложноположительных результатов. Кроме того, специфичность теста снижается с ростом чувствительности. Поэтому наиболее эффективным является метод с достаточно высокой чувствительностью, который, однако, не приводит к необоснованным дополнительным вмешательствам, в частности, к кольпоскопии. Решение о выборе метода или комбинации методов скрининга РШМ должно приниматься на основании знаний об

эффективности той или иной стратегии и в зависимости от наличия ресурсов для его проведения.

ВОЗ [22] рекомендует проводить цитологический скрининг у женщин в возрасте от 25–30 до 60–65 лет с интервалами 3–5 лет. В странах Европейского союза скрининговое обследование РШМ женщин в возрасте от 20 до 65 лет проводится с интервалом 3–5 лет [23].

В США цитологический скрининг рекомендуется проводить в возрасте 21–65 лет (или через 3 года после начала половой жизни) с интервалами 3 года. В возрасте 30–65 лет кроме цитологического исследования 1 раз в 5 лет рекомендуют тестирование на инфицированность ВПЧ. Пятилетний интервал между тестированием на ВПЧ обоснован его высокой чувствительностью. Опыт показывает, что инфицированность ВПЧ может быть транзитной. В связи с этим анализ на ВПЧ рекомендуется повторить через 12 мес и в случае, если тест будет положительным, провести генотипирование для верификации типа ВПЧ. Если генотипирование выявит наличие инфекции ВПЧ16 и ВПЧ18, рекомендуется направлять женщину на дальнейшие диагностические и лечебные процедуры [24; 25].

Методике проведения скрининга РШМ посвящены многие сотни (если не тысячи) исследований, а также руководства и рекомендации по контролю его качества [22; 23; 25; 26]. Размер и формат данной статьи не позволяют детально проанализировать все методические нюансы организации скрининга. Необходимо отметить, что первостепенное значение имеет квалификация медицинского персонала, участвующего в скрининговой программе. От профессионализма акушера-гинеколога или акушерки зависит качество мазка. Не последнюю роль играет оснащенность смотрового кабинета, включая специальный инструментарий для взятия мазка. Мазки (цитологические препараты), которые не соответствуют определенным критериям, считаются непригодными для исследования. В частности, для цитологического исследования мазок должен содержать 8 000–10 000 хорошо определяемых клеток плоского эпителия. Значительная доля ложноотрицательных результатов является следствием плохого качества цитологического препарата. Внедрение жидкостной цитологии, которая используется во многих странах, значительно улучшило качество цитологических мазков, а соответственно, и качество цитологической диагностики. Однако внедрение этого метода не отменяет необходимости подготовки кадров медицинского персонала, участвующих в скрининге, включая акушеров-гинекологов, цитологов, патологов, молекулярных биологов и представителей других профессий [23].

Скрининг рака легкого

Для скрининга РЛ использовались следующие методы: РГГК и ЦИМ [27; 29; 30]. Эти методы были апробированы в РКИ и оказались неэффективными. Показано, что их применение не снижает смертность от РЛ. В настоящее время проводится апробация метода НДСКТ. Большие надежды возлагаются также на выявление ранних молекулярных маркеров РЛ.

В исследовании в Чехии были включены 6364 человека, которым до рандомизации были проведены РГГК и ЦИМ. После этого участники исследования были рандомизированы на 2 группы: в 1-й в течение 3 лет 2 раза в год проводилось РГГК и ЦИМ, во 2-й проводилось аналогичное обследо-

вание только в конце трехлетнего срока наблюдения. После 3 лет члены обеих групп ежегодно проходили рентгенологическое обследование. В течение первых 3 лет наблюдения заболеваемость РЛ была на 33 % выше в опытной группе, чем контрольной ($p < 0,05$). В опытной группе РЛ выявлялась на более ранней стадии, и пятилетняя выживаемость также была выше. Однако анализ смертности от РЛ показал, что смертность в группе скрининга не отличалась от таковой в опытной, как в первые 3 года, так и после 15 лет наблюдения [27].

Исследование, проведенное в клинике Мейо², в котором участвовали 9200 курильщиков, также не подтвердило эффективности этих методов для скрининга РЛ. Перед началом исследования и до рандомизации всем участникам были проведены РГТК и ЦИМ. В ходе исследования в течение 6 лет участникам опытной группы каждые 4 мес проводились РГТК и ЦИМ. В последующие 5 лет членам опытной группы было рекомендовано проходить РГТЛ и ЦИМ 1 раз в год. В результате в опытной группе выявлено 143, а в контрольной – 87 случаев РЛ. Пятилетняя выживаемость больных, выявленных в опытной группе, также была выше (33 %), чем в контрольной (15 %). Однако, к сожалению, смертность от РЛ в обеих группах была одинаковой: 3,2 и 3,0 на 1000 человек соответственно. Авторы заключили, что «избыток» РЛ в опытной группе по сравнению с контрольной можно объяснить превалированием клинически «доброкачественных» или клинически «незначимых» форм опухолей, которые в отсутствие скрининга никогда бы не были диагностированы и клинически никак себя не проявили [28].

РКИ, проведенные в США относительно недавно, подтвердили результаты двадцатилетней давности [29]. В исследовании участвовали 154 901 человек в возрасте 55–74 лет. В опытной группе, в которую входили 77 445 человек, в течение 4 лет проводилась ежегодная РГТК. Контрольная группа, которая включала 77 456 человек, находилась под обычным наблюдением. Наблюдение продолжалось 13 лет, в течение которых в опытной группе заболеваемость РЛ составила 20 на 10 000 человеко-лет, а в контрольной – 19 на 10 000 человеко-лет ($OR=1,05$ при 95 %-ном ДИ 0,98–1,12). От РЛ в группе, в которой проводилась ежегодная РГТК, умерли 1213 человек, а в контрольной – 1230, т. е. различий по смертности между опытной группой и контрольной не обнаружено ($OR=0,99$ при 95 % ДИ 0,87–1,12), что еще раз подтверждает неэффективность РГТК для скрининга РЛ [29].

В своем аналитическом обзоре и мета-анализе P. Bach et al. [30] отмечают, что в результате скрининга РЛ с РГТК растет частота выявления ранних форм РЛ (I стадия), что приводит к росту общей частоты выявления патологии. Однако такая динамика не сопровождается снижением количества опухолей, диагностированных на поздних стадиях и снижением смертности.

РГТК неэффективна и для раннего выявления туберкулеза легких. РГТК-скрининг туберкулеза легких может быть эффективным, только если его проводить ежедневно или, по крайней мере, раз в неделю. Соответственно РГТК не может быть

проведена у пациентов в отсутствие симптомов [31–33].

Флюорография и РГТК повышают риск развития РЛ. Эпидемиологическое исследование, проведенное под эгидой МАИР в России и в странах бывшего социалистического лагеря, в которых, как и в СССР, здоровому работающему населению ежегодно проводилось флюорография грудной клетки, показало, что риск развития РЛ увеличивается с ростом количества флюорографий. Так, даже у лиц, которым проведено менее 10 флюорографий, уже отмечалось повышение риска на 20% ($OR=1,2$ при 95 %-ном ДИ 1,0–1,5). У лиц, получивших 11–20 флюорографий, риск развития РЛ повышен на 30 % ($OR=1,3$ при 95 %-ном ДИ 1,1–1,6), после 21–30 флюорографий риск развития РЛ повышается на 50 %. И, наконец, более 40 флюорографии привели к 100 %-ному росту риска развития РЛ ($OR=2,2$ при 95 %-ном ДИ 1,5–3,1; $p < 0,0001$). Учитывая, что исследование работающему населению проводилось ежегодно, повышенному риску развития РЛ подверглись миллионы людей, со стажем работы 10–40 лет и более.

Эффективность НДСКТ для скрининга РЛ по сравнению с РГТК изучена у 2000 курильщиков. Пациентам, у которых в результате НДСКТ был выявлен узел в легких, проводилась стандартная КТ. Показано, что чувствительность (разрешающая способность) НДСКТ значительно выше, чем РГТК. В опытной группе узел в легких был выявлен у 233 больных, из которых у 27 (11,6%) был диагностирован рак, в 23 случаях – на I стадии. В контрольной группе узел в легких был выявлен у 68 участников исследования, из которых 7 (10,3%) оказались раком. Очевидно, что НДСКТ значительно повышает вероятность выявления опухолей малого размера, что положительно сказывается на результатах лечения и, скорее всего, на пятилетней выживаемости больных. Однако необходимо отметить низкую специфичность метода. Из 233 больных, у которых были выявлены узлы, только у 11,6% был установлен диагноз рака [35].

S. Swensen et al. [35] обследовали 817 практически здоровых курящих мужчин. В результате НДСКТ у 353 (43%) были обнаружены в легких узлы. Однако при дополнительном исследовании рак был диагностирован лишь у 6 (1,7%) больных. При обследовании с помощью НДСКТ 1520 человек у 775 (51%) в легких были обнаружены узелки различных размеров, из которых только 15 (1,9%) были злокачественными. Учитывая опыт предыдущих исследований, оставалось неясным, приведет ли применение данного метода скрининга РЛ к снижению смертности. Для выяснения этого вопроса необходимо проведение РКИ. Очень важно выполнить детальный гистологический и молекулярный анализ опухолей, выявляемых при скрининге, для выяснения их биологической природы и злокачественного потенциала.

В РКИ, которое проводилось в 10 специализированных центрах США, были включены 53 454 мужчин в возрасте 55–74 лет с высоким риском развития РЛ, т. е. заядлых курильщиков, продолжающих курить или отказавшихся от курения менее 15 лет назад. Опытная группа включала 26 722 мужчин, которым в течение 3 лет ежегодно проводилась НДСКТ. Входящим в контрольную группу 26 732 мужчинам ежегодно в течение 3 лет проводилась стандартная РГТК. В опытной группе выявлено 1060 случаев РЛ, а в контрольной – 941, т. е. чувствительность НДСКТ оказалась выше, чем

²Mayo Clinic – один из крупнейших частных медицинских центров мира. Основной работодатель и градообразующее предприятие американского города Рочестер (штат Миннесота). Здания клиники занимают значительную часть городского центра.

РГТК (ОР = 1,13 при 95 %-ном ДИ 1,03÷1,23). Смертность от РЛ была статистически значимо на 20% ниже (при 95 %-ном ДИ 6,8÷6,7; $p = 0,0004$) в группе, в которой для выявления РЛ применялась НДСКТ, чем в группе, в которой использовалась РГТК. В первой группе от РЛ умерли 356 человек (247/100 000 человеко-лет), во второй – 443 (309/100 000 человеко-лет). Смертность от всех причин также была на 6,7% (ОР при 95 %-ном ДИ 1,2÷1,3; $p = 0,02$) ниже в первой группе, чем во второй. Таким образом, результаты РКИ подтверждают эффективность скрининга РЛ методом НДСКТ, а ввиду того что смертность от всех причин была также снижена в группе НДКТ, указывают на безопасность метода [36].

Однако НДКТ имеет недостатки: высок процент ложноположительных результатов, когда положительный результат НДКТ, т. е. диагноз рака или подозрение на рак не подтверждаются при последующем обследовании. Так, в представленном выше РКИ доля положительных и ложноположительных результатов в опытной группе, т. е. в группе, в которой проводилась НДКТ, составила 24,2 и 23,3 % соответственно, а в контрольной группе, в которой проводилась стандартная РГТК – 6,9 и 6,5% соответственно [36].

Кроме того, важной проблемой НДКТ скрининга РЛ является гипердиагностика, т. е. скрининговый тест выявляет образования, которые гистологически имеют строение рака, однако являются клинически незначимыми. К таким часто выявляемым при скрининге с использованием КТ образованиям относится бронхоальвеолярный рак *in situ* (т. е. аденокарцинома, которая растет в пределах предшествующей альвеолы). На основании сравнения заболеваемости и смертности от РЛ среди изученного контингента авторы пришли к заключению, что 120 выявленных НДКТ и подтвержденных гистологическим исследованием случаев, скорее всего, являются клинически незначимыми [36].

Мета-анализ исследований (8 рандомизированных и 13 когортных) по оценке эффективности НДКТ скрининга также подтвердил высокую частоту ложноположительных результатов [30]. В среднем НДКТ позволяет выявлять узлы в легких у 20 % обследованных лиц, из которых диагноз рака подтверждается лишь у 10 %. Соответственно 90 % лиц, участвующих в скрининге, проходят дополнительное обследование, которое чревато осложнениями, если речь идет об инвазивных методах диагностики, или, как минимум, ухудшением качества жизни. Однако для подтверждения данного предположения необходимо длительное наблюдение за этими пациентами. В рассматриваемом аналитическом обзоре также обращено внимание на проблему гипердиагностики, т. е. скрининговый тест выявляет образования, которые гистологически имеют строение рака, однако являются клинически незначимыми. По данным всех проанализированных исследований, гипердиагностика наблюдается более чем в 25 % всех выявленных и подтвержденных гистологически случаев рака [30; 36]. Однако для подтверждения этого предположения необходимо длительное наблюдение за пациентами. Тем не менее, и радиологи, и онкологи, и все другие специалисты, занимающиеся ранней диагностикой и лечением РЛ, должны знать о данной проблеме и учитывать ее существование в своей работе.

Необходимо разработать клинические рекомендации (стандарты) по лечению образований

(рака), выявленного при НДКТ скрининге. Скрининг рекомендуется проводить в специализированных центрах, с высококвалифицированным персоналом в области КТ и других методов визуализации и диагностики и торакальной хирургии. Скрининг РЛ с применением КТ следует проводить только среди заядлых курильщиков или отказавшихся от курения (менее 15 лет назад), в возрасте 55–74 лет, с условным показателем интенсивности курения более 30 пачко-лет. Участники скрининга должны быть детально информированы о положительных и возможных отрицательных сторонах (т. е. осложнениях), которые могут возникнуть в результате уточняющей диагностики и лечения.

На всех этапах скрининговой программы врачи, медицинский и технический персонал должны строго следовать разработанному регламенту (инструкциям, методическим рекомендациям). И, наконец, участие в скрининге не отменяет необходимости отказа от курения.

Скрининг рака предстательной железы

Несмотря на то, что тест на выявление в сыворотке крови ПСА повсеместно применяется для скрининга РПЖ, эффективность этого метода не доказана. В США начало эры скрининга РПЖ в 1980-х гг. сопровождалось стремительным ростом заболеваемости с дальнейшим таким же стремительным падением. Эти тенденции, характерные для США и других стран с активным скринингом по ПСА, не сопровождались аналогичным ростом смертности [37; 38]. Рост заболеваемости РПЖ, который последовал за широким распространением скрининга по ПСА, можно объяснить выявлением в результате скрининга клинически незначимого, латентного, интраэпителиального (*in situ*) рака, который в отсутствие скрининга клинически не проявляется, не дает симптомов, не прогрессирует и никогда не приводит к смерти. На продолжительность и качество жизни мужчин этот рак не влияет. Данные показатели могут, скорее, ухудшаться в результате агрессивного лечения этого клинически незначимого рака [38–40].

Латентный (интраэпителиальный, *in situ*) РПЖ обнаруживается на вскрытии у 10–15% мужчин, умерших от других причин. В старших возрастных группах (70 лет и более) его частота значительно выше – 28% [41–45]. При этом кумулятивный (в течение жизни) риск смерти от РПЖ в западных странах в разы меньше и не превышает 5 %; это указывает, что интенсивный массовый скрининг ПСА выявляет клинически незначимые формы РПЖ, которые вне скрининга никогда бы себя не проявили [38–40].

Чувствительность и специфичность теста на ПСА в значительной степени определяется тем, какой условный уровень концентрации считать критическим или при какой концентрации ПСА достигаются максимальные чувствительность и специфичность теста или какая концентрация ПСА точнее прогнозирует наличие рака. Проспективные наблюдения за 100 000 мужчин, которые тестировались на ПСА, показали, что прогностическая способность теста на ПСА при концентрации ПСА 3–3,9 нг/мл равна 3 %, при 4–9,9 нг/мл – 22%, более 10 нг/мл – 62%. Исследование различных фракций ПСА, а именно общей и свободной, не привело к ожидаемому улучшению характеристик теста. Низкое соотношение свободного ПСА и общего (8 %) характеризуется низкой чувствительностью (45 %) и высокой специфичностью (95 %), высокое значе-

ние (25 %) – высокой чувствительностью (95 %) и низкой специфичностью (15 %). Очень часто (65–83 %) через год после тестирования уровень ПСА нормализуется, что указывает на правомерность выжидательной тактики у больных с погранично высоким уровнем ПСА [46].

Мета-анализ всех РКИ скрининга РПЖ, который включает европейские и американские исследования, не выявил статистически значимых различий между группой скрининга и контрольной по смертности от РПЖ ($OR=0,89$ при 95 %-ном ДИ $0,71\div1,09$) и общей смертности ($OR=0,99$ при 95 %-ном ДИ $0,97\div1,01$) [47]. В 2012 г. опубликованы результаты 2 РКИ, посвященных оценке эффективности скрининга РПЖ [48; 49]. В первое исследование, проведенное в США, включены 76 685 мужчин в возрасте 55–74 лет, которые методом рандомизации были разделены на 2 группы: опытную (38 340), в которой проводилось ежегодное тестирование на ПСА в течение 6 лет и ежегодное пальцевое исследование в течение 4 лет, и контрольную (38 345). В результате 13-летнего наблюдения за когортой в опытной группе зарегистрировано 4250 новых случаев РПЖ (кумулятивная заболеваемость 108,4/10 000 человеко-лет), а в контрольной – 3 815 новых случаев РПЖ (кумулятивная заболеваемость 97,1/10 000 человеко-лет). В опытной группе от РПЖ умерли 158 мужчин (кумулятивная смертность 3,7/10 000 человеко-лет), в контрольной – 145 мужчин (кумулятивная смертность 3,4/10 000 человеко-лет). Таким образом, в группе, в которой проводилось тестирование на ПСА, заболеваемость РПЖ была статистически значимо выше, чем в контрольной ($OR=1,12$ при 95 %-ном ДИ $1,07\div1,17$). В то же время скрининг ПСА не привел к снижению смертности от РПЖ ($OR=1,09$ при 95 %-ном ДИ $0,87\div1,36$), что указывает на его неэффективность [48].

В многоцентровое исследование, которое проводилось в нескольких странах Европы, были включены 136 689 мужчин в возрасте 55–69 лет. Методом рандомизации участники исследования были разделены на 2 группы: опытную (72 891), участникам которой тестирование на ПСА проводилось ежегодно в течение 4 лет, и контрольную (89 352). В результате 11-летнего наблюдения в опытной группе выявлено 6963 новых случаев РПЖ (кумулятивная заболеваемость 9,7/1000 человеко-лет), а в контрольной – 5396 (кумулятивная заболеваемость 6,0/1000 человеко-лет). Анализ результатов исследования показал статистически значимое повышение заболеваемости РПЖ в группе, в которой проводился скрининг, по сравнению с контрольной ($OR=1,63$ при 95 %-ном ДИ $1,57\div1,69$). В опытной группе от РПЖ умерли 299 человек (кумулятивная смертность 0,39/1000 человеко-лет), в контрольной – 462 (кумулятивная смертность 0,50/1000 человеко-лет). Анализ показал статистически значимое снижение (на 21%) смертности в группе скрининга по сравнению с контрольной группой ($OR=0,79$ при 95 %-ном ДИ $0,68\div0,91$). Различий по общей смертности между двумя группами не обнаружено. Абсолютное снижение смертности от РПЖ в опытной группе составило 1,07 на 1000 человек, т. е. чтобы сохранить жизнь 1 больному РПЖ, нужно протестировать 1055 человек и выявить 33 случая рака [49].

Несколько экспертных комиссий США проанализировали американский опыт ПСА-скрининга РПЖ, а также результаты исследований по оценке его эффективности и пришли к заключению, что

вред, приносимый тестированием на ПСА, перевешивает его пользу [50–53].

В частности, экспертная комиссия, назначенная конгрессом США для проведения анализа и рекомендаций по вопросам профилактики, высказалась против скрининга РПЖ. Комиссия в своем заключении отметила, что в исследованиях, в которых участники скрининга наблюдались 10–14 лет, количество «сохраненных жизней» крайне невелико. Тестирование на ПСА часто дает ложноположительные результаты, что приводит к ненужному (неоправданному) дополнительному обследованию, включая взятие биопсии, она в свою очередь приводит к осложнениям. В 50 % случаев диагноз выявленных на скрининге «рака» не подтверждается. Кроме того, выявляемые на скрининге интраэпителиальные (*in situ*) раки являются клинически незначимыми и не нуждаются в лечении, т. е. наблюдается гипердиагностика. Однако пациентов с такими опухолями лечат, оперируют, облучают, назначают гормонотерапию, химиотерапию. В заявлении комиссии говорится, что мужчины, у которых нет симптомов, не должны участвовать в тестировании на ПСА для скрининга РПЖ. Экспертная комиссия, тем не менее, считает, что некоторые мужчины будут заинтересованы в тестировании на ПСА, а некоторые врачи будут продолжать рекомендовать своим больным тестирование на ПСА. В связи с этим комиссия рекомендует пациентам и врачам принимать информированное решение на основании понимания положительных и отрицательных сторон тестирования на ПСА [50].

Американское противораковое общество считает массовый скрининг РПЖ нецелесообразным. Рекомендуются информировать пациента, желающего пройти тестирование на ПСА, о его положительных и отрицательных сторонах, т. е. о пользе и возможном вреде этого теста. Решение о тестировании должно приниматься индивидуально на основании взаимодействия пациента с врачом [51].

Комиссия Американской урологической ассоциации также высказывается против ПСА-скрининга у мужчин моложе 40 лет и не рекомендует ПСА-скрининг у мужчин в возрасте 40–54 лет. В последней возрастной группе исключение могут составить мужчины с повышенным семейным риском развития РПЖ и афроамериканцы. У мужчин этой группы решение о проведении скрининга должно быть индивидуализировано. Комиссия отмечает: для того, чтобы предотвратить 1 смерть от РПЖ, необходимо провести тестирование на ПСА здоровых мужчин в возрасте 55–69 лет. Скрининг и дальнейшее лечение выявленных больных могут потенциально приносить больше вреда, чем пользы. В связи с этим принятие решения о тестировании на ПСА должно базироваться на совместном обсуждении проблемы врачом и пациентом, основанном на детальном информировании последнего. Мужчинам, которые на основании обсуждения с врачом приняли решение участвовать в скрининге, рекомендуется увеличить интервал между тестированием на ПСА от 1 до 2 лет. Это позволит снизить потенциальный вред, сопутствующий скринингу, снизит процент ложноположительных результатов и, соответственно, приведет к повышению эффективности вмешательства. Комиссия не рекомендует проведение скрининга среди мужчин старше 70 лет, у которых ожидаемая продолжительность жизни не превышает 10–15 лет. Исключение могут составить мужчины, которые и в 70 лет сохранили исключительно хорошее здоровье [53].

Вопрос скрининга и раннего выявления РПЖ будет решен лишь в случае, если удастся дифференцировать клинически незначимые образования от тех, которые потенциально способны прогрессировать. Учитывая, что на уровне световой микроскопии эта проблема вряд ли будет разрешена, возникает необходимость проведения исследований, нацеленных на выявление молекулярно-генетических маркеров прогрессирования интраэпителиального РПЖ с последующим их проспективным тестированием. Такие исследования уже проводятся и есть основания предполагать, что их результаты найдут практическое применение [54]. Пока же эффективность ПСА-скрининга РПЖ остается, как минимум, недоказанной, рекомендовать массовое его применение в рамках диспансеризации населения в России не только нецелесообразно, но и вредно. Следует рекомендовать тестирование на ПСА только при обращении пациента в лечебно-профилактическое учреждение, после получения больным подробной информации об этом диагностическом методе.

Заключение

Целью скрининга является раннее выявление бессимптомного рака и его лечение. Скрининг должен приводить к снижению смертности. Оценивать эффективность скрининга на основании повышения выживаемости нельзя.

Планируемая для скрининга форма рака должна быть важной проблемой здравоохранения для страны или региона, в которых он проводится, т. е. заболеваемость и смертность должны быть высокими. Скрининг редких опухолей проводить не рекомендуется.

Скрининг должен быть направлен на выявление образований, которые в отсутствие скрининга прогрессируют и дают метастазы. Скрининг, направленный на выявление образований, которые в отсутствие скрининга никогда себя не проявляют

и, соответственно, не могут быть причиной заболевания и смерти, является лишней тратой времени и ресурсов, и, что самое главное, зачастую наносит вред здоровью человека.

Скрининговый тест часто дает ложноположительные результаты, это приводит к неоправданному дополнительному обследованию, включая взятие биопсии, что в свою очередь приводит к осложнениям. Кроме того, выявляемые при скрининге интраэпителиальные (*in situ*) раки часто клинически незначимы и не нуждаются в лечении, т. е. наблюдается гипердиагностика. Прежде всего, это касается ПСА- и маммографического скрининга.

Метод лечения выявленных при скрининге преклинических образований должен быть обоснован соответствующими клиническими исследованиями и общепризнан. Опыт показал, что тактика лечения выявленных при скрининге образований иногда чрезмерно радикальна и зачастую наносит ущерб здоровью человека.

- В результате РКИ эффективными признаны
- скрининг РПМ (цитологическое исследование и тестирование на ВПЧ),
 - маммографический скрининг РМЖ,
 - скрининг РТК (тест на скрытую кровь и сигмоскопия),
 - скрининг РЛ (НДСКТ).

Рентгенография (флюорография) грудной клетки и тестирование на ПСА не являются эффективными методами скрининга РЛ и РПЖ.

Скрининг рекомендуется проводить в специализированных центрах, с высококвалифицированным персоналом. На всех этапах скрининговой программы врачи, медицинский и технический персонал должны строго следовать разработанному регламенту (инструкции, методическим рекомендациям). Необходимо информировать участников скрининга о положительных и возможных отрицательных сторонах (осложнениях), которые могут возникнуть в результате уточняющей диагностики и лечения.

Литература

1. Заридзе Д. Г. Профилактика рака // Руководство для врачей. – М.: ИМА-ИПЕСС, 2009. – 224 с.
2. Breast Cancer Screening. IARC handbook of Cancer Prevention, International Agency for Research on Cancer, WHO, IARC Pres, 2002. – 227 p.
3. European Commission, European Guidelines for Quality Assurance in Breast Cancer Screening and Diagnosis, 2006. – 332 p.
4. The Breast Cancer Frequency Trial Group. The frequency of breast cancer screening: results from the UKCCCR randomized trial // Eur. J. Cancer Prev. – 2011. – Vol. 53. – P. 108–114.
5. Detection of ductal carcinoma in situ in women undergoing screening mammography / Ernster V. L., Ballard-Barbash R., Barlow W. E., Zheng Y., Weaver D. L., Cutter G., Yankaskas B. C. Carney P. A., Kerlikowske K., Taplin S. H., Urban N., Geller B. M. // J. Natl. Cancer Inst. – 2002. – Vol. 94, N 20. – P. 1546–1554.
6. MRI for diagnosis of pure ductal carcinoma in situ: a prospective observational study / Kuhl C. K., Schradling S., Bieling H. B., Wardelmann E., Leutner C. C., Koenig R., Kuhn W., Schild H. H. // Lancet. – 2007. – Vol. 370, N 9586. – P. 485–492.
7. Independent UK Panel on Breast cancer Screening. The benefits and harms of breast cancer screening: an independent review // Lancet. – 2012. – Vol. 380, N 9855. – P. 1778–1786.
8. Smith R. A., Duffy S., Tabar L. Breast cancer screening: The Evolving evidence // Oncology. – 2012. – Vol. 26, N 5. – P. 471–475.
9. Screening for Breast Cancer: U.S. Preventive Services Task Force statement // Ann. Intern. Med. – 2009. – Vol. 151, N 10. – P. 716–726.
10. American Cancer Society Guidelines for Breast Cancer Screening: update 2003 / Smith R.A., Saslow D., Sawyer K.A., Burke W., Costanza M.E., Evans W.P. 3rd, Foster R.S. Jr, Hendrick E., Eyre H.J, Sener S. // CA Cancer J. Clin. – 2003. – Vol. 53, N 3. – P. 141–169.
11. Screening for colorectal cancer: a targeted, updated systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force / Whitlock E. P., Lin J. S., Liles E., Beil T. L., Fu R. // Ann. Intern. Med. – 2008. – Vol. 149, N 9. – P. 638–658.
12. The effect of fecal occult-blood screening on the incidence of colorectal cancer / Mandel J. S., Church T. R.,

- Bond J. H., Ederer F., Geisser M. S., Mongin S. J., Snover D. C., Schuman L. M. // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 343, N 22. – P. 1603–1607.
13. Long-term mortality after screening for colorectal cancer / Shaukat A., Mongin S. J., Geisser M. S., Lederle F. A., Bond J. H., Mandel J. S., Church T. R. // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 369, N 12. – P. 1106–1114.
14. Long-term efficacy of sigmoidoscopy in the reduction of colorectal cancer incidence / Newcomb P. A., Storer B. E., Morimoto L. M., Templeton A., Potter J. D. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2003. – Vol. 95, N 8. – P. 622–625.
15. Association of colonoscopy and death from colorectal cancer / Baxter N. N., Goldwasser M. A., Paszat L. F., Saskin R., Urbach D. R., Rabeneck L. // *Ann. Intern. Med.* – 2009. – Vol. 150, N 1. – P. 1–8.
16. UK Flexible Sigmoidoscopy Trial Investigators. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial / Atkin W. S., Edwards R., Kralj-Hans I., Wooldrage K., Hart A. R., Northover J. M., Parkin D. M., Wardle J., Duffy S. W., Cuzick J. // *Lancet.* – 2010. – Vol. 375, N 9726. – P. 1624–1633.
17. SCORE Working Group. Once-only sigmoidoscopy in colorectal cancer screening: follow-up findings of the Italian Randomized Controlled Trial–SCORE / Armaroli P., Bonelli L., Risio M., Sciallero S., Zappa M., Andreoni B., Arrigoni A., Bisanti L., Casella C., Crosta C., Falcini F., Ferrero F., Giacomini A., Giuliani O., Santarelli A., Visioli C. B., Zanetti R., Atkin W. S., Senore C. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2011. – Vol. 103, N 17. – P. 1310–1322.
18. PLCO Project Team. Colorectal-cancer incidence and mortality with screening flexible sigmoidoscopy / Schoen R. E., Pinsky P. F., Weissfeld J. L., Yokochi L. A., Church T., Laiyemo A. O., Bresalier R., Andriole G. L., Buys S. S., Crawford E. D., Fouad M. N., Isaacs C., Johnson C. C., Reding D. J., O'Brien B., Carrick D. M., Wright P., Riley T. L., Purdue M. P., Izmirlian G., Kramer B. S., Miller A. B., Gohagan J. K., Prorok P. C., Berg C. D. // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366, N 25. – P. 2345–2357.
19. A birth cohort analysis of the incidence of ascending and descending colon cancer in the United States, 1973–2008 / Zhu C., Bassig B. A., Zaridze D., Boyle P., Dai M., Li Q., Zheng T. // *Cancer Causes Control.* – 2013. – Vol. 24, N 6. – P. 1147–1156.
20. Risk of developing proximal versus distal colorectal cancer after a negative colonoscopy: a population-based study / Lakoff J., Paszat L. F., Saskin R., Urbach D. R., Rabenck L. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2008. – Vol. 6, N 10. – P. 1117–1121.
21. Protection from right- and left-sided colorectal neoplasms after colonoscopy: population based study / Brenner H., Hoffmeister M., Arndt M., Stegmaier C. H., Haug U. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2010. – Vol. 102. – P. 89–95.
22. Cervix cancer screening. IARC Handbooks of cancer Prevention, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, IARC Press, 2005. – 315 p.
23. European Commission. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening, 2nd ed. – Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2008.
24. Athena HPV study group. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV 16/18: results from the ATHENA HPV study / Cox J. T., Castle P. E., Berhens C. M., Sharma A., Wright T. C., Cuzick J. // *Am. J. Obstet. Gynecology.* – 2013. – Vol. 208, N 3. – P. 184.e1–184.e11.
25. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early detection of Cervical Cancer / Saslow D., Solomon D., Lawson H. W., Killackey M., Kulasingam S. L., Cain J., Garcia F. A., Moriarty A. T., Waxman A. G., Wilbur D. C., Wentzensen N., Downs L. S. Jr, Spitzer M., Moscicki A. B., Franco E. L., Stoler M. H., Schiffman M., Castle P. E., Myers E. R. // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2012. – Vol. 137, N 4. – P. 516–542.
26. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition – summary document / Arbyn M., Anttila A., Jordan J., Ronco G., Schenck U., Segnan N., Wiener H., Herbert A., von Karsa L. // *Ann Oncol.* – 2010. – Vol. 21, N 3. – P. 448–458.
27. Lack of benefit from semi-annual screening for cancer of the lung: follow-up report of a randomized controlled trial on a population of high risk males in Czechoslovakia / Kubik A., Parkin D. M., Khat M., Erban O., Polak O., Adamec M. // *Int. J. Cancer.* – 1990. – Vol. 45. – P. 26–33.
28. Lung cancer screening: the Mayo program / Fontana R. S., Sanderson D. R., Woolner L. B., Taylor W. F., Miller W. E., Muhm J. R. // *J. Occup. Med.* – 1986. – Vol. 28, N 8. – P. 746–750.
29. PLCO Project Team. Screening by chest radiograph and lung cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) randomized trial / Oken M. M., Hocking W. G., Kvale P. A., Andriole G. L., Buys S. S., Church T. R., Crawford E. D., Fouad M. N., Isaacs C., Reding D. J., Weissfeld J. L., Yokochi L. A., O'Brien B., Ragard L. R., Rathmell J. M., Riley T. L., Wright P., Caparaso N., Hu P., Izmirlian G., Pinsky P. F., Prorok P. C., Kramer B. S., Miller A. B., Gohagan J. K., Berg C. D. // *JAMA.* – 2011. – Vol. 306, N 17. – P. 1865–1873.
30. Benefits and harms of CT screening for lung cancer: a systematic review / Bach P. B., Mirkin J. N., Oliver T. K., Azzoli C. G., Berry D. A., Brawley O. W., Byers T., Colditz G. A., Gould M. K., Jett J. R., Sabichi A. L., Smith-Bindman R., Wood D. E., Qaseem A., Detterbeck F. C. // *JAMA.* – 2012. – Vol. 307, N 22. – P. 2418–2429.
31. A rational approach to radiodiagnostic investigation: introduction and chest radiology // WHO Technical Report Series. – 1983. – Vol. 689. – P. 1–49.
32. National Centers for Devices and Radiologic Health. The selection of patients for x-ray screening examination. HHS publication no. (FDA) 83-8204. – P. 27–29.
33. Mangura B. T., Reichman L. B. Periodic chest radiography: unnecessary, expensive, but still pervasive // *Lancet.* – 1999. – Vol. 353, N 9149. – P. 319–320.
34. Occupational X-ray examinations and lung cancer risk / Boffetta P., Mannetje A., Zaridze D., Szeszenia-Dabrowska N., Rudnai P., Lissowska J., Fabianová E., Mates D., Bencko V., Navratilova M., Janout V., Cardis E., Fevotte J., Fletcher T., Brennan P. // *Int. J. Cancer.* – 2005. – Vol. 115, N 2. – P. 263–267.

35. Screening for lung cancer with low-dose spiral computed tomography / Swensen S. J., Jett J. R., Sloan J. A., Midthun D. E., Hartman T. E., Sykes A. M., Aughenbaugh G. L., Zink F. E., Hillman S. L., Noetzel G. R., Marks R. S., Clayton A. C., Pairolero P. C. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 165, N 4. – P. 508–513.
36. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening: National Lung Screening Trial Research Team / Aberle D. R., Adams A. M., Berg C. D., Black W. C., Clapp J. D., Fagerstrom R. M., Gareen I. F., Gatsonis C., Marcus P. M., Sicks J. D. // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 365, N 5. – P. 395–409.
37. Zaridze D. G., Boyle P., Smans N. International time-trends in prostatic cancer // *Int. J. Cancer.* – 1984. – Vol. 33. – P. 223–230.
38. Zaridze D. G., Boyle P. Cancer of the Prostate: Epidemiology and aetiology // *Br. J. Urology.* – 1987. – Vol. 59. – P. 493–502.
39. Overdiagnosis due to prostate-specific antigen screening: lessons from U.S. prostate cancer incidence trends / Etzioni R., Penson D. F., Legler J. M., di Tommaso D., Boer R., Gann P. H., Feuer E. J. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2002. – Vol. 94, N 13. – P. 981–990.
40. Brawley O. W. Prostate carcinoma incidence and patient mortality: the effects of screening and early detection // *Cancer.* – 1997. – Vol. 80, N 9. – P. 1857–1863.
41. Latent carcinoma of prostate at autopsy in seven areas. The International Agency for Research on Cancer, Lyons, France / Breslow N., Chan C. W., Dhom G., Drury R. A., Franks L. M., Gellei B., Lee Y. S., Lundberg S., Sparke B., Sternby N. H., Tulinius H. // *Int. J. Cancer.* – 1977. – Vol. 20, N 5. – P. 680–688.
42. Billis A. Latent carcinoma and atypical lesions of prostate. An autopsy study. // *Urology.* – 1986. – Vol. 28, N 4. – P. 324–329.
43. High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20–69: an autopsy study of 249 cases / Sakr W. A., Grignon D. J., Crissman J. D., Heilbrun L. K., Cassin B. J., Pontes J. J., Haas G. P. // *In Vivo.* – 1994. – Vol. 8, N 3. – P. 439–443.
44. Prevalence of prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia in Caucasian Mediterranean males: an autopsy study / Sánchez-Chapado M., Olmedilla G., Cabeza M., Donat E., Ruiz A. // *Prostate.* – 2003. – Vol. 54, N 3. – P. 238–247.
45. The prevalence of prostate carcinoma and its precursor in Hungary: an autopsy study / Soos G., Tsakiris I., Szanto J., Turzo C., Haas P. G., Dezso B. // *Eur. Urol.* – 2005. – Vol. 48, N 5. – P. 739–744.
46. Brawley O. W. Prostate cancer screening: what we know, don't know, and believe // *Ann. Intern. Med.* – 2012. – Vol. 157, N 2. – P. 135–136.
47. Screening for prostate cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials / Djulbegovic M., Beyth R. J., Neuberger M. M., Stoffs T. L., Vieweg J., Djulbegovic B., Dahm P. // *B.M.J.* – 2010. – Vol. 341. – P. 4543.
48. PLCO Project Team Prostate cancer screening in the randomized Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial: mortality results after 13 years of follow-up / Andriole G. L., Crawford E. D., Grubb R. L. 3rd, Buys S. S., Chia D., Church T. R., Fouad M. N., Isaacs C., Kvale P. A., Reding D. J., Weissfeld J. L., Yokochi L. A., O'Brien B., Ragard L. R., Clapp J. D., Rathmell J. M., Riley T. L., Hsing A. W., Izmirlian G., Pinsky P. F., Kramer B. S., Miller A. B., Gohagan J. K., Prorok P. C. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2012. – Vol. 104, N 2. – P. 125–132.
49. ERSPC Investigators. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up / Schröder F. H., Hugosson J., Roobol M. J., Tammela T. L., Ciatto S., Nelen V., Kwiatkowski M., Lujan M., Lilja H., Zappa M., Denis L. J., Recker F., Páez A., Mänttinen L., Bangma C. H., Aus G., Carlsson S., Villers A., Rebillard X., van der Kwast T., Kujala P. M., Blijenberg B. G., Stenman U. H., Huber A., Taari K., Hakama M., Moss S. M., de Koning H. J., Auvinen A. // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366, N 11. – P. 981–990.
50. Screening for prostate cancer: The US Preventive Services Task Force recommendation statement / Moyer V. A., LeFevre M. L., Siu A. L., Baumann L. C., Bibbins-Domingo K., Curry S. J., Ebell M., Flores G., Cantu A. G., Grossman D. C., Herzstein J., Melnikow J., Nicholson W. K., Owens D. K., Reyes C., Wilt T. J., Calonge N., Leipzig R. // *Ann. Intern. Med.* – 2012. – Vol. 157, N 2. – P. 120–134.
51. American Cancer Society Prostate Cancer Advisory Committee. American Cancer Society guideline for the early detection of prostate cancer: update 2010 / Wolf A. M., Wender R. C., Etzioni R. B., Thompson I. M., D'Amico A. V., Volk R. J., Brooks D. D., Dash C., Guessous I., Andrews K., DeSantis C., Smith R. A. // *CA Cancer J. Clin.* – 2010. – Vol. 60, N 2. – P. 70–98.
52. Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians. Screening for prostate cancer: a guidance statement from the Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians / Qaseem A., Barry M. J., Denberg T. D., Owens D. K., Shekelle P. // *Ann. Intern. Med.* – 2013. – Vol. 158, N 10. – P. 761–769.
53. Early detection of prostate cancer: American Urological Association (AUA) guidelines / Carter H. B., Albertsen P. C., Barry M. J., Etzioni R., Freedland S. J., Greene K. L., Holmberg L., Kantoff P., Konety B. R., Murad M. H., Penson D. F., Zietman A. L. // *J. Urol.* – 2013. – Vol. 190, N 2. – P. 419–426.
54. Transatlantic Prostate Group Prognostic value of a cell cycle progression signature for prostate cancer death in a conservatively managed needle biopsy cohort / Cuzick J., Berner D. M., Fisher G., Mesher D., Møller H., Reid J. E., Perry M., Park J., Younus A., Gutin A., Foster C. S., Scardino P., Lanchbury J. S., Stone S. // *Br. J. Cancer.* – 2012. – Vol. 106, N 6. – P. 1095–1099.

Поступила 15.02.2014

От редакции: приглашаем читателей к широкой дискуссии по высказанным авторами позициям.
Редакция.

СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

РГТК – рентгенография грудной клетки
ЦИМ – цитологическое исследование мокроты

гии. По-прежнему остается актуальной задачей поиск эффективных способов индивидуального прогнозирования реакции опухоли на лучевое, лекарственное и комплексное воздействие [13].

Среди всех поднятых проблем ключевое место, конечно, занимает вопрос воздействия на ОСК, необходимость инактивации которых является непременным условием достижения успеха – как при раздельном применении лучевой и химиотерапии, так и при совместном воздействии на опухоль ионизирующей радиации и химиопрепаратов. Уже показано, что ОСК в организме возникают при мутации в нескольких ключевых генах нормальных стволовых клеток взрослого организма и, что именно они и являются причиной последующего роста злокачественного новообразования [14-17]. Эти клетки, как и другие типы стволовых клеток, обладают способностью к неравному делению, когда из двух ее потомков после деления одна клетка остается стволовой, «бессмертной» клеткой, а другая клетка, полученная при клеточном делении, сохраняет только ограниченный пролиферативный потенциал. ОСК более резистентны к действию ионизирующей радиации и химиопрепаратов, чем нормальные стволовые клетки взрослого организма, во многом из-за того, что в результате мутаций повреждаются механизмы их гибели, после нанесения радиацией или химиопрепаратами повреждений генетического аппарата (в результате повреждения *p53* блокируется развитие процесса апоптоза в ОСК новообразования, подвергнутого действию ионизирующей радиации или противораковых химиопрепаратов). Радиобиологические характеристики опухолевых стволовых клеток к настоящему времени изучены недостаточно и в основном только в опытах по однократному воздействию редкоизирующей радиации. В работах с ОСК, происходящими из нормальных стволовых клеток различных тканей, показано, что при облучении их в условиях *in vitro* и *in vivo* они характеризуются более высокой радиорезистентностью, чем нормальные аналоги. В исследованиях, которые были проведены в Медицинском радиологическом научном центре МЗ России, показано на моделях опухолевых стволовых клеток *in vivo*, полученных воздействием на нормальные стволовые клетки взрослого организма специфического канцерогена – 1,2-диметилгидразина, который повреждает *p53*, что таким образом можно значительно повысить радиорезистентность трех типов стволовых клеток взрослого организма. Это показано для лабораторных мышей и крыс – их гемопоэтических стволовых клеток, стволовых клеток эпителия кишечника и мезенхимальных стволовых клеток, что хорошо согласуется с литературными данными по радиочувствительности ОСК в клеточных культурах или в перевиваемых опухолях.

Неожиданные результаты были обнаружены нами при проведении опытов на моделях опухолевых стволовых клеток *in vivo*, полученных воздействием канцерогена на нормальные стволовые клетки взрослого организма, подвергаемых двукратному фракционированному облучению. Выявлено значительное ослабление эффекта раннего пострадиационного восстановления (так называемый «Элкаиновский тип репарации клеточных сублетальных повреждений») у этих радиорезистентных стволовых клеток. Если подобное явление будет обнаруживаться и на других типах ОСК, можно будет предложить оптимальную схему лучевой терапии резистентных форм злокачествен-

ных новообразований, при которой повышенные суточные дозы облучения должны дробиться на 2-3 фракции (например, вместо классического ежедневного фракционированного облучения по 2 Гр в течение 30 сут, до подведения к опухоли суммарной дозы в 60 Гр, что соответствует примерно 1800-2000 *ret* для нормальных тканей, попадающих в зону облучения, применять суммарное суточное облучение по 4-4,5 Гр, разделенных на 2-3 фракции, с интервалом между фракциями в 2-3 часа, с общей дозой для нормальных тканей также в 1800-2000 *ret*). Таким образом, при невысоком уровне повреждения опухолевой стромы и нормальных тканей, окружающих опухоль, будет достигаться более тяжелое радиационное повреждение ОСК, что повысит лечебный эффект проводимой лучевой терапии. В настоящее время мы проводим более расширенные предклинические исследования по данному направлению с целью получения разрешения на проведение ограниченных клинических испытаний разрабатываемых новых схем лучевой терапии, которые основываются на изучении характеристик опухолевых стволовых клеток. Актуальной задачей остается изучение радиобиологических характеристик ОСК при действии плотноионизирующей радиации, при использовании уже известных радиосенсибилизаторов (электроноакцепторные соединения, гипертермия и др.), а также в условиях сочетания лучевой терапии и воздействия известных и новых противоопухолевых препаратов. Несомненно, подобные исследования позволяют с новых позиций разработать оптимальную стратегию применения плотноионизирующей радиации и радиосенсибилизаторов, когда в качестве критерия будет использоваться получаемый в терапии выигрыш в степени усиления поражаемости ОСК. В последние годы в онкологии появился интерес к еще одному необычному и эффективному противораковому препарату, который необходимо изучить в плане возможностей его совместного применения с лучевым воздействием на резистентные формы опухолей. Речь идет о недавнем открытии выраженного противопухолевого действия у ионоформного антибиотика салиномицина, который ранее применялся в ветеринарии, а в настоящее время по разрешению FDA проходит в США клинические испытания в качестве химиотерапевтического агента при лечении больных меланомой и колоректальным раком [18-19]. Имеется только одна он-лайн-публикация [20], в которой на культуре ОСК показано, что салиномицин способен также сенсибилизировать эти клетки к действию ионизирующей радиации. Актуальной задачей является выявление радиосенсибилизирующего действия салиномицина на ОСК *in vivo*.

В случае получения положительного эффекта необходимо будет быстро провести предклинические исследования на лабораторных животных по использованию салиномицина в качестве радиосенсибилизатора при лечении резистентных форм злокачественных новообразований и на этой основе при получении положительных результатов начать клинические испытания препарата как радиосенсибилизатора (по аналогии с решением FDA можно рекомендовать провести первые клинические испытания при лечении пациентов, страдающих меланомой или колоректальным раком¹). Еще одним перспективным направлением в использовании

¹ Опухоли, которые достаточно плохо поддаются лучевой терапии.

Ю.С. Мардынский, А.Г. Коноплянников

СОВРЕМЕННЫЕ ЗАДАЧИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Юрий Станиславович Мардынский, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, руководитель отдела лучевой терапии Федерального государственного бюджетного учреждения Медицинский радиобиологический научный центр (ФГБУ МРНЦ) МЗ РФ, 249036 Обнинск, ул. Королева, 4, mardynsky@mrrc.obninsk.ru

Анатолий Георгиевич Коноплянников, д.б.н., профессор, руководитель отделения клеточной и экспериментальной лучевой терапии ФГБУ МРНЦ МЗ РФ, konopl@mrrc.obninsk.ru

В обзоре рассмотрены основные проблемы дальнейшего развития и совершенствования лучевой терапии, связанные как с техническим переоснащением используемого оборудования, так и с появлением новых представлений об ОСК как главных компонентах опухолевого роста и метастазирования, радиобиологические характеристики которых еще недостаточно изучены. Недавно полученные новые данные по радиобиологии ОСК позволяют считать перспективным направлением в создании оптимальных схем облучения возвращение к стратегии суперфракционирования. Актуальной задачей для ближайших исследований стала задача изучения характера реакции ОСК на высокоионизирующую радиацию и на применение различных радиомодификаторов с целью разработки стратегий их оптимального применения для инактивации ОСК. Другое перспективное направление в лучевой терапии связано с использованием в качестве радиосенсибилизатора нового ингибитора ОСК – препарата «салиномицин» – отдельно или в комплексе с детонационными нанодиамазами. Необходимо также расширить экспериментальное изучение эффектов совместного применения известных радиосенсибилизирующих агентов (сенсибилизаторы гипоксических клеток, гипертермия и др.) и противоопухолевых химиопрепаратов с этим новым ингибитором ОСК.

Ключевые слова: лучевая терапия, опухолевые стволовые клетки, суперфракционирование, салиномицин, детонационные нанодиамазы

In this review the main problems of further development and improvement of the radiation therapy connected both with technical re-equipment of the used equipment and with the advent of new ideas about CSC as the main components of tumor growth and metastasis, which radiobiological characteristics are still insufficiently studied, are considered. Recently obtained new data on CSC radiobiology allow to consider as the perspective direction in creation of optimum schemes of radiation therapy return to strategy of using superfractional irradiation. The actual problem for next researches in radiation therapy is task of CSC reaction on high LET radiation and on treatment by various.

Radiomodifiers for the purpose of development of strategy of their optimum application for CSC inactivation. Other perspective direction in radiation therapy is connected with use of new CSC inhibitor – preparation «salinomycin» separately or in a complex with detonation nanodiamonds as radiomodifiers during radiation therapy. It is necessary to expand also experimental studying of effects of joint application of known radiomodifiers agents (hypoxic cell sensitizers, hyperthermia, etc.) and antineoplastic chemopreparats with this new inhibitor CSC.

Key words: radiation therapy, cancer stem cells, superfractional irradiation, salinomycin, detonation nanodiamonds.

Достижения в развитии радиотерапевтической техники позволяют считать лучевую терапию высокотехнологической лечебной практикой в онкологии. Подтверждением тому являются разработка и создание новейших радиотерапевтических комплексов (Kiber Naif, Trubem, Vero, Novac TM, Gammamed, Mikroelektron HDR и PDR и др.) для фотонной и электронной терапии [1-2]. Эта аппаратура позволяет с высокой степенью корректности (конформно) планировать, реализовывать и контролировать процесс лучевого лечения при злокачественных новообразованиях различных локализаций и при этом гарантировать высокое качество лучевой терапии. Дополнительный резерв перспективного развития радиотерапевтической техники заложен в создании и совершенствовании адронных терапевтических комплексов (протонная, ионная и нейтронная терапия). Терапевтическая радиология все более тесно взаимодействует с диагностической радиологией, используемой на этапах планирования, контроля и оценки результатов лечения. Эксплуатация современных технических средств увеличивает возможности и значимость лучевой терапии в современной мультимодальной терапии при злокачественных новообразованиях. Отмеченный технический прорыв в свою очередь сопровождается получением новых данных о возможности пролонгации терапевтического эффекта в лучевой и комплексной терапии на годы путем лекарственной депрессии (курантил) про-

цесса размножения опухолевых клеток [3], а также новых сведений о возможном влиянии на резистентность к лучевой терапии, содержащихся в них опухолевых стволовых клеток, ОСК [4].

В последние годы в лучевой терапии накоплен значительный опыт по практическому использованию способов брахитерапии, сочетанного облучения, нетрадиционного фракционирования дозы, а также ряда средств физической и химической радиомодификации радиочувствительности нормальных и опухолевых тканей [2; 5–9]. Эти обстоятельства определяют необходимость радиобиологического осмысления новой ситуации, способной изменить парадигму, роль и перспективные направления лучевой терапии на современном этапе ее развития. В первую очередь это относится к необходимости обоснования схем и способов фракционирования дозы в зависимости от морфологии и чувствительности к воздействию радиации ОСК. Использование современной дорогостоящей техники представляет иные возможности для широкого внедрения новых схем фракционирования и динамического фракционирования, рационального соотношения пространственно-временного распределения дозы стереотаксического облучения, целесобразности применения таких схем при органосохранении, а также при паллиативных методах лечения больных со злокачественными новообразованиями [2; 9–12]. Их создание и исследование является ближайшей задачей терапевтической радиоло-

салиномицина и ионизирующей радиации будет применение выше предложенных схем облучения, так как в работе [20] было показано, что радиосенсибилизация салиномицином опухоли проявляется в форме усиления повреждения ДНК, т.е., удастся в этих условиях вновь достигнуть развития апоптоза – процесса, который многими ОСК был утрачен. Представляет научно-практический интерес проверить, как схема комбинации ионизирующей радиации и салиномицина будет сочетаться с такими радиосенсибилизаторами как гипертермия и электроакцепторные соединения, а также при использовании не редкоизирующей, а плотноизирующей радиации.

Недавно в нашем Центре была реализована еще одна лекарственная форма салиномицина в форме его комплексов с ДН, для которых уже ранее

была обнаружена способность значительно усиливать эффект известных противораковых химиопрепаратов и предполагается, что этот эффект обусловлен повышенным уровнем доставки препаратов в опухоль, а возможно в зоны «ниш» ОСК [21]. Можно считать перспективным изучение этих комплексов в плане совместного применения с воздействием ионизирующей радиации на резистентные формы злокачественных новообразований.

Таким образом, появление в онкологии новых технических средств реализации лучевой терапии и новых данных о наличии в новообразованиях опухолевых стволовых клеток создают реальную перспективу дальнейшего совершенствования методов лучевого и комбинированного лечения злокачественных новообразований, в том числе и их резистентных форм.

Литература

1. Давыдов М.И., Галанов А.В., Канаев С.В., Костылев В.А., Матякин Г.Г., Мардынский Ю.С., Паныпин Г.А., Ткачев С.И., Хмелевский Е.В., Юрьева Т.В. Анализ состояния и концепция модернизации радиационной онкологии и медицинской физики в России (краткое изложение). // Медицинская физика. – 2013. - №2. - С. 9-20.
2. Ткачев С.И., Глебовская В.В., Расулов А.О., Барсуков Ю.А., Царюк В.Ф., Кузьмичев Д.В., Зайченко О.С., Ягзунович И.П. Конформная лучевая терапия и ее варианты: IMRT, VMAT (RAPID ARC) с использованием симультантного интегрированного буста (SIB) в лечении ранних стадий плоскоклеточного рака анального канала. // Радиационная онкология и ядерная медицина. - 2014. - №1. – С.10-19.
3. Жаринов Г.М., Некласова Н.Ю. Лучевая терапия рака шейки матки -проблемы, перспективы. // Лучевая диагностика и терапия. - 2012. - №1. - С. 6-14.
4. Матчук О.Н., Замулаева И.А., Селиванова Е.И. и др. Чувствительность клеток SP линии меланомы В16 к действию редко- и плотноизирующего излучения. // Радиационная биология. Радиозкология. - 2012 – Т.52 - №3 - С. 1-8.
5. Материалы конференции «Нетрадиционное фракционирование дозы при лучевом и комбинированном лечении злокачественных новообразований (25-летний опыт)», 16-17 апреля 2008 г., ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск.
6. Терапевтическая радиология: руководство для врачей /под ред.А.Ф.Цыба, Ю.С.Мардынского/- М.: ООО «МК». - 2010. - 552 С.
7. Семин Д.Ю. Химиолучевая терапия плоскоклеточного рака органов орофарингеальной области. - Автореферат докт. дисс.- Обнинск, 2013.
8. Золотков А.Г., Мардынский Ю.С., Гулидов И.А., Красильников А.В., Эфендиев В.А., Вальков М.Ю. Повышение эффективности лучевой терапии рака легкого: клинические и экономические проблемы. // Радиология - Практика. - 2008. - № 3. - С. 16-20.
9. Гуменецкая Ю.В., Мардынский Ю.С., Гулидов И.А., Карякин О.Б. Результаты сравнительного анализа эффективности различных методик паллиативной лучевой терапии у больных раком мочевого пузыря. // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2014. – Т. 59. - № 2. - С. 39-46.
10. Lu W., Chen M., Chen Q., Ruchala K. Adaptive fractionation therapy: I. Basic concept and strategy. // Phys.Med.Biol. – 2008 – Vol. 53. - №19. – P. 5495-5511.
11. Unkelbach J., Craft D., Salari E., Ramakrishnan J., Bortfeld T. The dependence of optimal fractionation schemes on the spatial dose distribution. // Phys. Med. Biol. – 2013.- Vol. 58. - №1. - P. 159-167.
12. Sundström S, Bremnes R., Aasebø U. et al. Hypofractionated palliative radiotherapy (17 Gy per two fractions) in advanced non-small-cell lung carcinoma is comparable to standard fractionation for symptom control and survival: a national phase III trial. // J. Clin. Oncol. – 2004.- Vol. 22. - №5. – P. 801-810.
13. Дарьялова С.Л., Пелевина И.И., Саенко А.С. Подходы к индивидуальному прогнозированию реакции опухолей на лучевое и лекарственное воздействие. // «Медицинская радиология». 1990. - Т. 35. - №1. - С. 10-14.
14. Clarke M.F., Dick J.E. et al. Cancer stem cells - perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells. // Cancer Res. – 2006. – Vol. 66. - №19. – P. 9339-9344.
15. Macingova Z., Filip S. Cancer stem cells - new approach to cancerogenesis and treatment. // Acta Medica. - 2008. - Vol. 51. - №3. – P. 139-144.
16. Bhattacharyya S., Khanduja K.L. New hope in the horizon: cancer stem cells. // Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). - 2010. - Vol. 42. - №4. – P. 237-242.
17. Moore N., Houghton J.M., Lylel S. Slow-cycling therapy-resistant cancer cells. // Stem Cell and Development. – 2012. - Vol. 21. - №10. – P. 1822-1830.
18. Gupta P.B., Onder T.T., Jiang G. et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. // Cell. – 2009. - Vol.138. - №4. –P. 645-659.
19. Naujokat C, Steinhart R. Salinomycin as a drug for targeting human cancer stem cells. // J. Biomed. Biotechnol. - Published online Nov.21 - 2012.
20. Kim W.K., Kim J.H., Yoon K. et al. Salinomycin, a p-glycoprotein inhibitor, sensitizes radiation-treated cancer cells by increasing DNA damage and inducing G2 arrest. // Investigational New Drugs, - P. 1-8. - Published online, 2011.
21. Коноплинников А.Г. Радиобиологические основы лучевой терапии в свете новых данных о природе и характеристиках раковых стволовых клеток. // В кн.: «Радиобиологические основы лучевой терапии опухолей. Москва 19-20 ноября 2013 г., тезисы докладов». - М. – 2013. - С. 10.

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДН	– детонационными наноалмазами
ОСК	– опухолевых стволовых клетках
CSC	– cancer stem cells

ТРЕБОВАНИЯ К ПУБЛИКАЦИЯМ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА»

Журнал «Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина» 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 CD или флешь карте и распечатана в 2 экземплярах. В основном файле должны содержаться текст статьи, таблицы, подписи и надписи к рисункам, список литературы. Кроме того, на CD или флешь карте 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 и не должен 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 должна 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.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© Бадалян А. Г., Кропотов М. А., 2014

УДК 616.321-006.6-08-059:616-037

Арам Григорьевич Бадалян¹, Михаил Алексеевич Кропотов²

ОБЪЕМ ОПУХОЛИ КАК ФАКТОР ПРОГНОЗА ПРИ ХИМИО- И ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ РОТО- И ГОРТАНОГЛОТКИ

¹аспирант, отделение опухолей черепно-челюстно-лицевой области НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24)

²д. м. н., заведующий, отделение опухолей черепно-челюстно-лицевой области НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24)

Адрес для переписки: 115478 РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», отделение опухолей черепно-челюстно-лицевой области, Бадалян Арам Григорьевич;

e-mail: arams@doctor.com

У большинства больных раком глотки выявляется местнораспространенная форма болезни. В настоящее время принят комплексный подход к лечению больных раком рото- и гортаноглотки, а именно различные сочетания химио- и лучевой терапии и хирургического лечения. Для оптимизации локорегионарного контроля и результатов лечения необходим более тщательный отбор пациентов. В поисках прогностических факторов установлено, что большой объем первичной опухоли и регионарных метастазов неблагоприятно влияет на уровень местного контроля у пациентов, получающих химио- и лучевую терапию. В ходе многих исследований доказано, что у больных раком среднего и нижнего отделов глотки стадии T₃₋₄ с объемом опухоли менее 30 см³ прогноз более благоприятный, чем у больных с объемом опухоли более 30 см³. При увеличении объема опухоли на каждые 10 см³ общая выживаемость снижается на 14%, а безрецидивная выживаемость — на 13%. Таким образом, объем опухоли является важным прогностическим фактором и оказывает влияние не только на эффективность лечения, но и на общую и безрецидивную выживаемость у больных с запущенными формами рака рото- и гортаноглотки.

Ключевые слова: рак глотки, химио- и лучевая терапия, факторы прогноза, объем опухоли.

Aram Grigorievich Badalyan¹, Mikhail Alexeyevich Kropotov²

TUMOR VOLUME AS PROGNOSTIC FACTOR IN CHEMORADIATION FOR ADVANCED OROPHARYNGEAL AND HYPOPHARYNGEAL CANCER

¹MD, Postgraduate Student, Head and Neck Tumor Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

²MD, PhD, DSc, Head, Head and Neck Tumor Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

Address for correspondence: Badalyan Aram Grigorievich, Head and Neck Tumor Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478;

e-mail: arams@doctor.com

Most pharyngeal cancer patients present with locally advanced disease at diagnosis. Multimodality approach is currently used in the treatment of oropharyngeal and hypopharyngeal cancer including a variety of combinations of chemoradiation and surgery. A better selection of patients is needed to optimize locoregional control and treatment outcomes. Large size of the primary tumor and regional metastases were found poor prognostic factors for local control in patients receiving chemoradiotherapy. Multiple trials discovered that patients with stage T₃₋₄ oropharyngeal or hypopharyngeal cancer and tumor volume less than 30 cm³ had a better prognosis than those with tumors more than 30 cm³. Hazard ratio increases by 14% per every 10 cm³-increase in tumor volume for overall survival and by 13% for disease free survival. Primary tumor volume is therefore an important prognostic factor and a predictor for disease control and survival in patients with advanced oropharyngeal and hypopharyngeal cancer treated with chemoradiation, and can serve a useful tool to individualize treatment.

Key words: pharyngeal cancer, chemoradiation, prognostic factors, tumor volume.

Тактика лечения больных раком рото- и гортаноглотки

По распространенности и летальности плоскоклеточный рак глотки занимает одно из первых мест среди злокачественных опухолей головы и шеи. У большинства больных выявляется местнораспространенная и нерезектабельная форма болез-

ни [1]. Вопросам клинической картины, диагностики и лечения больных раком среднего и нижнего отделов глотки посвящено немало отечественной и зарубежной литературы. Это наиболее тяжелая и прогностически неблагоприятная форма рака, для которой характерны неспецифичность ранних клинических проявлений, сложное анатомическое

строение, большая распространенность поражения, высокая частота регионарного метастазирования, низкая чувствительность к применяемым методам лечения, необходимость прибегать к калечащим комбинированным операциям [2].

В настоящее время принят комплексный метод лечения больных раком рото- и гортаноглотки [3]. Роль ХЛТ хорошо изучена и доказана, и ХЛТ стала стандартной частью лечения больных местнораспространенным раком глотки [4]. За последнее десятилетие большое внимание уделялось поиску рациональных режимов сочетания ЛТ и ХТ [5].

Многолетний опыт клинического применения химиотерапии при опухолях головы и шеи показал, что среди лекарственных препаратов наиболее эффективны цисплатин, таксаны, цетуксимаб и 5-фторурацил в режиме одновременного или последовательного применения в сочетании с различными вариантами ЛТ [6].

Из всех вариантов ХЛТ в клинической практике наиболее распространены индукционная, одновременная и индукционно-одновременная ХЛТ [7; 8]. Результаты исследований показали, что при индукционной и одновременной ХЛТ 5-летняя выживаемость статистически значимо выше на 2–8%, чем при использовании стандартной ЛТ в виде самостоятельного лечения.

Тяжелой проблемой остается также высокая токсичность ХТ, вследствие которой 2–10% больных умирают во время лечения, а у 30–40% развиваются поздние осложнения в виде остеомиелита костей нижней челюсти, рубцово-индуративных изменений мягких тканей шеи и зачелюстных областей, тризма, ксеростомии, потери вкуса и т. д. [9].

Несмотря на это, продолжается поиск оптимальных схем сочетания ЛТ и ХТ, при этом особое внимание уделяется последовательности их применения, поиску новых лекарственных препаратов и усовершенствованию методик проведения ЛТ [10]. Большие сложности возникают при остаточной или рецидивной опухоли после радикальной ЛТ. Возможности ЛТ при этом, как правило, исчерпаны, а ХТ в условиях нарушенного местного кровотока малоэффективна. Хирурги весьма неохотно берутся оперировать таких пациентов, так как вследствие нарушения репаративной способности тканей после облучения возрастает риск тяжелых местных осложнений [11].

Так, известно, что пациентам с I и со II стадиями рака гортаноглотки может быть проведена ЛТ или ХЛТ, которая позволит сохранить функцию гортани. Напротив, при поражениях III или IVa стадии почти нет надежды на сохранение гортани и имеются существенные разногласия относительно оптимального способа лечения [12]. Часто этим пациентам рекомендуют ларингэктомию с резекцией глотки и шейную лимфодиссекцию. В большинстве случаев неудачи ХЛТ невозможно компенсировать с помощью хирургического лечения либо из-за поздней диагностики, либо из-за отказа пациентов подвергнуться операции. В этой ситуации большинство исследователей считают оправданным один тип вмешательства на первичном очаге — ларингэктомию, круговую или субтотальную резекцию гортаноглотки с первичной или отсроченной реконструкцией органа [13].

Бурное развитие микрохирургии в последние годы [14] привело к улучшению функционального эффекта пластических операций в онкологии, к созданию выстилки из слизистой оболочки органов брюшной полости (желудок, тонкая или толстая

кишка) вплоть до формирования неозофагуса из большой кривизны желудка у больных первичным раком гортаноглотки при ларингофарингозофагэктомии. В последние годы при реконструкции глоточного дефекта после онкологических операций предпочтение отдается свободным кожно-фасциальным лоскутам [15]. При этом частота послеоперационных осложнений намного ниже, чем при использовании других типов лоскутов (до 13%). Однако и применение лоскутов не решает таких ключевых вопросов, как достижение адекватной мышечной перистальтики и восстановление слизистого слоя внутренней выстилки глотки. Таким образом, лечение злокачественных опухолей гортаноглотки в плане улучшения непосредственных и отдаленных результатов остается одной из самых трудных и в значительной степени нерешенных задач онкологии.

До последнего времени пациенты с опухолями ротоглотки, локализованными в области корня языка, считались группой с неблагоприятным прогнозом. Исключения составляли больные с опухолями небных миндалин T₁₋₂ при N₀₋₁. При T₃₋₄ ожидался ранний рецидив первичной опухоли [16]. Тем не менее благодаря комбинации хирургического и лучевого лечения удалось повлиять на выживаемость данной группы больных. Следует также отметить, что комбинация ХТ и ЛТ открывает пути для органосохраняющего подхода, т. е. позволяет избежать инвалидизирующего вмешательства. В настоящее время методы визуализации дают возможность гораздо точнее определить распространенность процесса, а комбинация ЛТ с последующей операцией позволяет повысить выживаемость.

В последнее время при раке глотки применяются так называемые «спасательные» операции, направленные на облегчение страданий и на увеличение продолжительности жизни больных [10]. Спасательные операции используются как в качестве самостоятельного метода, так и в качестве составной части комбинированного или комплексного лечения. При единичных смещаемых регионарных метастазах выполняют функциональную шейную диссекцию (фасциально-фулярное иссечение клетчатки шеи) [17]. При ограниченно-смещаемых и несмещаемых или множественных поражениях лимфатических узлов шеи применяют радикальную шейную диссекцию (операция Крайла, G.W.Crile). При двусторонних метастазах проводят хирургическое вмешательство с обеих сторон. Хирургическое вмешательство на шее осуществляют одновременно с операцией на первичном очаге или отдельно, в более поздние сроки [17]. Спасательные операции выполняют после окончания ХЛТ. Срок операции в зависимости от характера неудач (остаточная, рецидивная опухоль) колеблется от 1–2 до 25 мес или более после ХЛТ.

Таким образом, спасательные хирургические вмешательства после радикальных курсов ЛТ или ХЛТ являются одним из важных компонентов мультидисциплинарного подхода к планированию лечения и лечению больных с местнораспространенными новообразованиями головы и шеи. Использование хирургических методов у больных с остаточными или рецидивными опухолями после радикальных курсов ХЛТ местнораспространенного плоскоклеточного рака глотки позволило оказать эффективную помощь этому тяжелому контингенту больных и дополнительно увеличить продолжительность их жизни при допустимых показателях частоты послеоперационных осложнений.

Современные методы диагностики опухолевых поражений глотки и их регионарных метастазов

Диагностика рака гортаноглотки на ранних стадиях – безусловный прогностический фактор эффективности последующего лечения. Традиционные клинические и инструментальные методы обследования не всегда обеспечивают успешную диагностику, чем и обусловлена необходимость поиска новых методов, которые способствовали бы как своевременному выявлению поражения у первично обратившихся пациентов, так и обнаружению остаточной опухоли или рецидива после нехирургических методов лечения [18]. В настоящее время к традиционным методам диагностики, применяемым при подозрении на рак среднего и нижнего отделов глотки, относятся прямая и непрямая ларингоскопия, эндобриброскопический осмотр верхних дыхательных путей, УЗКТ, рентгеновское исследование гортаноглотки и пищевода с бариевой взвесью, линейная томография гортани и боковая рентгенография шеи, МСКТ и МРТ.

Эндоскопическое исследование используется для визуальной диагностики патологии верхних дыхательных путей и для получения материала для цитологического, гистологического и молекулярного исследований. Полный эндобриброскопический осмотр верхних дыхательных путей включает переднюю и заднюю риноэпифарингоскопию и осмотр нижележащих отделов глотки и гортани [19].

УЗКТ имеет большое значение для выявления метастатического поражения регионарных лимфатических узлов шеи. Специфичность метода в выявлении и дифференциальной диагностике поражения лимфатических узлов колеблется от 30 до 100% и во многом зависит от качества аппаратуры и опыта исследователя. УЗКТ позволяет обнаружить даже непальпируемые метастазы в лимфатических узлах шеи [20].

В начале 80-х гг. прошлого столетия были предприняты первые попытки применения рентгеновского КТ у больных раком гортани или гортаноглотки. Однако низкая разрешающая способность аппаратуры и невозможность ее широкого использования явились причинами, не позволившими методу занять место в алгоритме обследования больных раком гортани и гортаноглотки. Сегодня, спустя более 30 лет, МСКТ активно используется в различных областях медицины. Появились новые сообщения о возможностях применения МСКТ при раке гортани и гортаноглотки [21]. В нашей стране специальные исследования, посвященные роли МСКТ в диагностике рака гортани и гортаноглотки, практически не проводились.

Получаемая при раке рото- и гортаноглотки картина МСКТ зависит от формы роста опухоли. При раке гортаноглотки опухоль характеризуется преимущественно инфильтративным или смешанным ростом и в 94,4% случаев активно накапливает контрастный препарат, что позволяет оценить протяженность поражения. МСКТ с внутривенным болюсным контрастированием является также высокоинформативным методом лучевой диагностики метастатического поражения регионарных лимфатических узлов.

Указанные методы позволяют отчетливо визуализировать костные структуры и мягкие ткани шеи и глотки и максимально точно оценить не только объем и распространенность первичного опухолевого очага в глотке и метастазов в регионарных лимфатических узлах шеи, но и состояние

окружающих анатомических образований (гортани, пищевода, трахеи и др.) и магистральных сосудов шеи [18].

Прогностическое значение объема опухоли при местно-распространенном раке рото- и гортаноглотки

Для оптимизации локорегионарного контроля и повышения эффективности лечения запущенных опухолей необходим более тщательный отбор пациентов [12; 22]. Основным прогностическим фактором эффективности лечения и продолжительности жизни долго считалась стадия заболевания по системе TNM [23]. Оказалось, однако, что этого недостаточно, так как стадии T₃ и T₄ не полностью отражают картину опухолевого процесса. В поисках других прогностических факторов ученые обратили внимание на объем первичной опухоли и регионарных метастазов.

Было установлено, что чем больше объем опухоли, тем ниже эффективность местного контроля у пациентов, получавших ХЛТ. В ходе обсуждения значения объема опухоли были затронуты и некоторые вопросы о слабости классификации TNM для опухолей головы и шеи [24]. Однако роль объема опухоли как прогностического фактора при ХЛТ пока остается неясной.

Планирование лечения больных раком головы и шеи основано на нескольких факторах: индивидуальных особенностях больного и объеме и распространенности опухоли. Система определения стадии процесса предполагает оценку объема и распространенности первичной опухоли и регионарных метастазов, а также выявление отдаленных метастазов. Обычно опухоль измеряют по самой длинной оси, а в некоторых случаях – по перпендикулярной оси. При анализе объема поражений стадии T₃ или T₄ выявляются значительные различия распространенности опухоли [25].

Целью ряда исследований было определение прогностической ценности волюметрического анализа опухоли и регионарных метастазов для продолжительности жизни и местного контроля при органосохраняющем лечении пациентов с III–IVa стадиями рака рото- и гортаноглотки. Необходимо было определить, представляет ли волюметрический анализ ценность для выявления пациентов с неблагоприятным прогнозом. Результаты исследований послужат основой для разработки новых стратегий интенсивного лечения таких пациентов.

Проблема изучения объема опухоли как фактора прогноза не нова. Важность объема опухоли как прогностического фактора была ранее признана для рака других локализаций [26; 27]. Еще в 2004 г. А. К. Cangir и соавт. [28] показали значение объема опухоли при немелкоклеточном раке легкого на большом клиническом материале (n = 550). В результате исследования был определен пороговый объем опухоли, влияющий на общую выживаемость. При объеме до 25 см³ общая выживаемость составила 45,9%, при объеме более 25 см³ – 31,4%. Отметим также исследование Н. Н. Chung и соавт. [29], в котором участвовали 63 пациентки со II стадией рака шейки матки. В ходе этого исследования было доказано, что при объеме опухоли 23,4 см³ или более прогноз хуже, чем в остальной группе.

За последние 10 лет выполнено более 20 работ по изучению объема опухоли как прогностического фактора при местнораспространенном раке глотки, но лишь некоторые исследования выявили роль первичного объема опухоли при ХЛТ.

Считается, что любое сопутствующее лечение (в данном случае ХТ) значительно повышает токсичность и нагрузку на организм пациента. Чтобы избежать этого, можно рассматривать альтернативные варианты лечения, такие, как индукционная ХТ, гиперфракционированная ЛТ или комбинация ЛТ с другими лекарственными препаратами. Для пациентов, у которых прогнозируется благоприятный ответ, могут быть разработаны стратегии, направленные на снижение токсичности и уменьшение числа побочных эффектов.

В одном из ранних сообщений G. B. Van Den Broek и соавт. [30], основанном на небольшом исследовании, на номограмме, которая включала первоначальный объем опухоли, предложены критерии отбора пациентов для одновременного проведения ЛТ и ХТ. Обследовав 64 больных запущенным раком головы и шеи, которым проводилась одновременная ХЛТ, I. Doweck и соавт. [31] определили, что первичный объем опухоли был единственным значимым фактором прогноза рецидивов и продолжительности жизни больных с объемом опухоли менее $19,6 \text{ см}^3$. G. Studer и соавт. [32] использовали для определения различных прогностических подгрупп среди 172 больных раком головы и шеи средние объемы 15 и 70 см^3 . Этот метод оказался более информативным, чем определение стадии по TNM, в прогнозировании результата.

Современные методы лучевой диагностики позволяют довольно точно определять объем опухоли. Для оценки объема опухоли многие авторы используют сканограммы МРТ или МСКТ. Для очерчивания опухоли в приведенных исследованиях предпочтение отдавалось магнитно-резонансным томограммам, а из компьютерных томограмм рассматривались только томограммы хорошего качества – контрастно-улучшенные и с высоким разрешением.

Возможности методов визуализации для определения объема опухоли активно обсуждаются в литературе. Одна из проблем состоит в том, что включение в измеряемый объем смежного, связанного с опухолью отека может быть источником ошибки. Как сообщают А. А. Mancuso и соавт. [33], устранение этого фактора делает возможным более точное измерение объема. Точное измерение объема опухоли необходимо, во-первых, при обсуждении вопроса о возможности хирургического вмешательства и схемах сохранения гортани, а во-вторых, для выявления пациентов с большими опухолями, нуждающихся в агрессивной комбинированной терапии или в высоких дозах облучения.

Самое крупное исследование в этом направлении было выполнено голландскими учеными в 2010 г. [22] у 360 первичных больных с опухолями полости рта, рото- и гортаноглотки, прошедших разные режимы ХЛТ в период с 1997 по 2006 г. Стадия процесса была ограничена III и IV (M_0) по TNM. У исследователей имелись результаты выполненных до лечения КТ и МРТ, использовавшиеся для измерения объема опухоли, который колебался от 2,1 до $182,7 \text{ см}^3$. Объем опухоли значительно повлиял на общую выживаемость. Авторами отмечено, что при увеличении объема опухоли на 10 см^3 общая выживаемость снижается на 14% (95% ДИ 9–19%), безрецидивная – на 13% (95% ДИ 8–18%), частота отдаленных метастазов повышается на 14% (95% ДИ 5–24%).

На основе всех наблюдений авторы предлагают, чтобы для запущенных опухолей (T_{3-4}) система TNM учитывала объем опухоли и за средний объем был принят объем 30 см^3 . Эта цифра близка

к сокращенному объему $29,7 \text{ см}^3$, который обнаружили I. Doweck и соавт. [31] в своей подгруппе больных орофарингеальным раком, встречающимся более чем у 60% наших пациентов. Пятилетняя безрецидивная выживаемость пациентов с опухолями T_3 и объемом опухоли менее 30 см^3 составляет 81,8%. Эти опухоли могут быть реклассифицированы как опухоли T_{3a} , а большие (более 30 см^3) опухоли T_3 с менее благоприятным прогнозом могут быть реклассифицированы как опухоли T_{3b} .

В результате больные раком T_{3-4} с объемом опухоли менее 30 см^3 составили группу с благоприятным прогнозом, для которой может быть приемлемо ХЛТ с сохранением гортани.

Обсуждение

До сих пор стадия TNM была главным прогностическим фактором при лечении местнораспространенного рака рото- и гортаноглотки. Но одной и той же стадии этой системы могут соответствовать опухоли разного объема [22; 34].

Поскольку нехирургические органосохраняющие методы, такие как ХЛТ, получают все большее признание и становятся стандартом лечения больных с разными типами опухолей, необходима более специализированная, нестандартная оценка опухоли до лечения.

Сделаны попытки идентифицировать другие рентгенологические и клинические признаки в качестве прогностических факторов. Однако точность этих признаков остается сомнительной, и лишь немногие из них протестированы для прогнозирования при ХЛТ. Проводятся исследования с целью выявления прогностически значимых генетических и молекулярных маркеров [35].

Клиническая ценность новых разработок еще не установлена, и до настоящего времени не определены надежные методы идентификации пациентов, у которых может быть получен ответ на ХЛТ.

В нашем сообщении первичный объем опухоли был надежным прогностическим фактором, определявшим результат лечения большой группы больных с запущенным раком глотки, получавших ХЛТ. Несмотря на успехи, ученые признали некоторые недостатки проведенных исследований.

Во многих учреждениях решение о тактике лечения пациентов со стадией III–IVA рака глотки принимается в зависимости от локализации опухоли и состояния и предпочтений самого пациента. В 2008 г., согласно протоколам NCCN для рака гортаноглотки, сообщалось, что ХЛТ в сочетании со спасательной операцией или без нее могла быть методом лечения больных с опухолью T_2 – T_{4a} с регионарными метастазами в лимфатических узлах шеи или без метастазов.

Клинические критерии, используемые для определения стадии опухоли по системе TNM, основываются как на локализации, так и на диаметре новообразования. Поэтому неудивительно, что объемы опухоли и статус T в некоторой степени коррелируют.

Поражение подслизистого слоя или невидимое глубокое распространение опухоли может привести к погрешностям при расчете объема опухоли. Кроме того, статус T не всегда правильно отражает картину при больших опухолях из-за нечетких границ и неправильной формы [12]. Эти факторы могут служить объяснением значительного расхождения статусов T по объему опухоли.

Заключение

Таким образом, измерение объема опухоли может быть использовано для индивидуализации лечения. Предполагаемые исследования с измерением объема опухоли необходимы, чтобы внедрить этот метод в клиническую практику. По нашему мнению, выбирая тактику лечения, следует принимать во внимание объем опухоли. Вопрос о том, как осуществить такой подход в повседневной клинической практике, выходит за рамки этого сообщения, но, несомненно, это следующий вопрос, на который надо обратить внимание.

Первичный объем опухоли – важный прогностический фактор и показатель контроля за

болезнью и выживаемостью у больных запущенным раком рото- и гортаноглотки, которые получали ХЛТ.

При запущенных опухолях недостаточно определения стадии по TNM для прогнозирования результатов новых многомодальных стратегий лечения. Эти факты можно использовать при отборе пациентов для лечения, что позволит улучшить его результаты и снизить токсичность.

Таким образом, улучшение непосредственных и отдаленных результатов лечения злокачественных опухолей рото- и гортаноглотки остается одной из самых трудных и в значительной степени нерешенных задач онкологии.

Литература

1. Матякин Е. Г., Алферов В. С. Химиотерапия опухолей головы и шеи // Материалы Второй Российской онкологической конференции. – М., 1998. – С. 54–56.
2. Шарипов А. А. Выбор лечебной тактики при раке гортаноглотки: Дис... канд. мед. наук. – Бишкек, 2008. – 112 с.
3. Пачес А. И. Опухоли головы и шеи. 4-е изд. – М.: Практическая медицина, 2013. – 478 с.
4. Ткачев С. И. Современные тенденции в развитии лучевой терапии злокачественных новообразований // III съезд онкологов и радиологов СНГ. – Минск, 25–28 мая 2004. – С. 353–354.
5. Тюляндин С. А. Молекулярные мишени и результаты современной химиотерапии солидных опухолей // Онкология на рубеже XXI века. Возможности и перспективы. – М., 1999.
6. 5-year results of cisplatin and fluorouracil infusion in head and neck cancer / Jacobs J. R., Fu K. K., Lowry L. D., Scotte Doggett R. L., Pajak T. F., Al-Sarraf M. // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 1991. – Vol. 117, N 1. – P. 288–291.
7. Licita L., Locati L. D., Beroggi C. Primary chemotherapy (pCT) followed by concomitant chemoradiotherapy (CT/RT) in advanced oropharyngeal and hypopharyngeal cancer // Ann. Oncol. – 2000. – Vol. 11, Suppl. 4. – 405PD.
8. Gaspar C., Pesudo C., Arribas L. Induction chemotherapy (ICT) followed by concomitant chemoradiotherapy (CT/RT) for advanced squamous cell carcinomas of head and neck (SCCHN) // 27th European Society of Medical Oncology Congress, 18–22 Oct. 2002, Nice, France, abst. – 560 p.
9. Buentzel J., Glatzel M., Frohli D. Late toxicities due to multimodal treatment of head and neck cancer (HNC) // Rad. Oncol. – 2004. – Vol. 73, suppl. 1. – abst. 716.
10. Алиева С. Б. Химиолучевая терапия местнораспространенного плоскоклеточного рака глотки: Дис... д-ра мед. наук. – М., 2013. – 169 с.
11. Жарков О. А. Эффективность хирургического лечения больных раком полости рта и ротоглотки после радикальной лучевой терапии: Дис... канд. мед. наук. – М., 2007. – 133 с.
12. Prognostic impact of tumor volume in patients with stage III–IVa hypopharyngeal cancer without bulky lymph nodes treated with definitive concurrent chemoradiotherapy / Chen S. W., Yang S. N., Liang J. A., Lin F. J., Tsai M. H. // Head Neck. – 2009. – Vol. 31, N 6. – P. 709–716.
13. Трофимов Е. И. Хирургические аспекты лечения больных первичным раком гортаноглотки: Дис... д-ра мед. наук. – М., 2003. – 318 с.
14. Reconstruction of the pharynx and cervical esophagus using ileocolic free autograft / Sartoris A., Succo G., Mioli P., Merlino G. // Am. J. Surg. – 1999. – Vol. 178, N 4. – P. 316–22.
15. Hayden R. E. Reconstruction of the Hypopharynx and Cervical Esophagus // Otolaryngology – head and neck surgery. – St. Louis, 1993.
16. Рак ротоглотки: аспекты хирургического лечения / Кропотов М. А., Епихина А. В., Удинцов Д. К., Ильяев К. Д. // Вестн. оториноларингол. – 2013. – № 6. – С. 13–17.
17. Айдарбекова А. А. Современная стратегия лечения регионарных метастазов при раке гортани, гортаноглотки, слизистой оболочки полости рта и ротоглотки: Дис... д-ра мед. наук. – М., 2007. – 286 с.
18. Васильев П. В. Мультиспиральная рентгеновская компьютерная томография в диагностике рака гортани и гортаноглотки: Дис... д-ра мед. наук. – М., 2010. – 228 с.
19. Михайлова Н. А. Уточняющая диагностика рака носоглотки: Дис... канд. мед. наук. – М., 2006. – 141 с.
20. Аллахвердиева Г. Ф. Возможности комплексной ультразвуковой томографии в диагностике и оценке эффективности противоопухолевого лечения метастазов в регионарных лимфатических узлах при опухолях головы и шеи: Дис... канд. мед. наук. – М., 2006. – 150 с.
21. Computed tomographic volumetric analysis as a predictor of local control in laryngeal cancers treated with conventional radiotherapy / Hamilton S., Venkatesan V., Matthews T. W., Lewis C., Assis L. // J. Otolaryngol. – 2004. – Vol. 33, N 5. – P. 289–294.
22. Tumor Volume As Prognostic Factor In Chemoradiation For Advanced Head And Neck Cancer / Kneijens J. L., Hauptmann M., Pameijer F. A., Lewis C., Assis L. // Head Neck. – 2011. – Vol. 33, N 3. – P. 375–382.
23. Sobin L.H., Wittekind Ch. UICC TNM classification of malignant tumours. – 7th ed. – New York: Wiley-Liss Press, 2011.

24. Volumetric staging (VS) is superior to TNM and AJCC staging in predicting outcome of head and neck cancer treated with IMRT / Studer G., Lutolf U. M., El-Bassiouni M., Rousson V., Glanzmann C. // *Acta Oncol.* – 2007. – Vol. 46. – P. 386–394.
25. Tongue carcinoma: tumor volume measurement / Chong V. F., Zhou J. Y., Khoo J. B., Huang J., Lim T. K. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2004. – Vol. 59, N 1. – P. 59–66.
26. Narayan K., Fisher R., Bernshaw D. Significance of tumor volume and corpus uteri invasion in cervical cancer patients treated by radiotherapy // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2006. – Vol. 16. – P. 623–630.
27. Prognostic factors for survival in stage III non-small-cell lung cancer treated with definitive radiation therapy: impact of tumor volume / Basaki K., Abe Y., Aoki M., Hatayama Y., Nakaji S. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2006. – Vol. 64. – P. 449–454.
28. Prognostic value of tumor size in non-small cell lung cancer larger than five centimeters in diameter / Cangir A. K., Kutlay H., Akal M., Güngör A., Ozdemir N., Akay H. // *Lung Cancer.* – 2004. – Vol. 46, N 3. – P. 325–331.
29. Prognostic value of metabolic tumor volume measured by FDG-PET/CT in patients with cervical cancer / Chung H. H., Kim J. W., Han K. H., Eo J. S., Kang K. W., Park N. H., Song Y. S., Chung J. K., Kang S. B. // *Gynecol. Oncol.* – 2011. – Vol. 120, N 2. – P. 270–274.
30. Van Den Broek G. B., Rasch C. R., Pameijer F. A. Pretreatment Probability Model For Predicting Outcome After Intraarterial Chemoradiation For Advanced Head And Neck Carcinoma // *Cancer.* – 2004. – Vol. 101. – P. 1809–1817.
31. Doweck I., Denys D., Robbins K. T. Tumor Volume Predicts Outcome For Advanced Head And Neck Cancer Treated With Targeted Chemoradiotherapy // *Laryngoscope.* – 2002. – Vol. 112. – P. 1742–1749.
32. Volumetric staging (VS) is superior to TNM and AJCC staging in predicting outcome of head and neck cancer treated with IMRT / Studer G., Lutolf U. M., El-Bassiouni M., Rousson V., Glanzmann C. // *Acta Oncol.* – 2007. – Vol. 46. – P. 386–394.
33. Preradiotherapy Computed Tomography As A Predictor Of Local Control In Supraglottic Carcinoma / Mancuso A. A., Mukherji S. K., Schmalfuss I., Mendenhall W., Parsons J., Pameijer F., Hermans R., Kubilis P. // *J. Clin. Oncol.* – 1999. – Vol. 17. – P. 631–637.
34. Primary tumor volume is an important predictor of clinical outcomes among patients with locally advanced squamous cell cancer of the head and neck treated with definitive chemoradiotherapy / Strongin A., Yovino S., Taylor R., Wolf J., Cullen K., Zimrin A., Strome S., Regine W., Suntharalingam M. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2012. – Vol. 82, N 5. – P. 1823–1830.
35. Molecular marker profiles predict locoregional control of head and neck SCC in a randomized trial of continuous hyperfractionated accelerated radiotherapy / Buffa F. M., Bentzen S. M., Daley F. M., Dische S., Saunders M. I., Richman P. I., Wilson G. D. // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – P. 3745–3754.

Поступила 17.04.2014

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДИ	– доверительный интервал
КТ	– компьютерная томография
ОВ	– общая выживаемость
ХЛТ	– химио- и лучевой терапии
МРТ	– магнитно-резонансная томография
МСКТ	– мультиспиральная рентгеновская компьютерная томография
ЛТ	– лучевая терапия
УЗКТ	– ультразвуковая компьютерная томография
ХТ	– химиотерапия
NCCN	– National Comprehensive Cancer Network

В.Е. Шевченко¹, Н.Е. Арноцкая², Н.Е. Левченко³, К.П. Лактионов⁴**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОТЕОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
В ИДЕНТИФИКАЦИИ НОВЫХ БИОМАРКЕРОВ РАКА ЭНДОМЕТРИЯ**¹Профессор, д. б. н., заведующий лабораторией онкопротеомики ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе 24)²С.н.с. лаборатории онкопротеомики ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»³Профессор, д. м. н., в.н.с. хирургического отделения № 8 НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»⁴Профессор, д. м. н., заведующий хирургического отделения № 8 НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

В настоящее время фундаментальные исследования в онкологии сфокусированы на поиске новых потенциальных маркеров опухолевого роста и рациональных подходов к противоопухолевой терапии. Современные методы масс-спектрометрии и протеомные технологии широко применяются для обнаружения онкомаркеров. Постоянный поиск, идентификация биомаркеров рака эндометрия, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью, является перспективным направлением в медицине. Обнаружение новых маркеров позволит проводить скрининг, диагностику доклинических форм заболевания, оценку эффективности проводимой терапии, уменьшить риск возникновения рецидивов и метастазов заболевания.

Ключевые слова: рак эндометрия, протеомика, масс-спектрометрия, биомаркеры

**Известные биомаркеры
и их комбинации для ранней диагностики
и прогноза рака эндометрия**

В настоящее время в мире растет заболеваемость раком тела матки, что можно объяснить увеличением средней продолжительности жизни и нарастанием частоты таких «заболеваний цивилизации», как ановуляция, хронический гиперэстрогенизм, бесплодие, миома матки и эндометриоз, которые часто сочетаются с нарушениями эндокринной функции и обмена веществ (метаболический синдром, сахарный диабет, гиперинсулинемия, гиперлипидемия). Что часто приводит к развитию синдрома нарушений в репродуктивной, обменной и адаптационных системах организма. Практически во всех странах мира заболеваемость РЭн за последние 2 десятилетия возросла и составляет 15,3–23,5 на 100 000 населения. Современные исследования и наблюдения доказали прямую связь роста заболеваемости РЭн и возраста пациенток. По данным МАИР в 2007 г. в России противоопухолевое лечение по поводу РЭн было проведено 5,5 % женщин в возрасте до 45 лет. В структуре заболеваемости женщин злокачественными новообразованиями РЭн занимает 2 ранговое место в возрастной группе 55–69 лет и 3 место в возрастной группе 40–54 года [1]. РЭн является причиной смерти 9–10 женщин из 100 000 женского населения в мире. Результаты статистического прогнозирования свидетельствуют о дальнейшем росте заболеваемости [2].

В настоящее время не существует никаких утвержденных диагностических и прогностических маркеров РЭн. Например, пациентки с рецидивами болезни обнаруживаются только после манифестации РЭн. Следовательно, актуальны поиск и идентификация высокочувствительных и специфичных маркеров РЭн для скрининга, диагностики доклинических форм заболевания, оценки эффективности проводимой терапии с целью уменьшения риска возникновения рецидивов и метастазов заболевания. По данным ряда авторов некоторые биомаркеры имеют связь с РЭн. Например, гиперэкспрессия белков p53, HIF – HIF-1α, HIF-2α, Ki-67, VEGF, EGFR, ErbB-1 и HER2/neu коррелирует с прогрессией РЭн [4]. Повышенные уровни маркеров СА-125, СА-15-3 и СА 19-9 коррелируют с размером опухоли, стадией заболевания и продолжительностью жизни пациенток [5-6]. При РЭн повышена экспрессия IL-6, TGF-α, MMP-7, SCC-A [7-10] и снижена экспрессия AFP, adiponectin [11-12]. Ранее показано участие MMP-9, adiponectin и FSH в развитии РЭн [13-15].

В сыворотке крови больных РЭн в сравнении с контрольной группой были значительно увеличены уровни экспрессии ряда белков: IL-6, MIP-1α, MIP-1β, tumor necrosis factor receptor superfamily member 1, interleukin 2 receptor, insulin-like growth factor binding protein – I, TSH, prolactin, growth hormone, adrenocorticotrophic hormone, CA 125, CA 19-9, TGFα, MMP-7, MICA, SCC-A [16]. Снижены уровни белков: eotaxin, VEGF, ErbB2, EGFR, AFP, mesothelin, FSH, lysyl hydroxylase, CD40L, sVCAM-1, sICAM-1, tPAI-1, MPO, adiponectin, MMP-2,3,8,9, UL-16 binding protein -1,3, transthyretin и soluble fas ligand (sFasL). Кроме того, уровни CA-125, CA 15-3 и carcinoembryonic antigen были выше у больных III стадией РЭн [16].

Новой парадигмой увеличения чувствительности и специфичности диагностических тестов является использование одновременно нескольких известных маркеров. Предпринимались попытки применить для диагностики РЭн комбинации нескольких маркеров, изменяющих экспрессию при РЭн. В сравнительном исследовании Zhang A.M. et al. [17] показали, что средние уровни CA-125 и HE-4, в сыворотке были значительно выше при РЭн, по сравнению с гиперплазией и нормальным эндометрием. При специфичности 95 % для РЭн чувствительность для HE-4, CA-125 и их комбинации составила 41,1; 22,6 и 46,0%, соответственно. Отмечено увеличение экспрессии этих белков в сыворотке крови при переходе от больных с I-II к пациенткам с III-IV стадии РЭн. Farias-Eisner G. et al. [18] проверили диагностическую эффективность для РЭн комбинации трех серологических маркеров рака яичников – apolipoprotein-1, prealbumin и transferrin. Набор этих биомаркеров разделял нормальный эндометрий от образцов ранней и поздней стадий РЭд с чувствительностью 71/82 % и специфичностью 88/86 %, соответственно. Из вышесказанного следует, что использование комбинации биомаркеров является перспективным подходом к диагностике РЭн.

В этом обзоре мы кратко рассмотрим протеомные технологии, используемые для поиска потенциальных маркеров РЭн, обсудим трудности работы с биологическими образцами, проведем анализ современных протеомных исследований в данной области.

Протеомика и рак

Основная цель протеомики рака (онкопротеомики) – поиск и анализ изменений в протеоме че-

ловека, которые могут потенциально привести к развитию злокачественной опухоли. Функциональные продукты генов – белки (протеом) – ответственны за многие структурные компоненты клеток и межклеточные взаимодействия. Они регулируют ключевые сигнальные пути, инициирующие клеточное деление, дифференцировку, апоптоз и другие клеточные процессы. Нарушения нормальных физиологических клеточных функций в результате различных заболеваний изменяют профили экспрессии и структуру белков. Это особенно важно учитывать при исследовании рака, где модификации в белках (например, сверх-экспрессия, полиморфизм и пост-трансляционные изменения) могут вносить специфический вклад в патогенез болезни и представлять новые мишени для диагностики и терапии [19]. Поэтому одна из первостепенных задач онкопротеомики связана с изучением белкового профиля нормальных и трансформированных клеток для выявления изменений в уровне экспрессии и структуре белков. Другая важная задача – качественный и количественный анализ ДЭ белков в данной опухолевой ткани, биологических жидкостях в сравнении со здоровыми аналогами на различных стадиях заболевания – от преднеоплазии до неоплазии. Решение этих задач в первую очередь направлено на поиск маркеров опухолевого роста.

Учитывая сложную природу рака, а также для сведения к минимуму ложноположительных и ложноотрицательных результатов, осуществляется поиск групп специфических маркеров в различных биологических образцах (тканях, биологических жидкостях, клеточных культурах).

Особенности работы с биологическими образцами

Биологические жидкости, например, плазма крови, легко собираются практически неинвазивным способом, а потому широко используются в клинической практике. Однако широкий динамический диапазон концентраций белков и преобладание в плазме высокопредставленных белков (ВПБ, белки с высокими уровнями концентраций) создают трудности для анализа и идентификации низкопредставленных белков (НПБ, белки с низкими уровнями концентраций), к которым относятся маркеры РЭн [20]. Преодолеть эти трудности можно, используя образцы жидкостей, выделяемые отдельными органами [21], однако, все эти жидкости содержат ВПБ плазмы, которые должны быть удалены до анализа [22]. Следовательно, предварительное фракционирование белков – важная составляющая для любого протеомного анализа биологических жидкостей. Для удаления ВПБ или обогащения отдельных классов протеинов используются изоэлектрофокусирование, хроматография, иммунные методы, аффинная хроматография [23].

Для поиска маркеров РЭн используются образцы опухолевой ткани. Несмотря на относительно простой способ их получения (диагностическое выскабливание, биопсия), биомаркеры, найденные в ткани, в отличие от маркеров биологических жидкостей, трудно использовать в качестве рутинного клинического теста. Кроме того, в протеомах тканей преобладают структурные клеточные белки [24], которые должны быть удалены еще до анализа. Необходимо учитывать тот факт, что ткани репродуктивных органов, в частности, эндометрия, относительно неоднородны, а типы клеток в пределах одного образца очень вариабельны [25]. В этой связи в ряде исследований активно используется

лазерная микродиссекция, уменьшающая гетерогенность образца для протеомного анализа [26]. Для изучения циклических изменений ткани эндометрия используют образцы на различных стадиях менструального цикла [27]. Таким образом, для успешного протеомного анализа тканей репродуктивных органов необходим тщательный выбор образца и стратегии фракционирования белков.

Протеомные технологии, используемые для открытия маркеров рака эндометрия

Идентификация белков, связанных с процессами онкогенеза, стала возможна после разработки современных методов подготовки образцов, развития технологических платформ для их высокоэффективного разделения, появления высокочувствительных масс-спектрометрических (MS, mass spectrometry) методов, их идентификации в комплексе с биоинформационным анализом.

В исследованиях РЭн чаще всего используются такие протеомные технологии, как иммуноферментный анализ ELISA, двумерный гель-электрофорез (2-DE, two-dimensional gel electrophoresis), дифференциальный электрофорез в геле (DIGE, difference gel electrophoresis), времяпролетная масс-спектрометрия с усиленной поверхностью лазерной десорбции/ионизацией (SELDI-TOF-MS, surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry), времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF-MS, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry), многомерная жидкостная хроматография – тандемная масс-спектрометрия (LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry).

Эти технологии применялись для элиминации маркерных белков при сравнении образцов случая и контроля (например, образцов сыворотки крови больных РЭн и контрольной группы) или для изучения молекулярных механизмов, вовлеченных в онкогенез РЭн.

Другие более современные методы пока находят ограниченное применение, например, MALDI-MS изображения (MALDI-MSI, matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric imaging) [28].

Использование протеомных методов позволяет идентифицировать ДЭ-белки, которые могут являться потенциальными маркерами РЭн. Выполнение протеомного картирования биологических образцов от отдельных пациентов открывает перспективу для использования персонализированной терапии [29]. Современные масс-спектрометрические методы позволяют проводить секвенирование белков, анализировать их посттрансляционные модификации, изучать белковые взаимодействия и другие фундаментальные аспекты онкогенеза. В качестве биологических образцов обычно используют хирургический и биопсийный материалы (опухолевую и нормальную ткань) с обработкой или без обработки лазерной микродиссекцией (LCM, laser capture microdissection). Можно использовать предварительно фракционированную сыворотку/плазму крови, мочу, культуры опухолевых клеток. По мере развития протеомных технологий, которые становятся все более сложными, обозначились ряд ключевых требований для проведения успешного исследования. Воспроизводимость результатов и тщательная унифицированная подготовка образцов – ключевые факторы при идентификации биомаркеров [30].

Для валидации потенциальных биомаркеров, идентифицированных протеомными методами, используется иммуноферментный анализ, вестерн-блоттинг, иммуногистохимическое окрашивание и ПЦР в реальном времени.

Новая технология мультиплексного иммунологического анализа, такая как Luminex или AlphaScreen, позволяет проводить измерения уровней десятков белков в одном образце [31].

Таргетная масс-спектрометрия также все шире применяется для валидации биомаркеров. Мониторинг многократных реакций (MRM, multiple reaction monitoring) позволяет обнаруживать и количественно оценивать определенные

пептиды в сложном образце, измеряя известные фрагментные ионы в тройном квадрупольном масс-спектрометре [32].

Потенциальные маркеры рака эндометрия

Для повышения эффективности поиска потенциальных маркеров РЭн и улучшения качества протеомных исследований использовались различные биообразцы, которые имеют свои достоинства и недостатки. В этой части обзора мы кратко рассмотрим наиболее интересные протеомные исследования РЭн. Табл. демонстрирует список идентифицированных потенциальных маркеров рака эндометрия.

Таблица

Потенциальные протеомные маркеры рака эндометрия

Название протеина	Рак эндометрия	
	Ткань	Сыворотка/плазма
α -1-antitrypsin		-
α -1-antitrypsin precursor	-	+
α -1- β glycoprotein		+
antithrombin III		+
apolipoprotein A-IV	+	-
apolipoprotein C-II precursor	+	
apolipoprotein E precursor	+	
calcyphosine	+	
calgizzarin	+	
calgranulin A	+	
cAMP dependent protein kinase type I- β regulatory chain	+	
chaperonin 10	+	
cleaved high molecular weight kininogen		-
clusterin		+
complement component 3		+
complement component 4A		+
complement component 4B		+
creatine kinase B	-	
cyclophilin A	+	+
epidermal fatty acid binding protein	+	
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	+	
haptoglobin precursor	+	
heat shock 27 kDa protein	+	
heat shock 70 kDa protein 1	+	
heat shock cognate 71 kDa protein	+	
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0	+	
heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	+	
histidine-rich glycoprotein precursor	+	
insulin-like growth factor-binding protein 4 precursor	+	
inter- α -trypsin inhibitor family heavy chain-related protein		+
leucine-rich glycoprotein		+
macrophage migratory inhibitory factor	+	
matrix metalloproteinase 2	+	
phosphoglycerate kinase	+	
polymeric immunoglobulin receptor precursor	+	
prohibitin	+	
prolactin		+
pyruvate kinase M1 or M2 isozyme	+	
serotransferrin precursor	+	
serum albumin precursor	+	
serum amyloid A		+
serum amyloid A2 isoform a	+	
transgelin	-	
trypomysin fibroblast isoform TM3	+	

“+” – экспрессия возрастает; “-” – экспрессия снижается

Плазма и сыворотка крови

Несмотря на очень низкие уровни (<1 пМ), белки, попадающие в кровоток из опухолевой ткани, могут служить надежным источником новых

эффективных биомаркеров. Считается, что 20–25% всех белков, кодируемых геномом, должны секретироваться клетками [33] и попадать в сыворотку/плазму крови человека, формируя один из самых

информативных и важных с клинической точки зрения протеом. Так как возникновение и развитие рака приводит к характерным изменениям в протеоме сыворотки/плазмы крови больного, можно использовать протеомные методы для поиска потенциальных биомаркеров РЭн в этих биологических жидкостях. Особый интерес представляет мало изученная низкомолекулярная фракция протеома, в которой, как полагают, могут находиться потенциальные биомаркеры опухолевого роста и мишени для таргетной терапии, обладающие повышенной сосудистой проницаемостью [34]. Дополнительную информацию можно получить, изучая компоненты протеома биологических жидкостей, источником которых могут быть органы и ткани непосредственно не затронутые опухолевым процессом, но реагирующие на изменение гомеостаза организма-опухоленосителя. Как правило, уровни их концентраций на несколько порядков выше таковых опухолю-ассоциированных маркеров.

До настоящего времени опубликовано лишь небольшое количество работ с использованием MS-технологий для обнаружения, идентификации и валидации в сыворотке/плазме крови биомаркеров рака эндометрия. SELDI-TOF-MS одной из первых применялась при профилировании клинических образцов сыворотки крови для обнаружения потенциальных биомаркеров рака эндометрия. С помощью этой платформы Zhu L.R. et al. [35] изучили протеом образцов сыворотки крови от больных РЭн и здоровых индивидов. Созданная модель из набора белков, при валидации в слепом тесте, показала чувствительность 75% и специфичность 60%. Takano M.I. et al. [36], методом SELDI-TOF-MS обнаружили четыре белка, два из которых были в последствии идентифицированы как аполипопротеин A1 и модифицированный аполипопротеин C1. Модель на их основе различала образцы сыворотки больных РЭн от контроля с чувствительностью 82 % и специфичностью 86 %. Метод MALDI-TOF-MS был использован Kikuchi S. et al. [37] для анализа пептидов, ассоциированных с альбумином в 92 образцах сыворотки больных РЭн и 33 здоровых женщин. В отличие от этих исследований Feng Qiu et al. [38] использовали MALDI-TOF-MS технологию после предварительного фракционирования образцов плазмы на магнитных частицах со слабой катионнообменной поверхностью. Эта платформа значительно увеличивает чувствительность и воспроизводимость анализа, что подтверждается рядом исследований по профилированию образцов плазмы от онкологических больных [39]. Предложенная методология, по мнению авторов, может успешно использоваться в будущем для диагностики РЭн.

В работе Abdul-Rahman P.S. et al. [40] представлены данные по 2-DE анализу уровней экспрессии ВПБ в образцах сыворотки крови больных аденокарциномой эндометрия (АКЭ), плоскоклеточной цервикальной карциномой (ПЦК) и цервикальной аденокарциномой (ЦАК), в сравнении с контрольными образцами.

В трех группах онкологических больных наблюдали изменение экспрессии по отношению к норме у ряда ВПБ сыворотки. Экспрессия α 1-antitrypsin, α 1-B glycoprotein, cleaved high-molecular-weight kininogen (light chain) и antithrombin III изменялась у всех больных. Однако, уровни clusterin возрастали только у больных АКЭ, тогда как уровни экспрессии zinc α -2-glycoprotein увеличивались только у больных ПЦК и ЦАК.

Используя LC-MS/MS метод Negishi A. et al. [41] количественно проанализировали протеом образцов сыворотки от больных РЭн и субъектов контрольной группы и обнаружили 49 дифференциально экспрессированных протеинов, три из которых были провалидированы иммуноблоттингом.

Wang Y.S. et al. [42] провели количественный протеомный анализ образцов сыворотки от больных с простой гиперплазией, сложной гиперплазией и атипичной гиперплазией эндометрия, РЭн и женщин контрольной группы. Для поиска маркеров использовали LC-MS/MS-технологию, объединенную с iTRAQ (isobaric tag for relative and absolute quantitation) –методом. В целом было идентифицировано и количественно определено 430 протеинов в образцах сыворотки больных с поврежденным эндометрием и женщин с нормальным эндометрием, из которых 12 белков были дифференциально экспрессированы, по крайней мере, в одной группе случаев по отношению к контролю. Впервые были обнаружены 7 дифференциально экспрессированных белков при атипичной гиперплазии эндометрия. Впервые были обнаружены 7 ДЭ белков при атипичной гиперплазии эндометрия. Среди них, orosomucoid 1, haptoglobin, serpin 1, α 1-antichymotrypsin, apolipoprotein A-IV, inter- α -trypsin inhibitor heavy chain H4 и histidine-rich glycoprotein.

Открытые в этом исследовании дифференциально экспрессированные белки могут являться потенциальными маркерами для диагностики гиперплазии и РЭн.

Моча

Моча – привлекательный материал для протеомных исследований, поскольку ее образцы легко получаются, идеальны для скрининга и более стабильны к преданалитическим процедурам обработки по сравнению с сывороткой и плазмой [43]. Однако из-за присутствия гломерулярной мембраны белки высокого молекулярного веса не попадают в мочу.

Для поиска потенциальных маркеров Ми A.K. et al. [44] использовали образцы мочи от больных ранней стадией РЭн и здоровых пациенток. Протеины разделяли 2-DE-методом с последующим анализом изображений и MALDI-MS/MS-идентификацией дифференциально экспрессированных протеинов. Выявляли возрастание уровня экспрессии zinc α -2 glycoprotein, α 1-acid glycoprotein и снижение экспрессии CD59 и фрагмента nebulin у больных РЭн, по сравнению с контрольной группой.

Ткань

При использовании биопсийного и операционного материала в качестве источника биомаркеров необходимо учитывать их зависимость от стадии заболевания и гетерогенность опухолевой ткани, которая состоит из опухолевых клеток, компонентов стромы, воспалительных инфильтратов, участков некроза. Это вызывает определенные трудности при работе с лизатами тканей. Выделение раковых клеток, как правило, проводят с помощью LCM, но часто полученного материала бывает недостаточно для MS-анализа. Кроме того, полное исключение из анализа клеток стромы нежелательно, так как эти клетки сами часто продуцируют биомаркеры наряду с опухолевыми клетками. Однако, несмотря на эти трудности, были выполнены ряд протеомных исследований РЭн с образцами опухолевой и нормальной ткани.

DeSouza L. et al. [45], используя дифференциальные метки (iTRAQ и cCAT) в комбинации с LC-MS/MS, изучили гомогенаты малигнизированного и нормального эндометрия и открыли девять потенциальных маркеров РЭн. Среди них повышенную экспрессию в злокачественной ткани имели chaperonin 10, pyruvate kinase M1 или M2 isozyme, calgizzarin, heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0, macrophage migratory inhibitory factor и polymeric immunoglobulin receptor precursor, а пониженную- α -1-antitrypsin precursor, creatine kinase B и transgelin. Авторы подтвердили данные по высокой экспрессии chaperonin 10 в малигнизированной ткани эндометрия, полученные ранее [46]. LC-MS/MS анализ показал низкую экспрессию chaperonin 10 и calgranulin A в гомогенатах нормального эндометрия и высокую в малигнизированном. При MALDI-TOF-MS анализе образцов ткани РЭн и нормального эпителия эндометрия, обработанных LCM, был обнаружен ряд высоко экспрессированных протеинов в злокачественных клетках эпителия: calgranulin A и chaperonin 10 [47].

В работе Dubé V. et al. [48] проводилась валидация предварительно открытых потенциальных маркеров РЭ, включающих chaperonin 10, pyruvate kinase M2 и α 1-antitrypsin. Набор этих маркеров дискриминировал образцы злокачественных и доброкачественных опухолей эндометрия с чувствительностью 85 и специфичностью 93 %. Используя ранее открытые ДЭ протеины, DeSouza L.V. et al. [49] проанализировали методом LC-MS/MS в комбинации с iTRAQ образцы нормального и малигнизированного эндометрия.

Лучшие результаты показала комбинация из pyruvate kinase, chaperonin 10 и α 1-antitrypsin, которая дискриминировала образцы нормы и патологии с чувствительностью 95%.

Применяя 2-DE в комбинации с MALDI-TOF-MS, Li Z. et al. [50] идентифицировали и валидировали calcyphosine и cyclophilin A, как потенциальные маркеры РЭн и предположили их участие в онкогенезе. Необходимо отметить, что повышенная экспрессия cyclophilin A сопровождается устойчивостью опухолевых клеток к апоптозу, индуцированному химиотерапией [51]. Следовательно, ингибирование синтеза cyclophilin A может улучшить эффект терапии и прогноз для пациенток с РЭн [52]. Методом MRM в сочетании с tTRAQ-метками изучали экспрессию pyruvate kinase M1/M2 в нормальной и малигнизированной ткани эндометрия. Показано 4-кратное увеличение экспрессии этого белка в гомогенатах опухолевой ткани, которое подтвердилось независимыми опытами с ELISA [53]. DeSouza L.V. et al. [54] использовали методы MRM и iTRAQ для изучения уровней экспрессии изоформы M2 pyruvate kinase (PK-M2) и полимерных иммуноглобулиновых рецепторов в эпителиальных клетках, полученных LCM из фиксированных формалином парафиновых срезов ткани РЭн и нормального пролиферирующего эндометрия.

Сравнительный MS-анализ протеомов популяций эпителиальных клеток, полученных LCM из образцов ткани больных I стадией РЭн и образцов нормального эндометрия у женщин в постменопаузе, обнаружил 209 дифференциально экспрессированных протеинов [55]. Несколько идентифицированных белков с повышенной экспрессией при I стадии РЭн были функционально связаны с воспалением (аннексины) и окислительными процес-

сами (пероксиредоксины). Независимый анализ методом вестерн-блоттинга подтвердил высокую экспрессию peroxiredoxin 1 и annexin A2 при I стадии рака, по сравнению с нормальным эндометрием. Эти данные обеспечивают основу для дальнейшего изучения сигнальных путей, включенных в раннюю стадию РЭн и поиска возможных мишеней для таргетной терапии РЭн.

Puljiz M. et al. [56] изучили иммуногистохимическим методом прогностическое значение MMP 2 и 9 и показали, что у больных I стадией РЭн с содержанием высоких уровней MMP 2 в строме опухоли имеется высокий риск возникновения рецидивов. Этот же метод использовался для оценки экспрессии multiple myeloma SET domain-containing protein (MMSET) в образцах РЭн и нормального эндометрия [57]. MMSET был высоко экспрессирован при РЭн по сравнению с обычным эндометрием. Кроме того, уровни MMSET коррелировали с FIGO-стадиями, гистологическим типом, глубиной инвазии в миометрий, метастазами в лимфоузлы и сосудистой/лимфатической инвазией. Больные с повышенной экспрессией MMSET имели более низкие значения общей выживаемости по сравнению с таковыми с пониженными уровнями MMSET. Многовариантный регрессионный анализ показал, что повышенная экспрессия MMSET является независимым прогностическим фактором для больных РЭн.

Заключение

Рак эндометрия представляет серьезную угрозу здоровью женщин, а использование современных протеомных методов на базе масс-спектрометрии открывает новые возможности для поиска диагностических и прогностических маркеров заболевания. Выбор подходящих биологических объектов для их обнаружения часто определяет стратегию исследования. Проведенный анализ публикаций показывает, что большинство исследований посвящено образцам сыворотки и плазмы крови, однако до сих пор не найдены никакие специфичные диагностические и прогностические маркеры заболевания. Картирование протеома опухолевой и нормальной ткани может выявлять белки, участвующие в патогенезе рака эндометрия. Число таких публикаций постепенно увеличивается. Проведенные исследования в основном фокусировались на биомаркерах для ранней диагностики, однако прогностические маркеры также представляют определенный интерес. Следует отметить, что различные индивидуальные изменения и присутствие ВПБ значительно усложняют поиск биомаркеров.

В этой связи уделяется повышенное внимание стандартизации процедур сбора и хранения образцов. Учитывая сложный состав протеомов биологических жидкостей необходимо развивать методы предварительного фракционирования белков и усовершенствовать технику масс-спектрометрического анализа.

Несмотря на все трудности, намечается заметный прогресс, связанный с использованием современных протеомных технологий для обнаружения новых маркеров, которые позволят проводить скрининг, диагностику доклинических форм заболевания, оценку эффективности проводимой терапии, а также уменьшить риск возникновения рецидивов и метастазов заболевания.

Литература

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женских половых органов // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2009. – (1–2). – Р. 76–80.
2. Сидоренко Ю.С., Левченко Н.Е. Органосохраняющие и функционально-щадящие операции в онкогинекологии // Тез. докл. науч.-практ. конференции «Лечение рецидивов и метастазов злокачественных опухолей». М. – 2003. – Р. 453–6.
3. Hall K.L., Dewar M.A., Perchalski J. Screening for gynecologic cancer. Vulvar, vaginal, endometrial and ovarian neoplasms // Prim. Care. – 1992. – 19. – Р. 607–20.
4. Schimp V.L., Ali-Fehmi R., Solomon L.A., Hammoud A., Pansare V., Morris R.T., Munkarah A.R. Theracial disparity in outcomes in endometrial cancer: Could this be explained on a molecular level? // Gynecol. Oncol. – 2006. – 102. – Р. 440–46.
5. Lo S.S., Cheng D.K., Ng T.Y., Wong L.C., Ngan H.Y. Prognostic significance of tumour markers in endometrial cancer // Tumour Biol. – 1997. – 18. – Р. 241–9.
6. Gadducci A., Cosio S., Carpi A., Nicolini A., Genazzani A.R. Serum tumor markers in the management of ovarian, endometrial and cervical cancer // Biomed. Pharmacother. – 2004. – 58. – Р. 24–38.
7. Chopra V., Dinh T.V., Hannigan E.V. Serum levels of interleukins, growth factors and angiogenin in patients with endometrial cancer // J. Cancer Res. Clin. Oncol. – 1997. – 123. – Р. 167–72.
8. Bellone S., Watts K., Cane S., Palmieri M., Cannon M.J., Burnett A., Roman J.J., Pecorelli S., Santin A.D. High serum levels of interleukin-6 in endometrial carcinoma are associated with uterine serous papillary histology, a highly aggressive and chemotherapy-resistant variant of endometrial cancer // Gynecol. Oncol. – 2005. – 98. – Р. 92–98.
9. Ueno H., Yamashita K., Azumano I., Inoue M., Okada Y. Enhanced production and activation of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human endometrial carcinomas // Int. J. Cancer. – 1999. – 84. – Р. 470–477.
10. Salaman T., el-Ahmad O., Tony O., Darwish M. Clinical value of squamous cell carcinoma antigen (SCC-A) in Egyptian gynecologic cancer patients // Anticancer Res. – 1997. – 17. – Р. 3083–6.
11. Giavazzi R., Sennino B., Coltrini D., Garofalo A., Dossi R., Ronca R., Tosatti M.P., Presta M. Distinct role of fibroblast growth factor-2 and vascular endothelial growth factor on tumor growth and angiogenesis // Am. J. Pathol. – 2003. – 162. – Р. 1913–26.
12. Ishiguro T., Yoshida Y., Tenzaki T., Ohsima M., Suzuki H. Serum alpha fetoprotein in gynaecologic related malignancies // Zentralbl. Gynakol. – 1980. – 102. – Р. 1209–1212.
13. Berstein L., Kovalevskij A., Zimarina T., Maximov S., Gershfeld E., Vasilyev D., Baisheva S., Baymakhasheva A., Thijssen J.H. Aromatase and comparative response to its inhibitors in two types of endometrial cancer // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2005. – 95. – Р. 71–74.
14. Soliman P.T., Wu D., Tortolero-Luna G., Schmelzer K.M., Slomovitz B.M., Bray M.S., Gershenson D.M., Lu K.H. Association between adiponectin, insulin resistance, and endometrial cancer // Cancer. – 2006. – 106. – Р. 2376–2381.
15. Kamat A.A., Feng S., Agoulunik I.U., Kheradmand F., Bogatcheva N.V., Coffey D., Sood A.K., Agoulunik A.I. The role of relaxin in endometrial cancer // Cancer Biol. Ther. – 2006. – 5. – Р. 71–7.
16. Yurkovetsky Z., Ta'asan S., Skates S., Rand A., Lomakin A., Linkov F., Marrangoni A., Velikokhatnaya L., Winans M., Gorelik E., Maxwell G.L., Lu K., Lokshin A. Development of multimarker panel for early detection of endometrial cancer. High diagnostic power of prolactin // Gynecol. Oncol. – 2007. – 107(1). – Р. 58–65.
17. Zhang A.M., Zhang P. Clinical value of combined detection of serum human epididymal secretory protein E4 and CA(125) in the diagnosis of endometrial carcinoma // Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. – 2012. – 47(2). – Р. 125–128.
18. Farias-Eisner G., Su F., Robbins T., Kotlerman J., Reddy S., Farias-Eisner R. Validation of serum biomarkers for detection of early- and late-stage endometrial cancer // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2010. – 202(1). – Р. 73.
19. Шевченко В.Е. Современные масс-спектрометрические методы в ранней диагностике рака // Масс-спектрометрия. – 2004. – 1(2). – С. 103–126.
20. Anderson N.L. The clinical plasma proteome: a survey of clinical assays for proteins in plasma and serum // Clinical Chemistry. – 2010. – 56. – Р. 177–185.
21. Hanash S.M., Pitteri S.J., Facc V.M. Mining the plasma proteome for cancer biomarkers // Nature. – 2008. – 452. – Р. 571–579.
22. Hannan N.J., Stephens A.N., Hincks C., Rainczuk A., Rombauts L.J.F., Salamonsen L.A. The endometrial secretome: potential roles in endometrial receptivity // Biology of Reproduction. – 2008. – 81. – Р. 419.
23. Ametzazurra A., Matorras R., Garcia-Velasco J.A., Prieto B., Simon L., Martinez A., Nagore D. Endometrial fluid is a specific and non-invasive biological sample for protein biomarker identification in endometriosis // Human Reproduction. – 2009. – 24. – Р. 954–965.
24. Chen J., Hannan N., Mak Y., Nicholls P., Zhang J., Rainczuk A., Stanton P., Robertson D., Salamonsen L., Stephens A.N. Proteomic characterization of mid-proliferative and mid-secretory human endometrium // Journal of Proteome Research. – 2009. – 8. – Р. 2032–2044.
25. Braun D.P., Gebel H., Rana N., Dmowski W.P. Cytolysis of eutopic and ectopic endometrial cells by peripheral blood monocytes and peritoneal macrophages in women with endometriosis // Fertility and Sterility. – 1998. – 69. – Р. 1103–1108.
26. Chand A.L., Murray A.S., Jones R.L., Hannan N.J., Salamonsen L.A., Rombauts L. Laser capture microdissection and cDNA array analysis of endometrium identify CCL16 and CCL21 as epithelial-derived inflammatory mediators associated with endometriosis // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2007. – 5. – Р. 18.
27. DeSouza L., Diehl G., Rodrigues M.J., Guo J., Romaschin A.D., Colgan T.J., Siu K.W. Search for cancer markers from endometrial tissues using differentially labeled tags iTRAQ and cICAT with multidimensional liquid chromatography and tandem mass spectrometry // Journal of Proteome Research. – 2005. – 4. – Р. 377–386.

28. Meehan K.L., Rainczuk A., Salamonsen L.A., et al. Proteomics and the search for biomarkers of female reproductive diseases // *Reproduction*.- 2010.- 505.- P. 519–540.
29. Sharon D., Chen R., Snyder M. Systems biology approaches to disease marker discovery // *Disease Markers*.- 2010.- 28.- P. 209–224.
30. Rai A.J., Vitzthum F. Effects of preanalytical variables on peptide and protein measurements in human serum and plasma: implications for clinical proteomics // *Expert Review of Proteomics*.- 2006.- 3.- P. 409–426.
31. Huttenhain R., Malmstrom J., Pitcotti P., Aebersold R. Perspectives of targeted mass spectrometry for protein biomarker verification // *Current Opinion in Chemical Biology*. – 2009.- 13.- P. 518–525.
32. Schmidt A., Claassen M., Aebersold R. Directed mass spectrometry: towards hypothesis-driven proteomics // *Current Opinion in Chemical Biology*.- 2009.- 13.- P. 510–517.
33. Chen Y., Yu P., Luo J., Jiang Y. Mamm. Secreted protein prediction system combining CJ-SPHMM, TMHMM, and PSORT // *Genome*.- 2003.-14(12).- P. 859–865.
34. Dellian M., Yuan F., Trubetskoy V.S., Torchilin V.P., Jain R.K. Vascular permeability in a human tumour xenograft: molecular charge dependence // *Br. J. Cancer*.-2000.- 82(9).- P. 1513–1518.
35. Zhu L.R., Zhang W.Y., Yu L., Zheng Y.H., Hu J., Liao Q.P. Proteomic patterns for endometrial cancer using SELDI-TOF-MS // *J. Zhejiang Univ. Sci. B*.- 2008.- 9(4).- P. 286–290.
36. Takano M., Kikuchi Y., Asakawa T., Goto T., Kita T., Kudoh K., Kigawa J., Sakuragi N., Sakamoto M., Sugiyama T. Identification of potential serum markers for endometrial cancer using protein expression profiling // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*.- 2010.- 136.- P. 475–481.
37. Kikuchi S., Honda K., Handa Y., Kato H., Yamashita K., Umaki T., Shitashige M., Ono M., Tsuchida A., Aoki T., Hirohashi S., Yamada T. Serum albumin-associated peptides of patients with uterine endometrial cancer // *Cancer Sci*.- 2007.- 98(6).- P.822–829.
38. Qiu F., Gao Y.H., Jiang C.G., Tian Y.P., Zhang X.J. Serum proteomic profile analysis for endometrial carcinoma detection with MALDI-TOF MS // *Arch Med Sci*.- 2010.- Vol. 30, N 6(2).- P. 245–252.
39. Shevchenko V.E., Arnotskaya N.E., Zaridze D.G. Detection of lung cancer using plasma protein profiling by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry // *Eur. J. Mass Spectrom*.- 2010.-16(4).- P. 539–549.
40. Abdul-Rahman P.S., Lim B.K., Hashim O.H. Expression of high-abundance proteins in sera of patients with endometrial and cervical cancers: Analysis using 2-DE with silver staining and lectin detection methods // *ELECTROPHORESIS*.-2007.- 28.- P.1989–1996.
41. Negishi A., Ono M., Handa Y., Kato H., Yamashita K., Honda K., Shitashige M., Satow R., Sakuma T., Kuwabara H., Omura K., Hirohashi S., Yamada T. Large-scale quantitative clinical proteomics by label-free liquid chromatography and mass spectrometry // *Cancer Sci*.- 2009.- 100.- P. 514–519.
42. Wang Y.S., Cao R., Jin H., Huang Y.P., Zhang X.Y., Cong Q., He Y.F., Xu C.J. Altered protein expression in serum from endometrial hyperplasia and carcinoma patients // *J. Hematol. Oncol*.- 2011.- 14.- P.4–15.
43. Kumar S., Tsai C.J., Nussinov R.. Temperature range of thermodynamic stability for the native state of reversible tow stat proteins // *Biochemistry*.- 2003.-42.- P.4864–4873.
44. Mu A.K., Lim B.K., Hashim O.H., Shuib A.S. Detection of differential levels of proteins in the urine of patients with endometrial cancer: analysis using two-dimensional gel electrophoresis and o-glycan binding lectin // *Int. J. Mol. Sci*.- 2012.-13(8).- P.9489–9501.
45. DeSouza L., Diehl G., Rodrigues M.J., Guo J., Romaschin A.D., Colgan T.J., Siu K.W. Search for cancer markers from endometrial tissues using differentially labeled tags iTRAQ and cICAT with multidimensional liquid chromatography and tandem mass spectrometry // *J. Proteome Res*.- 2005.-4(2).- P.377–386.
46. Yang E.C., Guo J., Diehl G., DeSouza L., Rodrigues M.J., Romaschin A.D., Colgan T.J., Siu K.W. Protein expression profiling of endometrial malignancies reveals a new tumor marker: chaperonin 10 // *J. Proteome Res*.- 2004.-3(3)– P.636–643.
47. Guo J., Yang E.C., Desouza L., Diehl G., Rodrigues M.J., Romaschin A.D., Colgan T.J., Siu K.W. A strategy for high-resolution protein identification in surface-enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry: calgranulin A and chaperonin 10 as protein markers for endometrial carcinoma // *Proteomics*.- 2005.-5(7).- P.1953–1966.
48. Dubé V., Grigull J., DeSouza L.V., Ghanny S., Colgan T.J., Romaschin A.D., Siu K.W. Verification of endometrial tissue biomarkers previously discovered using mass spectrometry-based proteomics by means of immunohistochemistry in a tissue microarray format // *J. Proteome Res*.- 2007.-6(7).- P.2648–2655.
49. DeSouza L.V., Grigull J., Ghanny S., Dubé V., Romaschin A.D., Colgan T.J., Siu K.W. Endometrial carcinoma biomarker discovery and verification using differentially tagged clinical samples with multidimensional liquid chromatography and tandem mass spectrometry // *Mol. Cell Proteomics*.- 2007.-6(7).- P.1170–1182.
50. Li Z., Huang C., Bai S., Pan X., Zhou R., Wei Y. Zhao X. Prognostic evaluation of epidermal fatty acid-binding protein and calcyphosine, two proteins implicated in endometrial cancer using a proteomic approach // *International Journal of Cancer*.- 2008.-123.- P. 2377–2383.
51. Li Z., Zhao X., Bai S., Wang Z., Chen L., Wei Y., Huang C. Proteomics identification of cyclophilin a as a potential prognostic factor and therapeutic target in endometrial carcinoma // *Molecular and Cellular Proteomics*.- 2008.- 7.- P. 1810–1823.
52. Choi K.J., Piao Y.J., Lim M.J., Kim J.H., Ha J., Choe W., Kim S.S. Overexpressed cyclophilin A in cancer cells renders resistance to hypoxia- and cisplatin-induced cell death // *Cancer Research*.- 2007.- 67.- P. 3654–3662.
53. Gonzalez-Santiago L., Alfonso P., Suarez Y., Nunez A., Garcia-Fernandez L.F., Alvarez E., Munoz A., Casal J.I. Proteomic analysis of the resistance to apilidin in human cancer cells // *Journal of Proteome Research*.- 2007.- 6.- P.1286–1294.

54. DeSouza L.V., Krakovska O., Darfler M.M., Krizman D.B., Romaschin A.D., Colgan T.J., Siu K.W. mTRAQ-based quantification of potential endometrial carcinoma biomarkers from archived formalin-fixed paraffin-embedded tissues // *Proteomics*.- 2010.- 10(17).- P3108-3116.
55. Maxwell G.L., Hood B.L., Day R., Chandran U., Kirchner D., Kolli V.S., Bateman N.W., Allard J., Miller C., Sun M., Flint M.S., Zahn C., Oliver J., Banerjee S., Litz T., Parwani A., Sandburg G., Rose S., Becich M.J., Berchuck A., Kohn E., Risinger J.I., Conrads T.P. Proteomic analysis of stage I endometrial cancer tissue: identification of proteins associated with oxidative processes and inflammation // *Gynecol. Oncol.* - 2011.- 121(3).- P.586-594.
56. Puljiz M., Puljiz Z., Vucemilo T., Ramić S., Knezević F., Culo B., Alvir I., Tomica D., Danolić D. Prognostic significance of matrix metalloproteinases 2 and 9 in endometrial cancer // *Coll. Antropol.*- 2012.- 36(4).- P.1367-1372.
57. Xiao M., Yang S., Chen J., Ning X., Guo L., Huang K., Sui L. Overexpression of MMSET in endometrial cancer: a clinicopathologic study // *J. Surg. Oncol.*- 2013.- 107(4).- P.428-432.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДЭ	– дифференциально экспрессированных
EGFR, ErbB-1	– epidermal growth factor receptor
HIF	– hypoxia-inducible factors ()
AFP	– α -fetoprotein
TSH	– temperature sensitive hemagglutinin
MIP-1 α	– macrophage inflammatory protein-1 α
MMP-7	– matrix metalloproteinase-7
MPO	– myeloperoxidase
tPAI-1	– total plasminogen inhibitor-1
SCC-A	– squamous cell carcinoma antigen
sICAM-1	– intercellular adhesion molecule 1
sVCAM-1	– vascular cell adhesion protein 1
TGF- α	– transforming growth factor α
HE-4	– human epididymis protein 4
VEGF	– vascular endothelial growth factor

УДК 616-006.04-008.6:612.396.2:396.2:615.227.3.015.44

Кориунов Дмитрий Афанасьевич¹, Петрова Зоя Викторовна², Кондакова Ирина Викторовна³**ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ МИШЕНИ****В ГЛИКОЛИТИЧЕСКОМ МЕТАБОЛИЗМЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**¹к.м.н., научный сотрудник, лаборатория биохимии опухолей, ФГБУ «НИИ онкологии СО РАМН»²к.м.н., лаборант, поликлиническое отделение, Лечебно-диагностический центр «Longa Vita» (634034, РФ, Томск, ул. Учебная, 34а)³профессор, д. м. н., заведующий, лаборатория биохимии опухолей, ФГБУ «НИИ онкологии СО РАМН»**Адрес для переписки:** 634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5, НИИ онкологии СО РАМН, лаборатория биохимии опухолей Кориунов Дмитрий Афанасьевич;**e-mail:** ieved@ya.ru**Ключевые слова:** эффект Варбурга, гликолиз, метаболизм опухоли, таргетная терапия.

В статье изложены современные представления особенностей гликолитического метаболизма опухолей. Представлены ключевые моменты развития злокачественного фенотипа рака в свете «классической» схемы гликолиза, отражающей основные пути метаболизма глюкозы. Показаны наиболее перспективные молекулярные мишени, связанные с метаболизмом глюкозы, для терапии рака.

Введение

Хорошо известно, что обмен веществ в раковых клетках существенно отличается от такового в здоровых клетках, а биоэнергетические изменения являются одним из признаков развития рака. Нормальные клетки для получения энергии из глюкозы обычно используют МОФ, тогда как в большинстве раковых клеток синтез АТФ осуществляется через анаэробный гликолиз. Около ста лет назад Отто Варбург (Otto Warburg) впервые отметил важность этого своеобразного метаболизма глюкозы, происходящего в опухоли [1; 2], и был удостоен за это открытие Нобелевской премии по медицине 1931 г.. Однако до сих пор не выяснено, является ли переход от окислительного фосфорилирования к гликолизу, даже при нормальных концентрациях кислорода (эффект Варбурга, effect of Warburg), причиной или следствием рака.

Активность гликолиза в раковых клетках в 200 раз выше таковой в нормальных. Хотя образование АТФ путем анаэробного гликолиза проходит быстрее, чем окислительное фосфорилирование, оно менее эффективно в расчете на единицу потребляемой глюкозы. В результате такого сдвига опухолевые клетки реализуют аномально высокую скорость усвоения глюкозы. Эти метаболические изменения обеспечивают адекватное и быстрое поступление энергии для биосинтетических процессов раковых клеток и, следовательно, высокую жизнеспособность даже при отсутствии достаточного уровня кислорода в гипоксической области ткани.

На протяжении многих десятилетий биоэнергетический метаболизм опухоли получал лишь незначительное внимание, поскольку считалось, что любое вмешательство в обмен углеводов также оказывает значительное токсическое воздействие на здоровые клетки. В последние годы интерес к этой тематике возобновлен, так как в раковых клетках были обнаружены метаболические изменения, которые не характерны для нормальных клеток. Дисрегуляция клеточной энергетики считается одним из признаков рака, и появляется все больше свидетельств, указывающих на возможность вмешательства в гликолиз опухолей в качестве новой стратегии для селективной противораковой терапии. Многие ключевые эффекторы гликолиза (ферменты и транспортеры) можно рассматривать как перспективные мишени для терапевтического воздействия на опухоль [3; 4]. Некоторые из них избыточно экспрессируются в инвазивных опухолях, что предполагает относительно безопасное «терапевтическое окно» для противораковых агентов [5-8].

Гликолитический процесс

Изначально предположение Варбурга было основано на том, что раковые клетки вынуждены переключаться на анаэробный гликолиз из-за митохондриального дефекта, но последующие исследования показали, что большинство раковых клеток на самом деле обладают нормально функционирующими митохондриями [2]. Считается, что такое переключение, вероятно, связано с их большими метаболическими потребностями, так как гликолиз помимо продукции АТФ обеспечивает наработку в интенсивно пролиферирующих клетках множества промежуточных соединений, необходимых для синтеза липидов, аминокислот и нуклеотидов [2; 5].

Каждый шаг гликолиза катализируется специфическими ферментами (рис.). После поступления глюкозы в клетку через транспортеры она фосфорилируется *HK*, и образуется глюкозо-6-фосфат. Глюкозо-6-фосфат может либо перейти в гликолиз через превращение в фруктозо-6-фосфат под действием фосфоглюкоизомеразы, либо он может шунтироваться через цикл пентозофосфатного пути под действием глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. При этом генерируется NADPH, который используется в качестве восстановителя клеточного глутатиона при биосинтезе липидов, нуклеотидов и аминокислот. Образовавшийся при шунтировании рибулозо-5-фосфат может использоваться в биосинтезе нуклеиновых кислот.

Далее в гликолизе фосфофруктокиназа необратимо преобразует фруктозо-6-фосфат в фруктозо-1,6-бисфосфат. Альдолаза катализирует обратимое расщепление фруктозо-1,6-бисфосфата на две триозы – ГАФ и ДАФ. Последний является предшественником глицерол-3-фосфата, который имеет решающее значение для биосинтеза фосфолипидов и триглицеридов, необходимых для образования клеточных мембран. Фруктозо-6-фосфат и ГАФ могут комбинироваться для получения рибулозо-5-фосфата через транскетолазу и трансальдолазу. Также ГАФ может быть источником серина, который является предшественником двух важных аминокислот, цистеина и глицина, использующихся, в частности, для синтеза сигнальных молекул, таких как церамиды [9].

Присоединение фосфатной группы к ГАФ приводит к образованию 1,3-бисфосфоглицерата. Реакция катализируется GAPDH и сопровождается восстановлением NAD⁺ в NADH. PGK обратимо катализирует первый шаг гликолиза, производящий АТФ при передаче фосфата с 1,3-бисфосфоглицерата на АДФ с образованием 3-фосфоглицерата. Фосфогли-

цератмутаза преобразует 3-фосфоглицерат в 2-фосфоглицерат. Эта передача происходит через образование 2,3-бисфосфоглицерата, промежуточного соединения, которое генерируется благодаря фосфорной группе в фосфогистидиновом комплексе активного центра фермента. Енолаза катализирует обратимую дегидратацию 2-фосфоглицерата в фосфоенолпируват. Второй энергопродуцируемый шаг гликолиза обеспечивается пируваткиназой, которая необратимо катализирует преобразование фосфоенолпирувата в пируват, с сопутствующим переносом фосфатной группы от субстрата к АДФ и образованием АТФ.

В нормальных клетках гликолитические процессы в основном связаны с МОФ, при котором пируват поступает в митохондрии и подвергается окислительному преобразованию в ацетил-КоА, который затем включается в ЦТК, что в конечном итоге приводит к образованию CO_2 и H_2O , а также значительному приросту АТФ. Однако при определенных условиях, особенно при кислородном голодании, МОФ не может реализовываться. Поэтому включается альтернативный путь, где пируват превращается в лактат под действием LDH. Этот последний шаг анаэробного гликолиза является фундаментальным, потому что он позволяет восстанавливать окисленный кофактор NAD^+ , который необходим для преобразования ГАФ в 1,3-бисфосфоглицерат (рис. 1). В дальнейшем для поддержания внутриклеточного pH в пределах нормы лактат выделяется из клетки благодаря специальному белку-транспортёру – MCT. Вытеснение лактата из клетки является одним из основных причин внеклеточного ацидоза, формирующегося в этих ситуациях.

Анаэробный гликолитический путь менее эффективен в производстве энергии, чем МОФ, так как каждая молекула глюкозы дает только 2 молекулы АТФ, по сравнению с 36 молекулами АТФ, образующимися в результате МОФ. Тем не менее, следует отметить, что гликолиз генерирует АТФ быстрее, чем МОФ, и это дает селективное преимущество в быстро растущих опухолевых клетках.

В большинстве раковых клеток, особенно наиболее агрессивного фенотипа, существует значительное разобщение гликолиза и МОФ с последующим повышением уровня лактата [10]. Такая метаболическая модификация дает опухоли эволюционное преимущество, состоящее в адаптации к переходящим условиям гипоксии, возникающим в процессе развития заболевания. Также этот метаболический сдвиг вызывает более высокое поглощение глюкозы раковыми клетками через GLUT, которое должно компенсировать высокий катаболический и анаболический спрос быстро растущих клеток при низкой эффективности гликолитического процесса. Использование меченого аналога глюкозы ^{18}F -фтордезоксиглюкозы экспериментально подтверждает формирование селективного высокого поглощения глюкозы в инвазивных опухолях [10].

Таким образом, становится понятно, что любой фермент или транспортер, способствующий гликолитическому потоку, может рассматриваться потенциальной мишенью для блокирования развития опухоли.

HIF-1 индуцированные изменения гликолиза

В подавляющем большинстве злокачественных опухолей человека наблюдается сверхэкспрессия гликолиз-связанных генов, которая приводит к эффекту Варбурга. Показано, что в агрессивных опухолях HIF-1 играет ключевую роль в реализации этого явления. Фактор состоит из двух субъединиц – HIF-1 α и HIF-1 β , при этом β -субъединица

располагается в ядре, а судьба HIF-1 α зависит от содержания кислорода в клетке. При наличии достаточного количества кислорода HIF-1 α быстро гидроксилируется ферментами, принадлежащими к семейству пролилгидроксилаз, после чего она сопрягается с белком фон Хиппель-Линдау (Von Hippel-Lindau), затем полиубиквитинируется и в конечном итоге разрушается протеасомой [11]. В условиях гипоксии пролилгидроксилаза не инактивирует HIF-1 α , и тогда она мигрирует в ядро клетки, где связывается с β -субъединицей. Этот процесс приводит к образованию функционально активного HIF-1, который активирует транскрипцию ряда генов [12].

Наиболее существенными генными продуктами HIF-1, участвующими в реализации гликолитического фенотипа, являются: транспортеры GLUT₁, GLUT₃, HK₁, HK₂, фосфофруктокиназа 1 и 2, альдолаза А и С, PGK₁, енолаза 1, PKM₂, PDK₁ и, возможно, PDK₂, LDH₅, а также MCT₄. Сверхэкспрессия GLUT₁ и GLUT₃, индуцированная HIF-1, активно поддерживает достаточно высокую скорость поглощения глюкозы в опухолевых клетках в ответ на их повышенную потребность в энергии и анаболизме. Высокая концентрация ферментов HK₁ и HK₂, фосфофруктокиназы 1 и 2, альдолазы С, PGK₁, енолазы 1, PKM₂ непосредственно способствует увеличению гликолитического обмена глюкозы до пирувата. PDK₁ и PDK₂ ингибируют фермент пируватдегидрогеназу, который катализирует окисление пирувата в ацетил-КоА в митохондриях. Таким образом, HIF-1, активируя экспрессию этих киназ, обеспечивает попадание пирувата исключительно в окончательный этап анаэробного гликолиза, а также своевременно способствует экспрессии LDH₅, которая преобразует пируват в лактат. Картина завершается усилением производства MCT₄, отвечающего за выведение лактата из клетки.

Все белки, связанные с HIF-1, являются потенциальными противораковыми мишенями, ингибирование которых должно приводить к селективному повреждению инвазивных опухолевых клеток, и что немаловажно, с ожидаемым низким количеством побочных эффектов в нормальных клетках. Тем не менее, другие мишени, связанные с анаэробным гликолизом, также должны быть рассмотрены для создания потенциальных противоопухолевых средств, так как HIF-1, также задействован в их сверхэкспрессии.

Гликолитические эффекторы как потенциальные мишени в терапии рака

Перспективность использования того или иного метаболита в качестве мишени противоопухолевого агента должна быть обусловлена значительной разницей в его содержании и активности между раковыми и нормальными клетками. Несколько потенциальных кандидатов, которые избыточно экспрессируются в определенных типах рака, включает в себя: GLUT, HK, глюкоза-6-фосфатизомераза, GAPDH, пируваткиназа, LDH и MCT. Их мы рассмотрим более подробно в этом обзоре.

Переносчики глюкозы

Поступление глюкозы внутрь клетки происходит путем облегченной диффузии и в основном зависит от GLUT, принадлежащих к трем различным классам, отличающимся по тканеспецифичности и степени сродства к глюкозе и другим моносахаридам. Первый класс включает в себя четыре члена – GLUT₁–GLUT₄. Для них основным суб-

стратом является глюкоза, а для двух других классов, 2 (GLUT₅) и 3 (GLUT₆, GLUT₈, GLUT₁₀, HMIT), более предпочтительны другие сахара. Переносчики всех классов имеют одну и ту же третичную структуру, представленную 12 трансмембранными доменами с высоко консервативной последовательностью остатков.

Установлено, что в раковых клетках наблюдается повышенная экспрессия GLUT по сравнению с таковой в нормальной ткани, особенно в высоко пролиферативных и злокачественных опухолях. В дополнение к сверхэкспрессии активность GLUT в опухолях в 10-12 раз выше, чем в здоровых клетках, что свидетельствует о сильной зависимости раковых клеток от транспортера глюкозы [13]. В частности, GLUT₁ и GLUT₃, экспрессия которых регулируется HIF-1, встречаются в широком диапазоне опухолей человека. Кроме того, они коррелируют с плохим прогнозом и радиорезистентностью нескольких типов опухолей человека. Следовательно, активацию их экспрессии можно рассматривать типичной особенностью злокачественного фенотипа [14]. Учитывая фундаментальную роль этого транспортера для гликолитических опухолевых клеток, GLUT-ингибирование представляет очень привлекательный способ лечения рака. Блокирование поглощения глюкозы может приводить к снижению активности гликолиза и гибели клеток от голода. Тем не менее, этот белок сложно специфически заблокировать только в опухолях, не оказав влияния на нормальные клетки.

Ингибирующим действием на переносчики глюкозы среди природных веществ обладает нарингенин, в основном присутствующий в грейпфрутах. Другие флавоноиды, такие как мирицетин, физетин, кверцетин и его гликозидный аналог изокверцитрин, ингибируют GLUT₂. Флоретин, дигидрохалкон которого можно найти в листьях яблоневых деревьев, действует как конкурентный ингибитор GLUT₁ [15].

Гексокиназа

НК является первым ферментом гликолиза. Выделяют четыре изоформы гексокиназы – НК₁, НК₂, НК₃ и НК₄ (или глюкокиназа, GK) – с различной внутриклеточной локализацией, встречаемостью в тканях и кинетическими свойствами. Изоформы НК 1-3 обладают более высокой аффинностью по отношению к глюкозе, чем GK, и, в отличие от нее, сильно ингибируются глюкозой-6-фосфатом [16]. В то время, как GK состоит из одного домена белка, три другие изоформы состоят из двух почти идентичных доменов. Сайты связывания для глюкозы и АТФ лежат в середине этих областей. В НК₁ и НК₃ N-концевой участок белка регулируется по принципу отрицательной обратной связи глюкозой-6-фосфатом, АДФ и неорганическим фосфатом. Напротив, НК₂ сохраняет каталитическую способность в обоих C- и N-концевых частях, так что эта изоформа фактически может удваивать скорость фосфорилирования глюкозы, таким образом значительно ускоряя процесс гликолиза [17]. Эта особенность объясняет, почему НК₂ преимущественно экспрессируется в широком диапазоне злокачественных опухолей, которые требуют повышенной гликолитической активности [18]. В опухолевых клетках НК₂ может находиться в цитозоле, но чаще она связана с трансмембранными потенциалзависимыми анионами каналами, расположенными во внешней митохондриальной мембране [19]. Такая локализация препятствует

освобождению цитохрома c из митохондрий, тем самым защищая раковую клетку от апоптоза. Кроме того, это обеспечивает предпочтительный доступ к синтезированной молекуле АТФ в митохондриях, позволяя тем самым незамедлительно использовать его для фосфорилирования глюкозы, что крайне необходимо опухолевым клеткам для их выживания. Более того, такое расположение НК₂ делает ее менее чувствительной к ингибированию глюкозой-6-фосфатом, а также защищает ее от протеолитической деградации.

Учитывая важнейшую роль, которую НК₂ играет в злокачественных опухолях и тот факт, что она вместе с GLUT₁ оказывает основной контроль гликолитического притока [20], становится очевидным, что этот фермент представляет собой привлекательную цель для подавления роста опухоли.

Прямые ингибиторы НК представлены небольшими молекулами, содержащими либо карбоксильную группу, либо части псевдоглюкозы, среди которых наиболее перспективными являются лондамин и аналог глюкозы 2-дезоксид-Д-глюкоза. Клотримазол, бифоназол и метилжасмонат оказывают антагонистическое действие на функционирование НК. Они способны нарушать связывание НК с митохондриями [4, 21].

Глюкоза-6-фосфатизомераза

GPI обратимо катализирует изомеризацию глюкозо-6-фосфата в фруктозо-6-фосфат. Глюкоза-6-фосфатизомераза, также известная как фосфоглюкоизомераза, имеет четыре изоформы: GPI₁ и GPI₂ состоят из гомодимерных субъединиц А с молекулярной массой 63,2 кДа; изоформа 3 (GPI₃) является гетеродимером и состоит из субъединицы типа-А и большой субъединицы типа-В (69,8 кДа); изоформа 4 (GPI₄) представляет собой гомодимер из В-субъединиц [22]. GPI имеет несколько свойств: внутри клетки она действует как гликолитический фермент, в то время как вне клетки она ведет себя как цитокин. Молекулярное клонирование и секвенирование определили GPI как аутокринный фактор подвижности (AMF), способный стимулировать подвижность раковых клеток. Было обнаружено, что уровень GPI/AMF выше у больных с широким спектром опухолей и строго связан с прогрессированием рака, ангиогенезом и метастазированием [23-27]. Также установлено, что экспрессия GPI/AMF в некоторых гипоксических опухолевых клетках регулируется, по крайней мере частично, HIF-1 [28]. Стимуляция подвижности опухолевых клеток инициируется связыванием GPI/AMF на поверхности клеток с AMF-рецептором (AMFR, gp78). Фунасака и др. сообщают, что использование мРНК для регуляции на понижение GPI/AMF в клетках легких фибросаркомы человека привело к мезенхимально-эпителиальной трансформации и, вследствие этого, резкому сокращению метастатических свойств и подвижности клеток [29].

Большинство молекул, демонстрирующих конкурентные GPI-ингибирующие свойства, обладают структурным типом углевод-фосфат и благодаря этому имитируют естественный субстрат (глюкозо-6-фосфат). Одним из них является 5-фосфо-Д-арабинат, который блокирует каталитическую активность GPI, а также уменьшает AMF-индуцированную двигательную активность клеток [30, 31].

Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа

GAPDH катализирует окисление ГАФ в 1,3-бифосфоглицерат в присутствии NAD⁺ и неоргани-

ческого фосфата. GAPDH представляет собой гомотетрамер, состоящий из идентичных субъединиц с массой 37 кДа [32] и избыточно экспрессирующийся в нескольких злокачественных видах рака [33-36]. GAPDH, полученный из высоко дедифференцированных и быстро растущих злокачественных клеток асцитной карциномы Эрлиха, показал каталитические и физические свойства, разительно отличающихся от тех, которые наблюдались у фермента, выделенного из нормальных клеток. Этот фермент состоял из двух разных субъединиц 33 и 54 кДа соответственно, что указывает на то, что в злокачественных опухолях GAPDH значительно изменяется [37]. В частности изоформа фермента, обнаруженного в опухолях, существенно не ингибируется физиологическими концентрациями АТФ, что может поддерживать высокую скорость гликолиза в раковых клетках.

Сесквитерпеновый антибиотик конинговая кислота, извлекаемый из гриба *Trichoderma koningii*, 3-бромпируват, монойодацетат, а также HNO , генерируемый *in situ* солью Анджели ($\text{Na}_2\text{N}_2\text{O}_3$) широко исследуются на предмет противоопухолевой активности в качестве ингибиторов GAPDH [4, 38, 39].

Пируваткиназа

Под действием РК протекает вторая реакция субстратного фосфорилирования АДФ с образованием пирувата и АТФ. У млекопитающих существует четыре гомотетрамерных изоформы РК с массой субъединицы 55 кДа: изоформа PKL в основном присутствует в глюконеогенных тканях (печень и почки); PKR – в эритроцитах; PKM₁ локализована в высокоэнергетических тканях (мозг, сердце и скелетные мышцы); PKM₂ располагается в клетках с высоким уровнем синтеза нуклеиновых кислот (эмбриональные, взрослые стволовые клетки, лейкоциты, тромбоциты, раковые клетки). Первые две изоформы, PKL и PKR, кодируются одним и тем же геном, но под контролем различных промоторов, как и две другие изоформы PKM₁ и M₂, кодируемые одним геном, но получаемые путем альтернативного сплайсинга 9 и 10-го экзонов. При тканевой дифференцировке в эмбриогенезе плода изоформы PKM₂ постепенно заменяются соответствующими тканеспецифическими изоформами РК. Напротив, в опухолях происходит повторная экспрессия PKM₂ с подавлением PKM₁. Таким образом, PKM₂ представляет собой опухоль-специфическую форму пируваткиназы и достоверный диагностический биомаркер для различных видов рака [40]. Структурный анализ PKM₂ показал, что для своей ферментативной активности он нуждается в двух ионах металлов, одного двухвалентного и одного одновалентного (Mg^{2+} и K^+ соответственно, [41]). HIF-1 активирует транскрипцию этой изоформы и, в свою очередь, PKM₁ выступает в качестве соактиватора этого фактора по принципу положительной обратной связи, стимулируя HIF-1-транскрипционную активность генов-мишеней, и в особенности тех из них, которые кодируют некоторые ферменты гликолиза [42]. В отличие от гомологичной PKM₁, которая существует только в активной тетрамерной форме, PKM₂ переключается в физиологических условиях между неактивным димером и активным тетрамером с высоким сродством к фосфоенолпирувату. Переход между двумя конформациями происходит за счет сложной аллостерической модуляции активатором фруктозо-1,6-бисфосфатом или при взаимодействии с некоторыми онкобелками (HPV-16 E7 и pp60^{V-SRC} киназой) [43]. Кроме того, прямое фосфорилирование тирози-

на-105 PKM₂ ингибирует образование активного тетрамера в раковых клетках [44]. Предположительно, такое регулирование димерных/тетрамерных переходов PKM₂ в опухолевых клетках позволяет балансировать между гликолитическим производством АТФ (при высокоактивной тетрамерной форме) и синтезом строительных блоков клетки, таких как белки, жирные кислоты и липиды, которые необходимы для быстро пролиферирующих клеток (при неактивной димерной форме). Таким образом, опухоли могут адаптироваться к изменениям концентраций питательных веществ в окружающей среде благодаря функции "метаболического датчика" PKM₂ [45]. Однако было также обнаружено, что PKM₂ имеет решающее значение для подавления аэробного гликолиза и обеспечивает преимущество в росте опухолей. Действительно, ингибирование экспрессии PKM₂ с помощью мiРНК и замена на изоформу M₁ в линиях раковых клеток человека привели к сокращению производства лактата и увеличению потребления кислорода *in vitro*, а также снижению способности образовывать опухоли *in vivo*, подтверждая тем самым, что переход на M₂ изоформу является необходимым моментом для формирования опухолевого метаболического фенотипа (эффекта Варбурга) [46]. Были также установлены эффекты PKM₂, несвязанные с гликолитической активностью. Оказалось, что фермент может быть вовлечен в каспада- и Bcl-2-независимый апоптоз, когда он перемещается к ядру, и этот эффект не зависит от киназной каталитической активности фермента [47].

Среди природных соединений, способных ингибировать PKM₂, можно выделить нафтохиноновые производные – шиконин и его энантиомер алканнин, витамины K₃ и K₅. Витамин K₅ является наиболее мощным PKM₂-ингибитором. Галогенированные аналоги фосфоенолпирувата были использованы в качестве ингибиторов РК. Наиболее эффективными оказались соединения фосфоенолпирувата с хлором и фтором в C₃ положении. Циклические полилактаты являются примером синтетических РК-ингибиторов. Синтетические пептиды аптамеры и антителоподобная молекула TEM8-Fc способны селективно связывать PKM₂ [48, 49].

Лактатдегидрогеназа

LDH обратимо катализирует восстановление пирувата в лактат. В клетках человека существует пять основных гомо- или гетеротетрамерных LDH изоформ, состоящих из различных ассоциаций двух видов субъединиц М- (мышечной) и Н- (сердечной), которые кодируются двумя разными генами *ldh-a* и *ldh-b* соответственно. Гомотетрамеры представлены LDH₅ (M₄) и LDH₁ (H₄) (их также называют LDH-A и LDH-B), и гетеротетрамеры – LDH₂ (M₁H₃), LDH₃ (M₂H₂) и LDH₄ (M₃H₁). Чем выше число Н-субъединиц, тем ниже способность LDH катализировать прямую реакцию. Поэтому LDH₅, состоящий из четырех М-субъединиц, обладает наивысшей эффективностью среди остальных для преобразования пирувата в лактат в анаэробных условиях и присутствует в таких тканях, как скелетные мышцы, печень, а также в «гипоксических» опухолях. С другой стороны, LDH₁, состоящей из четырех Н-субъединиц, имеет более высокое сродство к лактату, и это обеспечивает превращение лактата в пируват в аэробных тканях, таких как сердце, почки, селезенка и головной мозг, а также в некоторых участках опухоли [50].

Было установлено, что экспрессия LDH₅ индуцируется HIF-1 и коррелирует с агрессивными

фенотипами рака и плохим прогнозом в нескольких видах опухолей. Поэтому LDH₅ рассматривается в качестве маркера злокачественных раковых заболеваний [51; 52]. Ранние литературные данные указывали, что регуляция на повышение LDH-A под влиянием с-Мус обеспечивает эффективный гликолиз в опухолевых клетках, в то время как этот фермент, вероятно, не столь необходим здоровым клеткам, функционирующим в нормальных условиях и использующим аэробные пути окисления [53]. Таким образом, можно ожидать мало побочных эффектов при селективном ингибировании LDH₅ у онкологических больных.

Аминооксиацетат – структурный изостер пирувата, представляет собой ингибитор LDH и эффективно конкурирует с природным субстратом в месте связывания фермента. Госсипол является естественным полифенольным альдегидом, выделенным из хлопковых семян. В литературе описано, что аналоги NAD могут выступать в качестве ингибиторов различных дегидрогеназ, и среди них недавно открытый LDH-ингибитор NADH-GA. Соединения на основе N-гидроксииндола и фрагменты соединений дикарбоновых производных малонатного типа способны эффективно ингибировать LDH₅ [54].

Монокарбоксилатный переносчик

В случае протекания гликолиза по анаэробному пути образуется большое количество лактата, который способен привести клетку к гибели в результате закисления среды. Транспорт лактата через плазматическую мембрану, как правило, необходим не только для регулирования pH, но это также имеет основополагающее значение для клеток, использующих его после поглощения для глюконеогенеза (печень и почки) или в качестве источника энергии (сердце) [55]. На данный момент известно четыре основных типа регуляторов pH: протонный насос, натрий-протонный обменник, семейство переносчиков бикарбоната и семейство MCT [56]. Семейство MCT осуществляет пассивный лактат-протонный импорт и отвечает, главным образом, за выведение лактата, но также участвует в транспорте пирувата и кетонных тел через плазматическую мембрану [57]. Различные изоформы MCT отличаются друг от друга длиной C-конца и размерами внутриклеточной петли между трансмембранными доменами 6 и 7. Среди семейства MCT изоформы MCT₁ - MCT₄ наиболее хорошо изучены и охарактеризованы [58]. MCT₄ имеет самое низкое сродство к лактату среди других монокарбоксилатов и является единственным членом этого семейства, который подвергается регулингованию HIF-1 α , что обеспечивает возможность быстрого оттока лактата. MCT₄ экспрессируется не только опухолями, но и в тканях, которые зависят от гликолиза, к примеру, в скелетных мышцах [59, 60]. MCT₂ и MCT₃ имеют самую высокую аффинность к лактату и отвечают за интернализацию лактата в очень специфических тканях, таких как печень, почки, головной мозг и сетчатка. Наконец, MCT₁, наиболее распространенная изоформа этого семейства, обладает промежуточным сродством к лактату.

Было обнаружено, что MCT₁ и MCT₄ избыточно экспрессируются в некоторых опухолях, та-

ких как колоректальная карцинома и карцинома молочной железы [61, 62]. Таким образом, ингибирование MCT может также способствовать антипролиферативному эффекту. Ингибирование экспрессии генов MCT₁ и MCT₂ посредством миРНК вызывает снижение жизнеспособности злокачественной глиомы U-87 [63]. Ингибирование оборота лактата должно не только блокировать гликолитическую поставку энергии, но также влиять на метастазирование раковых клеток. В частности, MCT₁ [64] и MCT₄ [65] в настоящее время рассматриваются как очень перспективные объекты таргетной терапии в онкологии.

На сегодня производные коричной кислоты являются наиболее изученным классом MCT-ингибиторов, особенно α -циано-4-гидроксициннамат. Синтетический ангидрид L-(+)-лактата, iBCLA, может влиять на транспорт лактата. Среди природных соединений GLUT-ингибиторы, кверцетин и флоретин, оказывают заметное ингибирующее действие на MCT. НК-ингибитор лонидамин влияет на внутриклеточный pH за счет ингибирования оттока лактата. В отличие от других MCT, MCT₄ ингибируется большим количеством статинов [3; 66].

Заключение

Накопленные к сегодняшнему дню данные показывают, что одним из важных признаков злокачественных опухолей является дисрегуляция биоэнергетического обмена. Достижения в понимании сложных клеточных и молекулярных механизмов, связанных с эффектом Варбурга, стали основой для создания новых селективных и специфических агентов, некоторые из которых в настоящее время оцениваются в клинических испытаниях.

Важно отметить, что в дальнейшем усилия должны быть направлены на изучение механизмов, лежащих в основе измененного биоэнергетического обмена веществ в раковых клетках.

Имеющиеся доступные ингибиторы гликолиза, как правило, не обладают достаточной мощностью, и требуемое повышение дозировок может вызывать системную токсичность, что ограничивает их использование. Актуальной задачей становится поиск более сильных и селективных гликолитических ингибиторов.

На сегодняшний день увеличение вклада гликолиза в энергопродукцию клеток является общепринятым метаболическим маркером злокачественных новообразований, однако многие раковые клетки сохраняют функционирующие митохондрии, способные поддерживать их жизнедеятельность. Из этого следует, что ингибирование гликолитических путей не является единственным терапевтическим подходом, и это необходимо учитывать при дальнейших разработках способов альтернативной аниметаболической терапии, таких как нацеливание на метаболизм митохондрий, ингибирование пентозофосфатного пути, синтеза жирных кислот и обмена аминокислот.

Таким образом, всестороннее и глубокое понимание метаболических изменений и регуляторных механизмов в клетках рака поможет создавать селективные и эффективные противоопухолевые средства.

Литература

1. Warburg O., Posener K., Negelein E. Ueber den stoffwechsel der tumoren // Biochem. Z. – 1924. – Vol. 152. – P. 319–344.

2. Warburg O. On the origin of cancer cells // Science. – 1956. – Vol. 123. – P. 309–314.
3. Anticancer Targets in the Glycolytic Metabolism of Tumors: A Comprehensive Review / Porporato P. E., Dhup S., Dadhich R. K., Copetti T., Sonveaux P. // Front Pharmacol. – 2011. – Vol. 2. – P. 49.
4. Emerging metabolic targets in cancer therapy / Zhao Y., Liu H., Riker A. I., Fodstad O., Ledoux S. P., Wilson G. L., Tan M. // Front Biosci. (Landmark Ed.). – 2011. 1. – Vol. 16. – P. 1844–1860.
5. Tennant D.A., Durán R. V., Gottlieb E. Targeting metabolic transformation for cancer therapy // Nat. Rev. Cancer. – 2010. – Vol. 10, N 4. – P. 267–277.
6. Vander Heiden M. G. Targeting cancer metabolism: a therapeutic window opens. Nat. Rev. Drug. Discov. – 2011. – Vol. 10, N 9. – P. 671–684.
7. Kroemer G., Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel // Cancer Cell. – 2008. – Vol. 13, N 6. – P. 472–482.
8. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation // Cell. – 2011. – Vol. 144, N 5. – P. 646–674.
9. Hamanaka Robert B., Navdeep Chandel S. Targeting glucose metabolism for cancer therapy // JEM. – 2012. – Vol. 209, N 2. – P. 211–215.
10. Ben-Haim S., Ell P. J. ¹⁸F-FDG PET and PET/CT in the evaluation of cancer treatment response // Nucl. Med. – 2009. – Vol. 50, N 1. – P. 88–99.
11. HIF-1α binding to VHL is regulated by stimulus-sensitive proline hydroxylation / Yu F., White S. B., Zhao Q., Lee F. S. // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 2001. – Vol. 98, N 17. – P. 9630–9635.
12. Semenza G. L. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism // Curr. Opin. Genet. Dev. – 2010. – Vol. 20, N 1. – P. 51–56.
13. Macheda M. L., Rogers S., Best J. D. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer // J. Cell. Physiol. – 2005. – Vol. 202, N 3. – P. 654–662.
14. Overexpression of Glut1 and Glut3 in stage I nonsmall cell lung carcinoma is associated with poor survival / Younes M., Brown R. W., Stephenson M., Gondo M., Cagle P. T. // Cancer. – 1997. – Vol. 80, N 6. – P. 1046–1051.
15. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids / Kwon O., Eck P., Chen S., Corpe C. P., Lee J. H., Kruhlak M., Levine M. // FASEB J. – 2007. – Vol. 21, N 2. – P. 366–377.
16. Wilson J. E. Isozymes of mammalian hexokinase: structure, subcellular localization and metabolic function // J. Exp. Biol. – 2003. – Vol. 206. – P. 2049–2057.
17. Tsai H. J., Wilson J. E. Functional organization of mammalian hexokinases: both N- and C-terminal halves of the rat type II isozyme possess catalytic sites // Arch. Biochem. Biophys. – 1996. – Vol. 329, N 1. – P. 17–23.
18. Hexokinase 2 is a key mediator of aerobic glycolysis and promotes tumor growth in human glioblastoma multiforme / Wolf A., Agnihotri S., Micallef J., Mukherjee J., Sabha N., Cairns R., Hawkins C., Guha A. // J. Exp. Med. – 2011. – Vol. 208, N 2. – P. 313–326.
19. Mathupala S. P., Ko Y. H., Pedersen P. L. Hexokinase II: cancer's double-edged sword acting as both facilitator and gatekeeper of malignancy when bound to mitochondria // Oncogene. – 2006. – Vol. 25, N 34. – P. 4777–4786.
20. Determining and understanding the control of glycolysis in fast-growth tumor cells. Flux control by an over-expressed but strongly product-inhibited hexokinase / Marín-Hernández A., Rodríguez-Enríquez S., Vital-González P. A., Flores-Rodríguez F. L., Macías-Silva M., Sosa-Garrocho M., Moreno-Sánchez R. // FEBS J. – 2006. – Vol. 273. – P. 1975–1988.
21. Under normoxia, 2-deoxy-D-glucose elicits cell death in select tumor types not by inhibition of glycolysis but by interfering with N-linked glycosylation / Kurtoglu M., Gao N., Shang J., Maher J. C., Lehrman M. A., Wangpaichitr M., Savaraj N., Lane A. N., Lampidis T. J. // Mol. Cancer Ther. – 2007. – Vol. 6. – P. 3049–3058.
22. Mathupala S. P., Ko Y. H., Pedersen P. L. Hexokinase-2 bound to mitochondria: cancer's stygian link to the "Warburg Effect" and a pivotal target for effective therapy // Semin. Cancer Biol. – 2009. – Vol. 19. – P. 17–24.
23. The diagnostic validity of the serum tumor marker phosphohexose isomerase (PHI) in patients with gastrointestinal, kidney, and breast cancer / Baumann M., Kappl A., Lang T., Brand K., Siegfried W., Paterok E. // Cancer Invest. – 1990. – Vol. 8. – P. 351–356.
24. Expression and secretion of neuroleukin/phosphohexose isomerase/maturation factor as autocrine motility factor by tumor cells / Niinaka Y., Paku S., Haga A., Watanabe H., Raz A. // Cancer Res. – 1998. – Vol. 58. – P. 2667–2674.
25. Tumor autocrine motility factor is an angiogenic factor that stimulates endothelial cell motility / Funasaka T., Haga A., Raz A., Nagase H. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2001. – Vol. 284. – P. 1116–1125.
26. Novel roles of the autocrine motility factor/phosphoglucose isomerase in tumor malignancy / Yanagawa T., Funasaka T., Tsutsumi S., Watanabe H., Raz A. // Endocr-Relat. Cancer. – 2004. – Vol. 11. – P. 749–759.
27. Phosphoglucose isomerase enhances colorectal cancer metastasis / Tsutsumi S., Fukasawa T., Yamauchi H., Kato T., Kigure W., Morita H., Asao T., Kuwano H. // Int. J. Oncol. – 2009. – Vol. 35. – P. 1117–1121.
28. Regulation of phosphoglucose isomerase/autocrine motility factor expression by hypoxia / Funasaka T., Yanagawa T., Hogan V., Raz A. // FASEB J. – 2005. – Vol. 19. – P. 1422–1430.
29. Down-regulation of phosphoglucose isomerase/autocrine motility factor results in mesenchymal-to-epithelial transition of human lung fibrosarcoma cells / Funasaka T., Hu H., Yanagawa T., Hogan V., Raz A. // Cancer Res. – 2007. – Vol. 67. – P. 4236–4243.
30. Crystal structure of rabbit phosphoglucose isomerase complexed with its substrate D-fructose 6-phosphate / Lee J. H., Chang K. Z., Patel V., Jeffery C. // J. Biochemistry. – 2001. – Vol. 40. – P. 7799–7805.
31. Arsenieva D., Jeffery C. J. Conformational changes in phosphoglucose isomerase induced by ligand binding // J. Mol. Biol. – 2002. – Vol. 323. – P. 77–84.

32. Sirover M. A. Role of the glycolytic protein, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, in normal cell function and in cell pathology // *J. Cell Biochem.* – 1997. – Vol. 66. – P. 133–140.
33. Enhanced expression of a glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene in human lung cancers / Tokunaga K., Nakamura Y., Sakata K., Fujimori K., Ohkubo M., Sawada K., Sakiyama S. // *Cancer Res.* – 1987. – Vol. 47. – P. 5616–5619.
34. Schek N., Hall B. L., Finn O. J. Increased glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene expression in human pancreatic adenocarcinoma // *Cancer Res.* – 1988. – Vol. 48. – P. 6354–6359.
35. Desprez P. Y., Poujol D., Saez S. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH, E.C. 1.2.1.12.) gene expression in two malignant human mammary epithelial cell lines: BT-20 and MCF-7. Regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D3 (1,25-(OH)₂D₃) // *Cancer Lett.* – 1992. – Vol. 64. – P. 219–224.
36. Association of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression with cell motility and metastatic potential of rat prostatic adenocarcinoma / Epner D. E., Partin A. W., Schalken J. A., Isaacs J. T., Coffey D. S. // *Cancer Res.* – 1993. – Vol. 53. – P. 1995–1997.
37. Bagui S., Ray M., Ray S. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from Ehrlich ascites carcinoma cells its possible role in the high glycolysis of malignant cells // *Eur. J. Biochem.* – 1999. – Vol. 262. – P. 386–395.
38. Dell'Antone P. Targets of 3-bromopyruvate, a new, energy depleting, anticancer agent // *Med. Chem.* – 2009. – Vol. 5. – P. 491–496.
39. Glycolytic enzyme inhibitors affect pancreatic cancer survival by modulating its signaling and energetics / Bhardwaj V., Rizvi N., Lai M. B., Lai J. C., Bhushan A. // *Anticancer Res.* – 2010. – Vol. 30. – P. 743–749.
40. Mazurek S. Pyruvate kinase type M2: a key regulator of the metabolic budget system in tumor cells // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2011. – Vol. 43. – P. 969–980.
41. Dombrowski J. D., Santarsiero B. D., Mesecar A. D. Structural basis for tumor pyruvate kinase M2 allosteric regulation and catalysis // *Biochemistry.* – 2005. – Vol. 44. – P. 9417–9429.
42. Pyruvate kinase M2 is a PHD3-stimulated coactivator for hypoxia-inducible factor 1 / Luo W., Hu H., Chang R., Zhong J., Knabel M., O'Malley R., Cole R. N., Pandey A., Semenza G. L. // *Cell.* – 2011. – Vol. 145. – P. 732–744.
43. Pyruvate kinase type M2 and its role in tumor growth and spreading / Mazurek S., Boschek C. B., Hugo F., Eigenbrodt E. // *Semin. Cancer Biol.* – 2005. – Vol. 15. – P. 300–308.
44. Tyrosine phosphorylation inhibits PKM2 to promote the Warburg effect and tumor growth / Hitosugi T., Kang S., Vander Heiden M. G., Chung T. W., Elf S., Lythgoe K., Dong S., Lonial S., Wang X., Chen G. Z., Xie J., Gu T. L., Polakiewicz R. D., Roesel J. L., Boggon T. J., Khuri F. R., Gilliland D. G., Cantley L. C., Kaufman J., Chen J. // *Sci. Signaling.* – 2009. – Vol. 2. – P. 73.
45. Pyruvate kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein / Christofk H. R., Vander Heiden M. G., Wu N., Asara J. M., Cantley L. C. // *Nature.* – 2008. – Vol. 452. – P. 181–186.
46. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth / Christofk H. R., Vander Heiden M. G., Harris M. H., Ramanathan A., Gerszten R. E., Wei R., Fleming M. D., Schreiber S. L., Cantley L. C. // *Nature.* – 2008. – Vol. 452. – P. 230–233.
47. Nuclear translocation of the tumor marker pyruvate kinase M2 induces programmed cell death / Steták A., Veress R., Ovádi J., Csermely P., Kéri G., Ullrich A. // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67. – P. 1602–1608.
48. Shikonin and its analogs inhibit cancer cell glycolysis by targeting tumor pyruvate kinase-M2 / Chen J., Xie J., Jiang Z., Wang B., Wang Y., Hu X. // *Oncogene.* – 2011. – Vol. 30. – P. 4297–4306.
49. Vitamin K(3) and K(5) are inhibitors of tumor pyruvate kinase M2 / Chen J., Jiang Z., Wang B., Wang Y., Hu X. // *Cancer Lett.* – 2012. – Vol. 316, N 2. – P. 204–210.
50. Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice / Sonveaux P., Végran F., Schroeder T., Wergin M. C., Verrax J., Rabbani Z. N., De Saedeleer C. J., Kennedy K. M., Diepart C., Jordan B. F., Kelley M. J., Gallez B., Wahl M. L., Feron O., Dewhirst M. W. // *J. Clin. Invest.* – 2008. – Vol. 118, N 12. – P. 3930–3942.
51. Lactate dehydrogenase-5 (LDH-5) overexpression in non-small-cell lung cancer tissues is linked to tumour hypoxia, angiogenic factor production and poor prognosis / Koukourakis M. I., Giatromanolaki A., Sivridis E., Bougioukas G., Didilis V., Gatter K. C., Harris A. L. // *Br. J. Cancer.* – 2003. – Vol. 89. – P. 877–885.
52. Lactate dehydrogenase 5 (LDH5) relates to up-regulated hypoxia inducible factor pathway and metastasis in colorectal cancer / Koukourakis M. I., Giatromanolaki A., Simopoulos C., Polychronidis A., Sivridis E. // *Clin. Exp. Metastasis.* – 2005. – Vol. 22. – P. 25–30.
53. c-Myc transactivation of LDH-A: implications for tumor metabolism and growth / Shim H., Dolde C., Lewis B. C., Wu C. S., Dang G., Jungmann R. A., Dalla-Favera R., Dang C. V. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – Vol. 94. – P. 6658–6663.
54. Design and synthesis of novel lactate dehydrogenase A inhibitors by fragment-based lead generation / Ward R. A., Brassington C., Breeze A. L., Caputo A., Critchlow S., Davies G., Goodwin L., Hassall G., Greenwood R., Holdgate G. A., Mrosek M., Norman R. A., Pearson S., Tart J., Tucker J. A., Vogther M., Whittaker D., Wingfield J., Winter J., Hudson K. // *J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 55, N 7. – P. 3285–3306.
55. Chiche J., Brahimi-Horn M. C., Pouyssegur J. Tumour hypoxia induces a metabolic shift causing acidosis: a common feature in cancer // *J. Cell. Mol. Med.* – 2010. – Vol. 14. – P. 771–794.
56. Cellular pH regulators: potentially promising molecular targets for cancer chemotherapy / Izumi H., Torigoe T., Ishiguchi H., Uramoto H., Yoshida Y., Tanabe M., Ise T., Murakami T., Yoshida T., Nomoto M., Kohno K. // *Cancer Treat. Rev.* – 2003. – Vol. 29. – P. 541–549.
57. Halestrap A. P. The monocarboxylate transporter family-Structure and functional characterization / *IUBMB Life.* – 2012. – Vol. 64. – P. 1–9.
58. Morris M. E., Felmlee M. A. Overview of the proton-coupled MCT (SLC16A) family of transporters: characterization, function and role in the transport of the drug of abuse gamma-hydroxybutyric acid // *AAPS J.* – 2008. – Vol. 10. – P. 311–321.

59. The low-affinity monocarboxylate transporter MCT4 is adapted to the export of lactate in highly glycolytic cells / Dimmer K. S., Friedrich B., Lang F., Deitmer J. W., Bröer S. // *Biochem. J.* – 2000. – Vol. 350. – P. 219–227.
60. Ullah M. S., Davies A. J., Halestrap A. P. The plasma membrane lactate transporter MCT4, but not MCT1, is up-regulated by hypoxia through a HIF-1 α -dependent mechanism // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281. – P. 9030–9037.
61. Increased expression of monocarboxylate transporters 1, 2, and 4 in colorectal carcinomas / Pinheiro C., Longatto-Filho A., Scapulatempo C., Ferreira L., Martins S., Pellerin L., Rodrigues M., Alves V. A., Schmitt F., Baltazar F. // *Virchows Arch.* – 2008. – Vol. 452. – P. 139–146.
62. Monocarboxylate transporter 1 is up-regulated in basal-like breast carcinoma / Pinheiro C., Albergaria A., Paredes J., Sousa B., Dufloth R., Vieira D., Schmitt F., Baltazar F. // *Histopathology.* – 2010. – Vol. 56. – P. 860–867.
63. Mathupala S. P., Parajuli P., Sloan A. E. Silencing of monocarboxylate transporters via small interfering ribonucleic acid inhibits glycolysis and induces cell death in malignant glioma: an in vitro study // *Neurosurgery.* – 2004. – Vol. 55. – P. 1410–1419.
64. Multiple biological activities of lactic acid in cancer: influences on tumor growth, angiogenesis and metastasis / Dhup S., Dadhich R. K., Porporato P. E., Sonveaux P. // *Curr. Pharm. Des.* – 2012. – Vol. 18. – P. 1319–1330.
65. Genome-wide RNA interference analysis of renal carcinoma survival regulators identifies MCT4 as a Warburg effect metabolic target / Gerlinger M., Santos C. R., Spencer-Dene B., Martinez P., Endesfelder D., Burrell R. A., Vetter M., Jiang M., Saunders R. E., Kelly G., Rioux-Leclercq N., Stamp G., Patard J. J., Larkin J., Howell M., Swanton C. // *J. Pathol.* – 2012. – Vol. 227, N 2. – P. 146–156.
66. Inhibitory effects of statins on human monocarboxylate transporter 4 / Kobayashi M., Otsuka Y., Itagaki S., Hirano T., Iseki K. // *Int. J. Pharm.* – 2006. Vol. 317. – P.19–25.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДАФ	– дигидроксиацетон ф осфат
ГАФ	– глицеральдегид-3- ф осфат
МОФ	– митохондриальное о кислительное ф осфорилирование

AMF	– a utocrine m ouvement f actor (аутокринный фактор подвижности)
GAPDH	– глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа
GLUT	– g lucose t ransporter (транспортер глюкозы)
GPI	– глюкоза-6-фосфатизомераза
HIF	– гипоксия-индуцибельный фактор
HK	– гексокиназа
LDH	– лактатдегидрогеназа
MCT	– монокарбоксилатный переносчик
PK	– пируват киназа

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 615.32.011.5:616-006-092.9

Ю.А. Борисова¹, Г.Б. Смирнова², Н.В. Андропова³, Н.Т. Райхлин⁴, Е.М. Трещалина⁵, З.С. Шпрах⁶

НОВЫЙ ФИТОАНТИЭСТРОГЕН СЕКОИЗОЛАРИЦИРЕЗИНОЛ

1. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ

НА ОПУХОЛЕВЫХ МОДЕЛЯХ *IN VIVO*

¹Младший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

²К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

³К. б. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁴Заслуженный деятель науки РФ, д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник, отдел патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁵Д. м. н., профессор, заведующий, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁶К. фарм. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория готовых лекарственных форм НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Адрес для переписки: РФ, 115448, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей, лаборатория комбинированной терапии опухолей, Борисова Юлия Александровна,
e-mail: ulkabor@yandex.ru.

Представлены результаты экспериментального изучения субстанции нового фитоантиэстрогена секоизоларицирезинола на мышах с перевиваемыми опухолями. Секоизоларицирезинол вводили в желудок ежедневно в разовых дозах 250 или 500 мг/кг (суммарно 2,5 г/мг) в течение 5 или 10 дней. На модели эстрогензависимой аденокарциномы молочной железы мышей Ca755 РЭ⁺ показаны двух-трехкратная задержка роста запущенной опухоли ($p < 0,05$), сравнимая эффективность с тамоксифеном при десятикратном курсе 50 мг/кг/сут, а также в комбинации с анастрозолом по 10 мг/кг/сут. На внутримышечно трансплантированной меланоме B16/F10 РЭ–секоизоларицирезинол был неэффективен и не стимулировал процесс метастазирования.

Ключевые слова: фитоантиэстроген секоизоларицирезинол, экспериментальное изучение, опухолевые модели.

СЕКО относится к лигнанам и представляет собой растительный антиэстроген полифенольной природы, состоящий из двух пропилбензольных (C3–C6) структурных фрагментов, соединенных между собой атомами C8 и C8' [1; 2].

Антиэстрогенное действие СЕКО, опосредованное активностью главного метаболита лигнанов энтеролактона, предотвращает связывание рецепторов эстрадиола (РЭ) и 17 β -эстрадиола, а энтеролактон ингибирует передачу пролиферативного сигнала в клетках опухолей РЭ⁺ [3].

Возможным функциональным прототипом СЕКО является известный антиэстроген тамоксифен, который используется при РЭ⁺ раке молочной железы у женщин в менопаузе самостоятельно, одновременно с ингибиторами ароматазы или в комбинации с ними для снижения относительного риска рецидива [4].

Значимое достоверное ингибирующее действие СЕКО выявлено нами при скрининге на модели эстрогензависимой аденокарциномы молочной железы мышей Ca755 РЭ⁺ [5]. Показано, что субстанция СЕКО в разовых дозах 250–500 мг/кг при ежедневном десятикратном введении в желудок реализует воспроизводимый ингибирующий эффект на уровне ТРО 67–76% ($p < 0,05$) при удовлетворительной переносимости. В результате СЕКО оценен как перспективный для доклинического изучения в качестве отечественного аналога тамоксифена.

В настоящей работе выполнено изучение субстанции СЕКО на эстрогензависимой и эстрогенотрицательной опухолевых моделях с оценкой

действия на рост запущенной опухоли, процесс метастазирования и сравнительной эффективности с тамоксифеном, в том числе в комбинации с анастрозолом. Соответственно сформулированы цель и задачи исследования.

Цель исследования: экспериментальное изучение основных характеристик фитоантиэстрогена СЕКО на опухолевых моделях у мышей.

Задачи исследования:

- 1) изучение ингибирующего действия СЕКО на рост запущенной Ca755 РЭ⁺;
- 2) определение действия СЕКО на процесс метастазирования;
- 3) сравнительное изучение ингибирующего действия СЕКО и тамоксифена;
- 4) оценка эффективности комбинированной антиэстрогенной терапии ингибитором ароматазы при включении СЕКО.

Материалы и методы

Животные. Использованы 160 иммунокомпетентных мышей – самок, в том числе 20 особей линии C57Bl6j (доноры опухолевого материала) и 140 особей гибридов BDF1 [C57Bl6J $\times$ DBA2] массой тела 20–21 г. Мышей получали из питомника «Столбовая» ГУ НЦ БМТ и содержали в отделе лабораторных животных «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» при обычном световом дне, на экструзированной корме и постоянном доступе к воде.

Перед началом опытов всех мышей с перевиваемыми опухолями распределяли по группам

($n = 10$), одну группу оставляли без специфического лечения и считали контрольной. Для оценки действия на процесс метастазирования по ЛК использованы ретроспективные данные от здоровых мышей без опухоли ($n = 10$).

Опухолевые модели. Использованы 2 штамма перевиваемых опухолей мышей (3–4 пассажи) из Банка РОНЦ: аденокарцинома молочной железы Ca755 РЭ⁺ и эстрогенотрицательная (РЭ⁻) метастазирующая в легкие меланома B16/F10 [6–8].

В соответствии с рекомендованными методиками трансплантацию опухолей выполняли мышам-самкам гибридам BDF1 по 40 мг опухолевой ткани в 0,5 мл питательной среды 199 под кожу бока (Ca755 РЭ⁺) или в мышцы правой задней лапки по $1 \cdot 10^6$ клеток на мышь в 0,1 мл питательной среды 199 (B16/F10 РЭ⁻) [9; 10].

Секоизолярицирезинол. Субстанция 3 серий, 29.09.11, 24.10.11 и 24.08.12, получена в виде нерастворимого в воде кристаллического порошка белого цвета с кремовым оттенком при обычных условиях хранения.

Основные характеристики представлены в паспорте, составленных ЗАО "Биохиммак" СТ, Москва.

Для введения мышам к навеске субстанции добавляли приготовленный ex tempore 1 %-ный раствор крахмального клейстера с получением суспензии различных концентраций, которую в объеме 0,2 мл вводили мышам в желудок один раз в сутки ежедневно с помощью металлического зонда.

Проведение лечения. Для проведения монотерапии СЕКО вводили мышам в желудок ежедневно в течение 5 или 10 дней в разовой дозе 250 или 500 мг/кг с сохранением суммарной дозы 2,5 г/кг.

Сроки раннего лечения 3–12 сут, при запущенной опухоли 9–18 сут после трансплантации опухоли. При комбинированном лечении СЕКО вводили мышам первым. Мыши контрольных групп получали 1 %-ный раствор крахмального клейстера в адекватном объеме и режиме.

Препарат сравнения. Использован аптечный тамоксифен в таблетках по 10 мг («Эбеве», Швейцария). Таблетку предварительно растирали в фарфоровой ступке, а затем растворяли в питьевой воде. Мышам тамоксифен вводили в оптимальной разовой дозе 50 мг/кг в желудок ежедневно в течение 10 дней в сроки, адекватные терапии СЕКО [4].

Препарат для комбинации. Использован анастрозол в таблетках по 1 мг (Аримидекс, «Астра Зенека», Великобритания). Таблетки растирали в керамической ступке и разводили в питьевой воде, после чего вводили мышам в желудок в разовой дозе 10 мг/кг ежедневно в течение 10 дней после завершения курса СЕКО без интервала (13–22-е сутки) [4].

Оценка эффективности лечения. У всех мышей после окончания лечения трехкратно определяли размеры опухоли с помощью электронного измерителя и рассчитывали объем по формуле $V = a \times b \times c$.

После этого определяли $V_{ср}$ в каждой группе и стандартный показатель эффективности торможения роста опухоли

$$TPO = \frac{(V_0 - V_k)}{V_k} \times 100, \text{ где}$$

V_0 и V_k – величина $V_{ср}$ в опыте и в контроле.

В качестве минимального критерия эффективности использовали скрининговое значение $TPO \geq 50\%$ длительностью не менее 1 нед.

Для расчета показателя эффективности СЕКО в отношении запущенной опухоли использован коэффициент задержки роста опухоли (К), рассчитанный по соотношению относительных объе-

мов опухолей $\frac{V}{V}$ в леченой и контрольной группах [9].

Оценка переносимости воздействия. Проведена по состоянию и поведению мышей в процессе эксперимента, следили за гибелью от токсичности. Павших или умерщвленных мышей подвергали аутопсии для выявления визуальных патологических изменений внутренних органов.

Оценка действия на метастазирование. Исследования выполнены на мышах с внутримышечно трансплантированной меланомой B16/F10 РЭ⁻ при наличии или в отсутствие первичного узла, осуществляя введение СЕКО в сроки метастазирования. Для оценки биологической адекватности роста метастазирующей меланомы при внутримышечной трансплантации мышам изучена гистологическая структура и состояние неопластического роста опухоли с использованием моноклональных антител к VEGF, CD31 и CD34 («Дако», США). Окрашенные срезы опухоли просматривали в световом микроскопе «Поливар» (Австрия). Первичный узел удаляли под контролем зоны инвазии в пределах здоровых тканей вместе с лапкой на 8 сутки после трансплантации под зоветиловым наркозом. Влияние на метастазирование оценивали в сравнении с контролем по выживаемости мышей, а также по ТРО при наличии первичного узла и по ЛК при удалении узла [10]. ЛК рассчитывали с использованием относительной массы легких с метастазами у леченых и контрольных мышей, умерщвленных после верифицированной гибели первой мыши в контроле от метастазов. Использовали ретроспективные данные от здоровых мышей.

Статистическая обработка данных. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием доверительных интервалов средних сравниваемых величин по стандартному методу Стьюдента в модификации Р.Б. Стрелкова. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Завершение экспериментов на мышах. Мышей умерщвляли передозировкой эфирного наркоза, а трупы кремировали в специализированном подразделении РОНЦ с учетом международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных [7].

Результаты и обсуждение

Изучение ингибирующего действия СЕКО на рост запущенной Ca755 РЭ⁺

Показано, что при исходном объеме $V_0 = 574 [457-691] \text{ мм}^3$ на 9-е сутки после трансплантации СЕКО в разных режимах и дозах существенно замедляет скорость роста опухоли независимо от схемы лечения.

Коэффициент задержки роста опухоли составил $K = 1,4-3,2$ (250 мг/кг десятикратно) и $K = 1,0-1,7$ (500 мг/кг пятикратно; рис. 1). Мыши удовлетворительно переносили СЕКО в использованных схемах лечения.

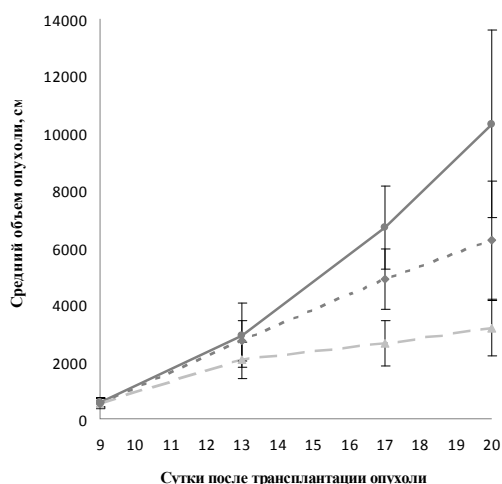


Рис. 1. Действие СЕКО на запущенную Ca755 РЭ⁺.

- 1 – контроль роста опухоли;
- 2 – СЕКО 250 мг/кг десятикратно;
- 3 – СЕКО 500 мг/кг пятикратно.

Результаты изучения СЕКО при метастазирующей опухоли

При наличии первичного узла. В результате патоморфологического исследования показано, что внутримышечно трансплантированная меланома B16/F10 РЭ⁻ имеет обычное строение и состоит из полиморфных клеток, среди которых встречаются клетки с митозом и признаками апоптоза. Имеются участки некроза в пределах 5–10% от площади среза. Отмечаются выраженное очаговое развитие кровеносных сосудов, их умеренное полнокровие, небольшие очаги кровоизлияний, инвазия в прилежащую мышечную ткань.

Анализ основных маркеров неоангиогенеза показал, что в срезах опухоли реакция VEGF сильная. Лишь в отдельных участках реакция умеренная или слабая. В эндотелии большинства кровеносных сосудов выявляется сильная реакция CD34 и CD31. Эти данные, подтверждающие стандартное строение и васкуляризацию внутримышечно развивающейся меланомы, свидетельствуют об интенсивном кровотоке, определяющем возможность и стандартные сроки метастазирования.

Динамика роста внутримышечной меланомы B16/F10 РЭ⁻ под действием СЕКО отражена в табл. 1.

Оценка выживаемости мышей показала, что в сравниваемых группах гибель животных наступала практически в одинаковые сроки – на 18–25-е сутки после трансплантации. При вскрытии в обеих группах метастазы в легких обнаружены у 40 и 50% мышей соответственно.

В отсутствие первичного узла. Данные по контролю метастазирования у мышей с удаленной меланомой B16/F10 РЭ⁻ представлены в табл. 2.

Сравнительное изучение СЕКО и тамоксифена

Анализ роста опухоли в контрольной группе показал, что Ca755 РЭ⁺ без специфического лечения растет стандартно и достигает к 12-м суткам после перевивки $V_{ср} = 1303 [711-1895] \text{ мм}^3$, а к 22-м – $V_{ср} = 10\,000 [6436-13564] \text{ мм}^3$. На этом фоне показано, что СЕКО в разовой дозе 250 мг/кг или тамоксифен в разовой дозе 50 мг/кг при десятикратном курсе практически одинаково и достоверно

ингибировали рост опухоли, ТРО = 78–79% против ТРО = 72–88% ($p < 0,05$) соответственно (рис. 2).

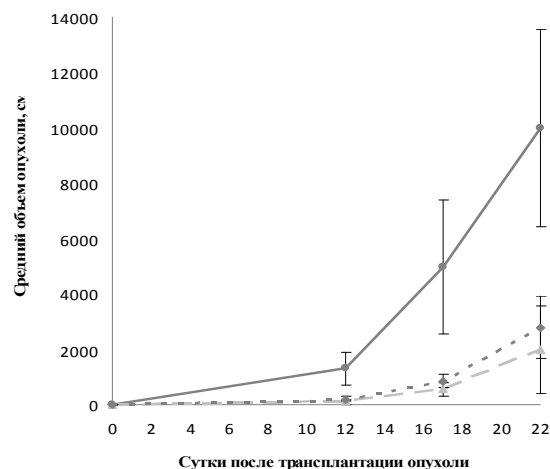


Рис. 2. Ингибирование роста Ca755 РЭ⁺ с помощью СЕКО и тамоксифена.

- 1 – контроль роста опухоли;
- 2 – СЕКО 250 мг/кг десятикратно;
- 3 – тамоксифен 50 мг/кг десятикратно.

Результаты изучения комбинации СЕКО + анастрозол

На мышах с Ca755 РЭ⁺ показано, что в монорежиме СЕКО 250 мг/кг или анастрозол 10 мг/кг при десятикратном курсе оказывали практически равное ингибирующее действие, ТРО = 76 и 73% ($p < 0,05$) соответственно. Однако на этом уровне эффект отмечали только после окончания введения, а затем он постепенно снижался и к 20-м суткам роста опухоли был ниже минимально значимого – 25 и 2% соответственно. Длительная, в течение 20 дней антиэстрогенная терапия Ca755 РЭ⁺ с последовательным без интервала введением СЕКО и анастрозола десятикратным курсом в приведенных дозах привела не только к повышению, но и к пролонгированию действия: сразу после окончания лечения ТРО = 86–79% ($p < 0,05$), а на 28-е сутки ТРО = 52% ($p < 0,05$; рис. 3).

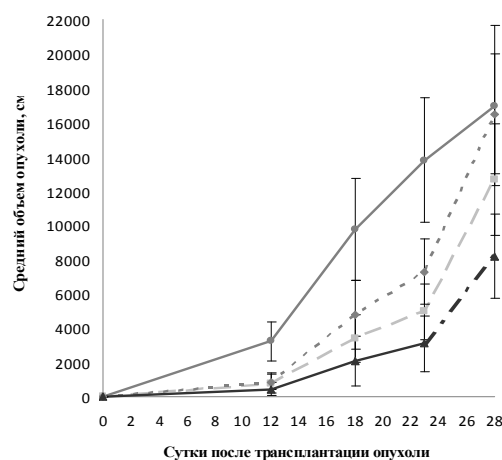


Рис. 3. Результаты изучения комбинации СЕКО и анастрозола, Ca755 РЭ⁺.

- 1 – контроль роста опухоли;
- 2 – СЕКО 250 мг/кг десятикратно;
- 3 – анастрозол 10 мг/кг десятикратно;
- 4 – СЕКО 250 мг/кг + анастрозол 10 мг/кг.

Таблица 1

Влияние СЕКО на рост меланомы B16/F10 РЭ⁻

Группа (n = 10)	Разовая доза	Средний объем опухоли (V _{ср} , мм ³) на сутки после трансплантации опухоли			
		8-е	10-е	13-е	15-е
Контроль роста опухоли	0,3 мл ^а	750 [608÷892] ^б	2097 [1767÷2427]	3645 [3104÷4186]	6124 [4760÷7282]
СЕКО	250 мг/кг ^в	740 [617÷863]	2016 [1799÷2233]	3671 [3120÷4222]	6233 [5542÷6924]

^а1% раствор крахмального клейстера – разбавитель СЕКО при пероральном введении по адекватной схеме.
^бСуммарно 2,5 г/кг в 1% растворе крахмального клейстера ежедневно на 3–12-е сутки после трансплантации.
^вДанные представлены как средняя арифметическая [ДИ –95%].

Таблица 2

Показатели метастазирования у мышей с удаленной меланомой B16/F10 РЭ⁻ под действием СЕКО при ежедневном пероральном введении

Группа ^а , n = 10	Разовая доза	Средняя масса легких, мг	ЛК
Контроль роста опухоли	0,3 мл ^б	519 [296÷742] ^г	3,0
СЕКО	250 мг/кг ^в	445 [275÷615]	2,6
Здоровые мыши ^д	–	172 [181÷163]	1,0

^аВ группе мышей с опухолью метастазирование составило 100%.^бИсторический контроль.^в1% раствор крахмального клейстера – разбавитель СЕКО при пероральном введении по адекватной схеме.^гСуммарно 2,5 г/кг в 1% растворе крахмального клейстера ежедневно на 3–12-е сутки после трансплантации.^дДанные представлены как средняя арифметическая [ДИ –95%].

Заключение

Таким образом, СЕКО в разовой дозе 250 мг/кг при десятикратном ежедневном введении в желудок в растворе крахмального клейстера проявляет значимый ингибирующий эффект в отношении запущенной Ca755 ЭР⁺ и также эффективен, как тамоксифен при раннем лечении. В указанном режиме СЕКО не стимулирует метастазирование и рост метастазов в легких у мышей с B16/F10 РЭ⁻.

При сочетании с анастрозолом последовательное без интервала введение СЕКО дает почти двукратный терапевтический выигрыш по уровню ингибирования и пролонгированию достигнутого эффекта. Применение СЕКО в монорежиме или при комбинированной терапии не сопровождается побочными эффектами.

Авторы выражают благодарность ООО «Медресурс» (РФ, Москва) за финансовую поддержку исследований.

Литература

1. Knots in trees – A new rich source of lignans / Holmbom B., Eckerman C., Eklund P., Hemming J., Nisula L., Reunanen M., Sjöholm R., Sundberg A., Sundberg K., Willför S. // *Phytochem. Rev.* – 2003. – Vol. 2. – P. 331–340.
2. Studies on the Metabolism of the Plant Lignans Secoisolariciresinol and Matairesinol / Niemeyer H. B., Honig D. M., Kulling S. E., Metzler M. // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – Vol. 51. – P. 6317–6325.
3. Enterolactone Inhibits the Growth of 7,12-Dimethylbenz(a) anthracene-induced Mammary Carcinomas in the Rat / Saarinen N. M., Huovinen R., Warri A., Mäkelä S. I., Valentin-Blasini L., Sjöholm R., Ämmälä J., Lehtilä R., Eckerman C., Collan Y. U., Santti R. S. // *Mol. Cancer Ther.* – 2002. – Vol. 1. – P. 869–876.
4. Xanthopoulos J. M., Romano A. E., Majumdar S. K. Response of mouse breast cancer cell to anastrozole, tamoxifen, and the combination // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2005. – Vol. 1. – P. 10–19.
5. Результаты скрининга нового фитоантиэстрогена секоизоларицирезинола на гормонозависимой опухолевой модели in vivo / Седакова Л. А., Смирнова Г. Б., Борисова Ю. А., Трещалина Е. М. // Тез. докл. Белорусско-Российской науч.-практ. конф., г. Минск, 23–25 мая 2013 г. – С. 73.
6. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, ЕЭС, Страсбург, 1985 г. // *Ланималогия.* – 1993. – № 1. – С. 29.
7. Большаков О. П., Незнанов Н. Г., Бабаханян Р. В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных // *Качествен. клин. практ.* – 2002. – № ?? – С. ??
8. The field bean protease inhibitor has the potential to suppress B16/F10 melanoma cell lung metastasis in mice / Banerji A., Fernandes A., Bane S., Ahire S. // *Cancer Lett.* – 1998. – Vol. 129, N 1. – P. 15–20.
9. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств / Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К., Андропова Н. В., Гарин А. М. // *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств* / Под ред. А. Н. Миронова. – ч. 1, гл. 39. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 642–657.
10. Методические указания по изучению (доклиническому) средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей / Зуева Е. П., Козлов А. М., Герасимова Г. К., Амосова Е. Н., Разина Т. Г., Гольдберг В. Е. // *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ* / Под ред. Р. У. Хабриева. – 3-е изд. – М.: Медицина, 2005. – С. 674–685.

Поступила 15.01.2014

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

СЕКО – Секоизоларицирезинол; ЛК – легочно-соматический коэффициент;
 ТРО – торможение роста опухоли; ДИ – доверительный интервал

Ю.А. Борисова¹, Г.Б. Смирнова², Н.В. Андропова³, Н.Т. Райхлин⁴, Е.М. Трещалина⁵, З.С. Шпрах⁶

НОВЫЙ ФИТОАНТИЭСТРОГЕН СЕКОИЗОЛАРИЦИРЕЗИНОЛ

1. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ НА ОПУХОЛЕВЫХ МОДЕЛЯХ *IN VIVO*

¹Младший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»

²К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»

³К. б. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁴Заслуженный деятель науки РФ, д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник, отдел патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»

⁵Д. м. н., профессор, заведующий, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»

⁶К. фарм. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория готовых лекарственных форм НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»

Адрес для переписки: РФ, 115448 г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей, лаборатория комбинированной терапии опухолей, Борисова Юлия Александровна,
e-mail: ulkabor@yandex.ru.

Представлены результаты экспериментального изучения субстанции нового фитоантиэстрогена секоизоларицирезинола на мышах с перевиваемыми опухолями. Секоизоларицирезинол вводили в желудок ежедневно в разовых дозах 250 или 500 мг/кг (суммарно 2,5 г/мг) в течение 5 или 10 дней. На модели эстрогензависимой аденокарциномы молочной железы мышей Ca755 РЭ+ показаны двух-трехкратная задержка роста запущенной опухоли ($p < 0,05$), сравнимая эффективность с тамоксифеном при десятикратном курсе 50 мг/кг/сут, а также в комбинации с анастрозолом по 10 мг/кг/сут. На внутримышечно трансплантированной меланоме В16/Ф10 РЭ– секоизоларицирезинол был неэффективен и не стимулировал процесс метастазирования.

Ключевые слова: фитоантиэстроген секоизоларицирезинол, экспериментальное изучение, опухолевые модели.

СЕКО относится к лигнанам и представляет собой растительный антиэстроген полифенольной природы, состоящий из двух пропилбензольных (С3–С6) структурных фрагментов, соединенных между собой атомами С8 и С8' [1; 2].

Антиэстрогенное действие СЕКО, опосредованное активностью главного метаболита лигнанов энтеролактона, предотвращает связывание рецепторов эстрадиола (РЭ) и 17 β -эстрадиола, а энтеролактон ингибирует передачу пролиферативного сигнала в клетках опухолей РЭ+ [3].

Возможным функциональным прототипом СЕКО является известный антиэстроген тамоксифен, который используется при РЭ+ раке молочной железы у женщин в менопаузе самостоятельно, одновременно с ингибиторами ароматазы или в комбинации с ними для снижения относительного риска рецидива [4].

Значимое достоверное ингибирующее действие СЕКО выявлено нами при скрининге на модели эстрогензависимой аденокарциномы молочной железы мышей Ca755 РЭ+ [5]. Показано, что субстанция СЕКО в разовых дозах 250–500 мг/кг при ежедневном десятикратном введении в желудок реализует воспроизводимый ингибирующий эффект на уровне ТРО 67–76% ($p < 0,05$) при удовлетворительной переносимости. В результате СЕКО оценен как перспективный для доклинического изучения в качестве отечественного аналога тамоксифена.

В настоящей работе выполнено изучение субстанции СЕКО на эстрогензависимой и эстрогенотрицательной опухолевых моделях с оценкой действия на рост запущенной опухоли, процесс метастазирования и сравнительной эффективности с тамоксифеном, в том числе в комбинации с анастрозолом. Соответственно сформулированы цель и задачи исследования.

Цель исследования: экспериментальное изу-

чение основных характеристик фитоантиэстрогена СЕКО на опухолевых моделях у мышей.

Задачи исследования:

- 1) изучение ингибирующего действия СЕКО на рост запущенной Ca755 РЭ+;
- 2) определение действия СЕКО на процесс метастазирования;
- 3) сравнительное изучение ингибирующего действия СЕКО и тамоксифена;
- 4) оценка эффективности комбинированной антиэстрогенной терапии ингибитором ароматазы при включении СЕКО.

Материалы и методы

Животные. Использованы 160 иммунокомпетентных мышей – самок, в том числе 20 особей линии С57В16j (доноры опухолевого материала) и 140 особей гибридов BDF1 [С57В16j $\times$ DBA2] массой тела 20–21 г. Мышей получали из питомника «Столбовая» ГУ НЦ БМТ и содержали в отделе лабораторных животных «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» при обычном световом дне, на экструзированной корме и постоянном доступе к воде.

Перед началом опытов всех мышей с перевиваемыми опухолями распределяли по группам ($n = 10$), одну группу оставляли без специфического лечения и считали контрольной. Для оценки действия на процесс метастазирования по ЛК использованы ретроспективные данные от здоровых мышей без опухоли ($n = 10$).

Опухолевые модели. Использованы 2 штамма перевиваемых опухолей мышей (3–4 пассажи) из Банка РОНЦ: аденокарцинома молочной железы Ca755 РЭ+ и эстрогенотрицательная (РЭ–) метастазирующая в легкие меланомы В16/Ф10 [6–8].

В соответствии с рекомендованными методиками трансплантацию опухолей выполняли мы-

шам-самкам гибридам BDF1 по 40 мг опухолевой ткани в 0,5 мл питательной среды 199 под кожу бока (Ca755 PЭ⁺) или в мышцы правой задней лапки по $1 \cdot 10^6$ клеток на мышь в 0,1 мл питательной среды 199 (B16/F10 PЭ⁻) [9; 10].

Секоизолярицирезинол. Субстанция 3 серий, 29.09.11, 24.10.11 и 24.08.12, получена в виде нерастворимого в воде кристаллического порошка белого цвета с кремовым оттенком при обычных условиях хранения.

Основные характеристики представлены в паспортах, составленных ЗАО "Биохиммак" СТ, Москва.

Для введения мышам к навеске субстанции добавляли приготовленный ex tempore 1 %-ный раствор крахмального клейстера с получением суспензии различных концентраций, которую в объеме 0,2 мл вводили мышам в желудок один раз в сутки ежедневно с помощью металлического зонда.

Проведение лечения. Для проведения монотерапии СЕКО вводили мышам в желудок ежедневно в течение 5 или 10 дней в разовой дозе 250 или 500 мг/кг с сохранением суммарной дозы 2,5 г/кг.

Сроки раннего лечения 3–12 сут, при запущенной опухоли 9–18 сут после трансплантации опухоли. При комбинированном лечении СЕКО вводили мышам первым. Мыши контрольных групп получали 1 %-ный раствор крахмального клейстера в адекватном объеме и режиме.

Препарат сравнения. Использован аптечный тамоксифен в таблетках по 10 мг («Эбеве», Швейцария). Таблетку предварительно растирали в фарфоровой ступке, а затем растворяли в питьевой воде. Мышам тамоксифен вводили в оптимальной разовой дозе 50 мг/кг в желудок ежедневно в течение 10 дней в сроки, адекватные терапии СЕКО [4].

Препарат для комбинации. Использован анастрозол в таблетках по 1 мг (Аримидекс, «Астра Зенека», Великобритания). Таблетки растирали в керамической ступке и разводили в питьевой воде, после чего вводили мышам в желудок в разовой дозе 10 мг/кг ежедневно в течение 10 дней после завершения курса СЕКО без интервала (13–22-е сутки) [4].

Оценка эффективности лечения. У всех мышей после окончания лечения трехкратно определяли размеры опухоли с помощью электронного измерителя и рассчитывали объем по формуле $V = a \times b \times c$.

После этого определяли $V_{ср}$ в каждой группе и стандартный показатель эффективности торможения роста опухоли

$$TPO = \frac{(V_0 - V_k)}{V_k} \times 100, \text{ где}$$

V_0 и V_k – величина $V_{ср}$ в опыте и в контроле.

В качестве минимального критерия эффективности использовали скрининговое значение $TPO \geq 50\%$ длительностью не менее 1 нед.

Для расчета показателя эффективности СЕКО в отношении запущенной опухоли использован коэффициент задержки роста опухоли (K), рассчитанный по соотношению относительных объемов опухолей $\frac{V}{V}$ в леченой и контрольной группах [9].

Оценка переносимости воздействия. Проведена по состоянию и поведению мышей в процессе эксперимента, следили за гибелью от токсичности.

Павших или умерщвленных мышей подвергали аутопсии для выявления визуальных патологических изменений внутренних органов.

Оценка действия на метастазирование. Исследования выполнены на мышах с внутримышечно трансплантированной меланомой B16/F10 PЭ⁻ при наличии или в отсутствие первичного узла, осуществляя введение СЕКО в сроки метастазирования.

Для оценки биологической адекватности роста метастазирующей меланомы при внутримышечной трансплантации мышам изучена гистологическая структура и состояние неоплазии в опухоли с использованием моноклональных антител к VEGF, CD31 и CD34 («Дако», США).

Окрашенные срезы опухоли просматривали в световом микроскопе «Поливар» (Австрия).

Первичный узел удаляли под контролем зоны инвазии в пределах здоровых тканей вместе с лапкой на 8 суток после трансплантации под золе-тиловым наркозом.

Влияние на метастазирование оценивали в сравнении с контролем по выживаемости мышей, а также по ТРО при наличии первичного узла и по ЛК при удалении узла [10].

ЛК рассчитывали с использованием относительной массы легких с метастазами у леченых и контрольных мышей, умерщвленных после верифицированной гибели первой мыши в контроле от метастазов. Использовали ретроспективные данные от здоровых мышей.

Статистическая обработка данных. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием доверительных интервалов средних сравниваемых величин по стандартному методу Стьюдента в модификации Р.Б. Стрелкова. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Завершение экспериментов на мышах. Мышей умерщвляли передозировкой эфирного наркоза, а трупы кремировали в специализированном подразделении РОНЦ с учетом международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных [7].

Результаты и обсуждение

Изучение ингибирующего действия СЕКО на рост запущенной Ca755 PЭ⁺

Показано, что при исходном объеме $V_0 = 574 [457 \div 691] \text{ мм}^3$ на 9-е сутки после трансплантации СЕКО в разных режимах и дозах существенно замедляет скорость роста опухоли независимо от схемы лечения.

Коэффициент задержки роста опухоли составил $K = 1,4 \div 3,2$ (250 мг/кг десятикратно) и $K = 1,0 \div 1,7$ (500 мг/кг пятикратно; рис. 1). Мыши удовлетворительно переносили СЕКО в использованных схемах лечения.

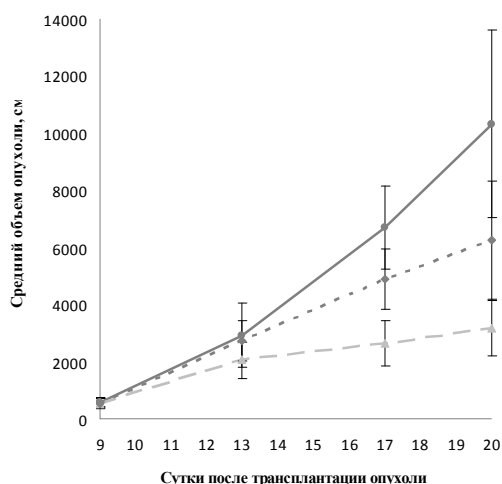


Рис. 1. Действие СЕКО на запущенную Ca755 РЭ⁺.

- 1 – контроль роста опухоли;
- 2 – СЕКО 250 мг/кг десятикратно;
- 3 – СЕКО 500 мг/кг пятикратно.

Результаты изучения СЕКО при метастазирующей опухоли

При наличии первичного узла. В результате патоморфологического исследования показано, что внутримышечно трансплантированная меланома B16/F10 РЭ⁻ имеет обычное строение и состоит из полиморфных клеток, среди которых встречаются клетки с митозом и признаками апоптоза. Имеются участки некроза в пределах 5–10% от площади среза. Отмечаются выраженное очаговое развитие кровеносных сосудов, их умеренное полнокровие, небольшие очаги кровоизлияний, инвазия в прилежащую мышечную ткань.

Анализ основных маркеров неоангиогенеза показал, что в срезах опухоли реакция VEGF сильная. Лишь в отдельных участках реакция умеренная или слабая. В эндотелии большинства кровеносных сосудов выявляется сильная реакция CD34 и CD31. Эти данные, подтверждающие стандартное строение и васкуляризацию внутримышечно развивающейся меланомы, свидетельствуют об интенсивном кровотоке, определяющем возможность и стандартные сроки метастазирования.

Динамика роста внутримышечной меланомы B16/F10 РЭ⁻ под действием СЕКО отражена в табл. 1.

Оценка выживаемости мышей показала, что в сравниваемых группах гибель животных наступала практически в одинаковые сроки – на 18–25-е сутки после трансплантации. При вскрытии в обеих группах метастазы в легких обнаружены у 40 и 50% мышей соответственно.

В отсутствие первичного узла. Данные по контролю метастазирования у мышей с удаленной меланомой B16/F10 РЭ⁻ представлены в табл. 2.

Сравнительное изучение СЕКО и тамоксифена

Анализ роста опухоли в контрольной группе показал, что Ca755 РЭ⁺ без специфического лечения растет стандартно и достигает к 12-м суткам после перевивки $V_{ср} = 1303 [711-1895] \text{ мм}^3$, а к 22-м – $V_{ср} = 10\,000 [6436-13564] \text{ мм}^3$. На этом фоне показано, что СЕКО в разовой дозе 250 мг/кг или тамоксифен в разовой дозе 50 мг/кг при десятикратном курсе практически одинаково и достоверно

ингибировали рост опухоли, ТРО = 78–79% против ТРО = 72–88% ($p < 0,05$) соответственно (рис. 2).

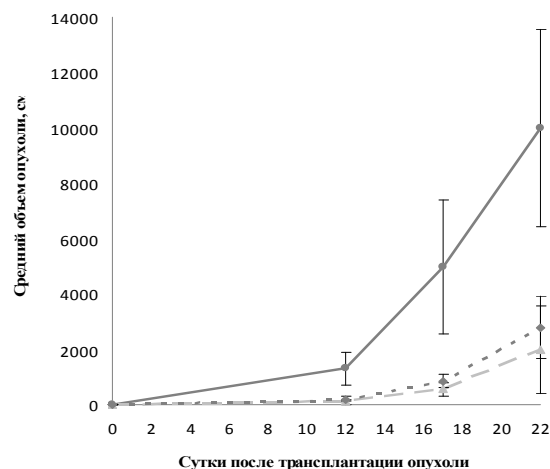


Рис. 2. Ингибирование роста Ca755 РЭ⁺ с помощью СЕКО и тамоксифена.

- 1 – контроль роста опухоли;
- 2 – СЕКО 250 мг/кг десятикратно;
- 3 – тамоксифен 50 мг/кг десятикратно.

Результаты изучения комбинации СЕКО + анастрозол

На мышцах с Ca755 РЭ⁺ показано, что в монорежиме СЕКО 250 мг/кг или анастрозол 10 мг/кг при десятикратном курсе оказывали практически равное ингибирующее действие, ТРО = 76 и 73% ($p < 0,05$) соответственно. Однако на этом уровне эффект отмечали только после окончания введения, а затем он постепенно снижался и к 20-м суткам роста опухоли был ниже минимально значимого – 25 и 2% соответственно. Длительная, в течение 20 дней антиэстрогенная терапия Ca755 РЭ⁺ с последовательным без интервала введением СЕКО и анастрозола десятикратным курсом в приведенных дозах привела не только к повышению, но и к пролонгированию действия: сразу после окончания лечения ТРО = 86–79% ($p < 0,05$), а на 28-е сутки ТРО = 52% ($p < 0,05$; рис. 3).

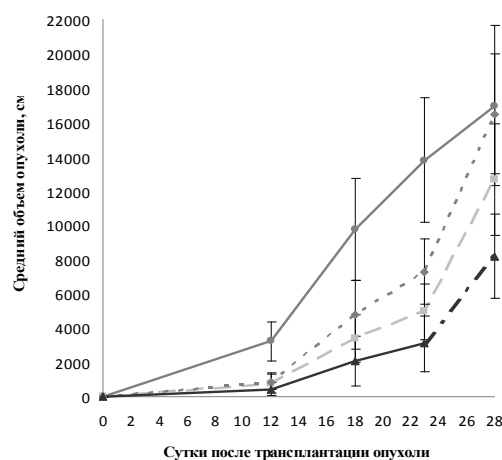


Рис. 3. Результаты изучения комбинации СЕКО и анастрозола, Ca755 РЭ⁺.

- 1 – контроль роста опухоли;
- 2 – СЕКО 250 мг/кг десятикратно;
- 3 – анастрозол 10 мг/кг десятикратно;
- 4 – СЕКО 250 мг/кг + анастрозол 10 мг/кг.

Таблица 1

Влияние СЕКО на рост меланомы B16/F10 РЭ⁻

Группа (n = 10)	Разовая доза	Средний объем опухоли (V _{ср} , мм ³) на сутки после трансплантации опухоли			
		8-е	10-е	13-е	15-е
Контроль роста опухоли	0,3 мл ^а	750 [608÷892] ^в	2097 [1767÷2427]	3645 [3104÷4186]	6124 [4760÷7282]
СЕКО	250 мг/кг ^б	740 [617÷863]	2016 [1799÷2233]	3671 [3120÷4222]	6233 [5542÷6924]

^а1% раствор крахмального клейстера – разбавитель СЕКО при пероральном введении по адекватной схеме.
^бСуммарно 2,5 г/кг в 1% растворе крахмального клейстера ежедневно на 3–12-е сутки после трансплантации.
^вДанные представлены как средняя арифметическая [ДИ –95%].

Таблица 2

Показатели метастазирования у мышей с удаленной меланомой B16/F10 РЭ⁻ под действием СЕКО при ежедневном пероральном введении

Группа ^а , n = 10	Разовая доза	Средняя масса легких, мг	ЛК
Контроль роста опухоли	0,3 мл ^б	519 [296÷742] ^г	3,0
СЕКО	250 мг/кг ^б	445 [275÷615]	2,6
Здоровые мыши ^б	–	172 [181÷163]	1,0

^аВ группе мышей с опухолью метастазирование составило 100%.^бИсторический контроль.^в1% раствор крахмального клейстера – разбавитель СЕКО при пероральном введении по адекватной схеме.^гСуммарно 2,5 г/кг в 1% растворе крахмального клейстера ежедневно на 3–12-е сутки после трансплантации.^дДанные представлены как средняя арифметическая [ДИ –95%].**Заключение**

Таким образом, СЕКО в разовой дозе 250 мг/кг при десятикратном ежедневном введении в желудок в растворе крахмального клейстера проявляет значимый ингибирующий эффект в отношении запущенной Ca755 ЭР⁺ и также эффективен, как тамоксифен при раннем лечении. В указанном режиме СЕКО не стимулирует метастазирование и рост метастазов в легких у мышей с B16/F10 РЭ⁻.

При сочетании с анастрозолом последовательное без интервала введение СЕКО дает почти двукратный терапевтический выигрыш по уровню ингибирования и пролонгированию достигнутого эффекта. Применение СЕКО в монорежиме или при комбинированной терапии не сопровождается побочными эффектами.

Авторы выражают благодарность ООО «Медресурс» (РФ, Москва) за финансовую поддержку исследований.

Литература

1. Knots in trees – A new rich source of lignans / Holmbom B., Eckerman C., Eklund P., Hemming J., Nisula L., Reunanen M., Sjöholm R., Sundberg A., Sundberg K., Willför S. // *Phytochem. Rev.* – 2003. – Vol. 2. – P. 331–340.
2. Studies on the Metabolism of the Plant Lignans Secoisolariciresinol and Matairesinol / Niemeyer H. B., Honig D. M., Kulling S. E., Metzler M. // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – Vol. 51. – P. 6317–6325.
3. Enterolactone Inhibits the Growth of 7,12-Dimethylbenz(a) anthracene-induced Mammary Carcinomas in the Rat / Saarinen N. M., Huovinen R., Warri A., Mäkelä S. I., Valentin-Blasini L., Sjöholm R., Ämmälä J., Lehtilä R., Eckerman C., Collan Y. U., Santti R. S. // *Mol. Cancer Ther.* – 2002. – Vol. 1. – P. 869–876.
4. Xanthopoulos J. M., Romano A. E., Majumdar S. K. Response of mouse breast cancer cell to anastrozole, tamoxifen, and the combination // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2005. – Vol. 1. – P. 10–19.
5. Результаты скрининга нового фитоантиэстрогена секоизоларицирезинола на гормонозависимой опухолевой модели in vivo / Седакова Л. А., Смирнова Г. Б., Борисова Ю. А., Трещалина Е. М. // Тез. докл. Белорусско-Российской науч.-практ. конф., г. Минск, 23–25 мая 2013 г. – С. 73.
6. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, ЕЭС, Страсбург, 1985 г. // *Ланималогия.* – 1993. – № 1. – С. 29.
7. Большаков О. П., Незнанов Н. Г., Бабаханян Р. В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных // *Качествен. клин. практ.* – 2002. – № ?? – С. ??
8. The field bean protease inhibitor has the potential to suppress B16/F10 melanoma cell lung metastasis in mice / Banerji A., Fernandes A., Bane S., Ahire S. // *Cancer Lett.* – 1998. – Vol. 129, N 1. – P. 15–20.
9. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств / Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К., Андропова Н. В., Гарин А. М. // *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств* / Под ред. А. Н. Миронова. – ч. 1, гл. 39. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 642–657.
10. Методические указания по изучению (доклиническому) средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей / Зуева Е. П., Козлов А. М., Герасимова Г. К., Амосова Е. Н., Разина Т. Г., Гольдберг В. Е. // *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ* / Под ред. Р. У. Хабриева. – 3-е изд. – М.: Медицина, 2005. – С. 674–685.

Поступила 15.01.2014

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДИ – доверительный интервал; ЛК – легочно-соматический коэффициент;
 СЕКО – Секоизоларицирезинол; ТРО – торможение роста опухоли

УДК 615.32.011.5:615.014.2:618.19-006.66-092.9

J.A.Borisova, Z.S. Shprakh, G.B.Smirnova, O.L.Orlova, A.P.Polozkova, N.A.Oborotova, H.M.Treshalina

2. РАЗРАБОТКА ПЕРОРАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПОД КОНТРОЛЕМ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Юлия Александровна Борисова, младший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"

Зоя Сергеевна Шпрах, к. фарм. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории готовых лекарственных форм НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"

Галина Борисовна Смирнова, к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"

Ольга Львовна Орлова, к. фарм. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"

Алевтина Павловна Полозкова, старший научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"

Наталья Александровна Оборотова, профессор, д.фарм. наук, заведующая лабораторией разработки лекарственных форм НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"

Елена Михайловна Трещалина, профессор, д.м.н., заведующий, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина", лаборатория комбинированной терапии опухолей, Смирнова Галина Борисовна, e-mail: gsmir53@yandex.ru.

Реферат

На мышах с эстрогензависимой (РЭ⁺) аденокарциномой молочной железы Ca755 РЭ⁺ в процессе разработки ЛФ СЕКО для приема внутрь изучены 2 модели различного состава в прямом сравнении с фармацевтической субстанцией. Показана равная эффективность субстанции сер. 24.10.11 и модели «Пропись №2» на уровне ТРО=80-75% в течение 12 дней после отмены лечения в оптимальной схеме. Эта модель, представляющая собой гранулят в капсулах, содержащий 100 мг субстанции и 5% крахмала в качестве вспомогательного вещества («СЕКО-капсулы 100 мг»), является оптимальной и рекомендована для продолжения доклинического изучения. Сделан вывод о том, что, несмотря на некоторые технологические особенности фармацевтической субстанции, добавление других вспомогательных веществ к субстанции СЕКО нецелесообразно, так как приводит к снижению эффективности.

Ключевые слова: секоизоларицирезинол, лекарственная форма, биоконтроль, мыши, эстрогензависимая аденокарцинома молочной железы.

J.A.Borisova, Z.S. Shprakh, G.B.Smirnova, O.L.Orlova, A.P.Polozkova, N.A.Oborotova, H.M.Treshalina.

DEVELOPMENT OF SECOISOLARICIREBINOL PER ORAL DRUG FORM UNDER EFFICACY CONTROL.

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center

Summary

During the development of SECO per oral drug form it was investigated two different preparation on the mice with murine estrogen positive mammary adenocarcinoma Ca755 (ER⁺) in direct comparison of pharmaceutical substance. It was shown the equal efficacy for substance number of 24.10.11 and preparation «Formulation №2» on the tumor growth inhibition level of TGI=80-75% at the period of 12 days after treatment with optimal schedule of therapy. This preparation was contained capsulated granulate with 100 mg substance and 5 % starch as excipient and was recommended for continuation the preclinical study as optimal drug form «SECO-capsules 100 mg». As the conclusion of this investigation was postulated that to add any additional excipients into SECO oral drug formulation does not reasonable despite the real features, because it led to decreasing of its efficacy.

Key words: secoisolariciresinol, dosage form, biocontrol, mice, estrogen-dependent mammary adenocarcinoma.

Введение

Ранее показано, что субстанция нового мало-растворимого в воде фитоантиэстрогена СЕКО [1-4] в широком диапазоне доз при пероральном введении в 1 %-ном крахмальном клеестере мышам воспроизводимо и достоверно ингибирует рост эстрогензависимых перевиваемых опухолей на уровне тамоксифена. В оптимальной схеме введения СЕКО показал отсутствие риска стимуляции метастазирования и эффективность на запущенной карциноме [5-8]. Эти данные были основанием для начала доклинического изучения СЕКО в качестве функционального аналога тамоксифена. В рамках исследования выполнена разработка капсулированной модели ЛФ для перорального применения, чему и посвящено настоящее сообщение.

Цель исследования: разработка капсулированной лекарственной формы секоизоларицирезинола для приема внутрь.

Задачи исследования:

1. Разработка капсулированных моделей лекарственной формы СЕКО разного состава для приема внутрь.
2. Выбор оптимальной пероральной лекарственной формы СЕКО под контролем эффективности.

Материалы и методы

Субстанция СЕКО. Для приготовления моделей ЛФ в капсулах для приема внутрь использована фармацевтическая субстанция сер. 29.09.11 и

24.10.11 производства ЗАО "БиоХимМак" СТ, Москва. Технологические характеристики порошка субстанции СЕКО не позволяют проводить прямое наполнение капсул без увеличения фракции укрупненных и утяжеленных частиц.

Гранулирование с помощью вспомогательных веществ позволяет контролировать стабильность дозирования капсулированной фармацевтической субстанции. Для получения модели ЛФ капсулы заполняются готовым гранулятом, который используется после извлечения из капсулы для приготовления рабочей взвеси, предназначенной для введения животным.

Вспомогательные вещества: крахмал картофельный, лактоза, тальк, повидон, целлюлоза микрокристаллическая, магния стеарат, кальция стеарат и др., соответствующие требованиям Гос. Фармакопей XI и XII изд., Европейской фармакопей, отдельных фармакопейных статей, ГОСТов и ТУ.

Приборы и аппаратура. Капсулонаполняющая машинка MC-1,2 фирмы Pharma, Италия; приборы для определения технологических характеристик твердых лекарственных форм фирмы «Egweka», Германия.

Модели лекарственной формы СЕКО. В готовом виде модели ЛФ представляют собой капсулированный гранулят. Для исследований приготовлены 2 прописи ЛФ, содержащие гранулят разного состава. «Пропись №1» содержит вспомогательные вещества. «Пропись №2», содержащая в качестве вспомогательного вещества только крахмал, аналогична по составу рабочей взвеси субстанции в 1 %-ном крахмальном клейстере, показавшей эффективность ранее.

Животные. Использованы 120 иммунокомпетентных мышей-самок гибридов BDF₁ [C₅₇Bl₆J×DBA₂], в т.ч. 20 особей линии C₅₇Bl₆ (доноры опухолевого материала) массой тела 20–21 г. Мышей получали из питомника «Столбовая» ГУ НЦ БМТ и содержали в отделе лабораторных животных НИИ ЭДитО РОНЦ им. Н.Н. Блохина при обычном световом дне, на экструдированном корме и постоянном доступе к воде.

Опухолевые модели. Использован штамм мышиной перевиваемой аденокарциномы молочной железы Ca755 РЭ⁺ (3–4 пассажи) из Банка РОНЦ Трансплантацию опухоли выполняли мышам BDF₁ в соответствии с рекомендованными методиками [9].

Проведение лечения. Для введения мышам гранулят СЕКО извлекали из капсул и добавляли 1 %-ный крахмальным клейстер для получения рабочей взвеси. Взвесь, полученную из обеих моделей ЛФ, в разовой дозе 250 мг/кг вводили мышам в желудок один раз в сутки ежедневно в течение 10 дней (суммарная доза 2,5 г/кг) с помощью металлического зонда. Субстанцию СЕКО разводили аналогично и вводили мышам в том же дозовом режиме. Сроки лечения составляли 3–12 суток после трансплантации опухоли. Мыши контрольных групп получали 1% крахмальным клейстер в адекватном объеме и режиме.

Оценка эффективности. У всех мышей после окончания лечения трехкратно определяли размеры опухоли с помощью электронного измерителя и рассчитывали объем по формуле $V = a \times b \times c$. После чего определяли V_{cp} в каждой группе и стандартный показатель эффективности торможение роста опухоли:

$$TPO, \% = \frac{(V_0 - V_k)}{(V_k)} \times 100, \text{ где}$$

V_0 и V_k величина V_{cp} в опыте и в контроле.

В качестве критерия эффективности использовали проспективные данные об эффективности субстанции в каждом конкретном случае [9]. Оценка биологической активности каждой модели ЛФ проведена при параллельном сравнении с субстанцией, из которой она получена в течение 23 дней после перевивки.

Оценка переносимости воздействия. Учитывая отсутствие риска токсичности у СЕКО при пероральном введении в использованной дозировке и отсутствие каких-либо биологически активных компонентов в моделях ЛФ, переносимость лечения оценена только по состоянию и поведению мышей в процессе эксперимента.

Статистическая обработка результатов. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием доверительных интервалов средних сравниваемых величин по стандартному методу Стьюдента в модификации Р.Б. Стрелкова. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Завершение экспериментов на мышах. После завершения наблюдения мышей умерщвляли передозировкой эфирного наркоза, а трупы кремировали в специализированном подразделении РОНЦ с учетом международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных [10; 11].

Результаты

Получение гранулята СЕКО

Методика получения гранулята СЕКО была аналогичной для обеих прописей. Для стандартизации насыпной массы и предотвращения расслаивания смеси и вспомогательных веществ использовали влажную грануляцию 5 %-ным крахмальным клейстером в расчете на 100 капсул. Затем протирали через сито с диаметром пор 0,67 мм и сушили на воздухе 24 ч до полного высыхания и гранулирования. Высушенные гранулы просеивали через сито с ϕ пор 1,0 мм для разделения слипшихся. Полученный гранулят опудривали смесью, приготовленной путем тщательного смешения талька, крахмала и стеарата кальция. Далее на сите с ϕ пор 0,2 мм отсеивали остатки опудривающей смеси в виде мелкой пыли для обеспечения точности дозирования. Готовым гранулятом заполняли капсулы с помощью капсулонаполняющей машинки. Полученные модели ЛФ отвечали требованиям ГФ XI, предъявляемым к гранулам и капсулам [12–15].

Биологическая активность моделей ЛФ
(табл. 1, рис. 1–2).

«Пропись №1»

Сравнительное изучение показало, что модель ЛФ «Пропись №1» в оптимальной схеме применения ингибирует рост Ca755 РЭ⁺ достоверно, но слабо и кратковременно, ТРО=60 % ($p < 0,05$) только на 6-е сутки после окончания лечения. Субстанция сер. 29.09.11, из которой приготовлена «Пропись №1», вызывала существенно более длительный и выраженный эффект, ТРО=73–43% ($p < 0,05$) в течение всего периода наблюдения.

«Пропись №2»

Сравнительное изучение показало, что модель ЛФ «Пропись №2» и субстанция сер. 24.10.11, из которой она приготовлена, в оптимальной схеме применения длительно и на достоверно высоком уровне ингибировали рост Ca755 РЭ⁺, ТРО=80–75 % ($p < 0,05$) в течение 12 дней после окончания лечения.

Таблица 1

Результаты биоконтроля 2 моделей лекарственной формы СЕКО в разовой дозе 250 мг/кг при 10-кратном пероральном введении мышам с Ca755 РЭ⁺

Группа	Средний объем опухоли на сутки после трансплантации опухоли			ТРО % на сутки после окончания лечения		
	12	17	23	1	6	12
Контроль роста опухоли	513 [322÷738]	4141 [2902÷5459]	8892 [6723÷10907]	-	-	-
Субстанция*	137 [2÷272]	933 [593÷1273]	4557 [2975÷6139]	73**	77**	48**
Модель ЛФ «Пропись №1»	183 [22÷344]	1591 [741÷2441]	5679 [3531÷7827]	64	60**	35
Контроль роста опухоли	1518 [988÷2048]	4091 [3018÷5164]	8196 [5934÷10458]	-	-	-
Субстанция*	311 [236÷386]	1116 [509÷1723]	1880 [652÷3108]	80**	73**	77**
Модель ЛФ «Пропись №2»	308 [152÷464]	729 [66÷1392]	2042 [875÷3208]	80**	82**	75**

*вводили в 1 %-ном растворе крахмального клейстера ежедневно перорально на 3-12 сутки после трансплантации опухоли; **различия с контролем достоверны ($p < 0,05$).

Таблица 2

Основные показатели качества оптимальной модели лекарственной формы секоизолярицирезинола «Пропись №2»

Средняя масса (мг) и однородность по массе содержимого капсулы (%) разных серий	Распадаемость, мин	Растворение, %	Количественное определение, мг
0,131; $\pm 9,1\%$	19	77,6	102,5
0,107; $\pm 4,2\%$	19	97,4	98,6
Требования ГФ			
0,115 – 0,140 ($\pm 10\%$)	≤ 20	$\geq 75\%$ от заяв. к-ва действ. в-ва в теч. 2 ч и 100 об/мин.	От 92,5 до 107,5

Сравнительная эффективность субстанции и моделей лекарственной формы СЕКО в разовой дозе 250 мг/кг при ежедневном пероральном введении в течение 10 дней на Ca755 РЭ⁺.

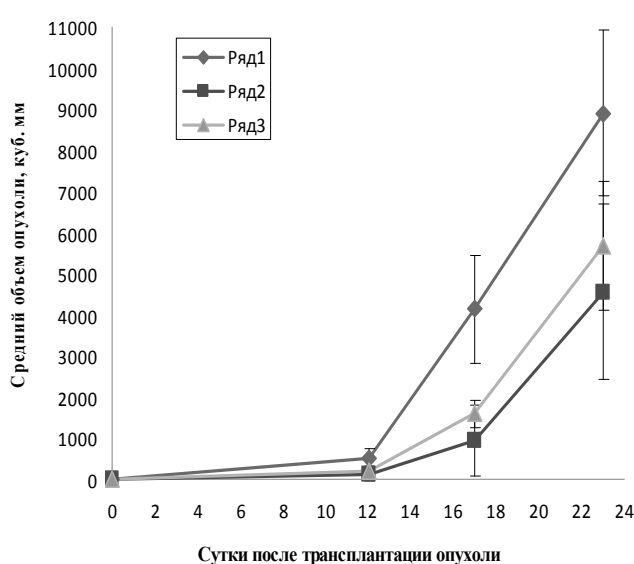


Рис. 1. Биоконтроль модели лекарственной формы СЕКО "Пропись №1".

- 1 – контроль роста опухоли,
- 2 – субстанция СЕКО,
- 3 – лекарственная форма СЕКО.

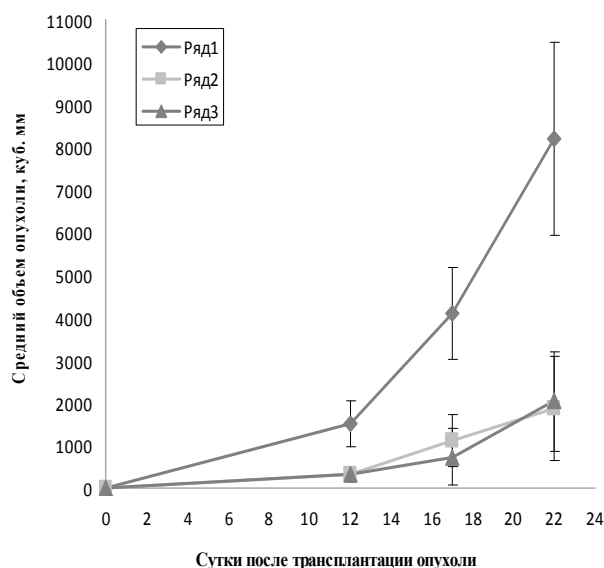


Рис. 2. Биоконтроль модели лекарственной формы СЕКО "Пропись №2".

- 1 – контроль роста опухоли,
- 2 – субстанция СЕКО,
- 3 – лекарственная форма СЕКО.

По внешнему виду ЛФ «Пропись №2» представляет собой твердые желатиновые капсулы в форме цилиндра с полусферическими концами № 3. Корпус белого, а крышечка – синего цвета. Капсулы содержат белого цвета с кремово-

тым оттенком гранулы размером от 0,3 мм до 1,5 мм. Другие показатели качества ЛФ, получившей рабочее название «СЕКО-капсулы 100 мг», представлены в табл. 2.

Закключение

Проведенные исследования показали, что биологические эффекты на опухолевой модели, полученные в прямом сравнении для субстанции и ЛФ СЕКО без вспомогательных веществ, эквивалентны. Оптимальная лекарственная форма СЕКО

для приема внутрь «СЕКО-капсулы 100 мг» представляет собой капсулированный гранулят, 5 содержащий 100 мг субстанции и 5 %-ного крахмала в качестве вспомогательного вещества. Добавление вспомогательных веществ к субстанции СЕКО нецелесообразно, так как приводит к снижению эффективности.

Литература

1. Способ выделения секоизоларицирезинола и дигидрокверцетина из древесины // Нифантьев Н.Э., Яшунский Д.В., Меньшов В.М., Цветков Ю.Е., Цветков Д.Е. – Патент на изобретение РФ. – 2009. – № 2359666.
2. Knots in trees – A new rich source of lignans / Holmbom B., Eckerman C., Eklund P., Hemming J., Nisula L., Reunanen M., Sjöholm R., Sundberg A., Sundberg K., Willför S // *Phytochemistry Reviews*. – 2003. – N 2. – P. 331–340.
3. Studies on the Metabolism of the Plant Lignans Secoisolariciresinol and Matairesinol / Niemeyer H.B., Honig D. M., Kulling S. E., Metzler M // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – N 51. – P. 6317–6325
4. Enterolactone Inhibits the Growth of 7,12-Dimethylbenz(a) anthracene-induced Mammary Carcinomas in the Rat / Saarinen N.M., Huovinen R., Wärrä A., Mäkelä S. I., Valentin-Blasini L., Sjöholm R., Ämmälä J., Lehtilä R., Eckerman C., Collan Y. U., Santti R. S. // *Molec. Cancer Therap.* – 2002. – N 1. – P. 869–876
5. Седакова Л. А., Смирнова Г. Б., Борисова Ю. А., Трещалина Е. М. Результаты скрининга нового фитоантиэстрогена секоизоларицирезинола на гормонозависимой опухолевой модели in vivo // Тез. докл. Белорусско-Российской науч.-практ. конференции, Минск – 2013. – С. 73.
6. Седакова Л.А., Смирнова Г.Б., Борисова Ю.А., Трещалина Е.М. Сравнительная эффективность секоизоларицирезинола и тамоксифена в т.ч. в комбинации с аримидексом. // РБЖ – 2013. – №23. – стр.73.
7. Действие нового антиэстрогенного препарата секоизоларицирезинола на рост запущенной эстрогензависимой опухоли и метастазирование меланомы B16/F10 // Седакова Л.А., Борисова Ю.А., Смирнова Г.Б., Трещалина Е.М. // РБЖ – 2013. – №23. – стр.73.
8. Preclinical results of the new phyto-antiestrogen sekoisolariciresinol treatment of estrogen- dependent murine tumor // Borisova Yu., Smirnova G., Sedakova L., Treshalina H., Shprakh Z., Nifantiev N. // 25th Int. Congress on Anti-Cancer Treatment. – 2014. – Paris. France. – P. IC/AB1235.
9. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств / Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К., Андропова Н. В., Гарин А. М. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств // Под ред. А. Н. Миронова – М. Гриф и К, – 2012. – ч. 1, – гл. 39. – С. 642–657.
10. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, ЕЭС, Страсбург, 1985 г. // Ланималогия. – 1993. – №1. – с.29.
11. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных // Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабахаян // Р.В.Ж. Качественная клиническая практика. – 2002 – №1.
12. Studies on tableting properties of lactose part 3. The consolidation behaviour of sieve fractions of crystalline α -lactose monohydrate. /A.H. de Boer, H.Vromans, C.F.Lerk, G.K.Bolhuis, K.D. Kussendrager, H.Bosch// *Pharm. Weekbl. Sci.* – 1986. – Ed. 8. – P.145-150.
13. Co-processed Excipients: IPEC Guidelines, www.usp.org.
14. Коллидон. Поливинилпирролидон для фармацевтической промышленности. /Бюлер Ф. М.// Ludwigshafen : BASF – 2001. – С.20-40.
15. Государственная Фармакопея СССР, XI издание, выпуск 2.// Медицина. – 1987. – С.139, 143 – 145, 158 – 159.

СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ЛФ – лекарственная форма

УДК 616-006.441-092.9:616-097:578.826

И.В. Уласов¹, Н.В. Каверина², А.Ю. Барышников¹, З.Г. Кадагидзе^{2*}**ПОДАВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т- КЛЕТОК АДЕНОВИРУСНЫМИ ВЕКТОРАМИ**¹к.б.н., ведущий научный сотрудник, центр опухолей головного мозга, Шведский Медицинский Центр (500, 17 Авеню, Сизл, Вашингтон, 98122, США).²к.м.н., лаборатория клинической иммунологии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"⁴д. м. н., профессор, директор НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"^{*}д.м.н., профессор, заведующая лабораторией клинической иммунологии опухолей ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина"**Адрес для переписки:** 115448 РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ клинической онкологии ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина", лаборатория клинической иммунологии опухолей, Каверина Наталья Владимировна;**e-mail:** kaverinan@yahoo.com

115448 РФ, Москва, Каширское шоссе, 24, НИИ клинической онкологии ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина", лаборатория клинической иммунологии опухолей, Кадагидзе Заира Григорьевна;

e-mail: kad-zaira@yandex.ru**Резюме**

Эффективность применения противоопухолевых агентов зависит от их способности не только избирательно ингибировать прогрессию новообразований, но и активировать противоопухолевый иммунный ответ. Препятствиями, регулирующими развитие противоопухолевого ответа, являются миграция и аккумуляция Т-регуляторных клеток. Целью нашей работы было изучить возможность направленной доставки ингибирующих агентов в Т- регуляторные клетки с помощью аденовирусного вектора. Используя первичные Т-лимфоциты, а также перевиваемые культуры клеток Т-клеточной лимфомы (EL-4) мышей мы продемонстрировали возможность доставки терапевтических генов Т-регуляторных клеток как новую концепцию в противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: Т- регуляторные клетки, глиома, лимфома, аденовирусI.V. Ulasov¹, N.V. Kaverina², A.I. Baryshnikov¹, Z.G. Kadagidze²**INHIBITION OF T REG CELLS****WITH AN ADENOVIRAL BASED VECTOR: AN EXPERIMENTAL APPROACH**¹PhD, Group Leader, Swedish Medical Center, Brain Tumor Cancer Center, (500, 17 Avenue, Seattle, Wa, 98122, USA)²Postgraduate student, Tumor Clinic Immunology Laboratory, Clinical Oncology Research Institute N.N. Blokhin RCRC¹MD, PhD, Professor, Director, Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Institute, N. N. Blokhin Cancer Center²MD, PhD, Professor, Head, Tumor Clinical Immunology Laboratory, Clinical Oncology Research Institute, N.N. Blokhin Cancer Center**Address for correspondence:** Kaverina Natalya Vladimirovna, Tumor Clinical Immunology Laboratory, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russian Federation;**e-mail:** kaverinan@yahoo.com

Kadagidze Zaira Grigorievna, Tumor Clinical Immunology Laboratory, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russian Federation;

e-mail: kad-zaira@yandex.ru**Abstract**

Efficacy of anti-tumoral agents depends not only on ability inhibit directly the tumor progression but also on activation of anti-tumoral immune response. Induction of T-reg cells is one of the obstacle that decrease application of therapeutic agents. In this project we aimed to providing a new opportunity to deliver inhibitors to the T-reg cells via adenoviral vectors. Using EL-4 and primary mouse T-cells, we demonstrate a new opportunity to delivery of therapeutic genes as a new venue for anti-tumoral therapy.

Key words: T-regulatory cells, glioma, adenovirus.**Введение**

Комбинация химиотерапии, радиотерапии и хирургической резекции используются в лечении пациентов с неоплазиями головного мозга [1] и молочных желез [2]. Однако, несмотря на модификацию существующих и развитие новых эффективных терапевтических подходов, выживаемость пациентов с данными опухолями остается невысокой. Интенсивный анализ молекулярно-биологических основ онкогенеза и сопутствующих факторов, стимулирующих прогрессию опухолей, выявил неэффективность иммунного ответа при злокачественных опухолях [3]. При этом отмечено, что сниженная функциональная активность цитотоксических

Т-лимфоцитов, принимающих участие в разрушении раковых клеток, ассоциирована с низкой выживаемостью пациентов [4; 5].

Выяснение взаимоотношений между иммунной системой и развивающейся в организме опухолью является актуальной и волнующей проблемой современной биологии клетки и онкоиммунологии. До сих пор не до конца изучена роль CD4⁺ Т-клеток в прогрессии опухолей [6]. Первоначальные результаты показывают, что CD4⁺ Т-клетки инициируют противоопухолевый ответ организма [7]. С другой стороны, обнаружено, что популяция CD4⁺ CD25⁺ Т-клеток, которые участвуют в поддержании иммунологической толерантности организма, способны ингибировать активность эффекторных кле-

ток [8]. Более того, недавние исследования, проведенные E. Andalousi et al., показали, что ингибирование Т-регуляторных клеток в экспериментальных моделях животных увеличивает эффективность использования противоопухолевых агентов и повышает их выживаемость [9].

При этом было отмечено, что активность транскрипционного фактора *Foxp3* прямо пропорциональна функциональной активности Т-регуляторных клеток. Таким образом, снижение активности *Foxp3* и последующее ингибирование вышеуказанных клеток имеет важное клиническое значение в онкоиммунологии.

Использование вирусных векторов для доставки терапевтических генов в клетки млекопитающих является удобным и эффективным методом для обеспечения контроля над клеточной пролиферацией, дифференцировкой и выживаемостью данных клеток.

Аденовирусные векторы, дефектные по репликации, обеспечивают высокий уровень экспрессии терапевтических генов. Однако, для эффективной аденовирусной инфекции необходимо присутствие CAR-корцептора вируса Коксаки (Coxsackievirus) для связывания вируса с клеткой и интегринами рецепторов обеспечивающих вирусную интернализацию [10].

Однако многие клетки, такие как экспериментальные мышинные модели глиом и лимфом, не содержат первичного рецептора на поверхности клеток-мишеней, что существенно снижает использование вирусных векторов [11]. В связи с этим, нам представлялось важным изучить возможности экспериментальной терапии с использованием аденовирусного вектора для ослабления действия мышинных Т-регуляторных клеток *ex vivo*.

Материалы и методы

В работе использованы клетки линии EL-4 (American Type Culture Collection, США). Они были культивированы в среде RPMI-1640 при 37 °C в увлажненной атмосфере с содержанием 5 % CO₂ и с добавлением 10 %-ной ТЭС эмбриональной телячьей сыворотки («HyClone», США) и пенициллина (100 ед/мл). Моноклональные антитела CD3, CD28 получены от фирмы «Pharmingen» (США) и TGF- β (трансформирующий ростовой фактор β) от «Peprotech» (США).

Популяцию Т-клеток выделяли из селезенки мышей после CO₂-эвтаназии с помощью метода, описанного в наших предыдущих публикациях [12]. GFP⁺ Т-клетки были получены из спленоцитов GFP-трансгенных мышей путем флуоресцентного сортирования («FACS Aria», Дания).

На следующем этапе данные клетки инкубировали в среде RPMI, содержащей 5 %-ную фетальную сыворотку («Life Technologies», США) и 1000 ед/мл рекомбинантного IL-2.

Достижение логарифмической фазы роста клетки EL-4, а также GFP⁺ или CD4⁺Foxp3⁺ Т-клетки пассировали в круглодонные 96-луночные микропланшеты по (5–6) × 10⁴ клеток на лунку с сорбированными МКА (CD3 и CD28) в присутствии или отсутствии TGF- β .

Стимулированные или нестимулированные Т-клетки в прогрессивно уменьшающихся концентрациях IL-27 (0,1; 1,0 и 10 нг/мл) добавляли в лунки с клеточной культурой и коинкубировали в течение 48 ч. В контрольные лунки добавляли раствор Хенкса (Hanks Solution) в том же объеме. Уро-

вень клеточного метаболизма по окончании периода инкубации определяли с помощью стандартного МТТ-колориметрического метода (Roche, США).

Векторы shFoxp3 и LFoxp3 были получены в результате 2-этапного клонирования.

На первом этапе, BglII-EcoRI фрагмент, содержащий короткую версию CMV-промотора человека, был замен на аналогичную, содержащую 1974 п.н. (полную) или 663 п.н. (короткую) версию промотора Foxp3 [13]. Затем ген, кодирующий IL-27 [14] человека, был клонирован в состав плазмид shFoxp3 и CMV [15]. Рекомбинантные вирусы: shFoxp3, shFoxp3IL27, LFoxp3, CMV и CMVIL27 были получены путем трансфекции HEK293 линии клеток и очищены в градиенте CsCl₂. Вирусный титр был определен, используя Adeno Titer X kit (Clontech, США).

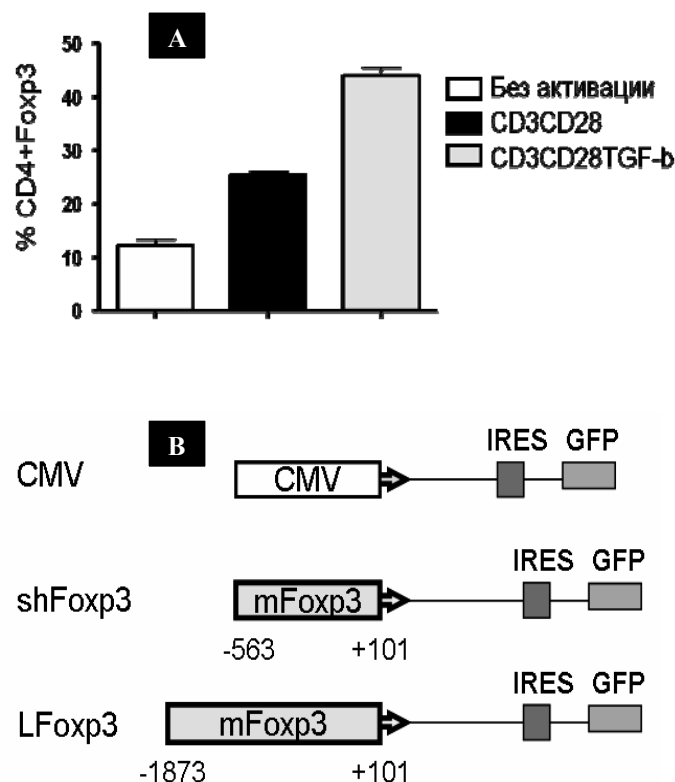
Статистическую значимость результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента. Разницу между величинами, соответствующую $p < 0,05$, принимали как достоверную.

Результаты и обсуждение

Разработка экспериментальных методов направленной доставки векторов в клетки млекопитающих требует наличия клеточной системы тестирования.

Поскольку, целью нашей работы являлось разработать систему для доставки ингибитора в Т-регуляторные клетки мышинного происхождения на основе вектора с промотором Foxp3, мы использовали первичные Т-клетки мышей (рис. 1А).

Оказалось, что стимулирование спленоцитов смесью моноклональных антител (CD3, CD28) и TGF β вызывает индукцию как CD4⁺Foxp3⁺ Т-клеток (рис. 1Б), так и активацию длинной версии промотора Foxp3 после предварительной трансфекции рекомбинантными плазмидами (рис. 1С и Д).



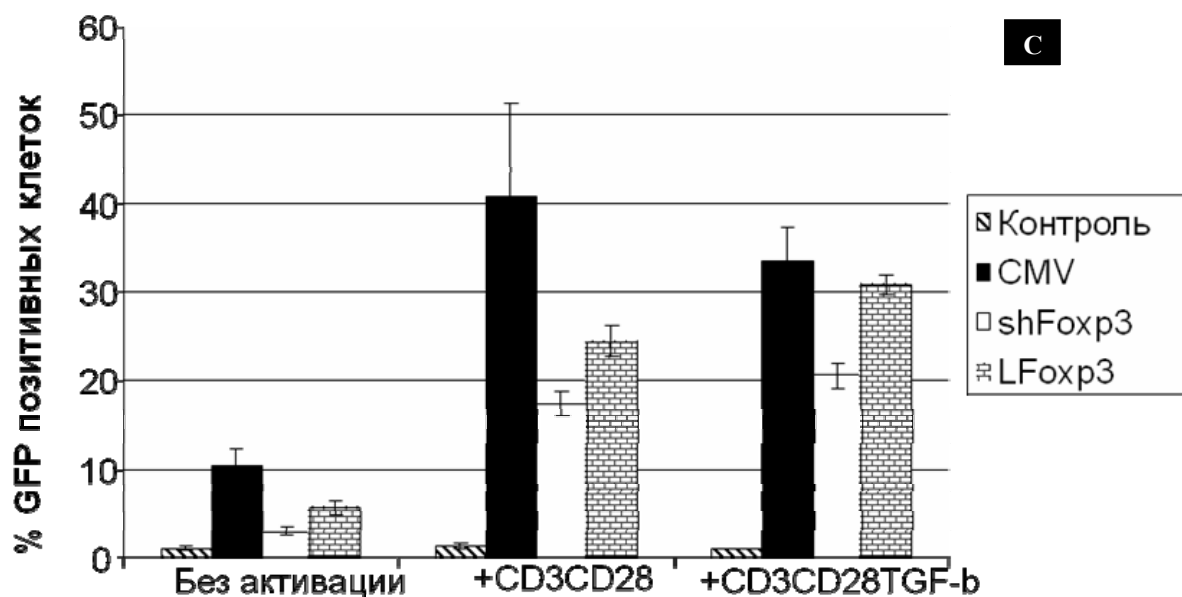


Рис. 1. Влияние CD3, CD28 и TGFb на активность Foxp3.

- Стимулирование клеток спленоцитов мышей смесью моноклональных антител (CD3, CD28) и TGF-b вызывает индукцию CD4⁺Foxp3⁺ Т-клеток (контроль);
- Схематическая карта клонирования короткой (shFoxp3) и длинной (LFoxp3) версии Foxp3 – промотора мышей в составе ранней области аденовирусного вектора.
- Активация промотора Foxp3 после трансфекции клеток HEK293 рекомбинантными плазмидами, содержащими длинную (LFoxp3) и короткую (shFoxp3) версии промотора Foxp3, контролирующего экспрессию репортерного гена зеленого флуоресцирующего белка (GFP); CMV-плазида с промотором цитомегаловируса человека, контролирующего экспрессию репортерного гена зеленого флуоресцирующего белка (GFP).

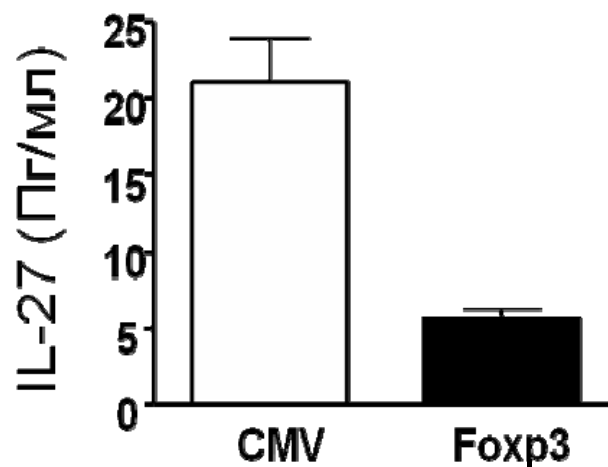
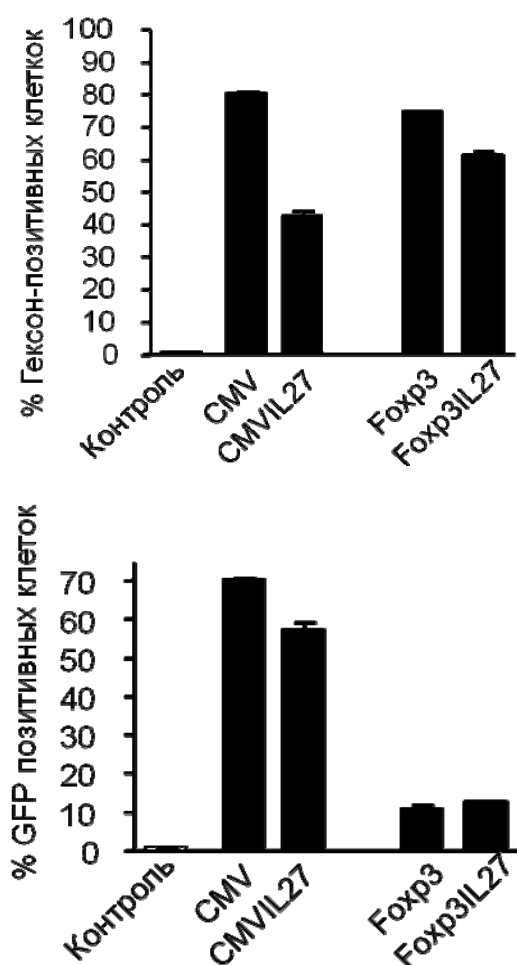


Рис. 2. Эффективность трансдукции клеток HEK293 и спленоцитов мышей рекомбинантными аденовирусами.

- Результаты проточной цитофлуометрии показали, что CMV-промотор обеспечивает высокий уровень экспрессии репортерного гена GFP (40-80 % клеток). После внутриклеточной окраски инфицированных клеток на главный вирусный белок гексон в них обнаружены вирусные частицы, почти 100% клеток позитивны по белку гексону.
- Слабая экспрессия GFP-белка в Foxp3-инфицированных клетках (~10% клеток) была детектирована даже при наличии гена IL-27.
- Детекция внутриклеточной экспрессии белка IL-27 с помощью ИФА.

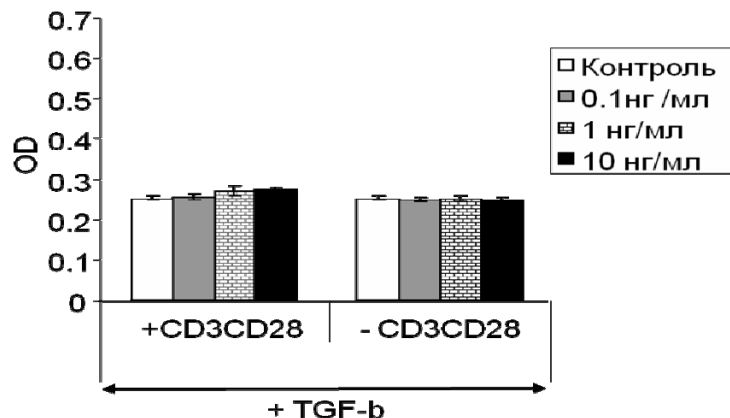


Рис. 3. Направленная доставка гена IL-27 аденовирусом в активированные спленоциты не ингибирует пролиферацию Т-регуляторных клеток *ex vivo*. Влияние IL-27 на пролиферацию Т-клеток подтверждено методом МТТ (см. «материалы и методы») в присутствии и отсутствии CD3,CD28,TGFβ.

На следующем этапе мы клонировали полноразмерную копию Foxp3 промотора в состав аденовирусного вектора.

Как контроль мы использовали конститутивно активный CMV-промотор, клонированный в вышеуказанный вектор. Тестирование клонированных векторов показало, что CMV-промотор обеспечивает высокий уровень экспрессии репортерного гена GFP (40-80 % клеток). После внутриклеточной окраски инфицированных клеток на главный вирусный белок гексон вирусные частицы обнаружены почти в 100 % клеток, позитивных по белку гексону, рис.2 А и В). В тоже время нами была детектирована слабая экспрессия GFP-белка в Foxp3-инфицированных клетках (~10% клеток) даже при наличии IL-27 гена (рис. 2С). Ранее полученные результаты показали, что экспрессия IL-27 приводит к ингибированию CD4⁺ Т-клеток и продукции интерферона гамма. Как и предполагалось, в концентрации 10 нг/мл IL-27 не влиял на пролиферацию клеток при поляризующих условиях (рис. 3), что может свидетельствовать об участии IL-27 в регуляции транскрипции генов, отвечающих за

клеточную дифференцировку таких как TNFα, IL-4, IL-2 и INFγ.

Заключение

Полученные в настоящем исследовании данные подтверждают возможность доставки генетического материала в иммунные клетки в экспериментах *ex vivo*. По результатам наших экспериментов, оказалось, что доставка гена в иммунные клетки приводила к контролируемой экспрессии интерлейкина IL-27, которая, однако, не влияла на клеточную пролиферацию.

Таким образом, можно предположить, что экспрессия одного цитокина IL-27 в экспериментальных условиях является недостаточной для инактивации FoxP3⁺ клеток.

Дальнейшее моделирование иммунной реакции организма на прогрессию неопластических клеток в комбинации с химиопрепаратами позволит в будущем уменьшить иммуносупрессивность и повысить терапевтическую эффективность противоопухолевых агентов.

Литература

1. Toxin-based targeted therapy for malignant brain tumors / Chandramohan V., Sampson J.H., Pastan I., Bigner D.D. // Clin. Dev. Immunol.-2012.- P. 480429.
2. The treatment of early breast cancer in women over the age of 70 / Ring A., Reed M., Leonard R., Kunkler I., Muss H., Wildiers H., Fallowfield L., Jones A., Coleman R. // Br J Cancer.-2011.- Vol.105(2).- P. 189-93.
3. Immunology in the clinic review series: focus on cancer: double trouble for tumours: bi-functional and redirected T- cells as effective cancer immunotherapies / Marr L.A., Gilham D.E., Campbell J.D., Fraser A.R. // Clin Exp Immunol.-2012.- Vol.167(2).- P. 216-25.
4. T cell-tumor interaction directs the development of immunotherapies in head and neck cancer / Albers A.E., Strauss L., Liao T., Hoffmann T.K., Kaufmann A.M. // Clin Dev Immunol.- 2010.- P. 236378.
5. Significance of the expression of lymphocytes and cytokines infiltrating in HCC / Ye Y.B., Peng F., Li J.Y., Lin L.P., Zheng X.W., Zhou D., Li C., Li Q.L., Cai X.W. // Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.-2011.- Vol. 27(10).- P. 1056-60.
6. Prognostic value of tumor-infiltrating CD4⁺ T-cell subpopulations in head and neck cancers / Badoual C., Hans S., Rodriguez J., Peyrard S., Klein C., Aguezny Nél. H., Mosseri V., Laccouraye O., Bruneval P., Fridman W.H., Brasnu D.F., Tartour E. // Clin Cancer Res.-2006.- Vol.12(2).-P. 465-72.
7. T-cells in gastric cancer: friends or foes / Amedei A., Della Bella C., Silvestri E., Prisco D., D'Elios M.M. // Clin. Dev. Immunol.- 2012.-P. 690571.
8. T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis / Facciabene A., Motz G.T., Coukos G. //Cancer Res.- 2012. - Vol.72(9).- P. 2162-71.
9. El Andaloussi A., Lesniak M.S. An increase in CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T-cells in tumor-infiltrating lymphocytes of human glioblastoma multiforme // Neuro Oncol.- 2006. - Vol.8(3).- P. 234-43.
10. McConnell M.J., Imperiale M.J., Biology of adenovirus and its use as a vector for gene therapy // Hum Gene Ther.- 2004. - Vol.15(11).- P. 1022-33.
11. Enhanced transduction and replication of RGD-fiber modified adenovirus in primary T-cells / Sengupta S., Ulasov I.V., Thaci B., Ahmed A.U., Lesniak M.S. // PLoS One.- 2011.- Vol.6(3).- P. e18091.
12. IDO expression in brain tumors increases the recruitment of regulatory T-cells and negatively impacts survival / Wainwright D.A., Balyasnikova I.V., Chang A.L., Ahmed A.U., Moon K.S., Auffinger B., Tobias A.L., Han Y., Lesniak M.S. // Clin Cancer Res.- 2012. - Vol.18(22).- P. 6110-21.
13. Smad3 and NFAT cooperate to induce Foxp3 expression through its enhancer/ Tone Y., Furuuchi K., Kojima Y., Tykocinski M.L., Greene M.L., Tone M. // Nat Immunol.-2008.- Vol. 9(2).-P. 194-202.
14. Egr-2 transcription factor is required for Blimp-1-mediated IL-10 production in IL-27-stimulated CD4⁺ T cells / Iwasaki Y., Fujio K., Okamura T., Yanai A., Sumitomo S., Shoda H., Tamura T., Yoshida H., Charnav P., Yamamoto K. // Eur J Immunol.- 2013.- Vol.43(4).- P. 1063-73.
15. A simplified system for generating recombinant adenoviruses / He T.C., Zhou S., da Costa L.T., Yu J., Kinzler K.W., Vogelstein B. // Proc Natl Acad Sci U S A.- 1998.- Vol. 95(5).- P. 2509-14.

УДК 618.19 – 006.6 – 085.277.3.015.44:612.112.94

А.И. Черткова¹, Е.Г. Славина², И.П. Ганьшина³, А.А. Борунова⁴,
В.А. Нуртдинова⁵, Э.К. Шоуа⁶, З.Г. Кадагидзе⁷

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РМЖ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ HER-2 В ПРОЦЕССЕ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ТРАСТУЗУМАБОМ И ЛАПАТИНИБОМ

¹к.м.н., старший научный сотрудник, лаборатория клинической иммунологии опухолей НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

²д.м.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория клинической иммунологии опухолей НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

³к.м.н., ведущий научный сотрудник, отделение химиотерапии и комбинированного лечения злокачественных опухолей НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁴к.м.н., старший научный сотрудник, лаборатория клинической иммунологии опухолей НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁵биолог, лаборатория клинической иммунологии опухолей НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» врач клинической лабораторной диагностики, лаборатория клинической иммунологии опухолей НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁷профессор, д.м.н. Заведующая, централизованный клиничко-лабораторный отдел НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Адрес для переписки: 115478 РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д.24 ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», централизованный клиничко-лабораторный отдел, лаборатория клинической иммунологии опухолей Славина Елена Григорьевна;

e-mail: e.slavina@gmail.com

В настоящее время для лечения РМЖ с амплификацией рецептора эпидермального фактора роста 2 (HER2) помимо химиопрепаратов используют таргетные препараты, такие как трастузумаб (Герцептин) и лапатиниб (Тайверб). Терапия трастузумабом может влиять на количество регуляторных CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-клеток периферической крови больных этой формой РМЖ. В данной работе исследовалось влияние двойной блокады HER-2 рецептора (трастузумаб + лапатиниб) с или без химиотерапии на процентное содержание основных субпопуляций лимфоцитов и регуляторных CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-клеток у больных РМЖ с гиперэкспрессией HER-2. Полученные результаты показали связь количественных изменений популяций регуляторных CD4⁺CD28⁺ и CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-клеток с эффективностью проводимого лечения.

Ключевые слова: Рак молочной железы, трастузумаб, лапатиниб, субпопуляционный состав лимфоцитов.

Введение

РМЖ занимает одно из ведущих мест среди злокачественных опухолей у женщин. В 20-30 % случаев РМЖ обнаруживается амплификация рецептора эпидермального HER2, который является членом ErbB-семейства трансмембранных рецепторных тирозинкиназ. Амплификация HER2 является неблагоприятным прогностическим признаком при РМЖ [1-2]. В настоящее время для лечения этой формы рака помимо химиопрепаратов используют таргетные препараты, такие как трастузумаб (Герцептин) и лапатиниб (Тайверб). Трастузумаб является гуманизированным моноклональным антителом, направленным против внеклеточной части рецептора HER2 [3], а лапатиниб – двойным селективным ингибитором внутриклеточной тирозинкиназы рецепторов EGFR/HER1 и HER2 [4].

Ранее нами было показано, что терапия трастузумабом приводит к снижению количества CD4⁺CD25⁺ Т-клеток в периферической крови больных РМЖ с гиперэкспрессией HER-2 [5]. CD4⁺CD25⁺ Т-клетки содержат в своем составе как регуляторные (Трег), так и активированные Т-клетки. В дальнейших исследованиях для определения регуляторных Т-клеток использовался маркер FOXP3 (CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺) [6]. Исследования показали: более чем у 50 % пациенток с местно-распространенным РМЖ (IIa, IIb и IIb стадии болезни с гиперэкспрессией HER-2) терапия трастузумабом в монорежиме приводила к заметному снижению количества CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Трег. В то же время, у части пациенток количество Трег повышалось, или практически не изменялось. Таким образом, обнаружено различное влияние тра-

стузумаба на количество CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Трег у больных РМЖ с гиперэкспрессией HER-2 [7]. В настоящей работе приведены результаты исследования влияния терапии трастузумабом (Т) в сочетании с лапатинибом (Л) или с лапатинибом и химиотерапией (х/т) на процентное содержание основных субпопуляций лимфоцитов и регуляторных CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-клеток у больных РМЖ.

Материалы и методы

В исследование были включены 24 пациентки, страдавшие местно-распространенным, первично-неоперабельным РМЖ с гиперэкспрессией HER-2/неу. Восемь пациенток на первом этапе лечения получали от 2 до 6 курсов трастузумаба (8-6 мг/кг в/в капельно 1 раз в 3 нед) + лапатиниб (1000 мг перорально ежедневно в течение 6 нед) и далее трастузумаб + лапатиниб + х/т (группа I); 16 пациенток получали одновременно трастузумаб + лапатиниб и химиотерапию (группа II). Химиотерапия состояла из 4 курсов Доцетаксела 75 мг/м² в/в капельно 1 раз в 3 нед, а затем 4 курсов Винорельбина 25 мг/м² в/в 1 раз в 3 нед. После окончания таргетной и химиотерапии пациенткам проводилось хирургическое лечение. Контролем служили здоровые женщины (n=18).

Иммунологическое обследование больных проводилось до лечения и после 2-4 курсов терапии трастузумабом с лапатинибом в группе I и 2-4 курсов лечения трастузумабом, лапатинибом и химиотерапией в группе II и состояло из иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови и определения цитотоксической активности клеток – естественных киллеров (ЕК-клеток). Иммунофено-

типирование лимфоцитов проводилось методом проточной цитометрии с использованием панели моноклональных антител производства компаний eBioscience (USA) и «Сорбент» (РФ) к поверхностным маркерам лимфоцитов и внутриклеточному антигену FOXP3. ЦТ активность ЕК определялась с помощью полуавтоматического колориметрического МТТ-теста в отношении клеток К-562 [8].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета статистических программ «Статистика 7». Различия между средними значениями определяли с использованием U-критерия Манна-Уитни, и t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $P < 0,05$.

Результаты

Исследования показали, что у пациенток обеих групп не было отмечено существенных изменений в процентном содержании большинства субпопуляций лимфоцитов крови (табл. 1 и 2) после 2-4 курсов терапии. Отмечалась лишь тенденция к снижению количества NKT-клеток в группе I с $12,4 \pm 4,4\%$ до $8,7 \pm 4,7\%$ ($P = 0,052$). В обеих группах было повышено количество активированных лимфоцитов с фенотипом $CD3^+HLA-DR^+$ по сравнению с их количеством у здоровых женщин, и в группе II оно еще статистически значимо повышалось после лечения. После лечения у пациенток обеих групп несколько снизилось процентное содержание ЕК-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$) до значений ниже нормы, при этом цитотоксическая активность этих клеток оставалась в пределах нормы. Количество регуляторных $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Т-клеток в группе I исходно было существенно ниже, чем в контроле ($p = 0,029$) и еще снизилось после 2-4 курсов лечения, а в группе II оно исходно было немного выше, чем в контроле и достоверно снизилось после лечения ($p = 0,002$, табл.2).

Поскольку значительных различий в процентном содержании основных субпопуляций иммунокомпетентных клеток между группами I и II как до, так и после лечения не наблюдалось, было проведено определение характера изменений субпопуляционного состава лимфоцитов в зависимости от эффекта лечения. Все пациентки, получившие хирургическое лечение (6 пациенток из группы I и 15 из группы II), были разделены на 2 группы в соответствии со степенью лечебного патоморфоза опухоли: группа А – пациентки с признаками патоморфоза 0-2 степени и группа Б – пациентки с признаками патоморфоза 3-4 степени. У четырех пациенток (66,7%) группы I, получавших исходно терапию Т+Л с последующей химиотерапией, при оперативном вмешательстве отмечался патоморфоз опухоли 2 степени и у двоих (33,3%) – 4 степени. В группе II у шести из 15 оперированных пациенток (40%) отмечался патоморфоз 0-2 степени, а у 9 (60%) – 3-4 степени. Результаты, представленные в табл. 3 и на рис. 1 (а, б), показали определенные различия между этими группами.

1. В группе пациенток с низкой (0-2) степенью патоморфоза после 2-4 курсов лечения отмечалось снижение количества $CD3^+CD16^+CD56^+$ ЕК-клеток с $18,5 \pm 12,7\%$ до $10,0 \pm 7,1$, а в группе Б это снижение после лечения было незначительным и статистически значимого различия с контролем не наблюдалось.
2. Количество регуляторных $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Т-клеток в группе А (патоморфоз 0-2 степени) до лечения было в среднем в 3,26

раза ниже, чем в группе Б (патоморфоз 3-4 степени; рис. 1б). После 2-4 курсов лечения количество Трег в группе Б снижалось в 5 раз, а в группе А лишь в 2,3 раза, при этом количество $CD4^+CD25^+$ лимфоцитов в группе Б возрастало до уровня контроля, а в группе А практически не изменялось и было ниже контроля как до, так и после лечения (табл. 3, рис. 1 а,б).

3. Группы А и Б различались также по характеру изменений количества $CD8^+CD28^+$, т.е. преимущественно цитотоксических Т-лимфоцитов, и $CD8^+CD28^-$ (т.е. преимущественно супрессорных) Т-лимфоцитов. В группе А количество $CD8^+CD28^+$ и $CD8^+CD28^-$ лимфоцитов не изменялось в процессе наблюдения. В группе Б сниженное до лечения количество $CD8^+CD28^+$ клеток, после лечения возрастало до нормы, а количество $CD8^+CD28^-$ лимфоцитов снижалось после лечения до уровня ниже нормы. Таким образом, соотношения $CD28^+CD28^-/CD8^+CD28^+$ в группе Б снижалось практически в 2 раза.

Обсуждение

В процессе проведенного исследования были обнаружены различия в изменении процентного содержания некоторых субпопуляций лимфоцитов у пациенток с патоморфозом опухоли различной степени в процессе таргетной и химиотерапии. У больных с патоморфозом опухоли 0-2 степени, в отличие от пациенток с патоморфозом 3-4 степени, после 2-4 курсов лечения наблюдалось снижение процентного содержания ЕК-клеток, играющих важную роль в противоопухолевой защите организма.

Различный исходный уровень и характер изменений количества регуляторных $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Т-клеток и $CD8^+CD28^-$ Т-клеток в сравниваемых группах, возможно, указывает на различие в способности иммунной системы пациенток отвечать на проводимое лечение. Так, в группе больных с низкой степенью патоморфоза процентное содержание $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Т-клеток, играющих значительную роль при опухолевом росте [9], исходно было в пределах нормы и лишь незначительно изменялось после лечения. В группу Б, с высокой степенью патоморфоза опухоли, попали преимущественно пациентки с достаточно высоким по сравнению с предыдущей группой количеством Трег до лечения, а после лечения оно существенно уменьшалось. Эти данные совпадают с полученными нами ранее: трастузумаб снижал количество Т рег только у пациенток с исходно повышенным количеством этих клеток [7]. При этом снижение процентного содержания Трег после 2-4 курса терапии у больных группы Б происходило на фоне нормализации количества $CD4^+CD25^+$ Т-клеток. Таким образом, увеличение количества $CD4^+CD25^+$ лимфоцитов у пациенток с высокой степенью патоморфоза опухоли происходило за счет активированных, а не регуляторных Т-клеток. $CD8^+CD28^-$ Т-клетки включают в себя как клетки-эффекторы, так и клетки-супрессоры. Filaci et. al. [10-11], исследуя опухолевые ткани, лимфоузлы и периферическую кровь больных различными формами злокачественных опухолей, обнаружили, что только у онкологических больных $CD8^+CD28^-$ Т-клетки периферической крови проявляли супрессорную активность, в отличие от $CD8^+CD28^-$ Т-клеток здоровых доноров, которые супрессорной активностью не обладали.

Таблица 1

Изменения количества основных субпопуляций лимфоцитов у больных РМЖ в процессе лечения трастузумабом в сочетании с лапатинибом.

Маркер	Вариант лечения (группа I)			P
	Трастузумаб + лапатиниб (до лечения)	Трастузумаб + лапатиниб (после лечения)	Контроль	
	(m±St.Dev.) %	(m±St.Dev.) %	(m±St.Dev.) %	
	1	2	3	
CD3 ⁺	71,7±8,7	74,3±10,9	71,1±6,7	—
CD4 ⁺	43,6±5,7	46,3±13,0	39,4±8,5	—
CD3 ⁺ CD4 ⁺	42,2±6,7	45,6±13,2	38,8±8,6	—
CD8 ⁺	22,2±12,4	20,7±6,4	28,1±9,5	—
CD3 ⁺ CD8 ⁺	16,7±11,6	15,8±5,1	20,1±7,7	—
CD4/CD8	2,34±1,16	2,57±1,48	1,57±0,79	P _{1,3} = 0,040; P _{2,3} = 0,039
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	10,9±4,2	11,6±6,2	6,7±2,9	P _{1,3} = 0,007; P _{2,3} = 0,009
CD3 ⁺ CD38 ⁺	8,0±4,2	14,8±8,4	10,1±11,0	—
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	12,4±4,4	8,7±4,7	12,4±6,1	P _{1,2} = 0,052
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	15,8±6,5	11,5±6,1	19,4±7,1	P _{2,3} = 0,012
CD19 ⁺	7,1±3,2	8,2±4,5	4,6±3,6	P _{1,3} = 0,04; P _{2,3} = 0,035
CD8 ⁺ CD28 ⁺	7,3±5,3	8,0±3,3	10,6±5,2	—
CD8 ⁺ CD28 ⁻	14,1±4,5	13,3±6,4	20,8±8,7	—
ЦТ активность ЕК-клеток	39,0±16,8	26,1±17,9	25-50	—
CD4 ⁺ CD25 ⁺	4,37±2,3	3,59±1,25	10,2±5,3	P _{1,3} = 0,008; P _{2,3} = 0,004
CD4 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺	0,13±0,09	0,16±0,15	0,44±0,36	P _{1,3} = 0,029; P _{2,3} = 0,033

Таблица 2

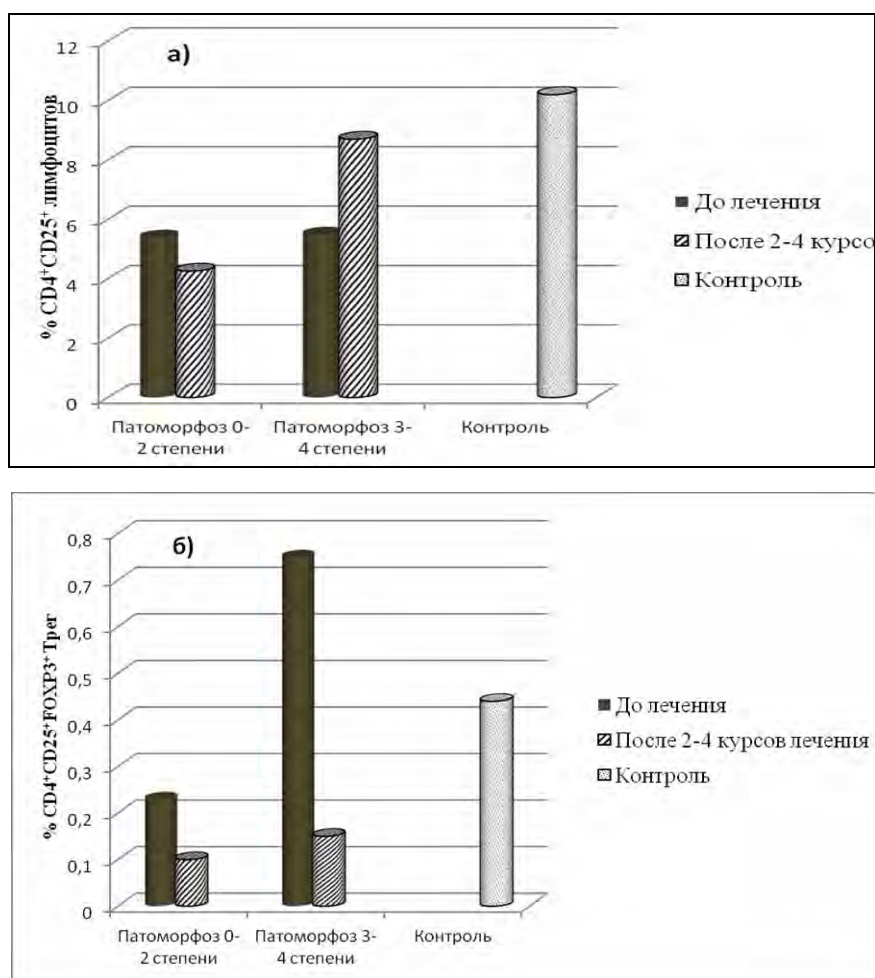
Изменения количества основных субпопуляций лимфоцитов у больных РМЖ в процессе лечения трастузумабом в сочетании с лапатинибом и химиотерапией.

Маркер	Вариант лечения (группа II)			P
	Трастузумаб + лапатиниб + X/T (до лечения)	Трастузумаб + лапатиниб + X/T (после леч.)	Контроль	
	(m±St.Dev.) %	(m±St.Dev.) %	(m±St.Dev.) %	
	1	2	3	
CD3 ⁺	68,2±13,1	74,6±7,3	71,1±6,7	—
CD4 ⁺	37,7±12,5	44,6±8,5	39,4±8,5	—
CD3 ⁺ CD4 ⁺	35,5±12,9	43,7±8,2	38,8±8,6	P _{1,2} = 0,036
CD8 ⁺	23,4±11,1	25,2±10,9	2,1±9,5	—
CD3 ⁺ CD8 ⁺	15,1±10,0	20,2±10,4	20,1±7,7	—
CD4/CD8	1,74±0,78	2,3±1,45	1,57±0,79	—
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	7,7±5,7	12,5±7,3	6,7±2,9	P _{1,2} = 0,048 P _{2,3} = 0,004
CD3 ⁺ CD38 ⁺	6,95±4,4	9,5±4,4	10,1±11,0	—
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	15,2±17,0	15,0±15,9	12,4±6,1	—
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	21,8±13,8	14,7±9,5	19,4±7,1	—
CD19 ⁺	2,7±1,06	5,6±3,8	4,6±3,6	—
CD8 ⁺ CD28 ⁺	8,1±6,2	10,4±4,5	10,6±5,2	—
CD8 ⁺ CD28 ⁻	16,4±7,3	14,1±6,7	20,8±8,7	P _{2,3} = 0,02
ЦТ активность ЕК-клеток	47,1±20,3	37,2±12,0	25-50	—
CD4 ⁺ CD25 ⁺	5,8±2,7	6,9±4,03	10,2±5,3	P _{1,3} = 0,008
CD4 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺	0,57±0,93	0,12±0,18	0,44±0,36	P _{1,2} = 0,002 P _{2,3} = 0,005

Таблица 3

Зависимость изменений процентного содержания основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови больных РМЖ от степени лечебного патоморфоза опухоли.

Маркер	Степень лечебного патоморфоза опухоли.				Контроль
	0-2 (группа А)		3-4 (группа Б)		
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	
	(m±St.Dev.)%	(m±St.Dev.)%	(m±St.Dev.)%	(m±St.Dev.)%	
	1	2	3	4	5
CD3 ⁺	70,6±13,1	76,7±10,7	67,3±11,6	72,6±6,3	71,1±6,7
CD4 ⁺	42,5±11,4	45,3±10,2	37,9±9,0	44,8±9,5	39,4±8,5
CD3 ⁺ CD4 ⁺	36,8±12,9	44,7±10,4	37,7±11,6	44,4±10,0	38,8±8,6
CD8 ⁺	22,4±12,0	23,4±9,6	24,2±14,2	22,4±10,7	28,1±9,5
CD3 ⁺ CD8 ⁺	17,1±11,2	18,8±10,2	14,7±10,9	18,3±9,4	20,1±7,7
CD4/CD8	2,06±0,73	2,41±1,54	2,13±1,64	2,56±1,47	1,57±0,79
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	8,8±5,0	13,1±6,8	9,8±5,9	11,3±6,4	6,7±2,9
CD3 ⁺ CD38 ⁺	7,2±4,0	12,7±6,4	7,1±4,8	8,6±5,4	10,1±11,0
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	17,9±19,6	10,0±6,8	11,6±6,5	14,8±18,6	12,4±6,1
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	18,5±12,7	10,0±7,1	22,0±12,4	16,9±9,3	19,4±7,1
CD19 ⁺	4,87±2,66	6,7±4,6	6,6±5,3	6,4±4,3	4,6±3,6
CD95 ⁺	48,9±20,2	61,8±11,8	57,3±17,9	55,2±11,4	59,3±12,8
CD8 ⁺ CD28 ⁺	10,1±6,2	10,1±3,5	5,7±5,2	8,8±5,0	10,6±5,2
CD8 ⁺ CD28 ⁻	14,0±5,5	13,1±8,5	17,5±7,4	14,5±5,2	20,8±8,7
ЦТ активность ЕК-клеток	39,5±9,9	31,7±18,2	42,6±23,9	28,2±15,2	25-50
CD4 ⁺ CD25 ⁺	5,4±3,3	4,26±2,18	5,5±1,96	8,7±4,3	10,2±5,3
CD4 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺	0,23±0,28	0,10±0,05	0,75±1,25	0,15±0,25	0,44±0,36

Рис. Изменения количества CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов:

А. CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Трег
 В. у больных РМЖ в процессе таргетной и химиотерапии.

62

Количество $CD8^+CD28^-$ Т-клеток у пациенток группы А практически не изменялось после лечения по сравнению с исходным уровнем, а в группе Б снижалось после лечения до уровня ниже нормы. Можно предположить, что в данном исследовании снижение количества $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Трег и $CD8^+CD28^-$ Т-клеток в процессе таргетной и химиотерапии у пациенток с патоморфозом опу-

холи 3-4 степени является положительным фактором. Возможно, большее значение при этом имеет не столько исходное количество этих клеток, сколько динамика их изменений в процессе лечения.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00867.

Литература

1. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene / Slamon D.J., Clark G.M., Wong S.G., Levin W.J., Ullrich A., McGuire W.L. // Science. – 1987. – Vol. 235, – P. 177-182.
2. The association of HER-2/neu amplification with breast cancer recurrence / Carr J.A., Havstad S., Zarbo R.J., Divine G., Mackowiak P., Velanovich V. // Arch. Surg. – 2000. – Vol.135, – P. 1469-74.
3. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer / Romond E.H., Perez E.A., Bryant J., Suman V.J., Geyer C.E.Jr., Davidson N.E., Tan-Chiu E., Martino S., Paik S., Kaufman P.A., Swain S.M., Pisansky T.M., Fehrenbacher L., Kutteh L.A., Vogel V.G., Visscher D.W., Yothers G., Jenkins R.B., Brown A.M., Dakhil S.R., Mamounas E.P., Lingle W.L., Klein P.M., Ingle J.N., Wolmark N. // N. Engl. J. Med. – 2005. – Vol. 353, – P. 1673-1684.
4. Medina P.J., Goodin S. Lapatinib: A dual inhibitor of human epidermal growth factor receptor tyrosine kinases. // Clin. Ther. – 2008. – Vol. 30, Issue 8 – P.1426-1447.
5. Изменение количеств Т-регуляторных лимфоцитов ($CD4^+CD25^+$) у больных раком молочной железы при лечении герцептином / Славина Е.Г., Черткова А.И., Заботина Т.Н. Ганьшина И.П., Личиницер М.Р. // Бюл. Эксп. Биол. Мед. – 2006. – Т. 141, № 3 – Стр. 338-341.
6. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г. Иммунорегуляторные $CD4^+CD25^+$ Т клетки // РБЖ. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 13-20.
7. Фенотип иммунокомпетентных клеток и его значение в противоопухолевом иммунном ответе / Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г. Заботина Т.Н., Борунова А.А., Короткова О.В. // Вестник РАМН – 2011. – №12. – С. 20-25.
8. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. // J. Immunol. Meth. – 1983. – Vol. 65, – P.55-63.
9. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г. Регуляторные Т-клетки и их роль в противоопухолевом иммунном ответе. // «Вопросы онкологии». – 2009. – Т. 55, № 3, – С. 269-277.
10. $CD8^+CD28^-$ T regulatory lymphocytes inhibiting T cell proliferative and cytotoxic functions infiltrate human cancers / Filaci G., Fenoglio D., Fravega M., Ansaldo G., Borgonovo G., Traverso P., Villaggio B., Ferrera A., Kunkl A., Rizzi M., Ferrera F., Balestra P., Ghio M., Contini P., Setti M., Olive D., Azzarone B., Carmignani G., Ravetti J.L., Torre G., Indiveri F. // J.Immunol. – 2007. – Vol. 179, – P. 4323-4334.
11. Non-antigen-specific $CD8^+$ T suppressor lymphocytes in diseases characterized by chronic immune responses and inflammation / Filaci G., Rizzi M., Setti M., Fenoglio D., Fravega M., Basso M., Ansaldo G., Ceppa P., Borgonovo G., Murdaca G., Ferrera F., Picciotto A., Fiocca R., Torre G., Indiveri F. // Ann. NY Acad. Sci. – 2005. – Vol. 1050. P. 115-123.

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

РМЖ – рак молочной железы

ЦТ – цитотоксическая

HER2 – фактора роста 2

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, пометать 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 номер источника 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), годы 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.

*Е.Л. Пименова***ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ В СООТВЕТСТВИИ
С ГИСТОЛОГИЧЕСКИМ ВАРИАНТОМ И СТЕПЕНЬЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ОПУХОЛИ***Евгения Львовна Пименова, к. м. н., врач, лаборатория клинической цитологии, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»**Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», лаборатория клинической цитологии, Пименова Евгения Львовна;**e-mail: eugeniapimenova@gmail.com***Реферат**

ГЦК – распространенное опухолевое поражение печени, занимает пятое место в мире среди злокачественных новообразований. Необходимость морфологической дооперационной диагностики объемных образований печени не вызывает сомнений, позволяя избежать ненужного оперативного вмешательства при циррозе печени и определить объем оперативного вмешательства при доброкачественных объемных гепатоцеллюлярных поражениях. Отмечается высокая диагностическая точность цитологической диагностики объемных образований печени на основании исследования материала ТИАБ. Проведение ТИАБ экономически выгодно и безопасно. С целью уточнения цитоморфологических критериев ГЦК исследованы цитологические препараты материала ТИАБ 172 больных. Сопоставление с данными гистологии возможно в 59 случаях. Диагностическая чувствительность – 87,5 %, специфичность – 90 % и эффективность – 88,9 %. При цитоморфологической оценке материала ТИАБ необходимо учитывать не только особенности морфологии клеток и ядер, но и особенности цитоархитектоники. Это дает возможность представить цитологическую картину по степени дифференцировки и по варианту строения в соответствии с гистологической классификацией. Трудности цитоморфологической диагностики гепатоцеллюлярных поражений представляет дифференциальный диагноз между высокодифференцированной ГЦК и незлокачественными процессами и дифференциальный диагноз между ГЦК и злокачественной опухолью иного гистогенеза. Наиболее информативный цитоморфологический критерий высокодифференцированной ГЦК – наличие закругленных, «обтекаемых» пластов опухолевых клеток, «обернутых» эндотелием. Для определения гистогенеза часто необходимо сопоставление цитологической картины с данными клиники, лабораторных исследований, результатами лучевой диагностики. Желательно уточнение цитологического диагноза с помощью дополнительных морфологических методов исследования.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, цитологическая диагностика.

Введение

Отмечается высокая диагностическая точность цитологической диагностики объемных образований печени с подозрением на ГЦР на основании исследования материала ТИАБ: диагностическая чувствительность и специфичность достигает 90% [2; 5–7]. Проведение ТИАБ экономически выгодно и безопасно, осложнения (кровотечения, имплантационные метастазы по ходу иглы) отмечаются редко [1–4; 7–10].

Материал и методы

С целью уточнения цитоморфологических критериев ГЦК предпринято ретроспективное исследование материала ТИАБ 172 больных за 2009–2013 гг.

С использованием световой микроскопии исследованы цитологические препараты, окрашенные по методу Лейшмана (W.B. Leishman, 1865–1926, англ. военный врач). Сопоставление с данными гистологии возможно в 59 случаях.

Результаты и обсуждение

Диагностическая чувствительность для определения злокачественного характера гепатоцеллюлярного поражения – 87,5 %, специфичность – 90 % и эффективность – 88,9 %.

Незлокачественные объемные гепатоцеллюлярные образования включают гепатоцеллюлярную аденому, фокальную нодулярную гиперплазию печени, макрорегенераторные узлы при циррозе печени. Цитологическая картина представлена солидными скоплениями клеток и изолированно лежащими полигональными и округлыми клетками

с обильной цитоплазмой, круглым или слегка овальным ядром, расположенном центрально или слегка эксцентрично, с включениями пигмента (желчи, липофусцина) в цитоплазме, внутриядерными включениями типа "оргстекла", признаками жировой дистрофии (рис. 1а; см. обложку). Ядрышки встречаются в части ядер: множественные, как правило, мелкие и незаметные, или одиночные, более крупные, центрально расположенные. Иногда видны скопления мелкого, мономорфного, кубического или призматического эпителия внутрипеченочных желчных протоков в виде плотных структур (рис. 1б), макрофаги печени (рис. 1в), элементы сосудов (рис. 1г) и стромы. Отмечаются участки полиморфизма размеров клеток и ядер различной степени выраженности – крупноклеточная дисплазия гепатоцитов (рис. 2 а, б).

При незлокачественных объемных гепатоцеллюлярных поражениях цитоморфологическая диагностика не является надежной. Наличие эпителия желчных протоков свидетельствует в пользу фокальной нодулярной гиперплазии и макрорегенераторных узлов при циррозе печени (рис. 1б). Внутриядерные включения типа «оргстекла» (рис. 1а) и крупные, центрально расположенные, одиночные ядрышки характерны преимущественно для цирроза. Крупноклеточная дисплазия отмечается при циррозе чаще, хотя может встречаться при гепатоцеллюлярной аденоме и фокальной нодулярной гиперплазией печени.

Мелкоклеточная дисплазия гепатоцитов является предракловым поражением, встречается, как правило, в материале макрорегенераторных узлов при циррозе. Характеризуется мелкими, мономорфными по размерам клетками и ядрами с увеличенным ядерно-цитоплазматическим отношением и признаком «нагромождения» ядер (рис. 3).

Цитоморфологическая картина высокодифференцированной ГЦК представлена мономорфными по размерам клетками и ядрами, но с полиморфизмом формы ядер (неровный ядерный контур). Характерно высокое ядерно-цитоплазматическое отношение и «нагромождение» ядер. Ядрышки, как правило, незаметны (рис. 4а). Цитоархитектоника характеризуется трабекулярными (чаще микротрабекулярными: не более трех клеток в ряду) (рис. 4б), псевдоацинарными, компактными (рис. 4в), тубулярными участками (рис. 4г). Возможны светлоклеточные изменения. Наличие закругленных, «обтекаемых» пластов опухолевых клеток, «обернутых» эндотелием, является наиболее ценным дифференциально-диагностическим цитоморфологическим критерием высокодифференцированной ГЦК в отличие от мелкоклеточной дисплазии гепатоцитов (рис. 5 а, б). Для объективизации диагноза желательно использование дополнительных методов исследования в морфологии, например, иммуноцитохимии [2; 11–13].

Умеренно дифференцированная ГЦК характеризуется крупными, полиморфными по размеру и форме клетками и ядрами с заметными множественными или одиночными ядрышками, трабекулярной и псевдоацинарной цитоархитектоникой (рис. 6 а, б). Чередуются участки с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением и более низким, с обильной цитоплазмой (рис. 6 в). Так же, как и при высокодифференцированной ГЦК, возможны светлоклеточные изменения.

Низкодифференцированная ГЦК характеризуется резко выраженным полиморфизмом формы и размеров клеток и ядер, обильной цитоплазмой, наличием гигантских, уродливых и многоядерных форм опухолевых клеток с участками трабекулярной цитоархитектоники и большим количеством изолированно лежащих клеток (рис. 7 а, б). На основании

цитоморфологии можно выделить плеоморфноклеточный вариант (рис. 7 в). В части случаев встречаются саркомоподобные участки (рис. 7 г). Возможны участки из относительно однообразных клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, не образующих четких структур. В двух последних вариантах (саркомоподобном и мелкоклеточном), при отсутствии в исследуемом материале типичных участков ГЦК, гистогенез опухоли возможно определить только с помощью сопоставлений с клинико-лабораторными данными, результатами лучевой диагностики и с помощью дополнительных методов исследования в морфологии [2; 12–18].

Заключение

При цитоморфологической оценке материала ТИАБ необходимо учитывать не только особенности морфологии клеток и ядер, но и особенности цитоархитектоники. Это дает возможность представить цитологическую картину по степени дифференцировки и по варианту строения в соответствии с гистологической классификацией.

Трудности цитоморфологической диагностики гепатоцеллюлярных поражений представляет дифференциальный диагноз между высокодифференцированной ГЦК и незлокачественными процессами и дифференциальный диагноз между ГЦК и злокачественной опухолью иного гистогенеза. Наиболее информативный цитоморфологический критерий высокодифференцированной ГЦК – наличие закругленных, «обтекаемых» пластов опухолевых клеток, «обернутых» эндотелием. Для определения гистогенеза желательно уточнение цитологического диагноза с помощью дополнительных методов исследования в морфологии, например, иммуноцитохимического исследования.

Литература

- Dissemination of hepatocellular carcinoma in subcutaneous tissue after fine needle aspiration cytology (FNAC) / Carlin SP, Garcia-Botella A, Diez-Valladares L, Perez-Aguirre E, Ortega L, Mendez R, Torres AJ. – Hepatogastroenterology. 2013 Nov-Dec;60(128):1839-40.
- Wee A. Fine-needle aspiration biopsy of hepatocellular carcinoma and related hepatocellular nodular lesions in cirrhosis: controversies, challenges, and expectations. – Patholog Res Int. 2011;2011:587936. doi: 10.4061/2011/587936. Epub 2011 Jun 30.
- The changing face of percutaneous image-guided biopsy: molecular profiling and genomic analysis in current practice / Marshall D(1), Laberge JM, Firetag B, Miller T, Kerlan RK. – J Vasc Interv Radiol. 2013 Aug;24(8):1094-103. doi: 10.1016/j.jvir.2013.04.027. Epub 2013 Jun 24.
- Geramizadeh B(1), Asadi N, Tabei SZ. Cytologic comparison between malignant and regenerative nodules in the background of cirrhosis. – Hepat Mon. 2012 Jul;12(7):448-52. Epub 2012 Jul 30.
- The diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma / Malek NP(1), Schmidt S, Huber P, Manns MP, Greten TF. – Dtsch Arztebl Int. 2014 Feb 14;111(7):101-6. doi: 10.3238/arztebl.2014.0101.
- Prachayakul V(1), Aswakul P, Kachintorn U. EUS guided fine needle aspiration cytology of liver nodules suspicious for malignancy: yields, complications and impact on management. – J Med Assoc Thai. 2012 Feb;95 Suppl 2:S56-60.
- Swamy MC(1), Arathi C, Kodandaswamy C. Value of ultrasonography-guided fine needle aspiration cytology in the investigative sequence of hepatic lesions with an emphasis on hepatocellular carcinoma. – J Cytol. 2011 Oct;28(4):178-84. doi: 10.4103/0970-9371.86344.
- Preoperative tumour biopsy does not affect the oncologic course of patients with transplantable HCC / Fuks D(1), Cauchy F(1), Fusco G(1), Paradis V(2), Durand F(3), Belghiti J(4). – J Hepatol. 2014 May 10. pii: S0168-8278(14)00310-9. doi: 10.1016/j.jhep.2014.04.046.
- Fatal haemorrhage from an ultrasound guided fine needle aspiration of the liver in a patient with primary hepatocellular carcinoma: case report / Adekanle O(1), Ndububa DA, Ijorimi O, Komolafe OA, Omonisi EA, Ojo SO. – Niger Postgrad Med J. 2013 Sep;20(3):228-30.
- Cytomorphological variables of hepatic malignancies in fine needle aspiration smears with special reference to grading of hepatocellular carcinoma / Balani S(1), Malik R, Malik R, Kapoor N. – J Cytol. 2013 Apr;30(2):116-20. doi: 10.4103/0970-9371.112655.
- Prospective validation of an immunohistochemical panel (glypican 3, heat shock protein 70 and glutamine synthetase) in liver biopsies for diagnosis of very early hepatocellular carcinoma / Tremosini S(1), Forner A, Boix L, Vilana R, Bianchi L, Reig M, Rimola J, Rodriguez-Lopez C, Ayuso C, Solé M, Bruix J. – Gut. 2012 Oct;61(10):1481-7. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301862. Epub 2012 Jan 27.
- Glutamine synthetase, heat shock protein-70, and glypican-3 in intrahepatic cholangiocarcinoma and tumors metastatic to liver / Lagana SM(1), Moreira RK, Remotti HE, Bao F. – Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 May;21(3):254-7. doi: 10.1097/PAI.0b013e3182642c9c.
- Wee A. Fine needle aspiration biopsy of hepatocellular carcinoma and hepatocellular nodular lesions: role, controversies and approach to diagnosis. – Cytopathology. 2011 Oct;22(5):287-305. doi: 10.1111/j.1365-2303.2011.00882.x. Epub 2011 Jul 18.
- Fatima N(1), Cohen C, Siddiqui MT. Arginase-I: a highly specific marker separating pancreatic adenocarcinoma from hepatocellular carcinoma. – Acta Cytol. 2014;58(1):83-8. doi: 10.1159/000355629. Epub 2013 Nov 20.
- Role of glypican-3 immunocytochemistry in differentiating hepatocellular carcinoma from metastatic carcinoma of the liver utilizing fine needle aspiration cytology / Zaakook M(1), Ayoub M, Sinna EA, El-Sheikh S. – J Egypt Natl Canc Inst. 2013 Dec;25(4):173-80. doi: 10.1016/j.jnci.2013.07.004. Epub 2013 Aug 20.
- Arginase-1, HepPar-1, and Glypican-3 are the most effective panel of markers in distinguishing hepatocellular carcinoma from metastatic tumor on fine-needle aspiration specimens / Timek DT(1), Shi J, Liu H, Lin F. – Am J Clin Pathol. 2012 Aug;138(2):203-10. doi: 10.1309/AJCPK1ZC9WNHCCMU.
- Arginase-1 is a more sensitive marker of hepatic differentiation than HepPar-1 and glypican-3 in fine-needle aspiration biopsies / Fujiwara M(1), Kwok S, Yano H, Pai RK. – Cancer Cytopathol. 2012 Aug 25;120(4):230-7. doi: 10.1002/cncy.21190. Epub 2012 Mar 20.
- Arginase-1: a novel immunohistochemical marker of hepatocellular differentiation in fine needle aspiration cytology / McKnight R(1), Nassar A, Cohen C, Siddiqui MT. – Cancer Cytopathol. 2012 Aug 25;120(4):223-9. doi: 10.1002/cncy.21184. Epub 2012 Feb 1.

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома; ТИАБ – тонко-игольная аспирационная биопсия

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.22-006.6 -036(571.16)

Е.Л. Чойнзонов¹, Л.Ф. Писарева², Л.Д. Жуйкова³, И.Н. Одинцова⁴, О.А. Ананина³

ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ НА ТЕРРИТОРИИ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ (2004–2013 гг.)

¹д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, заведующий кафедрой онкологии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ²д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН³к.м.н., заместитель главного врача клиники ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН⁴д.м.н., руководитель лаборатории эпидемиологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН³к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН**Адрес для пересылки:** 634028, г. Томск, ул. Савиных, 12/1, клиника ФГБУ «НИИ онкологии СО РАМН», заместитель главного врача клиники к.м.н. Жуйкова Лилия Дмитриевна; тел.: (382-2) 42-00-55**e-mail:** zhuikovailili@mail.ru

Проведено исследование популяционной 10-летней выживаемости 425 больных раком гортани Томской области. На основании базы данных ракового регистра проведен расчет актуаральным методом и анализ, в т.ч. сравнительный, с другими регионами мира, наблюдаемой, скорректированной и относительной выживаемости с учетом пола, стадии заболевания, места проживания пациентов. Однолетняя наблюдаемая выживаемость в мужской популяции на 4,5% выше, чем в женской, остальные показатели, включая десятилетнюю выживаемость, – выше у женщин. С увеличением периода наблюдения, разница в показателях увеличивается с 3,1 до 14,7% при 10-летней выживаемости. Наблюдается обратная зависимость выживаемости от распространенности опухолевого процесса. Продолжительность жизни городской когорты больше, чем сельской. Анализ указывает на низкий уровень первичной диагностики рака гортани и относительно успешный фазис специального лечения II клинической группы больных.

Ключевые слова: выживаемость, рак гортани, популяционный раковый регистр, Томская область.

Одним из наиболее объективных критериев эффективности противораковой борьбы является показатель выживаемости онкологических больных, который рассматривается в тесной взаимосвязи с социально-экономическими условиями жизни населения. Популяционный показатель выживаемости, в отличие от показателя «результатов лечения», является резюмирующим итогом интегральной оценки качества лечебно-диагностических, профилактических мероприятий специализированной помощи всем онкологическим больным, а не только подвергнутым противоопухолевому лечению [1; 2]. В отечественных научных публикациях в основном представлены показатели выживаемости, рассчитанные по госпитальным данным [1].

Рак гортани занимает первое место среди злокачественных новообразований верхних дыхательных путей, его доля составляет 65–70%. Большинство больных раком гортани находится в возрастном интервале 40–60 лет [3; 4]. Стойкое нарушение голосовой и дыхательной функций ведет к инвалидизации трудоспособной части населения [5]. Расчет показателей выживаемости на основе базы данных популяционного ракового регистра позволяет комплексно оценить состояние специализированной помощи больным раком гортани на всех этапах – от качества диагностики до уровня лечения.

Целью работы явился анализ показателей 1-; 5- и 10-летней выживаемости больных раком гортани на территории Томской области.

Материалы и методы

Исследование проводилось на основе данных канцер-регистра Томского областного онколо-

гического диспансера за период 2004–2013 гг. Не вошли в исследование онкологические больные, проживающие на территории г. Северска. Проведен расчет и анализ НВ, СВ и ОВ больных РГ – 391 мужчина и 34 женщины – с учетом стадии опухоли, возраста пациентов, места жительства (городское и сельское население).

Динамический (актуаральный) метод расчета основан на построении таблиц дожития с деперсонификацией данных [6]. Ожидаемая выживаемость определялась по таблицам смертности и дожития, составленной по данным территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Томской области о возрастном-половом составе населения и возрастном-половой структуре смертности в 2004–2009 гг. (учетная форма № 5 Госкомстата РФ, таблица № С51). При обработке материала использовались методы статистического анализа в предположении нормального закона распределения исходных величин. Различия результатов считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

На фоне мировых и российских показателей заболеваемости ЗНО ТО относится к территориям повышенного онкологического риска [3; 7; 8]. Заболеваемость раком гортани выше среднероссийских показателей и составляет: у мужчин $9,3 \pm 1,3$, у женщин – $1,2 \pm 0,2$ на 100 000 населения (‰_{0000}) (РФ – 7,1 и $0,3 \text{‰}_{0000}$ соответственно). В мужской популяции эта патология встречается в 7,8 раз чаще, чем в женской. Однако наблюдается тенденция увеличения числа заболевших женщин. При стабилизации

ции заболеваемости раком гортани городского населения, происходит ее увеличение у сельского [3].

Низкие показатели активной и ранней диагностики, высокие показатели запущенности и одно-годовой летальности злокачественных опухолей гортани свидетельствуют о необходимости проведения системного изучения онкологической ситуации на территории области [8].

В результате проведенных исследований выживаемости отмечено, что показатели скорректированной выживаемости выше наблюдаемой, и это свидетельствует о наличии инкуррентных причин смерти у пациентов. Диапазон разницы колебался от 2,1 % (3-летняя выживаемость) до 3,0 % (9- и 10-летняя выживаемость) у мужчин и от 2,1 % (5- и 10-летняя выживаемость) до 2,5% (1-летняя выживаемость) – у женщин (табл. 1).

Таблица 1
Кумулятивная наблюдаемая, скорректированная и относительная выживаемость больных раком гортани Томской области в 2004-2009 гг. (%)

Период наблюдения (в годах)	НВ Р±m	СВ Р±m	ОВ Р±m
Мужчины (n=391)			
1	63,3±4,7	65,9±4,7	65,2±4,8
3	48,9±4,9	50,9±5,0	53,5±5,3
5	42,7±4,9	45,2±5,0	49,8±5,7
7	40,1±4,8	42,4±5,0	50,5±6,1
10	38,3±4,8	41,0±5,0	54,6±6,8
Женщины (n=34)			
1	58,8±16,1	61,2±16,5	60,9±16,7
3	55,8±16,3	58,1±16,7	62,2±18,2
5	52,9±16,5	55,1±16,9	63,6±19,8
7	52,9±16,5	55,1±16,9	69,3±21,5
10	52,9±16,5	55,1±16,9	79,0±24,6
Примечание. Р±m – показатель выживаемости и его ошибка.			

В Томской области за исследуемый период от других причин погибло 17 мужчин, больных РГ и 1 женщина. К сожалению, популяционный раковый регистр в графе «причина смерти» фиксирует только определение «другое заболевание» без конкретизации патологии. Имеются публикации о сердечно-сосудистых (тромбозах, ишемической болезни сердца), инфекционных заболеваниях, обуславливающих летальный исход у онкологических больных [9; 10]. Согласно исследованию, проведенному учеными из University of Washington USA, у онкологических пациентов причиной смерти нередко является суицид, совершаемый ими в два раза чаще, чем остальными людьми [11]. Анализ случаев суицида среди американцев с установленным диагнозом рака в период с 1973 по 2002 гг. резюмировал, что высокое количество случаев суицидов ассоциировано с мужским полом, белой расой и пожилым возрастом пациентов. Чаще всего суицидальные попытки совершают пациенты с раком легкого, желудка, ротовой полости, глотки и гортани [11]. Безусловно, на современном этапе, необходима регистрация причин смерти онкологических больных в базе данных популяционного ракового регистра.

При оценке показателей выживаемости больных РГ также отмечено, что 1-летняя кумулятивная наблюдаемая выживаемость в мужской популяции на 4,5% выше, чем в женской. Двухлетняя

выживаемость выше у женщин, и с увеличением периода наблюдения, разница в показателях растет с 3,1 до 14,6%: так у женщин 3-летняя выживаемость выше, чем у мужчин на 6,9% (55,8±16,3 и 48,9±4,9%), 5-летняя – на 10,2% (52,9±16,5 и 42,7±4,9%), 7-летняя – на 12,8% (52,9±16,5 и 40,1±4,8%), 10-летняя – уже на 14,6% (52,9±16,5 и 38,3±4,8%). При этом, однако, следует учитывать большую погрешность (16,1–24,6) при расчетах, связанную с малочисленностью изучаемой женской когорты (34 человека). В целях достижения статистической достоверности дальнейшее исследование показателей выживаемости проводилось без гендерной дифференциации.

При анализе выживаемости с учетом стадии опухолевого процесса показано, что наблюдается обратная зависимость выживаемости от распространенности опухолевого процесса. Максимальная наблюдаемая выживаемость отмечена при I стадии рака гортани: 1-летняя НВ составила 98,4%, 5-летняя – 82,3%, 10-летняя – 79,0%; при II стадии заболевания показатели составили 76,4; 61,0 49,6% соответственно, при III стадии – 59,5; 36,6 и 34,0%; при IV стадии – 22,6; 9,7 и 9,7%. Отмечены низкие показатели выживаемости у больных с неустановленной стадией ЗНО, доля которых в структуре заболеваемости РГ составляла 3,3 %: 13 из 14 пациентов этой категории умерли в течение года после постановки диагноза (1-летняя НВ–7,1 %). Последний больной с неустановленной стадией погиб в течение 2 года и показатели выживаемости составили 0 %. Эти цифры указывают на запущенность заболевания в данной когорте (табл. 2).

Таблица 2
Наблюдаемая и скорректированная выживаемость больных раком гортани Томской области с учетом стадии заболевания в 2004–2013 гг. (%)

Стадии заболевания в 2004-2015 гг. (%)												
Период (годы)	Стадии										Всего (n=425)	
	I (n=62)		II (n=123)		III (n=164)		IV (n=62)		Без стадии (n=14)			
	НВ	СВ	НВ	СВ	НВ	СВ	НВ	СВ	НВ	СВ	НВ	СВ
1	98,3	98,4	76,4	79,3	59,5	62,5	22,6	24,6	7,1	11,1	63,0	65,5
3	90,3	90,3	67,5	70,1	39,7	41,7	9,7	10,5	0,0	0,0	49,5	51,5
5	82,3	83,8	56,1	59,1	36,6	39,0	9,7	10,5	0,0	0,0	43,8	46,2
7	80,7	82,2	52,0	54,8	34,0	36,3	9,7	10,5	0,0	0,0	41,4	43,7
10	79,0	82,2	49,6	53,0	34,0	36,3	9,7	10,5	0,0	0,0	40,4	43,2
Примечание. n – количество пациентов												

На показатели выживаемости всей исследуемой группы влияет уровень диагностики – распределение пациентов с учетом стадии опухолевого процесса при выявлении. Отмечено, что выявляемость на ранних стадиях заболевания низка: удельный вес I стадии составил 14,6%, II стадии – 28,9%. Более половины случаев (53,2%) были диагностированы с III и IV стадиями опухолевого процесса – 38,6% и 14,6% соответственно. Удельный вес пациентов, которым стадия не была установлена – 3,3%. Уровень выживаемости всех пациентов соответствует усредненным показателям выживаемости при II и III стадиях: 1-летняя – 63,0% (СВ – 65,5%), 5-летняя – 43,8% (СВ – 46,2%), 7-летняя – 41,4% (СВ – 43,7%), 10-летняя – 40,4% (СВ – 43,2%; рис. 1).

Анализ выживаемости в зависимости от стадии заболевания свидетельствует об адекватности противоопухолевого лечения больных раком гортани II клинической группы и низком уровне медицинского наблюдения пациентов с терминальными формами онкологического процесса.

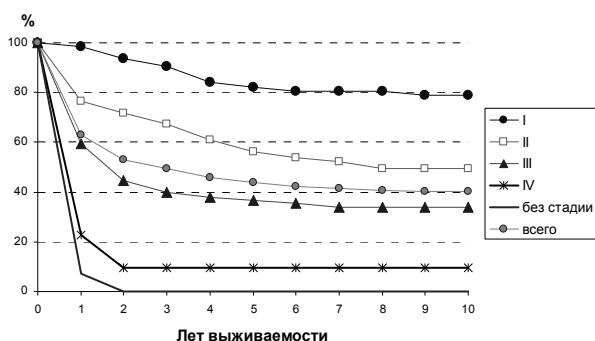


Рис. 1. Динамика наблюдаемой выживаемости больных раком гортани Томской области с учетом стадии заболевания (2004–2013 гг.).

В целях оценки территориальной организации онкологической помощи в Томской области, проведен анализ выживаемости пациентов, проживающих в городской и сельской местности. Из числа больных РГ в городской местности проживали 58,8%, в сельской – 41,2%. Показатели 1-летней НВ горожан выше на 6,0% (65,5 и 59,4% соответственно); СВ – на 4,8% (67,5 и 62,7%); 5-летней – на 7,5% (46,9 и 39,4%), СВ – на 6,0% (48,7 и 42,7%); 10-летней – на 5,6% (42,7 и 37,1%), СВ – на 5,0% (45,2 и 40,2%), чем у пациентов состоящих на учете в сельских ЛПУ (рис. 2).

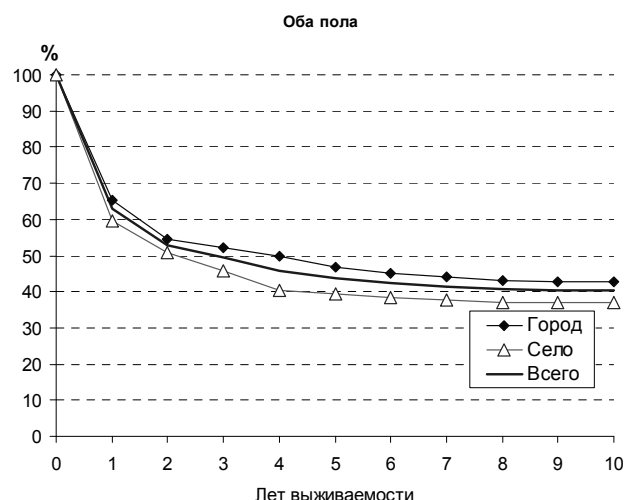


Рис. 2. Динамика наблюдаемой выживаемости больных раком гортани, проживающих в городской и сельской местности Томской области (%), 2004–2013 гг.

Более низкие показатели выживаемости в сельской местности, обусловлены недостаточной доступностью онкологической помощи для пациентов, проживающих в удаленных от областного центра населенных пунктах. Показатель постановки диагноза злокачественного новообразования на ранних стадиях в областном центре – г. Томске выше, чем в районах на 5,9%, удельный вес морфологически верифицированных диагнозов – на 8,4%, показатели запущенности – ниже на 3,3% [8].

Для объективной оценки состояния специализированной помощи больным злокачественными новообразованиями в сравнительном аспекте с другими регионами служит показатель относительной

выживаемости (ОВ). Был проведен сравнительный анализ 1-; 3- и 5-летней ОВ больных РГ Томской области (ТО), в среднем по Европе [12] и США [13] (табл. 3).

Таблица 3

Относительная выживаемость больных раком гортани в Томской области, в среднем по Европе и США (%)

–	Оба пола		
	1-летняя	3-летняя	5-летняя
Томская область (2004–2013 гг.)	64,8±4,6	54,2±51,5	51,3±5,4
Европа (2000–2007 гг.)	84,0±0,2	67,2±0,2	59,9±0,2
США (2004–2010 гг.)	86,3	70,3	60,0

$P \pm m$ – показатель выживаемости и его ошибка

Показано, что у населения Томской области наибольшие различия с зарубежными данными наблюдаются при показателях 1-летней (на 19,2 % со средними данными по Европе, на 22,5 % – по США), наименьшие – при 5-летней (8,7 и 8,6% соответственно) выживаемости. При этом необходимо отметить, что показатели выживаемости больных РГ в западных более экономически развитых странах Европы значительно выше, чем в восточных. Например, в Нидерландах и Эстонии выживаемость составила: 1-летняя – 89,7 и 74,6%; 5-летняя – 69,7 и 49,3% соответственно, что подтверждает социально-экономическую обусловленность продолжительности жизни онкологических больных [12].

Сведения о популяционной 10-летней выживаемости больных раком гортани встречаются редко. Были проведены ассоциации показателей 10-летней относительной выживаемости пациентов, страдающих данным заболеванием в Томской области и США [13]. Показатели на территории ТО составили: НВ – 40,4±4,6%; СВ – 43,2±4,8%; ОВ – 57,1±6,3%, при этом ОВ выше на 6,6 % американского показателя. Одной из причин сравнительно высокого показателя ОВ при РГ является высокая смертность населения России, в т.ч. в Томской области, от других причин. По данным ВОЗ общая смертность населения России (971 $\frac{\%}{0000}$) превосходит смертность в среднем по США (486 $\frac{\%}{0000}$) в 2,0 раза, в то время как смертность от ЗНО (122,6 и 105,8 $\frac{\%}{0000}$ соответственно) – в 1,2 раза [14].

Таким образом, согласно полученным данным, в Томской области онкологическая ситуация характеризуется низкой первичной диагностикой злокачественных новообразований гортани (низкая 1-летняя выживаемость), неудовлетворительным состоянием паллиативного лечения больных с терминальной стадией заболевания (1-годовая летальность – 92,8%), недостаточным уровнем онкологической помощи больным на селе, адекватностью радикального лечения (высокая 5-летняя выживаемость у пациентов II клинической группы), что обусловлено совокупностью причин социально-экономического и управленческого характера.

Заключение

На основании проведенных исследований отмечено, что показатели 1-летней наблюдаемой выживаемости у мужчин выше, чем у женщин на 4,5% (63,3±4,7 и 58,8±16,1%). 2-летняя выживаемость в мужской когорте ниже, и с увеличением периода наблюдения разница в показателях повышается с 3,1 до 14,7%.

Скорректированная выживаемость выше наблюдаемой, что свидетельствует о наличии инкурентных причин смерти.

Наблюдается обратная зависимость выживаемости от распространенности опухолевого процесса. Уровень выживаемости всех пациентов соответствует усредненным показателям выживаемости при II и III стадиях: 1-летняя – 53,0%, 5-летняя – 43,8%, 10-летняя – 40,4%.

Наблюдаемая выживаемость у городского населения выше, чем у сельского, что свидетельствует о недостаточном уровне онкологической помощи больным РГ на территориях, удаленных от областного центра. Сравнительный анализ относи-

-тельной выживаемости больных раком гортани Томской области и стран Европы и США указывает, что наибольший разрыв наблюдается в показателях 1-летней выживаемости (19,8 и 21,5% соответственно), наименьший – 5-летней: (8,6 и 8,7% соответственно), что обусловлено малоэффективной организацией первичной диагностики ЗНО гортани населения ТО и адекватностью радикального лечения у пациентов II клинической группы.

Показатель 10-летней относительной выживаемости больных раком гортани ТО выше на 6,6% американского показателя, что обусловлено высокой смертностью населения России, в т.ч. в Томской области, от других причин.

Литература

1. Мерабишвили В.М. Выживаемость онкологических больных. – СПб., 2006. – 139 с.
2. Популяционный раковый регистр Томской области: возможности и перспективы / Чойнзонов Е.Л., Жуйкова Л.Д., Коломиец С.А., Тюкалов Ю.И. // Врач и информационные технологии. – 2012. – № 3. – С. 16–24.
3. Заболеваемость раком гортани в Томской области (1994–2008 гг.) / Писарева Л.Ф., Жуйкова Л.Д., Чойнзонов Е.Л., Одинцова И.Н. // Якутский медицинский журнал – 2011. - № 2 – С. 60–63.
4. Чойнзонов Е.Л., Мухамедов М.Р., Балацкая Л.Н. Рак гортани. Современные аспекты лечения и реабилитации. – Томск – 2008. – 276 с.
5. Голосовая реабилитация больных злокачественными опухолями головы и шеи / Балацкая Л.Н., Чойнзонов Е.Л., Чижевская С.Ю., Шишкин Д.А., Красавина Е.А. // Сибирский онкологический журнал. - 2009. – Прилож. № 2. – С. 23–24.
6. Чиссов В.И., Старинский В.В., Ковалев Б.Н. Организация онкологической службы в России (методические рекомендации, пособия для врачей). Часть 2. – М., 2007. – 613 с.
7. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 г. (заболеваемость и смертность). – М., 2013. – 260 с.
8. Чойнзонов Е.Л., Писарева Л.Ф., Жуйкова Л.Д. Злокачественные новообразования в Томской области в 2004–2009 гг. Оценка качества диагностики // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – № 3. – С. 29–34.
9. Диагностика тромбоэмболии ветвей легочной артерии в стационарах Томска в 2003–2007 гг. по данным патолого-анатомических вскрытий / Ворожцова И.Н., Карпов Р.С., Дроздов В.Ф., Васильцев Я.С., Васильцева С.Я., Крестинин А.В. // Терапевтический архив. - 2010. – № 4. – С. 42–44.
10. Нозокомиальные инфекции в онкологической клинике. Современное состояние проблемы / Соколов А.А., Митрохин С.Д., Минаев В.И., Махсон В.И. // Российский онкологический журнал. – 2007. – № 1. – С. 29–36. 10
11. Incidence of Suicide in Persons With Cancer / Misono S., Weiss N. S., Fann J.R., Redman M., Yueh B. // Journal of Clinical Oncology. – 2008.-Vol 26, N 29. - P. 4731–4738.
12. Survival of Cancer Patients in Europe the EURO CARE-5 Study. Section 1: Survival Analysis 2000–2007 [Электронный ресурс] // The EURO CARE-5 database – URL: <https://w3.iss.it/site/EU5Results> (Дата обращения: 05.04.2014).
13. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2011 / Howlader N., Noone A.M., Krapcho M., Garshell J., Miller D., Altekruse S.F., Kosary C.L., Yu M., Ruhl J., Tatalovich Z., Mariotto A., Lewis .DR., Chen H.S., Feuer E.J., Cronin K.A. [Электронный ресурс] // The SEER Website is a service of the Surveillance Research Program, NCI. URL: <http://seer.cancer.gov/csr> (Дата обращения: 05.04.2014).
14. World Health Statistics: Mortality and global health estimates [Электронный ресурс] // Global Health Observatory. WHO. URL: <http://apps.who.int/gho/data/node.main> (Дата обращения: 08.05.2014).

СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

ОВ	– относительная выживаемость
РГ	– рак гортани
СВ	– скорректированная выживаемость
ТО	– Томская область
НВ	– наблюдаемая выживаемость
ЗНО	– злокачественные новообразования

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616-006.441-071:615.37

ДИФфузная В-КРУПНОКЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА CD20⁻: НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ

Исследование выполнено на базе отделения химиотерапии гемобластозов НИИ клинической онкологии Российского онкологического научного Центра имени Н.Н. Блохина (директор – академик М.И. Давыдов) у 338 больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (164 мужчины и 174 женщины) в возрасте 14–90 лет (медиана 58). Диагноз диффузной В-крупноклеточной лимфомы во всех случаях установлен иммуноморфологическим методом в 1995–2009 гг. В исследование включены только больные неспецифицированной ДВКЛ.

В исследование включены только больные неспецифицированной диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВКЛ), больные со специфическими вариантами ДВКЛ (лимфомы ЦНС, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома и т.д.) были исключены из анализа.

Морфологическая диагностика проводилась в отделе патологической анатомии опухолей человека РОНЦ им. Н. Н. Блохина (зав. – проф. А.И. Карселадзе) по результатам гистологического исследования опухолевой ткани в соответствии с критериями классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ 2008 года [13].

Иммунофенотипирование клеток материала биопсии опухоли выполнена методом иммунофлуоресцентного окрашивания свежемороженых (криостатных) срезов в лаборатории иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии РОНЦ. Панель МКА включала антитела к В-линейным антигенам опухолевых клеток и клеткам микроокружения – Т-лимфоцитам (CD3, CD5, CD7), макрофагам (CD163), фолликулярным дендритным клеткам (CD21, CD23), плазматическим клеткам (CD38).

Пациенты получали конвенциональную полихимиотерапию, применяемую при лечении ДВКЛ. В последние годы обязательным компонентом проводимого лечения были моноклональные антитела к CD20 (Ритуксимаб).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программы SPSS 16.0 for Windows. Статистический анализ общей выживаемости производился по методике Kaplan-Meier (1958).

П.А. Зейналова, Е.Н. Шолохова, Е.А. Османов, Н.Н. Тупицын

I. ВЕРИФИКАЦИЯ И ДЕТАЛИЗАЦИЯ ДИАГНОЗА

Резюме

Частота случаев ДВКЛ с отсутствием на мембране клеток антигена CD20 составила 1,5%. Уровни экспрессии мембранного антигена CD20 высоко коррелировали с экспрессией обще-В-клеточного антигена CD19. Верификация диагноза ДВКЛ в этих случаях возможна на основании экспрессии цитоплазматической детерминанты CD20 (антитела L26). CD20⁻ и CD19⁻ ДВКЛ формируют особую группу ДВКЛ и наблюдаются достоверно чаще при CD45⁻ вариантах лимфом. Возможность применения препарата Ритуксимаб при CD20⁻ лимфомах нуждается в дальнейшем изучении.

Ключевые слова: CD20⁻ диффузные В-крупноклеточные лимфомы, CD19, CD45, L26, Ритуксимаб.

P.A. Zeinalova, E.N. Sholokhova, E.A. Osmanov, N.N. Tupitsyn

I. VERIFICATION OF DIAGNOSIS AND DETAILS

Summary

CD20 negativity was noted in 1,5% of cases. Levels of membrane CD20 expression was highly correlated with the levels of expression of CD19. Diagnosis verification in that cases was possible on the basis of cytoplasmic CD20 expression by antibodies L26. CD20⁻ and CD19⁻ or weakly positive DLBCL has some specific features and was much frequently diagnosed in CD45⁻ cases. Possibility of Rituximab treatment of CD20⁻ DLBCL should be carefully studied.

Key words: CD20⁻ diffuse large B-cell lymphoma, CD19, CD45, Rituximab.

Введение

Иммуногистохимическая диагностика диффузной В-крупноклеточной лимфомы в настоящее время является комплексной и в то же время чрезвычайно упрощена. Комплексность диагностики включает, в первую очередь, разграничение герминального и АВС-типов. Упрощение состоит в том, что на практике зачастую при морфологической картине диффузной крупноклеточной лимфомы вполне достаточно подтвердить ее В-клеточную природу на основании иммуногистохимического

обнаружения антигена CD20. Поскольку подтверждение проводится по парафиновым блокам, чаще всего используют наиболее надежные антитела L26 (CD20). Это необходимо для выбора правильного лечения, которое при ДВКЛ включает применение Мабтеры (Ритуксимаба).

Моноклональные антитела к CD20 взаимодействуют с внеклеточным доменом антигена и вызывают гибель этих клеток различными механизмами. Парадокс состоит в том, что диагностические антитела L26 распознают не внеклеточный домен CD20, а цитоплазматическую углеводную

детерминанту антигена. Примеры практически полного отсутствия антигена на мембране, но четкой реакции с антителами L26 на срезах хорошо известны. Наиболее типичный из них – В-ХЛЛ. При ДВКЛ слабая экспрессия CD20 на мембране злокачественных клеток зарегистрирована. При диагностике таких редких вариантов ДВКЛ очень важно использовать несколько антител к В-клеточным антигенам, так как экспрессия CD20 может быть достаточно слабой или даже отсутствовать [1; 2].

Существуют два варианта отсутствия CD20-антигена на мембране клеток диффузной В-крупноклеточной лимфомы:

1. Отсутствие при диагностике.
2. Отсутствие, индуцируемое терапией анти-CD20 МКА (Мабтерой).

Второй вариант является более частым и может носить как обратимый характер, когда экспрессия антигена восстанавливается в сроки от 1 до 7 мес., так и быть необратимым в течение периода наблюдения [3–7]. В процессе терапии Мабтерой описана утрата CD20, которая явилась результатом делеции гена CD20 [9].

Первичные (*de novo*) CD20⁺ ДВКЛ встречаются, главным образом, у HIV⁺ больных, но могут иметь место и при HIV[–] статусе [10–11]. Наибольшая выборка (28 больных; 1,9% от всех изученных ДВКЛ) представлена китайскими исследователями [*ibid*]. CD20⁺ лимфомы имели ряд особенностей и характеризовались худшим прогнозом в сравнении с обычными CD20⁺ ДВКЛ. Важным параметром для прогноза ДВКЛ является оценка уровней мембранной экспрессии молекулы CD20 на злокачественных клетках [12].

Результаты

Имуногистохимический метод на криостатных срезах позволяет использовать различные типы антител к антигену CD20, включая антитела к мембранному экстрацеллюлярному домену этой молекулы. В числе таких антител – отечественные антитела LT20 (А.В. Филатов, «Сорбент», Россия). Следует отметить, что реакция антител LT20 в ряде случаев была слабой и невыразительной, не дающей оснований подтвердить В-клеточную природу лимфомы. При использовании антител L26 к цитоплазматической детерминанте антигена CD20 для подтверждения диагноза реакция во всех случаях была положительной. Сопоставление использования антител двух типов дано в табл. 1.

Таблица 1
Сопоставление двух антител к CD20 при диагностике ДВКЛ

МКА	Тип реакции	Реакция L26		Итого
		слабая	яркая	
LT-20	Отрицательная	1*	3	4
	Слабая	0	18	18
	Яркая	1	20	21
Итого		2	41	43

*Количество больных

В трех случаях отсутствия мембранного антигена и в 18 случаях слабой реакции с мембранным CD20 цитоплазматическая детерминанта L26 четко выявлялась и позволяла подтвердить диагноз. Эти данные подтверждают хорошо известное по-

ложение о том, что антитела L26 являются наилучшими для верификации В-клеточной природы крупноклеточных лимфом.

Но встает серьезный вопрос о том, насколько правомочно применять Ритуксимаб в этих случаях, ведь уровни мембранной экспрессии CD20 у данной категории больных крайне низкие или отрицательные. По-видимому, потребуются дополнительные исследования для оценки мембранной экспрессии антигена и соотношения полученных данных с чувствительностью ДВКЛ к Ритуксимабу.

Хорошо известно, что уровни мембранной экспрессии пан-В-клеточных (CD19) и пан-Т-клеточных (CD7) маркеров убывают по мере дифференцировки клеток от незрелых предшественников к эффекторным этапам периферических лимфоцитов.

ДВКЛ является периферической лимфомой, и мы оценили диагностическую значимость антител к CD19 (в сопоставлении с антителами L26) у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой. В основном, использование антител L26 было продиктовано необходимостью верификации диагноза в случаях отрицательной или слабой реакции опухолевых клеток с антителами к CD19 или мембранным CD20, табл. 2.

Таблица 2
Сопоставление антител к CD19 и CD20 (L26) в диагностике ДВКЛ

МКА	Тип реакции	Реакция CD20 (L26)		Итого
		Слабая	Яркая	
CD19	Отрицат.	1*	7	8
	Слабый	1	36	37
	Сильный	0	16	16
	Итого	2	59	61

*Количество больных

Во всех 45 случаях отрицательной или слабой реакции с антителами к CD19 В-клеточная природа опухоли была подтверждена на основании выявления экспрессии CD20 антителами L26. В данной выборке больных признаки (L26, CD19) не были взаимосвязаны, $p=0,26$.

При параллельном использовании антител к CD19 и CD20 (к мембранному домену) у 270 больных ДВКЛ выявлено высокое совпадение результатов ($p=0,000$), табл. 3.

Таблица 3
Параллельное использование антител CD19 и антител к мембранному домену CD20 в диагностике ДВКЛ

МКА	Тип реакции	Реакция CD20 (LT-20)			Итого
		отрицательная	слабая	сильная	
CD19	отрицательная	3*	2	1	6
	слабая	1	22	48	71
	сильная	0	0	193	193
	Итого	4	24	242	270

*Количество больных

У 193 из 270 больных (71,5%) выявлена выраженная экспрессия обоих антигенов. У 22 пациентов (8,1%) она была слабой и лишь в 3 случаях (1,1%).

Частота различных типов экспрессии CD19 и CD20 суммирована в табл. 4.

Таблица 4

Частота подтверждения В-клеточной природы ДВКЛ антителами к CD19 и CD20

Маркер	Тип реакции антител			Всего
	отрицательный	слабый	выраженный	
CD19	10 (3%)*	81 (24,6%)	238 (70%)	329 (100%)
CD20	4 (1,5%)	24 (8,8%)	244 (71,8%)	272 (100%)
CD20 (L26)	0	2 (2,9%)	67 (97,1%)	69 (100%)

*Количество больных (%)

Таким образом, в целом частота отрицательных и слабоположительных по CD20 случаев ДВКЛ невелика, составляет $\approx 10\%$. Однако именно эти случаи нуждаются в дополнительной верификации перед назначением Ритуксимаба. Как показали наши исследования, для подтверждения В-клеточной природы ДВКЛ и ее периферического происхождения очень полезны антитела к CD37.

Насколько экспрессия CD19 и CD20 соотносится с экспрессией CD45? Проанализируем. Экспрессия антигена CD19 высоко коррелирует с таковой CD45. В пределах CD45⁺ опухолей частота случаев отрицательных или слабоположительных по CD19 достоверно выше (77%), чем в группе CD45⁺ ДВКЛ (только 25%). Связь между этими признаками высоко достоверна ($\chi^2=16,4$; $p=0,000$).

Еще более высокая степень корреляции получена для мембранного антигена CD20. Частота случаев отрицательной или слабо положительной реакции на CD20 в пределах CD45⁺ ДВКЛ была в 7 раз выше, чем при CD45⁺ опухолях (50 и 8,2%, соответственно). Признаки достоверно взаимосвязаны ($\chi^2=22,2$; $p=0,000$).

Следовательно, уменьшение экспрессии мембранных молекул CD20 и CD19 на клетках ДВКЛ может являться следствием иммунологической анаплазии и чаще наблюдается в CD45⁺ опухолях. Как мы уже отмечали, зрело-В-клеточная природа во всех этих случаях была верифицирована на основании цитоплазматической экспрессии CD20 (L26).

При обсуждении иммунологического аспекта необходимо отметить следующее. Верификация ДВКЛ на основании крупного размера клеток, диффузного характера роста опухоли и экспрессии специфического маркера В-клеток CD20 (L26) стала рутинной практикой в диагностике ДВКЛ. В программы лечения широко вошел Ритуксимаб (протокол R-CHOP (Rituximab + CHOP), который позволил существенно улучшить результаты терапии. Для назначения данного препарата вполне достаточно верифицировать В-клеточную природу опухоли на основании экспрессии CD20 (L26) иммуногистохимически при окраске парафиновых срезов биопсийного материала опухоли. Наши исследования подтвердили, что наилучшим реагентом для

установления В-клеточной природы крупноклеточных лимфом, то есть для установления диагноза ДВКЛ, являются антитела L26.

Вместе с тем, важно помнить, что антитела L26 распознают внутрицитоплазматическую детерминанту CD20, а Ритуксимаб связывается с внеклеточной мембранной детерминантой. Может ли наблюдаться такая ситуация, когда антигенная детерминанта в цитоплазме присутствует, а мембранная экспрессия белка является слабой или даже отрицательной? Ответ на этот вопрос утвердительный – такая ситуация имеет место при такой периферической В-клеточной лимфоме как В-ХЛЛ. При ДВКЛ этот вопрос систематически не изучался. Единичные публикации свидетельствуют о том, что в редких случаях ДВКЛ экспрессия CD20 и CD19 на мембране опухолевых клеток может быть слабой или отсутствовать [1]. При проведении расширенного исследования CD19 (329 больных) и мембранного CD20 (272 больных) мы установили, что отсутствие мембранного антигена CD20 может наблюдаться в 1,5% случаев ДВКЛ (4 наблюдения). Наши данные практически полностью совпадают с данными китайских исследователей, которые установили, что частота CD20⁺ лимфом составляет 1,9%.

Показания к назначению Ритуксимаба у этой крайне редкой категории больных могут явиться предметом дальнейшего изучения. Важно то, что нами впервые показана необходимость оценки мембранного CD20 при ДВКЛ. Интересно отметить, что случаи отсутствия или слабой экспрессии CD19 и мембранного CD20 достоверно чаще встречаются при CD45⁺ ДВКЛ, что, по-видимому, является отражением их иммунологической анаплазии.

Практические выводы

1. Наилучшим реагентом при выявлении В-клеточной природы крупноклеточных лимфом, то есть, для установления диагноза ДВКЛ, являются антитела L26. Для установления диагноза ДВКЛ методом выбора является иммуногистохимическое окрашивание по парафиновым блокам.
2. Для установления мембранной экспрессии антигена с целью назначения Маботеры целесообразно использовать метод флуоресцентной иммуногистохимии по криостатным срезам или метод проточной цитофлуориметрии с использованием любых коммерческих антител к CD20 за исключением L26.
3. Возможность использования иммуногистохимического окрашивания по парафиновым блокам с использованием антител L26 с целью назначения препарата Ритуксимаб нуждается в дальнейшем изучении.

Литература

1. Bertram H.C., Check I.J., Milano A.M. Immunophenotyping large B-cell lymphomas. Flow cytometric pitfalls and pathologic correlations. //Am. J. Clin. Pathol. -2001. –V.116. – P.191–203.
2. Hoeller S, Tzankov A, Feichter G, Obermann E, Dirnhofner S. Analysis of CD20 alone could be misleading in lineage determination of B-cell lymphomas: a case of CD20 negative diffuse large B-cell lymphoma in abdominal effusion //Cytopathology. 2009 Aug;20(4):273-4.
3. Maeshima A.M., Taniguchi H., Fukuhara S., Morikawa N., Munakata W., Maruyama D., Kim S.W., Watanabe T., Kobayashi Y., Tobinai K., Tsuda H. Follow-up data of 10 patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma with a CD20-negative phenotypic change after rituximab-containing therapy //Am. J. Surg. Pathol. 2013 Apr;37(4):563-70.

4. Duman BB, Sahin B, Ergin M, Guvenç B. Loss of CD20 antigen expression after rituximab therapy of CD20 positive B cell lymphoma (diffuse large B cell extranodal marginal zone lymphoma combination): a case report and review of the literature//Med Oncol. 2012 Jun; 29(2): 1223-6.
5. Hiraga J, Tomita A, Sugimoto T, Shimada K, Ito M, Nakamura S, Kiyoi H, Kinoshita T, Naoe T. Down-regulation of CD20 expression in B-cell lymphoma cells after treatment with rituximab-containing combination chemotherapy: its prevalence and clinical significance//Blood. 2009 May 14;113(20): 4885-93.
6. Ferreri AJ, Dognini GP, Verona C, Patriarca C, Doglioni C, Ponzone M. Re-occurrence of the CD20 molecule expression subsequent to CD20-negative relapse in diffuse large B-cell lymphoma //Haematologica. 2007 Jan; 92(1): e1-2.
7. Iguchi T, Miyazawa K, Okabe S, Kawakubo K, Shimamoto T, Kuriyama Y, Ito Y, Kimura Y, Ohyashiki K, Serizawa H, Iwaya K, Mukai K. Relapse of diffuse large B cell lymphoma to CD20-negative multiple cutaneous tumors immediately after anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) therapy //Rinsho Ketsueki. 2004 Oct;45(10): 1129-34.
8. Venugopal P, Leslie WT, O'Brien T, Gregory SA. CD20-negative relapse after (131)I-anti-CD20 therapy //J Clin Oncol. 1999 Nov;17(11):3692-3.
9. Nakamaki T, Fukuchi K, Nakashima H, Ariizumi H, Maeda T, Saito B, Yanagisawa K, Tomoyasu S, Homma M, Shiozawa E, Yamochi-Onizuka T, Ota H.//Eur. J. Haematol. 2012 Oct;89(4):350-5.
10. Teruya-Feldstein J, Chiao E, Filippa DA, Lin O, Comenzo R, Coleman M, Portlock C, Noy A. CD20-negative large-cell lymphoma with plasmablastic features: a clinically heterogeneous spectrum in both HIV-positive and -negative patients //Ann Oncol. 2004 Nov;15(11): 1673-9.
11. Li Y.J, Li Z.M., Rao H.L., Xia Y., Huang H.Q., Xia Z.J., Li S., Li W.Y., Jiang W.Q.. CD20-negative de novo diffuse large B-cell lymphoma in HIV-negative patients: a matched case-control analysis in a single institution //J. Transl. Med. 2012 May 3;10: 84
12. Suzuki Y, Yoshida T, Wang G, Togano T, Miyamoto S, Miyazaki K, Iwabuchi K, Nakayama M, Horie R, Niitsu N, Sato Y, Nakamura N. Association of CD20 levels with clinicopathological parameters and its prognostic significance for patients with DLBCL //Ann Hematol. 2012 Jul;91(7): 997-1005.
13. Stein H., Warnke R.A., Chan W.C. et al. Diffuse large B-cell lymphoma not otherwise specified. In: WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (Swerdlow S.H., Campo E. Harris N.L. et al. -Eds). - WHO Press. -2008. -P.233-237

Е.Н.Шолохова, П.А.Зейналова, Е.А.Османов, Н.Н.Тупицын

II. ИММУНОФЕНОТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕДКИХ ВАРИАНТОВ ДИФFUЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

Резюме

Иммунофенотипирование опухолевой ткани 338 больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой позволило выделить особые варианты заболевания, встречавшиеся с различной частотой: HLA-DR⁺ – 9,3 % (32/331), CD45⁺ – 3,9% (13/332), CD38⁺ – 55,9 (184/329), CD21⁺ – 12,4 (33/266), CD23⁺ – 12% (39/326), CD10⁺ – 6,3% (15/238), CD30⁺ – 23,9% (21/88). Экспрессия ряда антигенов была взаимосвязана. Так, наличие на клетках ДВКЛ CD38 коррелировало с экспрессией рецепторов CD21 и CD23 (экспрессия этих двух антигенов также была достоверно взаимосвязана); в CD45⁺ группе отмечена высокая экспрессия Ki-1 антигена (CD30), а при CD21⁺ фенотипе антиген CD30 не встречался. Наибольшую связь с клетками микроокружения имели CD38⁺ фенотипы – в этих случаях отмечена более выраженная реакция макрофагов, плазмочитов, Т-лимфоцитов, присутствие в опухолевой ткани фолликулярных дендритных клеток (CD23⁺). Экспрессия маркеров светлых центров CD23 ассоциировалось с Т-клеточной реакцией, а CD10 – с макрофагальной. Для случаев CD30⁺ была нехарактерна плазмочелочная реакция, а для HLA-DR⁺ – Т-клеточная.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома, CD45, CD23, CD21, CD30, HLA-DR, CD10, CD38.

Е.Н.Шолохова, П.А.Зейналова, Е.А.Османов, Н.Н.Тупицын

II. IMMUNOPHENOTYPIC PECULIARITIES OF RARE VARIANTS OF DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

Summary

We have identified some specific variants of diffuse large B-cell lymphoma which take place with different frequency: HLA-DR⁺ – 9,3% (32/331), CD45⁺ – 3,9% (13/332), CD38⁺ – 55,9 (184/329), CD21⁺ – 12,4 (33/266), CD23⁺ – 12% (39/326), CD10⁺ – 6,3% (15/238), CD30⁺ – 23,9% (21/88). CD38⁺ variant correlated with expression of CD21 and CD23 (correlation between CD21 and CD23 was also noted); CD45⁺ DBCL was characterized of high frequency of CD30-expression, and in CD21⁺ phenotype CD30 antigen was absent. In CD38-phenotype most of tumor microenvironment cells were prominent: macrophages, plasmacytes, T-lymphocytes, CD23⁺ follicular dendritic cells. Follicular center cell markers CD23 were associated with T-cell reaction, and CD10 – with macrophage infiltration. Prominent plasma cell reaction was not characteristic for CD30⁺ cases, and T-cell reaction – for HLA-DR⁺ cases.

Key words: diffuse large B-cell lymphoma, CD45, CD23, CD21, CD30, HLA-DR, CD10, CD38

Введение

ДВКЛ является достаточно гетерогенным заболеванием. В основе диагностики редких вариантов лежит установление В-линейной принадлежности и

периферического иммунофенотипа опухоли. Чаще всего для этих целей используется маркер CD20. Наибольшую популярность и клиническую значимость получила оценка профилей GEP, позволившая выделить варианты ДВКЛ из клеток типа GCB и из

ABC пост-герминальных этапов дифференцировки [1]. Применение так называемых суррогатных иммуногистохимических маркеров явилось менее надежным и информативным, чем GEP, и не рекомендовано к клиническому использованию [2].

Клетка диффузной В-крупноклеточной лимфомы имеет своим нормальным неопухолевым аналогом периферический активированный В-лимфоцит и характеризуется всем многообразием дифференцировочных и активационных антигенов, присущих этой клетке. В их числе – молекулы активации, экспрессируемые на клетках светлых центров – CD23, CD10, CD38. При продолжающейся антигенной стимуляции centroциты способны трансформироваться во вторичные В-бласты, экспрессирующие молекулу CD30 [4]. Определенную гетерогенность ДВКЛ приносят экспрессия CR2 (CD21), а также нелинейных антигенов CD45 и HLA-DR.

В литературе есть сообщения, свидетельствующие о важности изучения активационных антигенов [5] и, в частности, показано, что экспрессия CD23 на клетках ДВКЛ [6].

Утрата молекул HLA-DR при В-клеточных лимфомах известна давно и считается признаком аберрантности и анаплазии [7-11].

Отсутствие CD45 при ДВКЛ наблюдается чаще при экстранодальной локализации опухоли [12-15]. Как правило, эти случаи характеризовались признаками анаплазии с экспрессией цитокератинов или ALK.

CD38⁺-иммунофенотип является достаточно частым при ДВКЛ, в том числе – в случаях сочетания транслокации t(14;18) и реаранжировки 8q24/cMYC [16]. В последние годы интерес к экспрессии CD38 при лимфомах обусловлен еще и тем, что получены лечебные моноклональные антитела Даратумаб против антигена CD38, которые способны вызывать гибель CD38⁺ опухолевых клеток [17].

Экспрессия CD30 при ДВКЛ хорошо известна. В последние годы они более детально изучаются в связи с получением лечебных препаратов Брентуксимаба Ведотина, против антигена CD30 [18].

Мы рассмотрели различные варианты ДВКЛ с детальной иммунофенотипической характеристикой и субпопуляционным составом клеток микроокружения.

Результаты

Молекулы

гистосовместимости II класса – HLA-DR

Частота экспрессии HLA-DR при ДВКЛ составила 90,7% (299 из 331). К отрицательным случаям относили только те наблюдения, где молекула HLA-DR отсутствовала на всех или значительной части опухолевых клеток, случаи со слабой интенсивностью экспрессии относили к позитивным.

Какая-либо связь экспрессии HLA-DR с другими иммунофенотипическими маркерами отсутствовала (табл. 1).

Таблица 1

Взаимосвязь экспрессии HLA-DR с другими иммунофенотипическими признаками ДВКЛ

Показатель	Градации	Экспрессия HLA-DR		X ² ; P
		+	–	
CD45	Отсутствует	10 (3,4)	3 (9,4)	2,7; 0,12
	Присутствует	286 (96,6)	29 (90,6)	
CD21	отсутствует	207 (87,3)	25 (92,6)	0,6; 0,72
	Часть клеток	17 (7,2)	1 (3,7)	
	Все клетки	13 (5,5)	1 (3,7)	
CD23	отсутствует	257 (88,3)	27 (84,4)	3,2; 0,2
	Часть клеток	23 (7,9)	5 (15,6)	
	Все клетки	11 (3,8)	0 (0)	
CD38	отсутствует	126 (42,9)	16 (50,0)	0,6; 0,44
	присутствует	168 (57,1)	16 (50,0)	
CD10	отсутствует	197 (93,8)	25 (92,6)	0,17; 0,93
	Часть клеток	8 (3,8)	1 (3,7)	
	Все клетки	5 (2,4)	1 (3,7)	
CD30	отсутствует	53 (74,6)	12 (80,0)	0,2; 0,91
	Часть клеток	12 (16,9)	2 (13,3)	
	Все клетки	6 (8,5)	1 (6,7)	

Утрата экспрессии HLA-DR находит отражение в количественном составе клеток опухолевого микроокружения. Достоверные данные получены в отношении Т-лимфоцитов – мы не наблюдали ни одного случая выраженной Т-клеточной реакции при HLA-DR⁺ иммунофенотипе ДВКЛ, в то время как в случаях наличия HLA-DR на опухолевых клетках частота выраженной Т-лимфоцитарной инфильтрации была на уровне 10-11% (табл. 2).

Экспрессия АДФ-рибозил-циклазы (CD38) на опухолевых клетках ДВКЛ

Частота экспрессии CD38 составила 56% (184 из 329) – в 70 случаях (21,2%) отмечена экспрессия на части клеток, в 114 (34,7%) – на всех клетках. Взаимосвязь экспрессии молекул CD38 на опухолевых клетках ДВКЛ наблюдается с активационными АГ CD21 и CD23: в CD38⁺ группе частота данных маркеров вдвое выше, табл. 3.

Экспрессия CD38 на клетках ДВКЛ находит отражение в количественном составе клеток опухо-

левого микроокружения. Достоверные данные получены в отношении Т-лимфоцитов, макрофагов, плазмочитов, фолликулярных дендритных клеток CD23⁺. Все это свидетельствует об особых иммунобиологических свойствах CD38⁺ диффузных В-крупноклеточных лимфом, табл. 4.

Общелейкоцитарный антиген CD45

При исследовании 332 случаев ДВКЛ отсутствие общелейкоцитарного антигена отмечено лишь в 13 (3,9%) случаях.

Достоверные связи обнаружены с экспрессией CD30: в CD45⁺ группе частота экспрессии антигена составила 55,6%, в то время как в основной группе ДВКЛ – 20,5%, что в 2,5 раза ниже, табл. 5.

Представленные в табл. 6 данные убедительно свидетельствуют об отсутствии какой-либо связи клеток опухолевого микроокружения с CD45⁺ иммунофенотипом ДВКЛ.

Таблица 2

Взаимосвязь экспрессии HLA-DR с клетками опухолевого микроокружения

Показатель	Градации	Экспрессия HLA-DR		X ² ; P
		+	-	
Макрофаги D11 (CD163)	отсутствуют	59 (20,3)	2 (6,3)	3,7; 0,098
	умеренное кол-во	181 (62,2)	23 (71,9)	
	многочисленные	50 (17,5)	7 (21,9)	
Фолликулярные дендритные клетки (CD21)	отсутствуют	190 (80,2)	25 (92,6)	3,7; 0,12
	умеренное кол-во	40 (16,9)	1 (3,7)	
	многочисленные	7 (3,0)	1 (3,7)	
Фолликулярные дендритные клетки CD23	отсутствуют	257 (88,3)	27 (84,4)	3,2 (0,2)
	умеренное кол-во	23 (7,9)	5 (15,6)	
	многочисленные	11 (3,8)	0 (0)	
CD5	отсутствуют	88 (29,6)	13 (40,6)	4,7; 0,02
	умеренное кол-во	176 (59,3)	19 (59,4)	
	многочисленные	33 (11,1)	0 (0)	
CD7	отсутствуют	90 (30,2)	12 (37,5)	4,0; 0,029
	умеренное кол-во	176 (59,1)	20 (62,5)	
	многочисленные	32 (10,7)	0 (0)	
CD3	отсутствуют	71 (33,6)	12 (44,4)	3,6; 0,049
	умеренное кол-во	118 (55,9)	15 (55,6)	
	многочисленные	22 (10,4)	0 (0)	
Плазмоциты CD38 ⁺⁺	отсутствуют	191 (65,0)	19 (59,4)	2,8 (0,24)
	умеренное кол-во	76 (25,9)	12 (37,5)	
	многочисленные	27 (9,2)	1 (3,1)	

Таблица 3

Взаимосвязь экспрессии CD38 с другими иммунофенотипическими маркерами ДВКЛ

Показатель	Градации	Экспрессия HLA-DR		X ² ; P
		+	-	
CD45	Отсутствует	4 (2,2)	9 (6,2)	3,4; 0,065
	Присутствует	178 (97,8)	136 (93,8)	
CD21	отсутствует	105 (92,1)	127 (84,7)	3,4; 0,048
	присутствует	9 (7,9)	23 (15,3)	
CD23	отсутствует	132 (91,7)	153 (85,0)	3,4; 0,047
	присутствует	12 (8,3)	27 (15,0)	
CD10	отсутствует	93 (93,0)	129 (94,2)	0,72
	присутствует	7 (7,0)	8 (5,8)	
CD30	отсутствует	24 (70,6)	40 (78,4)	0,41
	присутствует	10 (29,4)	11 (21,6)	

Таблица 4

Взаимосвязь CD38⁺ иммунофенотипа ДВКЛ с клетками опухолевого микроокружения.

Показатель	Градации	Экспрессия HLA-DR		X ² ; P
		+	-	
Макрофаги D11 (CD163)	отсутствуют	37 (26,4)	25 (13,8)	19,1; 0,000
	умеренное кол-во	91 (65,0)	110 (60,8)	
	многочисленные	12 (8,6)	46 (25,4)	
Фолликулярные дендритные клетки (CD21)	отсутствуют	99 (86,8)	116 (77,3)	4,0; 0,14
	умеренное кол-во	13 (11,4)	28 (18,7)	
	многочисленные	2 (1,8)	6 (4,0)	
Фолликулярные дендритные клетки CD23	отсутствуют	137 (95,1)	151 (84,4)	10,6; 0,006
	умеренное кол-во	7 (4,9)	25 (14,0)	
	многочисленные	0 (0)	3 (1,7)	
CD5	отсутствуют	64 (44,4)	38 (20,7)	22,1; 0,000
	умеренное кол-во	71 (49,3)	123 (66,8)	
	многочисленные	9 (6,3)	23 (12,5)	
CD7	отсутствуют	65 (44,8)	38 (20,7)	24,4; 0,000
	умеренное кол-во	73 (50,3)	122 (66,3)	
	многочисленные	7 (4,8)	24 (13,0)	
CD3	отсутствуют	51 (51,0)	33 (23,9)	20,3; 0,000
	умеренное кол-во	45 (45,0)	88 (63,8)	
	многочисленные	4 (4,0)	17 (12,3)	
Плазматические клетки CD38 ⁺⁺	отсутствуют	77 (53,1)	33 (23,9)	20,3; 0,000
	умеренное кол-во	55 (37,9)	88 (63,8)	
	многочисленные	13 (9,0)	17 (12,3)	

Таблица 5

Связь экспрессии CD45 с другими иммунофенотипическими маркерами ДВКЛ

Показатель	Градации	Экспрессия CD45		X ² ; P
		–	+	
CD21	отсутствует	11 (91,7)	222 (87,4)	0,19; 0,7
	присутствует	1 (8,3)	32 (12,6)	
CD23	отсутствует	11 (84,6)	275 (88,4)	0,18; 0,7
	присутствует	2 (15,4)	36 (11,6)	
CD10	отсутствует	13 (100)	210 (93,3)	0,9 (0,33)
	присутствует	0	15 (6,7)	
CD30	отсутствует	4 (44,4)	62 (79,5)	5,4; 0,02
	присутствует	5 (55,6)	16 (20,5)	

Таблица 6

Связь CD45-иммунофенотипа с реакцией клеток микроокружения при ДВКЛ

Показатель	Градации	Экспрессия CD45		X ² ; P
		–	+	
Макрофаги D11 (CD163)	отсутствуют	3 (23,1)	59 (19,0)	0,98; 0,6
	умеренное кол-во	9 (69,2)	195 (62,7)	
	многочисленные	1 (7,7)	57 (18,3)	
Фолликулярные дендритные клетки (CD21)	отсутствуют	10 (83,3)	207 (81,5)	0,4; 0,8
	умеренное кол-во	2 (16,7)	39 (15,4)	
	многочисленные	0 (0)	8 (3,1)	
Фолликулярные дендритные клетки CD23	отсутствуют	12 (92,3)	277 (89,1)	0,21; 0,9
	умеренное кол-во	1 (7,7)	31 (10,0)	
	многочисленные	0 (0)	3 (1,0)	
CD5	отсутствуют	6 (46,2)	98 (30,9)	2,3; 0,31
	умеренное кол-во	7 (53,8)	186 (58,7)	
	многочисленные	0 (0)	33 (10,4)	
CD7	отсутствуют	6 (46,2)	99 (31,1)	2,2; 0,33
	умеренное кол-во	7 (53,8)	187 (58,8)	
	многочисленные	0 (0)	32 (10,1)	
CD3	отсутствуют	6 (46,2)	78 (34,7)	1,7; 0,4
	умеренное кол-во	7 (53,8)	125 (55,6)	
	многочисленные	0 (0)	22 (9,8)	
Плазматические клетки CD38 ⁺⁺	отсутствуют	6 (46,2)	205 (65,3)	2,6; 0,28
	умеренное кол-во	6 (46,2)	82 (26,1)	
	многочисленные	1 (7,7)	27 (8,6)	

Экспрессия CR2-рецептора комплемента (CD21) на клетках ДВКЛ

Частота экспрессии CD21 при ДВКЛ составила 12,4% (33 из 266) – в 18 случаях (7%) отмечена экспрессия на части опухолевых клеток, в 15 случаях (5,6%) – на всех клетках опухоли.

Отсутствие корреляции с HLA-DR и CD45, а также наличие корреляции с CD38 отмечены в соответствующих разделах. Связь экспрессии молекул CD21 на опухолевых клетках ДВКЛ наблюдается только с активационными антигенами CD23. Обращает на себя внимание факт отсутствия CD30 в случаях экспрессии CD21, эти маркеры могут являться взаимоисключающими, однако, для подтверждения этого факта потребуется накопление большего числа наблюдений; в анализируемой выборке связь недостоверна ($p=0,098$), табл. 7.

Представленные в табл. 8 данные свидетельствуют, что экспрессия CD21 на клетках ДВКЛ не связана с количественным составом клеток опухолевого микроокружения.

Экспрессия низкоаффинного Fc рецептора II для IgE (FcεRII) – CD23

Частота экспрессии CD23 при ДВКЛ составила 12,0% (39 из 326), в том числе в 28 случаях (8,6%) отмечена экспрессия на части клеток, в 11 – (3,4%) на всех клетках.

Как было показано ранее, отсутствовала корреляция с HLA-DR и CD45, а также имела место взаимосвязь с CD38 и CD21. Связь с CD10 и CD30 отсутствовала, табл. 9.

Таблица 7

Взаимосвязь экспрессии CD23 с иммунофенотипическими маркерами ДВКЛ

Показатель	Градации	Экспрессия CD21		X ² ; P
		–	+	
CD23	отсутствует	210 (90,5)	21 (70,0)	10,7; 0,001
	присутствует	22 (9,5)	9 (30,0)	
CD10	отсутствует	174 (94,6)	21 (91,3)	0,4; 0,5
	присутствует	10 (5,4)	2 (8,7)	
CD30	отсутствует	40 (67,8)	6 (100)	2,7; 0,098
	присутствует	19 (32,2)	0	

Таблица 8

Взаимосвязь между экспрессией CD21 на клетках ДВКЛ и клетками микроокружения

Показатель	Градации	Экспрессия CD21		X ² , P
		-	+	
Макрофаги D11 (CD163)	отсутствуют	42 (18,7)	8 (24,2)	0,9; 0,65
	умеренное кол-во	141 (62,7)	18 (54,5)	
	многочисленные	42 (18,7)	7 (21,2)	
Фолликулярные дендритные клетки (CD21)	отсутствуют	190 (81,5)	27 (81,8)	1,4; 0,49
	умеренное кол-во	37 (15,9)	4 (12,1)	
	многочисленные	6 (2,6)	2 (6,1)	
Фолликулярные дендритные клетки CD23	отсутствуют	208 (89,7)	27 (90)	1,6; 0,44
	умеренное кол-во	22 (9,5)	2 (6,7)	
	многочисленные	2 (0,9)	1 (3,3)	
CD5	отсутствуют	76 (32,8)	12 (36,4)	2,4; 0,3
	умеренное кол-во	132 (56,9)	15 (45,5)	
	многочисленные	24 (10,3)	6 (18,2)	
CD7	отсутствуют	77 (33)	12 (36,4)	2,6; 0,27
	умеренное кол-во	133 (57,1)	15 (45,5)	
	многочисленные	23 (9,9)	8 (18,2)	
CD3	отсутствуют	67 (36,8)	8 (33,3)	1,5; 0,47
	умеренное кол-во	99 (54,4)	12 (50,0)	
	многочисленные	16 (8,8)	4 (16,7)	
Плазматические клетки CD38 ⁺⁺	отсутствуют	143 (61,6)	25 (78,1)	3,6; 0,17
	умеренное кол-во	66 (28,4)	6 (18,8)	
	многочисленные	23 (9,9)	1 (3,1)	

Таблица 9

Взаимосвязь экспрессии CD23 с экспрессией CD10 и CD30

Показатель	Градации	Экспрессия CD23		X ² , P
		-	+	
CD10	отсутствует	192 (94,6)	28 (87,5)	2,3; 0,12
	присутствует	11 (5,4)	4 (12,5)	
CD30	отсутствует	61 (77,2)	4 (57,1)	1,4; 0,24
	присутствует	18 (22,8)	3 (42,9)	

Таблица 10

Связь экспрессии CD23 на клетках ДВКЛ с клетками микроокружения

Показатель	Градации	Экспрессия CD23		X ² , P
		-	+	
Макрофаги D11 (CD163)	отсутствуют	56 (20,0)	6 (15,8)	0,5; 0,78
	умеренное кол-во	174 (62,1)	24 (63,2)	
	многочисленные	50 (17,9)	8 (21,1)	
Фолликулярные дендритные клетки (CD21)	отсутствуют	192 (83,1)	22 (71,0)	3,1; 0,22
	умеренное кол-во	32 (13,9)	8 (25,8)	
	многочисленные	7 (3,0)	1 (3,2)	
Фолликулярные дендритные клетки CD23	отсутствуют	254 (88,5)	35 (92,1)	2,4; 0,3
	умеренное кол-во	31 (10,8)	2 (5,3)	
	многочисленные	2 (0,7)	1 (2,6)	
CD5	отсутствуют	93 (32,5)	8 (24,2)	3,0; 0,22
	умеренное кол-во	166 (58,0)	25 (57,6)	
	многочисленные	27 (9,5)	6 (15,4)	
CD7	отсутствуют	94 (32,8)	8 (20,5)	3,2; 0,2
	умеренное кол-во	167 (58,2)	25 (64,1)	
	многочисленные	26 (9,1)	6 (15,1)	
CD3	отсутствуют	74 (36,5)	8 (24,2)	4,5; 0,11 (0,051)
	умеренное кол-во	113 (55,7)	19 (57,6)	
	многочисленные	16 (7,9)	6 (18,2)	
Плазматические клетки CD38 ⁺⁺	отсутствуют	184 (64,6)	24 (61,5)	1,2; 0,56
	умеренное кол-во	76 (26,7)	13 (33,3)	
	многочисленные	25 (8,8)	2 (5,1)	

Экспрессия CD23 на клетках ДВКЛ связана с количественным составом Т-клеток опухолевого микроокружения. При использовании Т-клеточных маркеров CD7 и CD5 частота выраженной реакции Т-клеток в CD23⁺ группе в 1,5 раза выше, чем в случаях отсутствия CD23 на опухолевых клетках.

При использовании специфического маркера Т-клеток CD3 частота выраженных реакций в 2,5 раза выше в CD23⁺ группе, и при применении теста оценки линейно-линейной связи уровень достоверности $p=0,051$, то есть, взаимосвязь между признаками близка к достоверной, табл. 10.

Разница в данных между CD3, CD5 CD7 может быть обусловлена тем, что CD7 помимо Т-клеток присутствует на NK-клетках, а CD5 – на некоторых В-клетках. Следовательно, CD23⁺ группа ДВКЛ взаимосвязана с уровнями зрело-Т-клеточного микроокружения.

Нейтральная эндопептидаза (CD10)

Частота экспрессии CD10 при ДВКЛ составила 6,3% (15 из 238) – в 9 случаях (3,8%) отмечена экспрессия на части клеток, в 6 (2,5%) – на всех. Интерес к этому антигену обусловлен тем, что в иммуногистохимии он используется как один из маркеров GCB-типа ДВКЛ. В числе иммунофенотипических маркеров клеток ДВКЛ оценены обще-

лейкоцитарный антиген HLA-DR, CD45, CD21, FcεII (CD23), CD38, CD30. Отсутствие корреляции с HLA-DR и CD45, CD38, CD21, CD23 рассмотрено выше. Оценить связь между CD10 и CD30 не удалось, так как все 69 больных, у которых были изучены оба антигена, относились к CD10⁺ группе.

Экспрессия CD10 на клетках ДВКЛ не связана с количественным составом клеток опухолевого микроокружения.

Исключением являются интратуморальные макрофаги, выраженная реакция которых в CD10⁺-случаях наблюдается у 33,3% больных (в 1,5 раза выше, чем в группе сравнения), что при оценке по ряду тестов является достоверным ($p=0,033$), табл. 11.

Таблица 11

Взаимосвязь экспрессии CD10 на опухолевых клетках с клетками микроокружения

Показатель	Градация	Экспрессия CD10		X ² , P
		–	+	
Макрофаги D11 (CD163)	Отсутствуют	43 (19,7)	0	4,2; 0,12 (0,033)
	умеренное кол-во	131 (60,1)	10 (66,7)	
	Многочисленные	44 (20,2)	5 (33,3)	
Фолликулярные дендритные клетки (CD21)	Отсутствуют	157 (80,5)	10 (83,3)	1,4; 0,5
	умеренное кол-во	32 (16,4)	1 (8,3)	
	Многочисленные	6 (3,1)	1 (8,3)	
Фолликулярные дендритные клетки CD23	Отсутствуют	194 (88,2)	14 (93,3)	0,4; 0,8
	умеренное кол-во	23 (10,5)	1 (6,7)	
	Многочисленные	3 (1,4)	0	
CD3	Отсутствуют	76 (36,5)	4 (30,8)	0,6; 0,7
	умеренное кол-во	113 (54,3)	7 (53,8)	
	Многочисленные	19 (9,1)	2 (15,4)	
Плазматические клетки CD38 ⁺⁺	Отсутствуют	140 (63,1)	8 (53,3)	0,6; 0,7
	умеренное кол-во	62 (27,9)	5 (33,3)	
	Многочисленные	20 (9)	2 (13,3)	

Таблица 12

Взаимосвязь экспрессии CD30 на клетках ДВКЛ с клетками микроокружения

Показатель	Градация	Экспрессия CD30		X ² , P
		–	+	
Макрофаги D11 (CD163)	отсутствуют	12 (18,2)	1 (4,8)	2,3; 0,3
	умеренное кол-во	40 (60,6)	15 (71,4)	
	многочисленные	14 (21,4)	5 (23,8)	
Фолликулярные дендритные клетки (CD21)	отсутствуют	38 (82,6)	14 (73,7)	2,4; 0,3
	умеренное кол-во	6 (13)	5 (26,3)	
	многочисленные	2 (4,4)	0	
Фолликулярные дендритные клетки CD23	отсутствуют	58 (89,2)	18 (85,7)	0,2; 0,7
	умеренное кол-во	7 (10,8)	3 (14,3)	
CD3	отсутствуют	11 (22,4)	6 (28,6)	1,3; 0,5
	умеренное кол-во	28 (57,1)	13 (61,9)	
	многочисленные	10 (20,4)	2 (9,5)	
Плазматические клетки CD38 ⁺⁺	отсутствуют	42 (65,6)	10 (47,6)	6,4; 0,04
	умеренное кол-во	13 (20,3)	10 (47,6)	
	многочисленные	9 (14,5)	1 (4,8)	

Ki-1 антиген (CD30)

Частота экспрессии CD30 при ДВКЛ составила 23,9% (21 из 88) – в 14 случаях (15,9%) отмечена экспрессия на части клеток, в 7 (8,0%) – на всех клетках.

В числе иммунофенотипических маркеров клеток ДВКЛ нами оценены общелейкоцитарный антиген HLA-DR, CD45, FcεII (CD23), CD10, CD38. Явных взаимосвязей с экспрессией каких-либо антигенов не выявлено, что рассмотрено в предыдущих разделах. Экспрессия CD30 на клетках ДВКЛ связана только с количеством инфильтрирующих

опухоль плазмочитов – выраженная реакция этих клеток нехарактерна для CD30⁺ ДВКЛ, табл. 12.

Обсуждение

В нашей работе определены частоты встречаемости ряда особых, обычно не изучаемых стандартной иммуногистохимией по парафиновым блокам, вариантов ДВКЛ. При проведении исследования по криостатным срезам представленные в работе антигены легко визуализируются. Частота HLA-DR⁺ опухолей составила в нашем исследовании

9,3% (32 из 331 случая ДВКЛ). Это вполне сопоставимо с данными других исследователей. Так [6] при исследовании 104 случаев установили 8 HLA-DR⁺ (7,7%). Подобные находки неудивительны, поскольку экспрессия HLA-DR отмечена на всех стадиях дифференцировки В-лимфоцитов от про-В-клетки до зрелого В-лимфоцита. Утрата этой молекулы наблюдается на плазматических клетках и при некоторых В-клеточных опухолях. Экспрессия HLA-DR не имела связи ни с одним из изученных нами маркеров, включая CD38, что служит дополнительным подтверждением отсутствия плазмоклеточной направленности дифференцировки в HLA-DR-негативных случаях.

Крайне редко встречаются CD45⁺ опухоли. В нашей работе их частота составила 3,9% (13 из 332 случаев). Обычно ДВКЛ характеризуются отчетливой экспрессией этого общелейкоцитарного антигена. Он может отсутствовать на анапластических крупноклеточных лимфомах и лимфомах из клеток-предшественниц. При ДВКЛ отсутствие антигена может быть иммунологическим признаком анаплазии, что в нашей работе подтверждено высокой частотой антигена CD30 в CD45⁺ случаях.

CR2-антиген (рецептор комплемента) в нормальных лимфатических узлах экспрессирован на клетках фолликулов и фолликулярных дендритных клетках. Согласно номенклатуре лейкоцитарных антигенов он носит название CD21. Частота выявления данного антигена при ДВКЛ составила 12,4% (33 из 266 больных). Примерно с такой же частотой (12%; 39 из 326) выявлялся маркер CD23⁺. Это низкоаффинный Fc-рецептор II для IgE (FcεRII), который в нормальных лимфатических узлах экспрессирован на клетках светлых центров фолликулов, активированных В-клетках, фолликулов и фолликулярных дендритных клетках. По данным литературы этот маркер обнаруживают в 16% случаев ДВКЛ [5]. Интересно отметить, что маркеры, ассоциированные с клетками светлых центров, коррелировали между собой, хотя и встречались с различной частотой. Так, CD38 выявлялся более, чем в половине случаев – 56% (184 из 329). Особняком стоит нейтральная эндопептидаза (CD10), которая в нормальных лимфатических узлах экспрессирована

на клетках светлых центров фолликулов, частота этих случаев составила 6,3% (15 из 238). В последнее время в связи с попытками классифицировать GCB- и ABC-типы частота случаев ДВКЛ с экспрессией данного антигена явно завышается. Вместе с тем, хорошо известно, что CD10 наблюдается при лимфомах из клеток-предшественниц, лимфоме Беркитта и фолликулярных лимфомах, а случаи CD10⁺ ДВКЛ являются редкими.

В нашем исследовании антиген Ki-1 или CD30 обнаружен в 23,9% случаев (21 из 88), что точно совпадает с данными самых последних публикаций – 25% [18]. Этот антиген особенно часто наблюдался при CD45⁺ ДВКЛ, но никогда не встречался при CD21⁺ ДВКЛ.

В литературе описаны ассоциации отсутствия HLA-DR на клетках ДВКЛ с ослаблением интратуморальной инфильтрации Т-лимфоцитами [11]. Этот факт подтвержден и в нашем исследовании. Убедительной связи других маркеров с уровнями интратуморальных клеток микроокружения в литературе не представлено.

На большом материале (338 случаев ДВКЛ) установлены новые взаимосвязи иммунофенотипа ДВКЛ с клетками микроокружения: ассоциация CD23⁺ случаев с выраженностью Т-клеточной реакции, а CD10⁺ – с макрофагальной реакцией. Для CD30⁺ иммунофенотипа нехарактерна инфильтрация опухоли плазмócитами.

Наиболее интересным с точки зрения клеток микроокружения оказался CD38⁺ вариант ДВКЛ. Экспрессия CD38 ассоциировалась с большей выраженности реакции практически всех клеток микроокружения – макрофагов, Т-лимфоцитов, плазматических клеток, а также присутствием CD23⁺ фолликулярных дендритных клеток.

Следовательно, представленные данные указывают на существование целого ряда взаимосвязей между иммунофенотипическими маркерами ДВКЛ. Вывод относится также к клеткам микроокружения. Это может иметь важное значение в разработке программ иммунотерапии, а также способствовать правильному назначению лечебных моноклональных антител к активационным антигенам клеток ДВКЛ.

Литература

1. Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E. et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene-expression profiling. //Nature. -2000. -V.403 - P. 503-11.
2. Ghelmini M., Vitolo U., Kimbyz E. et al. ESMO Guidelines consensus conference on malignant lymphoma 2011 part 1: diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), follicular lymphoma (FL) and chronic lymphocytic leukemia (CLL). //Annals of Oncology. - 2013. -V.24. - P: 561-76.
3. Rimza L.M., Roberts R.A., Miller T.P. et al. Loss of MHC class II gene and protein expression in diffuse large B-cell lymphoma is related to decreased tumor immunosurveillance and poor patient survival regardless of other prognostic factors: a follow up study from the Leukemia and lymphoma molecular profiling project. //Blood. - 2004. -V. 103. - P. 4251-8.
4. Andre-Schwartz J. et al. In: Hematology (Second Edition). Basic principles and practice. (Eds. Hoffman R. et al.), 1995, pp. 86-108. Churchill Livingstone, N.-Y.
5. Linderoth J., Jerkeman M., Cavalin-Stahl E. et al. Immunohistochemical expression of CD23 and CD40 may identify prognostically favourable subgroup of diffuse large B-cell lymphoma: A Nordic lymphoma group study.//Clinical Cancer Research. - 2003. - V.9. - P. 722-8.
6. Schuurman H.J., Hupples W., Verdonck L.F. et al. Immunophenotyping of non-Hodgkin's lymphoma. Correlation with relapse-free survival.//Am.J.Pathol. - 1988. - V. 131. - P.102-11.
7. Berndt H.-W., Ziepert M., Thorns C. et al. Loss of HLA-DR expression and immunoblastic morphology predict adverse outcome in diffuse large B-cell lymphoma – analyses of cases from two prospective randomized clinical trials. //Haematologica. - 2009. - V.94, №11. - P.1569-80
8. Miller T.P., Lippman S.M., Spier C.M. et al. HLA-DR (Ia) immune phenotype predicts outcome for patients with diffuse large cell lymphoma.//J. Clin. Invest. - 1988. - V.82. - P.370-2.
9. Rybski J.A., Spier C.M., Miller T.P. et al. Prediction of outcome in diffuse large cell lymphoma by the mayor histocompatibility complex class I (HLA-A,-B, -C) and class II (HLA-DR, -DP, -DQ) pheno-

- type. //Leuk. Lymphoma. – 1991. – V.6. – P.31–8.
10. *Rimsza L.M., Roberts R.A., Miller T.P. et al.* Loss of MHC class II gene and protein expression in diffuse large B-cell lymphoma is related to decreased tumor immunosurveillance and poor patient survival regardless of other prognostic factors: a follow-up study from the Leukemia and Lymphoma Molecular Profiling Project. //Blood. – 2004. – V.103. – P.4251–8.
 11. *Rimsza L.M., Farinha P., Fuchs D.A. et al.* HLA-DR protein status predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated on the MACOP-B chemotherapy regimen. //Leuk. Lymphoma. – 2007. – V.48. – 542–6.
 12. *Lasota J., Hyjek E., Koo S.H. et al.* Cytokeratin-positive large-cell lymphomas of B-cell lineage. A study of five phenotypically unusual cases verified by polymerase chain reaction. //Am.J.Surg. Pathol. – 1996. – V.20. – P.346–54.
 13. *Donner L.R., Mott F.E., Tafur I.* Cytokeratin-positive, Cd45-negative primary centroblastic lymphoma of the adrenal gland. A potential for the diagnostic pitfall. //Arch. Pathol. Lab. Med. – 2001. – V. 125. – P. 1104–6.
 14. *Inaba T., Nishimura H., Saito J. et al.* A case of CD45-negative diffuse large B-cell lymphoma in thyroid gland. //Lab. Hem. – 2008. – V.14. – P.12–4.
 15. *Nath P., Bhattacharya S., Bharadwaj R.* ALK-positive diffuse large B-cell lymphoma – unusual subtype of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). //Lymphoma Chronic lymphocytic leuk. – 2010. – V.2. – P. 1–5.
 16. *Le Gouill S., Talmant P., Touzeau C. et al.* The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/cMYC rearrangement. //Haematologica. – 2007. – V.92. – P. 1335–42.
 17. *De Weers M., Tai Y.-T., van der Veer M.S. et al.* Daratumumab, a novel therapeutic Human CD38 monoclonal antibody, induces killing of multiple myeloma and other haematological tumors. //J.Immunol. – 2011. – V. 186. – P. 1840–8.
 18. *Slack J.W., Steidl C., Sehn L.N., Gascone R.D.* CD30 expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma: a population based study from British Columbia. //Br. J. Haematol. – 2014, Aug. 19. Doi:10.1111/bjh.13085.

III. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КЛЕТОК ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ ПРИ ДИФФУЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

Резюме

Проанализировано клиническое значение выраженности макрофагальной (CD163⁺), плазмноклеточной (CD38⁺⁺), Т-клеточной (CD7, CD3, CD5) инфильтрации опухолевой ткани ДВКЛ и наличие в опухолевой ткани фолликулярных дендритических клеток двух субпопуляций (CD21, CD23). При ДВКЛ с наличием выраженной макрофагальной реакции отмечены более низкие уровни ЛДГ и более старший возраст больных. Отсутствовала взаимосвязь с клинико-лабораторными показателями выраженности плазмноклеточной инфильтрации ткани ДВКЛ, а также наличия в опухолевых срезах фолликулярных дендритических клеток (CD21, CD23). При ДВКЛ с Т-клеточной инфильтрацией значительно реже наблюдались экстранодальные локализации ДВКЛ. Т-клеточная инфильтрация ДВКЛ характеризовала группу более благоприятного прогноза, что убедительно доказано при длительном наблюдении за больными (до 10 и более лет). Целесообразно дальнейшее изучение и использование в клинике нового показателя, **Т-клеточная инфильтрация опухоли**.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома, микроокружение, Т-лимфоциты, макрофаги, плазмциты, фолликулярные дендритные клетки.

III. CLINICAL SIGNIFICANCE OF TUMOR MICROENVIRONMENT IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

Summary

Clinical significance of tumor microenvironment study was estimated in 338 patients with DLBCL. We have studied macrophage infiltration (CD163), level of plasma cells, T-lymphocyte infiltration (CD3, CD5, CD7) and presence of 2 types of follicular dendritic cells (CD21, CD23) in tumor tissue sections. Prominent macrophage reaction was noted in patients with older age and lower serum lactate dehydrogenase concentrations. There were no any relationships between clinical laboratory data and levels of plasma cells and follicular dendritic cells in tumor sections. Presence of T-cell infiltration of tumor was the only favorable immunological parameter associated with higher overall survival and less frequent extranodal localizations of DLBCL.

Key words: diffuse large B-cell lymphoma, microenvironment, T-lymphocytes, macrophages, plasmacytes, follicular dendritic cells

Введение

В последние годы очень важная роль в исследовании неходжкинских лимфом уделена характеристике не только опухолевого субстрата, но и клеток неопухового микроокружения. Наибольшее распространение эти исследования полу-

чили при фолликулярной лимфоме. Изучение профилей генной экспрессии опухолевой ткани фолликулярной лимфомы позволило установить, что иммунный ответ 1 (IR1) определяется присутствием Т-лимфоцитов, а иммунный ответ 2 (IR2) – макрофагов. Данные профили генной экспрессии имели четкую связь с прогнозом фолликулярной лимфо-

мы. Т-клеточный ответ (IR1) определял благоприятный прогноз, а выраженная макрофагальная реакция, напротив, неблагоприятный [1]. Дальнейшие исследования, направленные на углубленное изучение данного феномена иммуногистохимическим методом, подтвердили первоначальные генные находки [2] – установлена неблагоприятная роль выраженной макрофагальной реакции (CD68) при фолликулярных лимфомах.

При ДВКЛ подобные исследования также ведутся. Установлена неблагоприятная роль повышения интралимфатических макрофагов (CD68), связанная с развитием химиорезистентности у больных ДВКЛ [3]. Вместе с тем, единого мнения относительно роли макрофагов в прогнозе ДВКЛ не существует.

Одна из точек зрения свидетельствует о благоприятной роли инфильтрации CD68⁺ макрофагами и неблагоприятной роли CD163⁺ макрофагов [7]. Наличие CD4⁺ Т-клеточной инфильтрации ДВКЛ имеет связь с благоприятным прогнозом, и данный факт сохраняет свое значение в эру Ритуксимаба [5]. Т-клеточная (CD3) и CD8⁺ инфильтрация ДВКЛ играла благоприятную роль при первичных костных ДВКЛ [8]. Инфильтрация ДВКЛ Т-клетками памяти и наличие дендритических клеток явились факторами благоприятного прогноза, а CD8⁺ Т-клетки играли неблагоприятную роль [9].

Клиническое значение и роль в прогнозе ДВКЛ микроокружения (Т-лимфоциты, макрофаги, плазмодиты и фолликулярные дендритные клетки) изучено у 338 больных.

Изучены макрофаги (CD163), плазматические клетки (CD38⁺⁺), 2 популяции фолликулярных дендритических клеток (CD21, CD23), а также зрелые Т-лимфоциты (CD3, CD5, CD7) в срезах биопсийного материала опухолевой ткани больных ДВКЛ.

Макрофаги (D11, CD163)

Макрофаги изучены у 326 больных. В 63 случаях (19,3%) выявлялись единичные клетки или их практически полное отсутствие, в остальных 263 наблюдениях (80,7%) наблюдалась умеренная (205 случаев, 62,9%) или выраженная (58 случаев, 17,8%) макрофагальная реакция.

Роль того или иного типа реакции макрофагов в прогнозе ДВКЛ оценена у 134 больных – 28 с отсутствием реакции макрофагов, 85 с умеренным типом реакции и 21 с выраженной макрофагальной инфильтрацией.

Уровень инфильтрации ткани ДВКЛ макрофагами не влиял на продолжительность жизни больных ДВКЛ ($p > 0,05$).

Средний возраст больных, у которых практически полностью отсутствовала макрофагальная инфильтрация опухолевых срезов ДВКЛ, не отличался от такового пациентов с наличием умеренной или выраженной макрофагальной реакции: $51,6 \pm 2,4$ (n=63) и $53,9 \pm 1,1$ (n=256) года соответственно, $p = 0,38$.

Вместе с тем, больные с выраженной инфильтрацией опухолевой ткани макрофагами (n=58) были старше возраста ($57,9 \pm 2,2$), чем пациенты с умеренной инфильтрацией или отсутствием таковой ($52,4 \pm 1,2$, n=261), $p = 0,04$.

Пропорция лиц старшей возрастной группы увеличивалась при нарастании макрофагальной инфильтрации (отсутствие–умеренная–выраженная): 39,7%–46%–55,2%, $p = 0,2$. Пропорция мужчин и женщин в группах с различными типами макро-

фагальной инфильтрации была примерно одинаковой. Уровень макрофагальной инфильтрации ткани ДВКЛ не связан с полом больных, $p = 0,3$.

Частота поздних (III-IV) стадий ДВКЛ возрастала при нарастании макрофагальной инфильтрации (минимальная–умеренная–выраженная) – 52,4%–59,5%–65,2%, однако, достоверности взаимосвязи не отмечено ($p = 0,69$).

Уровни ЛДГ снижались по мере нарастания макрофагальной инфильтрации (минимальная–умеренная–выраженная): $862,3 \pm 127,5$ (n=19), $731,2 \pm 95,7$ (n=59), $581,6 \pm 50,99$ (n=17), причем различия между группами с отсутствием инфильтрации и выраженной инфильтрацией были на грани достоверности, $p = 0,052$. Это интересное наблюдение свидетельствует о том, что нарастание интралимфатической иммунореактивности макрофагов, возможно, препятствует проявлениям биологической активности опухолю.

Частота двух и более экстралимфатических локализаций опухоли при минимальной инфильтрации макрофагами составила 12,9% (2 из 62), при умеренной – 10,9% (22 из 202), при выраженной – 7,3% (4 из 55), признаки не связаны, $p = 0,6$.

При анализе в зависимости от количества факторов риска (PI) связи не обнаружено ($p = 0,4$).

Плазматические клетки (CD38⁺⁺)

Уровни плазматической реакции изучены у 329 больных ДВКЛ. В 212 случаях (64,4%) выявлялись единичные клетки или их практически полное отсутствие, в остальных 117 наблюдениях (35,6%) наблюдалась умеренная (89 случаев, 27,1%) или выраженная (28 случаев, 8,5%) плазматическая реакция.

Роль различных типов реакции плазмодитов в прогнозе ДВКЛ оценена у 136 больных – 89 с отсутствием реакции плазмодитов, 38 с умеренным типом реакции и 9 с выраженной плазматической инфильтрацией. Уровень инфильтрации ткани ДВКЛ плазмодитами не влиял на продолжительность жизни больных ДВКЛ, $p = 0,907$.

Средний возраст больных, у которых практически полностью отсутствовала плазматическая инфильтрация опухолевых срезов ДВКЛ, составил $53,3 \pm 1,3$ года (n=208), в группе с умеренной инфильтрацией – $54 \pm 1,9$ года (n=87), а у больных с выраженной инфильтрацией – $54,3 \pm 3,3$ года; различия между группами недостоверны.

Пропорция мужчин и женщин в группах с различными типами плазматической инфильтрации была примерно одинаковой. Уровень плазматической инфильтрации ткани ДВКЛ не связан с полом больных, $p = 0,3$.

Частота поздних (III-IV) стадий при нарастании плазматической инфильтрации (минимальная–умеренная–выраженная) была следующей – 59,3%–70,4%–33,3%, однако, достоверности взаимосвязи не установлено ($p = 0,22$).

Уровни ЛДГ по мере нарастания плазматической инфильтрации (минимальная–умеренная–выраженная) были следующими: $765,5 \pm 84,2$ (n=72), $594,1 \pm 56,9$ (n=17), $662,0 \pm 188,0$ (n=5). Достоверной связи плазматической инфильтрации с уровнями ЛДГ не было, $p > 0,05$.

Частота двух и более экстралимфатических локализаций опухоли при минимальной инфильтрации плазмодитами составила 12,8%, при умеренной – 9,2%, при выраженной – 4,0%, признаки не связаны, $p = 0,33$. При анализе в зависимости от количества факторов риска (PI) связи не обнаружено ($p = 0,68$).

Фолликулярные дендритические клетки (CD21⁺ и CD23⁺)

В опухолевых срезах ДВКЛ могут присутствовать в различных количествах фолликулярные дендритические клетки. Мы изучили 2 типа этих клеток – CD21⁺ (присутствуют в фолликулах вне зависимости от наличия в них светлых центров) и CD23 (характерны для светлых центров). Оценка наличия CD21-позитивных фолликулярных дендритических клеток (ФДК) проведена у 266 больных ДВКЛ. Наличие CD21⁺ ФДК установлено в 18,4% (49 больных) – в 41 случае выявлялись единичные клетки (15,4%) и у 8 больных большое количество этих клеток (3,0%).

Роль CD21⁺ ФДК в прогнозе ДВКЛ оценена у 114 больных – 95 с отсутствием ФДК, 15 с наличием единичных клеток и 4 с выраженным количеством ФДК. Уровень ФДК при ДВКЛ не влиял на продолжительность жизни больных ДВКЛ, $p=0,34$.

Средний возраст больных, у которых полностью отсутствовали CD21⁺ ФДК в опухолевых срезах ДВКЛ, составил $54,4 \pm 1,2$ года ($n=214$), в группе с наличием этих клеток – $53,9 \pm 2,8$ года ($n=46$), различия между группами недостоверны, $p=0,86$.

Пропорция мужчин и женщин в группах, различающихся по уровням ФДК, была примерно одинаковой, $p=0,53$. Частота поздних (III-IV) стадий при отсутствии ФДК была 59,8% (52 из 87), а при наличии этих клеток – 68,8% (11 из 16), $p=0,5$.

Уровни ЛДГ у больных с отсутствием ФДК составил $679,0 \pm 58,6$ ($n=65$), а при наличии этих клеток – $631,6 \pm 78,6$ ($n=14$), достоверной связи не было, $p>0,05$. Частота двух и более экстранодальных локализаций опухоли при отсутствии CD21⁺ ФДК составила 13,1%, а при наличии – 6,3%, признаки не связаны, $p=0,19$. При анализе в зависимости от количества факторов риска (PI) связи не обнаружено ($p=0,54$).

CD23-позитивные фолликулярные дендритические клетки

Оценка наличия CD23-позитивных фолликулярных дендритических клеток (ФДК) проведена у

325 больных ДВКЛ. Наличие CD23⁺ ФДК установлено в 11,1% (36 больных) – в 33 случаях выявлялись единичные клетки (10,2%) и у 3 больных большое количество этих клеток (0,9%).

Роль CD23⁺ ФДК в прогнозе ДВКЛ оценена у 132 больных – 116 с отсутствием ФДК, 16 с наличием этих клеток. Наличие CD23⁺ ФДК при ДВКЛ не влияло на продолжительность жизни больных ДВКЛ, $p=0,65$.

Средний возраст больных, у которых полностью отсутствовали CD23⁺ ФДК в опухолевых срезах ДВКЛ, составил $53,3 \pm 1,1$ года ($n=283$), в группе с наличием этих клеток – $56,6 \pm 2,96$ года ($n=35$), различия между группами недостоверны, $p=0,3$.

Пропорция мужчин и женщин в группах, различающихся по уровням ФДК, была примерно одинаковой, $p=0,86$.

Частота поздних (III-IV) стадий при отсутствии ФДК была 59,2% (61 из 103), а при наличии этих клеток – 76,9% (10 из 13), $p=0,22$.

Уровни ЛДГ у больных с отсутствием ФДК составил $726,5 \pm 73,3$ ($n=82$), а при отсутствии этих клеток – $786,1 \pm 164,8$ ($n=10$), достоверной связи не было, $p=0,79$.

Частота двух и более экстранодальных локализаций опухоли при отсутствии CD23⁺ ФДК составила 11,0% (31 из 283), а при наличии – 11,1 (4 из 36)%, признаки не связаны, $p=0,98$. При анализе в зависимости от количества факторов риска (PI) связи не обнаружено ($p=0,71$).

Т-лимфоциты в опухолевом микроокружении ДВКЛ

Полуколичественная оценка Т-лимфоцитов в срезах ДВКЛ проведена с использованием трех маркеров: CD3, CD5, CD7.

Количество клеток, выявляемых этими маркерами, хорошо коррелировало между собой. В табл. представлена частота различных типов Т-клеточной реакции при использовании 3 моноклональных антител.

Таблица
Типы инфильтрации опухолевой ткани ДВКЛ Т-лимфоцитами

Маркер	Тип реакции Т-клеток в ткани ДВКЛ			Всего
	слабая	умеренная	выраженная	
CD3	84 (35)*	134 (55,8)	22 (9,2)	240
CD5	105 (31,5)	195 (58,6)	33 (9,9)	333
CD7	105 (31,5)	195 (58,6)	33 (9,9)	333

*количество (процент в строке)

Оценена роль каждого из Т-клеточных маркеров в прогнозе ДВКЛ. CD5 оценен у 137 больных: единичные клетки – 46 больных, наличие умеренной или выраженной реакции – 91 больной. CD7⁺ лимфоциты в прогнозе ДВКЛ оценены у 137 больных: 47 – отрицательная реакция, 90 – умеренная или выраженная реакция. CD3⁺ лимфоциты: 39 отрицательная реакция, 58 – наличие умеренной или выраженной реакции.

Различия в выживаемости были недостоверны по всем трем маркерам, $p>0,05$. Наиболее близкие к достоверным данные получены для CD7 (p log-rank – 0,061; Breslow – 0,059; Tarone Waren – 0,061). Лучшие показатели выживаемости были в группе с больных ДВКЛ с наличием умеренной Т-клеточной инфильтрации.

В части случаев ДВКЛ значительное количество Т-лимфоцитов в опухолевых срезах не являлось отражением выраженности интратуморальной инфильтрации, а соответствовало сохранным Т-

клеточным зонам при частичном поражении лимфатического узла. При исключении из анализа этой немногочисленной группы больных (с выраженным количеством Т-лимфоцитов в срезах) различия в выживаемости больных с наличием Т-клеточной (CD7) инфильтрации и с отсутствием таковой являются достоверными, $p=0,038$ (тест лог-ранк), рис.

Учитывая большую клиническую значимость установленного факта, мы провели клинические, гематологические и иммунологические сопоставления в этих 2 группах больных.

Средний возраст больных, у которых полностью отсутствовали CD7⁺ Т-лимфоциты в опухолевых срезах ДВКЛ, составил $54,3 \pm 1,8$ года, в группе с с наличием умеренной инфильтрации $52,9 \pm 1,3$ года, различия между группами недостоверны, $p=0,53$.

Пропорция мужчин и женщин в группах, различающихся по уровням CD7, была примерно одинаковой, $p=0,8$.

Частота поздних (III-IV) стадий при отсутствии CD7 была 69% (29 из 42), а при наличии этих клеток – 54,5% (36 из 66), $p=0,13$. Уровни ЛДГ у больных с отсутствием CD7 составил $660,9 \pm 68,2$ ($n=34$), а при наличии этих клеток – $793,9 \pm 107,9$ ($n=53$), достоверной связи не было, $p=0,36$.

Частота двух и более экстранодальных локализаций опухоли при отсутствии CD7⁺ составила 16,5% (17 из 103), а при наличии – 7,8% (15 из 193), признаки достоверно взаимосвязаны, $p=0,021$. При анализе в зависимости от количества факторов риска (PI) связи не обнаружено ($p=0,27$).

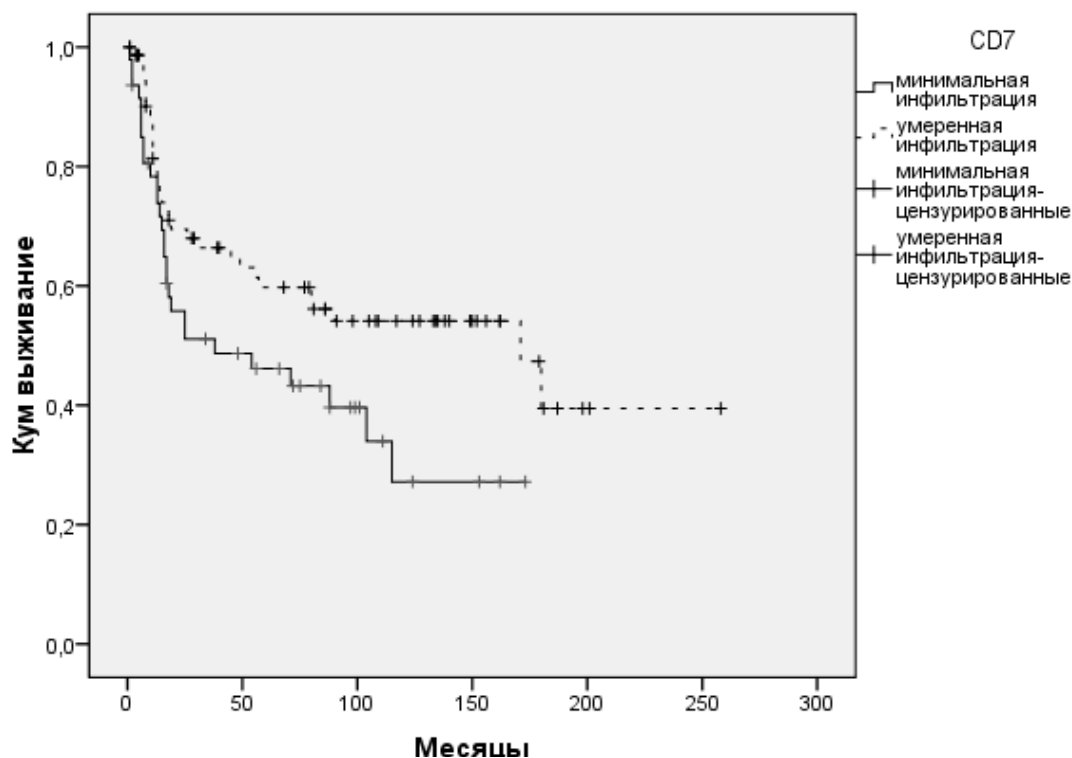


Рис. Достоверное увеличение продолжительности жизни больных с умеренной Т-клеточной инфильтрацией опухоли ($n=76$) в сравнении с больными, у которых инфильтрация отсутствовала ($n=47$).

Обсуждение

Иммунные ответы клеток микроокружения IR1 и IR2 являются важными в прогнозе фолликулярной лимфомы (Dave S. S. et al., 2004). При ДВКЛ сведений о роли клеток микроокружения значительно меньше.

Роль макрофагов в прогнозе ДВКЛ может быть различной, что связано как с субпопуляцией выявляемых макрофагов, так и с характером проводимого лечения. Как известно, применение ритуксимаба в лечении фолликулярной лимфомы способно изменить прогностически неблагоприятную роль макрофагальной инфильтрации на благоприятную. В нашей работе выделены 3 типа макрофагальной инфильтрации – минимальный, умеренный и выраженный. Ни один из этих типов реакции не был взаимосвязан с прогнозом, оцененным нами на основании общей выживаемости больных. Возможно, это объясняется тем, что только часть больных была пролечена с использованием Ритуксимаба, остальные получали лечение в эру до Ритуксимаба. На основании клинических факторов прогноза случаи с выраженной макрофагальной инфильтрацией нельзя однозначно отнести к благоприятным или неблагоприятным. С одной стороны, неблагоприятным является то, что средний возраст больных в этой группе был выше, чем случаях с минимальной или умеренной макрофагальной инфильтрацией. Прогностически благоприятным является то, что уровни ЛДГ при выраженной инфильтрации

были достоверно более низкими. По-видимому, макрофагальная инфильтрация может быть взаимосвязана с биологическими особенностями опухоли (например, уровнями ЛДГ), что не всегда отражается на долгосрочном прогнозе у больных.

Интересен тот факт, что уровни плазмочитарной инфильтрации ткани ДВКЛ и наличие в опухолевых срезах фолликулярных дендритических клеток (CD21 или CD23) не имело взаимосвязи ни с одним из факторов прогноза и не отражалось на выживаемости больных.

Роль Т-клеточной инфильтрации первичной опухоли представляется, пожалуй, наиболее интригующей при ДВКЛ, поскольку именно с этими клетками связывают своего рода иммунореактивность организма в ответ на опухоль. И наши данные на очень большом материале (более 300 больных) позволили выделить типы реакций CD3, CD5, CD7 Т-клеток в опухолевой ткани. Эти типы реакций, в основном, совпадали. Как оказалось, ДВКЛ с наличием интратуморальной Т-клеточной реакции, действительно, формируют вполне очерченную группу. Наличие Т-клеточной реакции наблюдается в группе больных, в которой вдвое реже встречается такой прогностически неблагоприятный признак как наличие двух и более экстранодальных локализаций ДВКЛ. Особое значение для клиники имеет то, больные с наличием Т-клеточной реакции характеризуются более благоприятным прогнозом, что подтверждено при анализе общей выживаемости. Этот факт, несомненно, может быть учтен в

клинике при принятии решения об интенсификации программного лечения или при разработке иммунотерапевтических программ.

Полученные нами данные совпадают с данными литературы относительно благоприятной

роли как Т-клеточной инфильтрации в целом, так и при нарастании количества отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов в опухолевом микроокружении (Ahearne M.J. et al., 2014; Keane C. et al., 2014; Galand C. et al., 2012).

Литература

1. Dave S.S., Wright G., Tan B. et al. // Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. // N. Engl. J. Med. -2004, V.351. –P. 2159-2169.
2. Farinha P., Masoudi H., Skinnider B.F. et al. // Analysis of multiple biomarkers shows that lymphoma-associated macrophage (LAM) content is an independent predictor of survival in follicular lymphoma (FL). // Blood, 2005. –V. 106, №6, –P.2169-2174.
3. Marinaccio C., Ingravallo G., Gaudio F., Perrone T., Nico B., Maoirano E., Specchia G., Ribatti D. Microvascular density, CD68 and tryptase expression in human Diffuse Large B-Cell Lymphoma // Leuk Res. 2014 Sep 22. pii: S0145-2126(14)00284-7. doi: 10.1016/j.leukres.2014.09.007. [Epub ahead of print].
4. Cai QC, Liao H, Lin SX, Xia Y, Wang XX, Gao Y, Lin ZX, Lu JB, Huang HQ High expression of tumor-infiltrating macrophages correlates with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma// Med Oncol. 2012. –V.29, №4. –P.2317-2322
5. Ahearne MJ, Bhuller K, Hew R, Ibrahim H, Naresh K, Wagner SD. Expression of PD-1 (CD279) and FoxP3 in diffuse large B-cell lymphoma //Virchows Arch. -2014. –V.465, №3. P.351-358
6. Keane C, Gill D, Vari F, Cross D, Griffiths L, Gandhi M. CD4(+) tumor infiltrating lymphocytes are prognostic and independent of R-IPi in patients with DLBCL receiving R-CHOP chemo-immunotherapy// Am J Hematol. 2013. –V.88, №4. –P.273-276
7. Nam SJ, Go H, Paik JH, Kim TM, Heo DS, Kim CW, Jeon YK. An increase of M2 macrophages predicts poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone// Leuk Lymphoma. -2014. –V.55, №11. –P.2466-2476.
8. Rajnai H, Heyning FH, Koens L, Sebestyén A, Andrikovics H, Hogendoorn PC, Matolcsy A, Szepesi Á. The density of CD8+ T-cell infiltration and expression of BCL2 predicts outcome of primary diffuse large B-cell lymphoma of bone// Virchows Arch. -2014. –V. 464, №2. –P.229-239
9. Galand C., Donnou S., Molina T.J., Fridman W.H., Fisson S., Sautès-Fridman C. Influence of tumor location on the composition of immune infiltrate and its impact on patient survival. Lessons from DCBCL and animal models//Frontiers in immunology. –2012. -V.3. – Article 98.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГ – антиген(ы)

ДВКЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома

ABC – activate B-cells.

GCB – cells clear

GEP – gene expression profile

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 do Janeiro, 23–28 Aug, 1998. – P. 596.

При ссылке на диссертации или авторефераты указывают автора, затем название диссертации, место и дату написания, страницы, например:

Бредикис Ю. И. Анатомическое и экспериментальное обоснование пункции сердца: Дис... канд. мед. наук. – М., 1957, –157 с.

При этом используются следующие сокращения: «Дис... канд. мед. наук», «Дис... д-ра мед. наук», «Автореф. дис... канд. мед. наук», «Автореф. дис... д-ра мед. наук».

При ссылке на журналы, представленные в электронном доступе, следует указывать авторов и название статьи, название электронного журнала, год, номер, электронный адрес и дату обращения, например:

Иванова И. И. Развитие металлопроизводства в эпоху раннего металла [Электронный ресурс] // Вестн. РФФИ. – 1997. – №2. – URL: <http://www.rfbr.ru> (дата обращения: 01.01.2008).

Один из печатных вариантов работы должен быть обязательно подписан всеми авторами и руководителем подразделения, в нем должны содержаться контактные телефоны и e-mail.

Все статьи, поступившие в редакцию, подлежат рецензированию. Рецензенты назначаются редакционной коллегией журнала, которая имеет право отклонить работу из-за несоответствия профилю и требованиям журнала. В случае отказа в публикации редакция высылает авторам письмо с объяснением его причин. Плата за публикацию не взимается. Редакция журнала осуществляет научное и литературное редактирование статей, обязуется информировать авторов обо всех смысловых изменениях, возникающих при редактировании их работ (это не касается литературной правки).

Статьи, ранее опубликованные в других журналах или сборниках, не принимаются к публикации.

Передача рукописи в редакцию журнала «Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН» означает, что авторы статьи дают согласие на ее размещение в свободном доступе на сайтах www.ronc.ru и www.elibrary.ru.

Адрес редакции:
115478, РФ, Москва, Каширское шоссе, д. 24,
редакция журнала «Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина».
Телефон редакции: +7-499-324-5537. E-mail: vestnikronc@mail.ru

УДК 616.381-006.32-089.1-059:615.2/.3

Амир Гусейнович Абдуллаев¹, Борис Евсеевич Полоцкий², Михаил Иванович Давыдов³

**КОМБИНИРОВАННЫЕ ОПЕРАЦИИ В СОЧЕТАНИИ
С ВНУТРИПОЛОСТНОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ
В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПСЕВДОМИКСОМЫ И МЕЗОТЕЛИОМЫ БРЮШИНЫ:
НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ
(ОПЫТ ТОРАКОАБДОМИНАЛЬНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОНЦ ИМ. Н. Н. БЛОХИНА)**

¹к. м. н., научный сотрудник, НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», торакальное хирургическое отделение

²д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник, НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» торакальное хирургическое отделение

³Академик РАН, д. м. н., профессор, директор, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Адрес для переписки: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», торакальное хирургическое отделение, Абдуллаев Амир Гусейнович;

e-mail: agulsky@rambler.ru

В статье проведен анализ непосредственных результатов лечения больных псевдомиксомой и мезотелиомой брюшины в торакальном отделении РОНЦ им. Н.Н. Блохина в 2008–2013 гг. Лечение включало циторедуктивные хирургические вмешательства в сочетании с внутриспиральной гипертермической химиоперфузией.

Ключевые слова: псевдомиксома брюшины, мезотелиома брюшины, внутриспиральная гипертермическая химиоперфузия, циторедуктивные хирургические вмешательства.

Amir Guseinovich Abdullayev¹, Boris Evseyevich Polotsky², Mikhail Ivanovich Davydov³

**COMBINED SURGERY
WITH INTRAPERITONEAL CHEMOTHERAPY
IN PATIENTS WITH PSEUDOMIXOMA PERITONEI AND PERITONEAL MESOTHELIOMA:
EARLY OUTCOME DATA
(EXPERIENCE OF THE THORACIC DEPARTMENT, N.N. BLOKHIN RCRC)**

¹MD, PhD, Researcher, Thoracic Surgery Department, Clinical Oncology Research Institute, N.N. Blokhin RCRC

²MD, PhD, DSc, Professor, Senior Researcher, Thoracic Surgery Department, Clinical Oncology Research Institute, N.N. Blokhin RCRC

³Academician of RAS, MD, PhD, DSc, Professor, Director, N.N. Blokhin RCRC

Address for correspondence: Abdullayev Amir Guseinovich, Thoracic Surgery Department, Clinical Oncology Research Institute, N.N. Blokhin RCRC, 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478;

e-mail: agulsky@rambler.ru

This is a detailed analysis of early treatment outcomes in patients with pseudomixoma peritonei and peritoneal mesothelioma managed at the Thoracic Department, N. N. Blokhin RCRC RAMS, during 2008 through 2013. The treatment included cytoreductive surgery in combination with intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion.

Key words: pseudomixoma peritonei, peritoneal mesothelioma, intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion, cytoreductive surgery.

Введение

Псевдомиксома и мезотелиома брюшины относятся к редкой патологии, чем объясняется отсутствие статистических данных о заболеваемости. Анализ публикаций в литературе за последние годы показывает, что комбинированное лечение, включающее циторедуктивные хирургические вмешательства в сочетании с внутриспиральной гипертермической химиотерапией значительно повышает выживаемость больных [1–4]. Именно поэтому радикальность проведенных операций является основным фактором прогноза.

Материалы и методы

В торакоабдоминальном отделении РОНЦ им. Н. Н. Блохина в 01.2008–12.2013 гг. комбинированные операции в различном объеме в сочетании с внутриспиральной гипертермической химиотерапией были проведены 43 больным: 31 – с псевдомиксомой брюшины и 12 – с мезотелиомой брюшины. Средний возраст 46±13,3 года (29–69 лет) и 49,7±15,4 года (9–61 год) соответственно. Источником для формирования псевдомик-

сомы в 22 наблюдениях являлись опухоли червеобразного отростка (муцинозная аденокарцинома умеренной или высокой степени дифференцировки – у 14 больных и муцинозная цистаденома – у 8), у 3 пациенток – опухоли яичников (муцинозная аденокарцинома у 1, цистаденома – у 2). В одном из этих наблюдений в анамнезе имелась аппендэктомия, и провести анализ этого материала не удалось. В 6 наблюдениях источник для формирования псевдомиксомы не установлен.

Гистологически типы мезотелиомы распределились следующим образом: 9 больных – эпителиодные, 2 – высокодифференцированные сосочковые и 1 – мультикистозный

Предоперационное лечение проводилось 26 (84%) больным псевдомиксомой из 31: в 16 наблюдениях – комбинированная терапия (операция + полихимиотерапия, ПХТ), в 10 только хирургическое лечение. У 7 (43%) из 16 больных число курсов системной ПХТ превышало 6.

Две операции или более в анамнезе зафиксировано у 10 пациентов. Необходимо отметить, что чаще это были: экстирпация или ампутация матки с придатками, аппендэктомия, резекция большого сальника в небольшом объеме. В дальнейшем па-

циентам проводилась системная ХТ, обычно использующаяся при раке яичников (таксаны, препараты платины, циклофосфамид и др.). Однако во всех случаях наблюдалось прогрессирование заболевания в течение 1-го года лечения.

Ни одному больному с мезотелиомой брюшины до обращения в «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» хирургическое лечение не выполнялось. В 4 случаях проводилась системная ПХТ: 2 больным – по схеме паклитаксел + карбоплатин; 1 – по схеме доцетаксел + доксорубин; схема лечения 1 пациентки неизвестна. Число курсов ПХТ варьировало от 2 до 12. Во всех случаях отмечено прогрессирование в виде продолженного роста опухоли, асцита.

Хирургический этап

Учитывая диффузный характер роста опухолей независимо от их гистологического типа, хирургические вмешательства были достаточно стандартизованы и подразумевали ее максимальное удаление. В связи с этим мы специально не разделяли объемы вмешательств, выполненных при псевдомиксому и мезотелиоме брюшины (табл. 1). Все операции носили комбинированный характер, что было продиктовано стремлением к максимальному удалению опухоли. Во всех случаях проводились: перитонэктомия в зоне опухолевого поражения и удаление большого сальника, у 8 больных – без сохранения артериальной аркады по большой кривизне желудка.

Чаще всего в объем хирургического вмешательства входили: спленэктомия ($n = 21$), экстирпация матки с придатками ($n = 10$), холецистэктомия ($n = 7$), правосторонняя гемиколэктомия ($n = 6$). В целях выполнения циторедукции в малом тазу 3 пациентам была проведена резекция мочевого пузыря и 1 резекция мочеточника. Средняя длительность операции составила $396,9 \pm 82$ мин ($240 \div 570$ мин), средняя кровопотеря $797,6 \pm 582$ мл ($100 \div 1500$ мл).

Степень интраперитонеальной диссеминации, которую оценивали по японской классификации, созданной для рака желудка (JGCA), составила: P3 – у 36 пациентов, P2 – у 3 и P1 – у 4. Полноту циторедукции оценивали по индексу CC, предложенному в 1998 г. P. Sugarbaker.

Согласно классификации P. Sugarbaker, CC-0 обозначает максимальную циторедукцию с удалением всех видимых из глаз очагов, CC-1 – наличие очагов диаметром менее 2,5 мм после циторедуктивной операции, CC-2 – остаточные опухолевые очаги размером от 2,5 мм до 2,5 см; CC-3 – наличие неудаленных метастазов диаметром более 2,5 см. Индексы CC-0, CC-1, CC-2 и CC-3 были достигнуты у 4; 14; 16 и 9 пациентов соответственно.

Внутриполостная гипертермическая химиотерапия

На завершающем этапе операции в брюшную полость вводят 4 дренажа для притока и оттока жидкости. Проведение перфузии возможно как в открытом, так и в закрытом контурах. В последнее время мы проводим процедуру в открытом контуре, преимущества которого – более равномерное распределение раствора с цитостатиком в брюшной полости и возможность визуального контроля процедуры. В то же время для поддержания минимальной разницы температур во входящей и исходящей магистралах требуется большая скорость перфузии в связи с повышенной теплоотдачей. Помимо этого при использовании открытого контура

необходимо учитывать возможность влияния цитостатиков на операционную бригаду, несмотря на тщательное соблюдение техники безопасности (вытяжка, маски, отдельная утилизация одноразовых комплектов для перфузии и др.).

Для перфузии мы использовали изотонический раствор хлорида натрия в объеме 3–5 л. Средняя температура раствора для перфузии составила $43,6 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Продолжительность перфузии – 60–90 мин.

Цисплатин в дозе 100 мг/м^2 вводили в перфузирующий раствор после его нагрева до оптимальной температуры (43°C).

Результаты и обсуждение

Комбинация циторедуктивной хирургии с внутриполостной гипертермической химиотерапией в ряде случаев давала осложнения, которые мы разделили в зависимости от причины на внутриплевральные, хирургические и вызванные химиотерапией (табл. 2). Однако при подобном лечении бывает очень сложно установить характер и причины осложнения. Так, сложно определить, что послужило причиной анемии в послеоперационном периоде, цитотоксическое действие химиопрепаратов или кровопотеря? Тошнота и рвота на 1–3 сутки после операции могут быть обусловлены гастроинтестинальной токсичностью или другими причинами. Во всех случаях побочный эффект цитостатиков устанавливали только после тщательного обследования больного и исключения хирургического осложнения.

Частота внутриплевральных осложнений составила 16% ($7/43$; табл. 2). Развитие пневмоторакса и гидроторакса было связано с травмой диафрагмы при выполнении перитонэктомии ее правого купола. Эти осложнения диагностировались в 1 сутки послеоперационного периода. В 1 наблюдении развитие левостороннего плеврита носило реактивный характер вследствие панкреатита. Дренирование потребовалось в 3 случаях, в остальных проводилась консервативная терапия с динамическим рентгенологическим контролем. Количество газа и жидкости в плевральной полости было незначительным и не влияло на показатели оксигенации крови.

Характер хирургических осложнений представлен в табл. 3. Наиболее часто встречалось нагноение послеоперационной раны, при этом у 2 пациентов сформировалась неполная эвентрация. Ведение во всех случаях было консервативным. У 1 пациента послеоперационный период осложнился частичной несостоятельностью сигморектоанастомоза, однако формирования проксимальной стомы не производилось, свищевой ход закрылся после адекватного дренирования зоны несостоятельности по пресакральному дренажу, дополненного противовоспалительным лечением. Послеоперационный инфицированный панкреатит с некрозом хвоста поджелудочной железы развился у 1 пациента после спленэктомии. Проводилась коррекция положения дренажа при фистулографии, антибактериальная терапия. Данное осложнение мы связываем с дефектом мобилизации селезеночной артерии в зоне хвоста поджелудочной железы. В 1 наблюдении потребовалась релапаротомия в связи с межкишечным абсцессом, выявленным на 6 сутки после операции при ультразвуковом исследовании. На операции в правой подвздошной зоне между петлями тонкой кишки была обнаружена

отграниченная полость, содержащая воспалительный экссудат. В других отделах выпота не было, брюшина оставалась гладкая и блестящая. Выполнены санация и дренирование полости абсцесса.

Осложнения ХТ оценивали по шкале токсичности (критерии CTC-NCIC, version 4.0 2009), согласно которой выраженных осложнений не было.

Нефротоксичность I степени отмечена у 4 пациентов, у которых в анамнезе была ПХТ с применением платиносодержащих схем.

Во всех случаях благодаря адекватной инфузионной терапии и форсированному диурезу уро-

вень креатинина в крови нормализовался к 4 суткам. Следует отметить, что в предоперационном периоде у всех пациентов исследовали выделительную функцию почек (радиоизотопное исследование, анализ мочи по Зимницкому, клиренс креатинина), а уровни мочевины и креатинина в крови находились в пределах нормы.

У 1 больного следствием ПХТ была гастроинтестинальная токсичность II степени в виде диареи на 3–4-е сутки. Проводилась инфузионная терапия.

Таблица 1

Объемы хирургических вмешательств + перитонэктомия и удаление большого сальника

Операция	Число	
	абс.	%
Аппендэктомия	4	9
Правосторонняя гемиколэктомия	6	14
Резекция		
диафрагмы	2	5
илеоцекального угла	3	7
мочевого пузыря	3	7
мочеточника	1	2
поджелудочной железы дистальная	1	2
поперечной ободочной кишки	2	5
прямой кишки чрезбрюшинная	1	2
сигмовидной кишки	2	5
тонкой кишки	3	7
Спленэктомия	21	49
Холецистэктомия	7	16
Экстирпация		
культи шейки матки	1	2
матки с придатками	10	23

Таблица 2

Структура послеоперационных осложнений

Вид осложнений	Число	
	абс.	%
Хирургические	11	26
Внутриплевральные	7	16
Вследствие ХТ	5	12

Таблица 3

Характер хирургических осложнений

Осложнение	Число	
	абс.	%
Межкишечный абсцесс	1	2
Нагноение послеоперационной раны	4	9
Панкреатит	3	7
Несостоятельность сигморектоанастомоза	1	2
Флотирующий флеботромбоз	1	2
Частичная непроходимость тонкой кишки	1	2
Всего	11 из 43	24

Заключение

Комбинация хирургического вмешательства с внутриполостной гипертермической химиотерапией по сравнению с использованием этих методов по отдельности ожидаемо увеличивает частоту развития осложнений. В то же время, перед операцией зачастую невозможно оценить ее объем в связи с тем, что предоперационное обследование (компьютерная томография и ультразвуковое исследование) не вполне отражает характер и степень опухолевого поражения. Исходя из этого, трудно адекватную оценить осложнения. Большой объем операции заведомо увеличивает вероятность осложнений. Анализ данных литературы показал, что частота осложнений после хирургического вмешательства с

внутриполостной гипертермической химиотерапией составляет от 33 до 52,5%, летальность – от 4,4 до 12% [4–8].

Авторы публикаций отмечают необходимость дифференцировать осложнения на хирургические и развившиеся вследствие ХТ. Однако практически во всех работах приводится общая частота осложнений и летальность, не связанная непосредственно с операцией (ОИМ, острый инфаркт миокарда, острая сердечно-сосудистая недостаточность, ТЭЛА, тромбоз легочной артерии и др.). В целом большинство авторов сходятся во мнении, что количество осложнений при циторедуктивных операциях в сочетании с интраоперационной гипертермической химиотерапией является приемлемым и переносимым.

Литература

1. Turner K., Varghese S., Alexander H. R. Current concepts in the evaluation and treatment of patients with diffuse malignant peritoneal mesothelioma / J. Natl. Compr. Canc. Netw. – 2012. – Vol. 10, N 1. – P. 49–57.
2. Deraco M., Nonaka D., Baratti D., Casali P., Rosai J., Younan R., Salvatore A., Cabras Ad A. D., Kusamura S. Prognostic analysis of clinicopathologic factors in 49 patients with diffuse malignant peritoneal mesothelioma treated with cytoreductive surgery and intraperitoneal hyperthermic perfusion // Ann. Surg. Oncol. – 2006. – Vol. 13, N 2. – P. 229–237.
3. Chua T. C., Moran B. J., Sugarbaker P. H., Levine E. A., Glehen O., Gilly F. N., Baratti D., Deraco M., Elias D., Sardi A., Liauw W., Yan T. D., Barrios P., Gómez Portilla A., de Hingh I. H., Ceelen W. P., Pelz J. O., Piso P., González-Moreno S., Van Der Speeten K., Morris D. L. Early- and long-term outcome data of patients with pseudomyxoma peritonei from appendiceal origin treated by a strategy of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy // J. Clin. Oncol. – 2012. – Vol. 30. – P. 2449–2456.
4. Elias D., Gilly F., Quenet F., Bereder J. M., Sidéris L., Mansvelt B., Lorimier G., Glehen O. Pseudomyxoma peritonei: a French multicentric study of 301 patients treated with cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy // Association Française de Chirurgie // Eur. J. Surg. Oncol. – 2010. – Vol. 36, N 5. – P. 456–462.
5. Glehen O., Mohamed F., Sugarbaker P. H. Incomplete cytoreduction in 174 patients with peritoneal carcinomatosis from appendiceal malignancy // Ann. Surg. – 2004. – Vol. 240, N 2. – P. 278–285.
6. Canda A. E., Sokmen S., Terzi C., Arslan C., Oztop I., Karabulut B., Ozzeybek D., Sarioglu S., Fuzun M. Complications and toxicities after cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy // Ann. Surg. Oncol. – 2013. – Vol. 20, N 4. – P. 1082–1087.
7. Robella M., Vaira M., Marsanic P., Mellano A., Cinquegrana A., Sottile A., De Simone M. Treatment of pseudomyxoma peritonei with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC): a single center experience // Minerva Chir. – 2013. – Vol. 68, N 65. – P. 69–77.
8. Беляев А. М., Багненко С. Ф., Рухляда Н. В. Внутрибрюшинная химиотерапия злокачественных опухолей брюшной полости. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2007. – 254 с.

Поступила 25.01.2014

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

CC	– Completeness of Cytoreduction
CTC-NCIC	– Clinical Trial Centre National Cancer Institute Canada
JGCA	– Japanese Gastric Cancer Association

© Волкова М.И., Матвеев В.Б., Давыдов М.М., Климов А.В., Черняев В.А., Калинин С.А., Петерс М.В., 2014
УДК 616.61-006.6-089.197.6

Мария Игоревна Волкова¹, Всеволод Борисович Матвеев², Михаил Михайлович Давыдов³, Алексей Вячеславович Климов⁴, Виталий Александрович Черняев⁵, Сергей Анатольевич Калинин⁶, Мария Витальевна Петерс⁷

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ПОЧКИ БЕЗ ОПУХОЛЕВОЙ ВЕНОЗНОЙ ИНВАЗИИ И ОТДАЛЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ

¹к. м. н., старший научный сотрудник, отделение урологии НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

²д. м. н., профессор, заведующий, отделение урологии НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»)

³к. м. н., заведующий, отделение хирургическое торакальное НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁴к.м.н., старший научный сотрудник, отделение урологии НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁵аспирант, отделение урологии НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁶к.м.н., ассистент, кафедра онкологии и лучевой терапии лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

⁷к.м.н., ассистент, кафедра онкологии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России

Адрес для переписки: 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», отделение урологии, Волкова Мария Игоревна;

e-mail: mivolkova@rambler.ru

Maria Igorevna Volkova, Vsevolod Borisovich Matveyev, Mihail Mihaylovich Davydov, Alexey Viacheslavovich Klimov, Vitaliy Alexandrovich Chernyaev, Sergey Anatolievich Kalinin, Maria Vitalievna Peters

SURGICAL TREATMENT FOR LOCALLY ADVANCED RENAL CANCER FREE FROM TUMOR VENOUS INVASION OR DISTANT METASTASES

We analyzed data of 348 patients with T_{3a}–T_{4N0}/+M₀ renal cancer free from tumor venous thrombosis who received surgical treatment. All the patients underwent nephradrenectomy, extended lymphadenectomy; 36 (10.3%) patients also had resection of adjacent sites. Radical removal of the tumor-affected kidney was made in 338 (97.1%) cases. Median follow-up was 36 (6 to 220) months. Intraoperative complications were reported in 33 (9.4%), postoperative morbidity was detected in 64 (18.4%) cases, lethality was 2.7% (9 of 348 patients died). The 5-year overall, specific and disease-free survival rates were 55.8, 59 and 45.1%, respectively. Independent risk factors for survival were pT (hazard ratio 1.348; 95% confidence interval 1.131–1.607; p = 0.001), pN (hazard ratio 1.348; 95% confidence interval 1.131–1.607; p = 0.001) and anaplasia grade G (hazard ratio 1.763; 95% confidence interval 1.267–2.454; p = 0.001). The number of risk factors was relevant for the specific survival.

Key words: locally advanced renal cancer, nephrectomy, extended surgery.

В исследование включены данные о 348 больных раком почки T_{3a-4}N_{0/+}M₀ без опухолевого венозного тромбоза, прошедших хирургическое лечение. Всем больным выполнены нефрадренэктомия и расширенная лимфаденэктомия; в 36 случаях (10,3% больных) потребовалась резекция соседних органов. Радикальное удаление почки с опухолью выполнено 338 (97,1%) больным. Медиана наблюдения составила 36 (6–220) мес. Интраоперационные осложнения зарегистрированы у 33 (9,4%) больных, послеоперационные – у 64 (18,4%), летальность составила 2,7% (умерли 9 человек из 348). Пятилетняя общая, специфическая и безрецидивная выживаемость составила 55,8; 59 и 45,1% соответственно. Независимыми факторами выживаемости являлись: категория pT (отношение рисков 1,348 при 95 %-ном ДИ 1,131–1,607; p = 0,001), категория pN (отношение рисков 1,348 при 95 %-ном ДИ 1,131–1,607; p = 0,001) и степень анаплазии G (отношение рисков 1,763 при 95 %-ном ДИ 1,267–2,454; p = 0,001). Количество независимых факторов риска влияло на специфическую выживаемость.

Ключевые слова: местнораспространенный рак почки, нефрэктомия, расширенная операция.

Введение

МРРП (T_{3a-4}) составляет около 1/3 всех впервые выявленных случаев рака этой локализации. У 50 % пациентов инвазия околопочечной клетчатки сочетается с опухолевым венозным тромбозом. Кроме того, инвазивный рост почечноклеточной аденокарциномы ассоциирован с высоким риском диссеминации опухоли: у 12,3% пациентов с категорией pT > T₂ диагностируются регионарные, а у 23% – отдаленные метастазы [1; 2]. Тем не менее, значительное число больных МРРП могут быть излечены хирургически [3]. Критерии отбора кандидатов для радикальной нефрэктомии в этой группе, а также оптимальный объем хирургического вмешательства изучены недостаточно.

Материалы и методы

В исследование включены медицинские дан-

ные о 348 больных МРРП (T_{3a-4}N_{0/+}M₀) без опухолевого венозного тромбоза, прошедших хирургическое лечение в ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» с 1990 по 2011 г. Соотношение мужчин и женщин составило 1,5; медиана возраста 57,2 года (16–95 лет). Опухоль правой почки выявлена у 185 (53,2%), левой – у 163 (46,8%) больных. Медиана максимального размера первичной опухоли составила 11 (7–29) см. Клинически локализованный рак почки (cT1b–T2b) диагностирован у 144 (41,4%) больных, МРРП (cT3a–T4) – у 204 (58,6%). У 13 (3,9%) пациентов выявлена инвазия опухоли почки в соседние органы и ткани. Регионарные лимфатические узлы, наибольший размер которых превышал 1 см, обнаружены у 52 (14,9%) больных, при этом увеличение 1 лимфатического узла (cN₁) отмечено у 29 (8,3%) пациентов, более 1 лимфатического узла (cN₂) – у 23 (6,6%). Ни у одного пациента не было радиологически определяемых отдаленных метастазов (табл. 1).

Системной терапии до хирургического лече-

ния не получал ни один пациент.

Таблица 1

Характеристика 348 больных МРРП, прошедших хирургическое лечение^a

Признак	Число больных	
	абс.	%
Пол		
мужской	210	60,3
женский	138	39,7
Возраст, годы	57,2 ± 12,2	
Сторона поражения		
правая	185	53,2
левая	163	46,8
Размер опухоли, см	11,0 ± 4,4	
Категория cT		
cT _{1b}	5	1,4
cT _{2a}	91	26,1
cT _{2b}	48	13,8
cT _{3a}	191	54,9
cT ₄	13	3,7
Категория cN		
cN ₀	296	85,1
cN ₁	29	8,3
cN ₂	23	6,6
Категория M ₀	348	100,0

^a Возраст и размеры опухоли представлены как медиана ± σ.

Четырем (1,2%) больным с массивной (> 20 см) опухолью почки проведена дооперационная эмболизация почечной артерии. Всем больным выполнены нефрэктомия в пределах фасции Герота, ипсилатеральная адреналэктомия и расширенная лимфаденэктомия. Верхней границей лимфодиссекции служили ножки диафрагмы, нижней – бифуркация аорты; при поражении правой почки в качестве левой границы лимфодиссекции использовали латеральную поверхность аорты, при левосторонних опухолях правой границей лимфодиссекции служила медиальная поверхность НПВ. У 23 (6,6%) больных были удалены увеличенные лимфатические узлы за пределами указанных зон: у 10 (2,9%) – паракаважные при поражении левой почки, у 8 (2,3%) – подвздошные ипсилатеральные, у 5 (1,4%) – подвздошные контралатеральные. 36 (10,3%) больным для радикального удаления измененной опухоли почки потребовались расширенные операции: 20 (5,7%) – резекция одного соседнего органа, 9 (2,6%) – двух, 7 (2%) – трех соседних органов. Чаще удаляли часть костно-мышечного каркаса брюшной полости, прилежавшую к опухоли (20 (5,7%) больных), и резецировали органы гепатопанкреатодуоденальной зоны (12 (3,4%) больных). Объем операции определяли индивидуально в зависимости от локализации и протяженности опухолевой инвазии и с учетом особенностей пораженной анатомической зоны (табл. 2). Радикальное удаление почки с опухолью выполнено 338 (97,1%) больным. 10 (2,9%) опухолевые массы удалены не полностью.

Все 10 (2,9%) больных, у которых операция не была радикальной, получали послеоперационную иммунотерапию препаратами интерферона α (3–9 млн ЕД подкожно 3 раза в неделю, длительно). Медиана наблюдения за всеми больными составила 36 (6–220) мес.; на протяжении более чем 60 мес. прослежены 189 (54,3%) пациентов.

Статистический анализ данных проводили с помощью общепринятых методов, используя блок программ SPSS 13.0 для Windows. Продолжи-

тельность жизни рассчитывали от даты хирургиче-

ского вмешательства до последнего дня наблюдения или до неблагоприятного исхода; исходом при расчете общей выживаемости считали смерть от любой причины, при расчете специфической выживаемости – смерть от рака почки, при расчете безрецидивной выживаемости – любое прогрессирование рака почки.

Результаты

Медиана продолжительности операции составила 150 (60–220) мин, медиана кровопотери – 500 (100–8000) мл. Гемотрансфузия потребовалась во время 59 (16,9%) операций, среднее число использованных доз эритроцитарной массы достигло 1,8 (1–9).

Интраоперационные осложнения зарегистрированы у 33 (9,4%) больных: у 22 (6,3%) – массивная кровопотеря, у 5 (1,4%) – ранение печени, у 5 (1,4%) – ранение селезенки, у 1 (0,3%) – ранение желчного пузыря. Интраоперационных смертей не было.

Послеоперационные осложнения отмечены у 64 (18,4%) из 348 больных. Осложнения I степени тяжести по классификации Клавье-Диндо констатированы у 9 (2,6%) пациентов, II степени – у 28 (8%), III степени – у 12 (3,4%), IV степени – у 6 (1,7%), V степени – у 9 (2,7%). Хирургические осложнения были у 37 (10,6%) больных: у 1 (0,3%) – кровотечение из ложа удаленной почки, у 2 (0,6%) – кровотечение из острых язв желудка, у 18 (5,1%) – непроходимость кишечника (у 14 (4%) – динамическая, у 4 (1,1%) – механическая), у 16 (4,6%) больных был панкреатит (у 13 (3,7%) отечный, у 3 (0,9%) – инфицированный). Повторные хирургические вмешательства потребовались у 7 больным (2%). Нехирургические осложнения зарегистрированы у 27 (7,8%) пациентов: у 4 (1,1%) синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, у 1 (0,3%) – инфаркт миокарда, у 1 (0,3%) – инсульт, у 11

¹Классификация панкреатитов по Соловьеву использована в данном случае.

(3,2%) – инфекционные осложнения, у 3 (0,9%) – анурия, у 7 (2%) – СПОН.

Таблица 2

Объем хирургического вмешательства у 348 больных МРРП без опухолевого венозного тромбоза

Объем вмешательства	Число больных	
	Абс.	%
Нефрэктомия, адреналэктомия, расширенная ЗЛАЭ	317	91,1
Нефрэктомия, адреналэктомия, расширенная ЗЛАЭ, резекция соседних тканей и/или органов	36	10,3
панкреатодуоденальная резекция	1	0,3
гемиколэктомия	5	1,4
резекция диафрагмы	7	2,0
спленэктомия	5	1,4
резекция печени	1	0,3
резекция XII ребра слева	1	0,3
резекция хвоста поджелудочной железы, спленэктомия	2	0,6
гемиколэктомия слева, резекция хвоста поджелудочной железы, спленэктомия	2	0,6
резекция хвоста поджелудочной железы, спленэктомия, резекция диафрагмы	2	0,6
резекция печени, резекция диафрагмы	3	0,9
резекция поясничных мышц, резекция диафрагмы	5	1,4
резекция диафрагмы, резекция XI–XII ребер	1	0,3
краевая резекция двенадцатиперстной кишки, резекция диафрагмы	1	0,3
ЗЛАЭ – забрюшинная лимфаденэктомия.		

Таблица 3

Факторы прогноза специфической выживаемости больных раком почки T_{3a}–T₄N₀/+M₀, перенесших нефрэктомия

Фактор	Продолжительность жизни ^а , мес	p	ОР (95% ДИ)	Значимость
Пол				
Мужской	77,9 (47,8–108,1)	0,148	–	–
Женский	125,4 (95,7–137,4)			
Возраст				
< 60 лет	97,5 (62,0–132,9)	0,587	–	–
≥ 60 лет	77,9 (37,2–118,7)			
Сторона поражения				
Правая	71,9 (44,9–98,8)	0,891	–	–
Левая	125,4 (76,4–174,4)			
Категория cT				
cT1–T2	80,0 (56,0–103,9)	0,568 ^б , < 0,0001 ^в	1,019 (0,089–2,031)	0,786
cT3	125,4 (68,6–182,1)			
cT4	17,0 (15,3–18,7)			
Инвазия в синус				
Нет	80,0 (47,2–112,7)	0,688	–	–
Есть	94,4 (54,6–134,1)			
Врастание в другие органы				
Нет	108,3 (67,2–149,4)	< 0,0001	1,348 (1,131–1,607)	0,001
Есть	18,4 (16,0–20,8)			
Категория N				
N0	108,3 (75,1–141,5)	< 0,0001 ^г , 0,072 ^д	1,876 (1,424–2,472)	< 0,0001
N1	33,0 (18,1–47,9)			
N2	17,0 (7,1–26,9)			
Вариант рака почки				
Светлоклеточный	108,3 (70,1–146,4)	< 0,0001 ^е , 0,030 ^ж	1,114 (0,713–1,739)	0,635
Несветлоклеточный	38,0 (3,9–72,1)			
Саркомоподобный	17,0 (13,7–20,2)			
Степень анаплазии G				
G1	НД	< 0,0001 ^з	1,763 (1,267–2,454)	0,001
G2	84,6 (41,5–127,3)			
G3	32,0 (16,7–47,8)			
Радикальность операции				
Да	97,4 (72,5–122,4)	< 0,0001	1,093 (0,467–2,569)	0,834
Нет	17,0 (8,3–25,7)			
Число факторов риска (pT4, pN+, G > G1)				
0	НД	< 0,0001	3,519 (2,650–4,672)	< 0,0001
1	94,3 (51,5–137,2)			
2–3	17,0 (13,9–20,1)			

НД – не достигнута.

^а Продолжительность жизни представлена в виде медианы (95% ДИ); ^б Между cT₁–T₂ и cT₃;^в Между cT₄ и другими; ^г Между N₀ и N₁, N₀ и N₂.^д Между N₁ и N₂; ^е Между светлоклеточным и другими вариантами рака почки.^ж Между несветлоклеточным и саркомоподобным вариантами рака почки.^з Для всех.

Послеоперационная (0-28 суток) летальность составила 2,7% (умерли 9 из 348 пациентов) и была обусловлена у 5 (1,5%) больных СПОН, у 2 (0,6%) – сепсисом, у 1 (0,3%) почечной недостаточностью и у 1 (0,3%) геморрагическим шоком.

Расширенный объем операции являлся единственным независимым фактором риска развития послеоперационных осложнений ОШ 32,788 при 95 %-ном ДИ 13,369÷80,415; $p < 0,0001$) и смерти (ОШ 7,765 при 95 %-ном ДИ 1,961÷30,031; $p = 0,003$). При регрессионном анализе независимые факторы риска повторных операций не выделены ($p > 0,05$ для всех сравнений).

При гистологическом исследовании удаленных опухолей во всех случаях верифицирован почечноклеточный рак: у 326 (93,7%) больных – светлоклеточный, у 15 (6,3%) – несветлоклеточный. У 11 (3,2%) больных более 10% объема опухоли занимал саркомоподобный компонент. Степень анаплазии G_1 имела у 69 (19,8%) больных, G_2 – у 175 (50,3%), G_3 – у 104 (29,9%).

У всех больных рак почки прорастал паранефральную клетчатку (категория pT_{3a}), а у 202 (58%) – и синусовую. Истинное врастание опухоли почки в соседние ткани и органы (pT_4) подтверждено в 28 препаратах (8%). Клиническая и морфологическая категории T были одинаковыми в 187 (53,7%) из 348 случаев; занижение категории T констатировано у 159 (45,7%) больных, завышение – у 2 (0,6%). В 8 случаях (2,3%), интраоперационно расцененных как cT_4 и прооперированных с использованием расширенных методик, гистологические признаки врастания в смежные структуры отсутствовали, а интимная связь опухоли с соседними органами была обусловлена перифокальным асептическим воспалением. Морфологически врастание рака почки в одну из смежных анатомических структур подтверждено у 6 (1,7%) больных, в две структуры – у 12 (3,4%), в три – у 9 (2,6%), в четыре – у 1 (0,3%). Чаще регистрировалась истинная опухолевая инвазия поясничных мышц – 21 случай (6%) и диафрагмы – 14 (4%) случаев. Кроме того, у 6 (1,7%) больных подтверждено прорастание опухоли ипсилатерального надпочечника, у 5 (1,4%) – ободочной кишки, у 4 (1,1%) – печени, у 4 (1,1%) – поджелудочной железы, у 2 (0,6%) – двенадцатиперстной кишки, у 4 (1,1%) – надкостницы дистальных отделов нижних ребер и позвонков, у 1 (0,3%) – ворот селезенки.

Метастазы в удаленных лимфатических узлах обнаружены в 51 случае (14,7%), из них в 26 случаях (7,5%) была выявлена категория pN_1 , в 25 (7,2%) – категория pN_2 . Клиническая категория cN соответствовала морфологической в 305 наблюдениях (87,7%); занижение категории N отмечено в 23 случаях (6,6%), завышение – в 20 (5,7%). Независимыми факторами прогноза категории pN^+ являлись увеличенные лимфатические узлы (ОШ 5,888 при 95 %-ном ДИ 3,378÷10,263; $p < 0,0001$), саркомоподобный компонент в опухоли (ОШ 7,312 при 95 %-ном ДИ 2,919÷18,314; $p < 0,0001$) и степень анаплазии $G > G_1$ (ОШ 2,261 при 95 %-ном ДИ 1,374÷4,055; $p < 0,0001$).

Наличие клеток опухоли по краю разреза подтверждено в 10 препаратах (2,9%), удаленных во время нерадикальных, по мнению хирурга, операций.

Рецидив рака почки развился у 106 (32,2%) из 329 больных МРРП, перенесших радикальную нефрэктомия, в среднем через 10,5 (1÷111) мес. после операции. Местный рецидив в забрюшинных лимфатических узлах диагностирован у 3 (0,9%)

пациентов, отдаленные метастазы – у 103 (31,3%). Радикальное удаление рецидивов или солитарных метастазов выполнено в 7 случаях (6,6%); 99 больным (93,4%) проводилось системное лечение: иммунотерапия 87 (82,0%), молекулярно-направленная антиангиогенная терапия – 12 (11,4%). Максимальный лечебный эффект – стабилизация опухолевого процесса – достигнут у 27 (8,2%) больных. Медиана длительности ответа на лечение составила 4,5 (2–34) мес.

Из 348 больных 232 (66,7%) живы: 213 (61,2%) – без признаков болезни, 19 (5,5%) – с метастазами; умерли 116 (33,3%) больных: 90 (25,9%) – от прогрессирования рака почки, 5 (1,4%) больных с метастазами и 12 (3,4%) больных без метастазов – от других причин, 9 (2,6%) больных – от осложнений лечения.

Пяти- и десятилетняя общая, специфическая и безрецидивная выживаемость больных, перенесших нефрэктомия, составила 55,8; 30,9 и 59% и 40,4; 45,1 и 27,9% соответственно.

По данным однофакторного анализа, факторами неблагоприятного прогноза специфической выживаемости прооперированных больных МРРП являлись категории cT_4 , pT_4 и pN^+ , несветлоклеточный и саркомоподобный рак почки со степенью анаплазии $G > G_1$, а также нерадикальное хирургическое вмешательство ($p < 0,0001$ для всех сравнений). Многофакторный анализ (табл. 3) подтвердил независимую прогностическую значимость категории pT ОР 1,348 при 95 %-ном ДИ 1,131÷1,607; $p = 0,001$), категории pN (ОР 1,348 при 95 %-ном ДИ 1,131÷1,60; $p = 0,001$) и степени анаплазии G (ОР 1,763 при 95 %-ном ДИ 1,267÷2,454; $p = 0,001$).

Количество независимых факторов риска влияло на специфическую выживаемость. Медиана этого показателя не была достигнута у больных без неблагоприятных прогностических факторов, а в группах с 1 и с 2–3 неблагоприятными прогностическими факторами она составила 94,3 и 17,0 мес соответственно (ОР 3,519 при 95 %-ном ДИ 2,650÷4,672; $p < 0,0001$ для всех сравнений). Прогностическая ценность данной модели умеренная $AUC = 0,620$; $p = 0,052$).

Обсуждение

Хирургическое лечение больных МРРП представляет собой технически не простую задачу. Для оценки целесообразности, безопасности и оптимального объема операции мы проанализировали собственные результаты 348 нефрэктомий при опухолях $T_{3a-4}N_{0/+}M_0$.

Радикальная нефрэктомия при МРРП выполняется по стандартным принципам, предложенным в 1969 С. J. Robson [4]. Мы считаем обязательным использование лапаротомного доступа, позволяющего осуществить адекватную ревизию органов брюшной полости; обеспечить хорошую экспозицию и удобство для манипуляций на почке и пораженных сосудах.

В нашей клинике отдается предпочтение срединной лапаротомии, отвечающей всем перечисленным требованиям. В редких случаях, при наличии массивной опухоли верхнего полюса, особенно подпаянной к печени, мы применяем торакофренолапаротомию или двуподреберный разрез.

Ранняя перевязка сосудистой ножки – самый эффективный метод профилактики значительной кровопотери на этапе мобилизации почки, особенно при массивных опухолях [5].

Почечная артерия должна быть перевязана непосредственно у места отхождения от аорты (при правостороннем поражении – в аортокавальном промежутке под левой почечной веной). При наличии крупных опухолей справа, интимно прилежащих к двенадцатиперстной кишке, мы используем дополнительный доступ к аорте у корня брыжейки тонкой кишки, позволяющий ускорить перевязку правой почечной артерии в зоне ее устья.

У 6,6% наших пациентов помимо опухоли почки имелись массивные конгломераты забрюшинных лимфатических узлов. Нередко ретроперитонеальные метастазы локализуются в зоне почечной ножки, затрудняя выделение и перевязку ее элементов, особенно почечной вены [6]. В подобных случаях для уменьшения кровопотери мы мобилизуем и берем на сосудистые турникеты контралатеральную почечную вену, а также НПВ выше и ниже опухолевого конгломерата, вовлекающего почечную вену. После пережатия НПВ и противоположной почечной вены перевязываем и пересекаем почечную вену на стороне поражения.

После перевязки сосудов выделяем почку, при этом необходимо во всех случаях стремиться сохранить фасцию Герота, чтобы предотвратить оставление опухоли в зоне операции. Наиболее безопасный способ мобилизации почки с массивной опухолью – от сосудов, но при этом необходимо тщательно обрабатывать поясничные артерии и вены, которые нередко служат источником массивного интраоперационного кровотечения.

Вопрос о необходимости адrenaлэктомии при МРРП широко дискутируется. Большинство авторов обсуждают риск метастазов в надпочечниках и преимущества адrenaлэктомии в отношении выживаемости. Прямое врастание рака почки в надпочечник практически не рассматривается. Несомненно, что при обнаружении опухолевых изменений в надпочечнике при компьютерной томографии его удаление необходимо. В неизменном по данным радиологического и пальпаторного исследования надпочечнике метастазы встречаются казуистически редко. Риск метастатического поражения обоих надпочечников одинаков [7]. По некоторым данным, адrenaлэктомия не увеличивает специфическую выживаемость [7; 8]. Поэтому ряд авторов предлагают сохранять ипсилатеральный надпочечник у больных МРРП в отсутствие радиологических признаков его поражения [9].

Мы выполняем адrenaлэктомию большинству больных МРРП. Такая тактика объясняется целым рядом причин. При массивных опухолях детальное изучение структуры надпочечника при компьютерной томографии, а тем более его адекватная интраоперационная ревизия затруднительны и исключить метастазы в надпочечнике сложно. Кроме того, во время нефрэктомии невозможно различить перифокальное воспаление и истинное врастание опухоли почки в надпочечник (2%). Следует учитывать, что во время мобилизации массивной почки попытка сохранения надпочечника может привести к оставлению опухоли по краю хирургического разреза. При этом риск развития надпочечниковой недостаточности после односторонней адrenaлэктомии стремится к нулю.

Врастание опухоли почки в соседние органы служит показанием к расширению объема хирургического вмешательства, если технически возможно полное удаление всех определяемых опухолевых масс. Объем операции выбирают индивидуально в зависимости от особенностей пораженной анато-

мической зоны [3; 5]. В нашей серии случаев расширенная операция потребовалась 10,3% больных, при этом в 50% случаев для достижения онкологического радикализма была необходима резекция более одного смежного органа. Подобные операции требуют навыков абдоминальной и сосудистой хирургии и могут быть выполнены только в специализированных клиниках.

Мы считаем, что расширенная лимфаденэктомия необходима всем больным МРРП, так как она позволяет правильно оценить категорию N и увеличить выживаемость пациентов. Точная дооперационная оценка состояния регионарных лимфатических узлов невозможна. В нашей серии наблюдений регионарные метастазы выявлены у 9,7% пациентов с неувеличенными лимфатическими узлами. Сходные данные (10%) получили U.E. Studer и F.D. Birkhäuser (2009), проанализировав результаты лимфодиссекции при раке почки T₃ [10]. В то же время в 32,6% случаев мы не обнаружили опухолевых клеток в лимфатических узлах размером ≥ 1 см. В раннем исследовании, проведенном U.E. Studer и соавт. (1990), этот показатель был еще выше и составил 58% [11]. Мы предприняли попытку выделения дооперационных факторов риска регионарного метастазирования рака почки, однако единственным независимым прогностическим фактором являлась категория cN. Другими авторами разработаны номограммы, позволяющие прогнозировать вероятность поражения регионарных лимфатических узлов, но их практическое применение неудобно из-за необходимости срочного гистологического исследования, а прогностическая эффективность недостаточна [12; 13]. Поэтому лимфодиссекция пока является единственным методом адекватной оценки категории N.

В данной работе не было контрольной группы с неудаленными регионарными метастазами, поэтому мы не можем судить о влиянии лимфодиссекции на продолжительность жизни. По нашим данным, медиана специфической продолжительности жизни при поражении одного лимфатического узла составляет 33 мес, при поражении более одного лимфатического узла – 17 мес.

Результаты большинства ретроспективных нерандомизированных исследований свидетельствуют об улучшении специфической выживаемости при выполнении лимфаденэктомии у пациентов данной категории [12; 14; 15]. В регистровом исследовании группы A.J. Pantuck показано увеличение выживаемости больных с категорией pN⁺, которым была проведена расширенная лимфаденэктомия [14].

Еще одним доводом в пользу выполнения забрюшинной лимфаденэктомии при МРРП, по нашему мнению, является относительная безопасность этого вмешательства. Несмотря на расширенный объем лимфодиссекции, ни у одного из 348 наших пациентов не зарегистрировано клинически значимой лимфореи. Это совпадает с мнением других хирургов [12; 14].

В связи со значительной вариабельностью путей лимфооттока не существует стандартных границ лимфодиссекции при почечноклеточном раке. При опухолях T₃₋₄N_x мы удаляем лимфатические ткани, расположенные в аортокавальном промежутке, а также лимфатические узлы, окружающие аорту (при левостороннем поражении) или НПВ (при правостороннем поражении), от ножек диафрагмы до бифуркации аорты. Используемые нами границы несколько шире границ, применяе-

мых в других клиниках [12–14]. Расширение границ лимфодиссекции ниже устья нижней брыжеечной артерии не приводило к лимфоре у наших больных. Учитывая хорошие результаты хирургического лечения диссеминированного рака почки у больных с солитарными и единичными метастазами в паренхиматозных органах, полученные ранее в РОНЦ [16], мы полагаем, что радикальное удаление метастазов в регионарных лимфатических узлах потенциально может увеличивать выживаемость пациентов с категорией N^+ .

В связи с этим при обнаружении увеличенных лимфатических узлов за пределами зон регионарного метастазирования (6,6%) мы стремимся к их радикальному удалению. Длительность операции при раке почки $T_{3a-4}N_0/M_0$ существенно варьирует в зависимости от распространенности опухолевого процесса и составляет в среднем 150 мин. Медиана операционной кровопотери приемлемая (500 мл). По нашим данным, частота интраоперационных осложнений составляет 9,4%, в их структуре доминируют массивная кровопотеря (6,3%) и ранения соседних органов (3,1%). Послеоперационные осложнения регистрируются у 18,4% пациентов (тяжелые – у 7,8%); повторные операции требуются в 1,1% случаев. Послеоперационная летальность составляет 2,7%. Эти результаты сходны с данными крупной ($n = 688$) серии наблюдений MSKCC [17]. Независимым фактором риска послеоперационных осложнений и смерти является нефрэктомия с резекцией соседних органов и тканей. М. Е. Karellas et al. (2009) также отмечают высокий операционный риск в группе больных МРРП, нуждающихся в расширенных операциях [3].

При анализе результатов гистологического исследования опухолей, удаленных у больных МРРП, обращает на себя внимание высокая частота выявления общепризнанных факторов неблагоприятного прогноза. Так, у 3,2% наших пациентов был выявлен саркомоподобный компонент почечной аденокарциномы и у $1/3$ была констатирована степень анаплазии G_3 . Некоторые авторы также подчеркивают высокую частоту анаплазии G_3 [5; 18] и саркомоподобного компонента при местноинвазивных опухолях почки [3; 18].

Абсолютное большинство авторов отмечают, что прогноз при МРРП хуже, чем при локализованных опухолях [19; 20].

Несмотря на радикальный характер хирургического вмешательства, в среднем через 10,5 мес после операции у $1/3$ больных наблюдается прогрессирование заболевания, проявляющееся в большинстве случаев диссеминацией опухоли. Это диктует необходимость тщательного динамического наблюдения, частота которого должна быть наиболее высокой в течение 1-го года после окончания лечения. В нашей серии наблюдений 5-летняя общая, специфическая и безрецидивная выживаемость составила 55,8; 59 и 45,1% соответственно.

МРРП – прогностически неоднородная группа опухолей.

В однофакторном анализе мы отметили неблагоприятное влияние на специфическую выживаемость категорий T_4 и pN^+ , а также несветлоклеточного варианта почечноклеточного рака, наличия саркомоподобного компонента в опухоли, степени анаплазии $G > G_1$ и нерадикального хирургического вмешательства. Многофакторный анализ подтвердил независимую прогностическую значимость категорий pT и pN и степени анаплазии G , что соответствует данным литературы [19; 20]. По нашим данным, количество независимых факторов риска влияет на прогноз: медиана специфической продолжительности жизни у пациентов без неблагоприятных признаков не достигнута, у больных с 1 фактором риска составляет 94,3 мес, а при наличии 2–3 неблагоприятных прогностических факторов сокращается до 17 мес. Тем не менее, несмотря на низкую выживаемость больных из группы с неблагоприятным прогнозом (2–3 фактора риска), перенесших хирургическое лечение, отдельные пациенты переживают длительные сроки наблюдения. В литературе также имеются сообщения о высокой продолжительности жизни больных с категориями $pT_4N^+G_3$, перенесших радикальную операцию [3; 5]. Тем не менее мы полагаем, что у пациентов из группы с неблагоприятным прогнозом решение о необходимости хирургического лечения должно приниматься крайне взвешенно.

Заключение

Таким образом, радикальное хирургическое лечение больных МРРП без опухолевого венозного тромбоза технически возможно в 97,1% случаев. Хирургическое вмешательство должно выполняться по стандартным принципам, предусматривающим удаление почки с паранефрием в пределах фасции Герота, и должно включать расширенную забрюшинную лимфодиссекцию; ипсилатеральная адреналэктомия оправдана при массивных опухолях, поражении верхнего полюса почки, при подозрении на метастатическое или местноинвазивное поражение надпочечника. Риск острой надпочечниковой недостаточности после адреналэктомии минимальный. Вростание опухоли почки в соседние органы служит показанием к их резекции.

Несмотря на большой объем хирургического вмешательства, радикальная нефрэктомия при опухолях $T_{3a-4}N_0/M_0$ – относительно безопасная операция. Частота интраоперационных осложнений составляет 9,4%, тяжелых послеоперационных осложнений – 7,8%, послеоперационная летальность – 2,7%. МРРП – прогностически неоднородная группа опухолей. Независимыми факторами, ухудшающими специфическую выживаемость, являются категории pT и pN и степень анаплазии G . Количество факторов риска влияет на прогноз: медиана специфической продолжительности жизни в отсутствие факторов риска не достигнута, при наличии 1 фактора составляет 94,3 мес, при наличии 2–3 факторов – 17 мес.

Литература

1. Mathematical model to predict individual survival for patients with renal cell carcinoma / Zisman A., Pantuck A. J., Dorey F., Chao D. H., Gitlitz B. J., Moldawer N., Lazarovici D., deKernion J. B., Figlin R. A., Beldegrun A. S. // J. Clin. Oncol. – 2002. – Vol. 20. – P. 1368–1374.
2. Neoadjuvant and adjuvant treatment of renal cell carcinoma / Thillai K., Allan S., Powles T., Rudman S., Chowdhury S. / Expert Rev. Anticancer. Ther. – 2012. – Vol. 12, N 6. – P. 765–776.

3. Advanced Stage Renal Cell Carcinoma Treated by Radical Nephrectomy and Adjacent Organ or Structure Resection / Karellas M. E., Jang T. L., Kagiwada M. A., Kinnaman M. D., Jarnagin W. R., Russo P. // *B. J. U. Int.* – 2009. – Vol. 103, N 2. – P. 160–164.
4. Robson C. J., Churchill B. M., Anderson W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma // *J. Urol.* – 1969. – Vol. 101. – P. 297–301.
5. Surgical resection for locally invasive renal cell carcinoma: Is it worthwhile? / Suraj M., Ramachandra C., Murthy V., Murthy P. S., Prabhakaran P. S., Satya Suresh Attili V. // *Indian J. Urol.* – 2007. – Vol. 23, N 3. – P. 246–249.
6. Lymphadenectomy improves survival of patients with renal cell carcinoma and nodal metastases / Whitson J. M., Harris C. R., Reese A. C., Meng M. V. // *J. Urol.* – 2011. – Vol. 185. – P. 1615–1620.
7. Routine adrenalectomy in patients with locally advanced renal cell cancer does not offer oncologic benefit and places a significant portion of patients at risk for an asynchronous metastasis in a solitary adrenal gland / Weight C. J., Kim S. P., Lohse C. M., Cheville J. C., Thompson R. H., Boorjian S. A., Leibovich B. C. // *Eur. Urol.* – 2011. – Vol. 60. – P. 458–464.
8. The necessity of adrenalectomy at the time of radical nephrectomy: a systematic review / O'Malley R. L., Godoy G., Kanofsky J. A., Taneja S. S. // *J. Urol.* – 2009. – Vol. 181. – P. 2009–2017.
9. Ipsilateral adrenal involvement from renal cell carcinoma: retrospective study of the predictive value of computed tomography / Sawai Y., Kinouchi T., Mano M., Meguro N., Maeda O., Kuroda M., Usami M. // *Urology.* – 2002. – Vol. 59. – P. 28–31.
10. Studer U. E., Birkhäuser F. D. Lymphadenectomy combined with radical nephrectomy: to do or not to do? // *Eur. Urol.* – 2009. – Vol. 55. – P. 35–37.
11. Enlargement of regional lymph nodes in renal cell carcinoma is often not due to metastases / Studer U. E., Scherz S., Scheidegger J., Kraft R., Sonntag R., Ackermann D., Zingg E. J. // *J. Urol.* – 1990. – Vol. 144. – P. 243–245.
12. A protocol for performing extended lymph node dissection using primary tumor pathological features for patients treated with radical nephrectomy for clear cell renal cell carcinoma / Blute M. L., Leibovich B. C., Cheville J. C., Lohse C. M., Zincke H. // *J. Urol.* – 2004. – Vol. 172. – P. 465–469.
13. Lymph node dissection at the time of radical nephrectomy for high-risk clear cell renal cell carcinoma: indications and recommendations for surgical templates / Crispen P. L., Breaux R. H., Allmer C., Lohse C. M., Cheville J. C., Leibovich B. C., Blute M. L. // *Eur. Urol.* – 2011. – Vol. 59. – P. 18–23.
14. Renal cell carcinoma with retroperitoneal lymph nodes: role of lymph node dissection / Pantuck A. J., Zisman A., Dorey F., Chao D. H., Han K. R., Said J., Gitlitz B. J., Figlin R. A., Belldegrun A. S. // *J. Urol.* – 2003. – Vol. 169. – P. 2076–2083.
15. Margulis V., Wood C. G. The role of lymph node dissection in renal cell carcinoma: the pendulum swings back // *Cancer J.* – 2008. – Vol. 14. – P. 308–314.
16. Матвеев В. Б. Хирургическое лечение осложненного венозной инвазией и метастатического рака почки: Дис... д-ра мед. наук. – М., 2002.
17. Abreu S. C., Finelli A., Gill I. S. Management of Localized Renal Cell Carcinoma // *Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology* / Vogelzang N. J. (ed.). – 3d ed. – LWW, 2006. – P. 725–765.
18. Results of curative or non-curative nephrectomy for renal cell carcinoma invading adjacent organs / Watanabe K., Ikado S., Hirabayashi N., Ogawa A., Tomita Y., Wajiki M. // *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi.* – 1992. – Vol. 83, N 8. – P. 1238–1243.
19. Independent validation of the 2010 American Joint Committee on Cancer TNM classification for renal cell carcinoma: results from a large, single institution cohort / Kim S. P., Alt A. L., Weight C. J., Costello B. A., Cheville J. C., Lohse C., Allmer C., Leibovich B. C. // *J. Urol.* – 2011. – Vol. 185. – P. 2035–2039.
20. Prognostic significance of perinephric fat infiltration and tumor size in renal cell carcinoma / Yoo C., Song C., Hong J. H., Kim C. S., Ahn H. // *J. Urol.* – 2008. – Vol. 180, N 2. – P. 486–491.

Поступила 11.07.2014.

СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

МРРП	– местнораспространенный (T _{3a-4}) рак почки
НПВ	– нижняя полая вена
ОР	– отношение рисков
ОШ	– отношение шансов
СПОН	– синдром полиорганной недостаточности
AUC	– площадь под характеристической кривой

© Гаряев Р. В., Костяк О. С., 2014

УДК 616.717/.718-005.6:616.728.3-089:615.477.22

Роман Владимирович Гаряев¹, Оксана Степановна Костяк²**ЧАСТОТА ТРОМБОЗА ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПРИ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО ИЛИ КОЛЕННОГО СУСТАВА ИЛИ ПРИ ТОТАЛЬНОМ ПРОТЕЗИРОВАНИИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**¹ к. м. н., старший научный сотрудник, отделение анестезиологии и реанимации НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»² Врач-анестезиолог, отделение анестезиологии и реанимации НИИ клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»**Адрес для переписки:** 115478 г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», отделение анестезиологии-реанимации, Гаряев Роман Владимирович;**e-mail:** romvga@mail.ru

В ретроспективном исследовании мы оценивали частоту тромбоза вен нижних конечностей по данным ультразвукового дуплексного сканирования у 374 больных, прошедших хирургическое лечение в объеме удаления опухоли кости с последующим эндопротезированием тазобедренного/коленного сустава или тотальным протезированием бедренной кости в условиях комбинации общего и продленного регионарного обезболивания. До операции частота образования тромбов в венах нижних конечностей составила:

- перед эндопротезированием тазобедренного сустава – 15,2%,
- перед эндопротезированием коленного сустава – 2,8%,
- перед тотальным протезированием бедренной кости – 0.

Тромбы в венах нижних конечностей были обнаружены после операции:

- эндопротезирование тазобедренного сустава – у 14,3% больных,
- эндопротезирование коленного сустава – у 5,8%,
- тотальное протезирование бедренной кости – у 16,7% пациентов.

Применение низкомолекулярного гепарина в профилактической дозе после эндопротезирования тазобедренного сустава не увеличивало объем периоперационной кровопотери.

Предложен прототип локального протокола профилактики венозных тромбозомболических осложнений у больных данной категории.

Ключевые слова: тромбоз вен нижних конечностей, эндопротезирование суставов.

Введение

ВТЭО, к которым относят ТГВ, тромбоз подкожных вен (тромбофлебит) и (ТЭЛА, наиболее распространены у пациентов хирургического профиля, что связано с дегидратацией организма, с повреждением тканей и сосудов во время операции, с использованием гемостатического жгута, с недостаточным обезболиванием, иммобилизацией и другими факторами. Немаловажную роль в возникновении ВТЭО играют три группы факторов:

- 1) соматический статус пациента (тромбофилия, тяжелые заболевания сердца и легких, заболевания центральной или периферической нервной системы с парезом или пlegией конечностей, сепсис, острая инфекция, онкологические заболевания, воспалительные заболевания толстой кишки, нефротический синдром, миелопролиферативные заболевания, возраст старше 40 лет, метаболический синдром, варикоз вен нижних конечностей);
- 2) различные виды лечения (гормонотерапия, в том числе – применение эстрогенсодержащих контрацептивных препаратов, химиотерапия, радиотерапия, применение селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов);
- 3) местные нарушения (сдавливании вен опухолью, гематомой или вследствие отека конечности) [1–10].

Пациенты с новообразованиями костей, подвергающиеся удалению опухоли с резекцией кости и последующим эндопротезированием тазобедренного или коленного сустава или тотальным протезированием бедренной кости, относятся к группе высокого риска развития ВТЭО как в силу прово-

димого лечения, так и в силу основного заболевания [1–13].

Цели исследования:

- 1) определить частоту возникновения тромбов в венах нижних конечностей при эндопротезировании крупных суставов нижних конечностей у онкологических больных;
- 2) разработать прототип локального протокола профилактики ВТЭО у больных данной категории на основе действующих отраслевых приказов и отечественных и международных рекомендаций.

Материалы и методы

Проведено одноцентровое ретроспективное исследование, в которое включены данные, полученные в РОНЦ им. Н.Н. Блохина в 2006–2013 гг. при хирургическом лечении 374 больных (ASA I–III) в объеме удаления опухоли кости с последующим эндопротезированием тазобедренного или коленного сустава или тотальным протезированием бедренной кости. Для обезболивания применяли общую или спинальную анестезию в комбинации с периоперационной эпидуральной или проводниковой анальгезией. Общая анестезия включала индукцию (фентанил, 100–200 мкг, пропофол, 1,2–1,5 мг/кг, рокурония бромид, 0,6 мг/кг, интубация трахеи, низкопоточная искусственная вентиляция легких со скоростью 1 л/мин) и поддержание анестезии (севофлуран 0,8–1,0 минимальной альвеолярной концентрации). Для эпидуральной анальгезии перед вводным наркозом устанавливали катетер № 18G (Perifix ONE, B|Braun, Германия) на уровне L_{III}–L_{IV}. Эпидурально подключали смесь, содержащую в 1 мл 2 мг ропивакаина (Наропина),

2 мгк фентанила и 2 мгк адреналина, со скоростью 5 мл/ч. Блокаду периферических нервов выполняли с помощью нейростимуляции (Plexival, Argon, Италия) и ультразвуковой навигации (SiteRite 5, Bard Access Systems, Inc., США). Для каждой блокады использовали 0,2 %-ный раствор ропивакаина по 20 мл с последующим проведением перинеурального катетера (Contiplex Tuohy, Contiplex D, B|Braun, Германия). Комбинированную спинально-эпидуральную анестезию выполняли на уровне L_{III}–L_{IV} методом «игла через иглу» с помощью одноразового набора Portex Regional Anaesthesia Tray 27G/18G (Smiths Medical ASD, Inc., США). Субарахноидально вводили изобарический бупивакаин (Маркаин спинал), 10–12,5 мг, или гипербарический ропивакаин, 15 мг (готовили ex tempore путем смешивания 1,5 мл 1 %-ного раствора ропивакаина и 1,5 мл 5 %-ного раствора глюкозы (B|Braun)). Затем устанавливали эпидуральный катетер и начинали эпидуральную инфузию со скоростью 5 мл/ч. Комбинированную спинально-проводниковую анестезию проводили в определенной последовательности: сначала выполняли блокаду периферических нервов с установкой перинеуральных катетеров, затем спинальную анестезию бупивакаином или ропивакаином иглой Pencan № 25G (B|Braun, Германия). Использовали такие же концентрации и дозы местных анестетиков, как и в предыдущих группах. В послеоперационном периоде всем больным в течение как минимум 3 сут назначали продленную эпидуральную или проводниковую анальгезию. Эпидурально вводили указанную трехкомпонентную смесь, перинеурально – 0,2 %-ный раствор ропивакаина, средняя скорость продленного регионарного обезболивания составила 5–6 мл/ч. При неэффективности обезболивания назначали внутримышечно 100 мг трамадола или 20 мг тримеперидина (Промедол).

Для профилактики тромбоза вен утром перед операцией на здоровую ногу надевали противоэмболические чулки дозированной компрессии или бинтовали здоровую ногу эластичным бинтом до верхней трети бедра. Перед операцией и через 3–7 сут после операции всем пациентам выполняли УЗДС вен нижних конечностей. До операции и в течение первой послеоперационной недели определяли показатели системы гемостаза – АЧТВ, концентрацию фибриногена и протромбина, МНО, протромбиновое время, уровень D-димера, количество тромбоцитов в крови больного.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0, 2006 г (Statsoft Inc., США). Количественные признаки представляли в виде медианы и квартилей (25-й процентиль, 75-й процентиль), качественные – в долях от общего (процентах). Для сравнения двух несвязанных групп по количественному признаку применяли U-критерий Манн-Уитни. Критической величиной уровня значимости считали 0,05.

Результаты

Эндопротезирование крупных суставов нижних конечностей в онкологической клинике выполняли в основном молодым пациентам (коленный сустав, тотальное протезирование бедренной кости) или лицам среднего возраста (тазобедренный сустав). Мужчин было несколько больше, чем женщин, за исключением группы эндопротезирования тазобедренного сустава (табл. 1).

Первичное поражение костей чаще отмечалось в группе эндопротезирования коленного сустава и в группе тотального протезирования бедра, метастатическое – в группе тазобедренного эндопротезирования. В группе эндопротезирования коленного сустава было наибольшее количество ревизионных вмешательств (20%).

Частота тромбозов вен

До операции по данным ультразвукового исследования тромбы в венах нижних конечностей были у 15,2% больных с поражением проксимального отдела бедренной кости, которым предстояло эндопротезирование тазобедренного сустава, и у 2,8% пациентов с поражением дистального отдела бедренной или проксимального отдела большеберцовой кости (претенденты на эндопротезирование коленного сустава). У остальных пациентов тромбов не обнаружено.

У больных с первоначально интактными сосудами тромбы в венах нижних конечностей в раннем послеоперационном периоде обнаружены: после тотального протезирования бедренной кости – в 16,7% случаев, после эндопротезирования тазобедренного сустава – в 14,3% случаев, после эндопротезирования коленного сустава – в 5,8% случаев.

Чаще тромбы образовывались в течение первой послеоперационной недели, однако во всех группах случаи тромбоза наблюдались и в более поздние сроки (8–15-е сутки).

В пораженной конечности тромбы появлялись значительно чаще: как до операции – у 15 (83%) из 18, так и после нее – у 24 (86%) из 28, что, несомненно, свидетельствует о преобладании местных факторов тромбообразования у больных данной категории (препятствие оттоку крови вследствие сдавливания сосудов опухолью и вследствие послеоперационного отека конечности, хирургическая травма тканей).

В то же время нельзя не отметить появление тромбов и в здоровой конечности, что связано с многочисленными причинами, действующими на уровне всего организма (перечислены ранее).

О реальной угрозе ТЭЛА можно судить по частому обнаружению тромботических масс в магистральных венах нижних конечностей.

Немалый диаметр этих сосудов допускает формирование кровяных сгустков большого размера, а значительная скорость кровотока создает предпосылки к их частичному (с формированием флотирующего компонента) или полному отрыву. Именно по этим показаниям (флотирующий тромб в крупном венозном сосуде) в группе эндопротезирования тазобедренного сустава 4 больным до операции и 2 – через 2 нед после вмешательства установлены кава-фильтры.

Медикаментозная профилактика и лечение ВТЭО

Больным с тромбами, выявленными до или после операции, сразу назначали НМГ в лечебной дозе на весь период пребывания в стационаре. Остальные пациенты не получали до операции антикоагулянты.

После операции пациентам, у которых не были обнаружены тромбы в венах нижних конечностей, все же назначали НМГ в профилактической дозе в течение 10 дней (эноксапарин 40 мг/сут, надропарин 0,3 мл/сут), однако большинству больных медикаментозная профилактика ВТЭО не проводилась. Это зависело от наличия или отсутствия НМГ в клинике.

Таблица 1

Сравнительная характеристика групп, участвовавших в исследовании

Характеристика	Группа		
	Тотальное протезирование бедренной кости	Эндопротезирование Тазобедренного сустава	Эндопротезирование коленного сустава
Возраст, годы	26 (19–40)	53 (32–62)	28 (21–42)
Масса тела, кг	69 (61–78)	71 (61–81)	69 (58–82)
Индекс массы тела, кг/м ²	24,5 (20–27,7)	25,1 (22–29)	24 (19,7–28,2)
Мужчины	13 (54%)	26 (39%)	152 (54%)
Женщины	11 (46%)	40 (61%)	132 (46%)
Полихимиотерапия перед операцией	13 (54%)	22 (33%)	116 (41%)
Пневмоторникет	0	0	122 (43%)
Первичная опухоль кости	23 (96%)	35 (53%)	277 (98%)
Метастатическое поражение кости	1 (4%)	31 (47%)	7 (2%)
Патологический перелом	6 (25%)	28 (42%)	13 (5%)
Первичное эндопротезирование	22 (92%)	62 (94%)	213 (75%)
Ревизионное эндопротезирование	1 (4%)	4 (6%)	57 (20%)
Коррекция эндопротеза	1 (4%)	0	9 (3%)
Удаление эндопротеза	0	0	5 (2%)
Кровопотеря во время операции, мл	1600 (1000–2250)	700 (500–1500)	500 (400–800)
Продолжительность операции, мин	285 (245–340)	190 (150–240)	160 (130–200)
Всего	24	66	284

Таблица 2

Объем кровопотери при эндопротезировании тазобедренного сустава в зависимости от применения НМГ

НМГ	Кровопотеря, мл		
	интраоперационная	послеоперационная	общая
назначали	600 (500–1300)	425 (280–785)	1100 (770–1800)
не назначали	750 (500–1700)	500 (320–850)	1120 (900–2630)
p (по критерию Манна–Уитни)	0,6811	0,2565	0,4823

Общее число пациентов, получивших НМГ как для лечения выявленного венозного тромбоза, так и для профилактики ВТЭО, составило в группе эндопротезирования тазобедренного сустава 47% (31/66), в группе эндопротезирования коленного сустава – 9% (25/284), в группе тотального протезирования бедренной кости – 21% (5/24).

При оценке влияния НМГ на объем кровопотери в группе эндопротезирования тазобедренного сустава оказалось, что применение НМГ не увеличивало кровопотерю ни на одном из этапов периоперационного периода.

ТЭЛА

Клинических признаков ТЭЛА не было зафиксировано ни у одного больного.

Обсуждение

Частота тромбоза вен нижних конечностей после эндопротезирования крупных суставов существенно различается в зависимости от наличия или отсутствия медикаментозной профилактики. Без профилактики частота тромбоза может достигать при эндопротезировании тазобедренного сустава – 42–57%, при эндопротезировании коленного сустава – 41–85%, а частота ТЭЛА – 0,9–28 и 1,5–10%

соответственно, из них фатальная ТЭЛА составляет 0,1–2 и 0,1–1,7% соответственно [12].

По результатам мета-анализа 17 рандомизированных контролируемых исследований, медикаментозная профилактика статистически значимо снижала относительный риск ТГВ (0,56 при 95 %-ном ДИ 0,47–0,68) [10].

В настоящее время вопрос о том, проводить или не проводить медикаментозную профилактику ВТЭО при данных вмешательствах, не обсуждается. Как отмечено выше, онкологические пациенты, которым выполняют эндопротезирование крупных суставов конечностей, относятся к группе высокого риска ВТЭО. В Российской Федерации еще с 2003 г. для данной группы пациентов действует приказ № 233, в соответствии с которым необходимо начать введение либо НФГ за 2 ч до операции, либо НМГ – за 12 ч до операции и продолжать введение в течение как минимум 10 дней [1]. Отсутствие в клинике препаратов, нежелание врача проводить профилактику ВТЭО или иные причины вряд ли могут служить оправданием неисполнения действующего Приказа Министерства здравоохранения РФ. Для отказа от профилактики ВТЭО необходимы более веские основания, например проведение клинического исследования по данной тематике, одобренного этическим комитетом.

Таблица 3

Нейроаксиальные блокады и антитромботические средства (рекомендации Европейского общества анестезиологов, 2010 [15])

Лекарственные средства	Период времени ^а		Лабораторные тесты
	Между отменой препарата и пункцией, постановкой/удалением эпидурального катетера	Между пункцией, постановкой/удалением эпидурального катетера и назначением препарата	
НФГ (для профилактики, ≤ 15 000 ед/сут)	4–6 ч	1 ч	Тромбоциты при длительности применения более 5 дней
НФГ (для лечения)	При в/в введении – 4–6 ч, при п/к – 8–12 ч	1 ч	АЧТВ, активированное время свертывания, тромбоциты
НМГ (для профилактики ^б)	12 ч	4 ч	Тромбоциты при длительности применения более 5 дней
НМГ (для лечения)	24 ч	4 ч	Тромбоциты при длительности применения более 5 дней
Фондапаринукс (для профилактики, 2,5 мг/сут)	36–42 ч	6–12 ч	Анти-Ха фактор, стандартизированный по специфическому агенту
Ривароксабан (для профилактики, 10 мг ежедневно)	22–26 ч	4–6 ч	ПВ, стандартизированное по специфическому агенту
Апиксабан (для профилактики, 2,5 мг 2 раза в сутки)	26–30 ч	4–6 ч	–
Дабигатран (для профилактики, 150–220 мг)	Противопоказан в соответствии с рекомендациями производителя	6 ч	–
Кумарины	МНО ≤ 1,4	После удаления катетера	МНО
Гирудины (лепирудин, дезирудин)	8–10 ч	4 ч	АЧТВ, активированное время свертывания
Аргатробан ^в	4 ч	2 ч	АЧТВ, активированное время свертывания
Ацетилсалициловая кислота (аспирин)	Нет ограничений	Нет ограничений	–
Клопидогрел	7 сут	После удаления катетера	–
Тиклопидин	10 сут	После удаления катетера	–
Прасургел	7–10 сут	Через 6 ч после удаления катетера	–
Тикагрелор	5 сут	Через 6 ч после удаления катетера	–
Цилостазол	42 ч	Через 5 ч после удаления катетера	–
НПВП	Нет ограничений	Нет ограничений	–

^а Все временные интервалы рассчитаны на пациентов с нормальной функцией почек.
^б Максимальные профилактические дозы НМГ соответствуют рекомендациям производителей.
^в Временные интервалы удлиняются у пациентов с печеночной недостаточностью.

В 2009 г. утверждены «Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений» [2]. Через 2 года на совещании экспертов утверждены «Российские клинические рекомендации по профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений в травматологии и ортопедии» [3]. В том же году Ассоциация флебологов России представила вариант «Российских клинических рекомендаций по профилактике и лечению венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений у онкологических больных» [4]. Кроме того, существуют многочисленные международные рекомендации по профилактике ВТЭО, которые регулярно обновляются на основе данных последних рандомизиро-

ванных клинических исследований, систематических обзоров и мета-анализов [5–11].

Учитывая многообразие существующих рекомендаций и постоянное их обновление, представляется целесообразным разработать локальный (утвержденный и действующий в пределах одного учреждения) стандарт профилактики ВТЭО для данной категории больных, который, с одной стороны, не противоречил бы нормативным документам, а с другой – включал бы все новейшие лекарственные препараты и данные доказательной медицины. Необходимость локального стандарта продиктована еще и тем, что в лечебных учреждениях, в которых часто используются нейроаксиальные блокады (спинальная или эпидуральная анесте-

зия/анальгезия), должен быть утвержден письменный протокол, устанавливающий порядок действий врача-анестезиолога при проведении антикоагулянтной терапии и порядок действий лечащего врача, удаляющего эпидуральный катетер или проводящего антикоагулянтную терапию у больного с продленной нейроаксиальной блокадой.

В соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ, а также с учетом отечественных и международных рекомендаций общая схема профилактики ВТЭО при эндопротезировании крупных суставов нижних конечностей у онкологических больных в НИИ КО ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» должна выглядеть следующим образом:

1. Медикаментозная профилактика:

- а. НМГ (эноксапарин, надропарин, далтепарин, бемипарин) в профилактической дозе, рекомендуемой производителем для группы высокого риска; первое введение – за 12 ч до операции, затем – один раз в сутки в течение 35 сут;
- б. ривароксабан, 10 мг внутрь 1 раз в сутки в течение 35 сут, первый прием – через 6–10 ч после операции;
- в. апиксабан, 2,5 мг внутрь 2 раза в сутки, первый прием – через 12–24 ч после вмешательства, продолжительность профилактики – 32–38 сут (при эндопротезировании коленного сустава – не менее 10–14 сут).
- г. НФГ из-за меньшей эффективности и безопасности применяют только в тех случаях, когда невозможно использование указанных препаратов; обычная суточная доза НФГ составляет 5000 МЕ; препарат вводят подкожно 3 раза в сутки, первый раз – за 4–6 ч до операции или через 6–8 ч после нее; оптимальная продолжительность профилактики составляет до 35 сут после операции, минимальная – не менее 10 сут.

2. Механическая профилактика.

Используют противоэмболические чулки дозированной компрессии (функциональный класс подбирается в зависимости от наличия хронических заболеваний вен по шкале, рекомендуемой производителем) или эластичное бинтование ног, которое проводит специально обученный персонал. Механическую профилактику начинают с момента поступления больного в стационар и продолжают в течение всего срока пребывания в нем, до выписки. Наиболее эффективными способами механической профилактики являются перемежающаяся пневматическая компрессия нижних конечностей и венозный насос для стопы, однако РОНЦ не располагает данными методами.

Некоторые особенности профилактики ВТЭО

Начинать вводить антикоагулянты после операции можно только при условии, что обеспечен гемостаз. При высоком риске кровотечений или активном кровотечении профилактику ВТЭО следует начинать с использования механических средств. После устранения опасности кровотечения дополнительно назначают антикоагулянты. Длительность профилактики ВТЭО после эндопротезирования тазобедренного сустава должна составлять не менее 35 сут (до полной активизации). Аналогичная длительность профилактики оправдана и

после эндопротезирования коленного сустава, особенно если существуют другие факторы риска ВТЭО, включая длительное ограничение двигательной активности.

НМГ по сравнению с НФГ более эффективен, более безопасен в плане развития больших и малых кровотечений и не требует мониторинга коагулограммы [13]. К преимуществам новых пероральных антикоагулянтов помимо возможности приема внутрь относятся быстрое начало действия (в пределах 2 ч), использование фиксированных доз без необходимости мониторингирования антикоагулянтного действия, отсутствие иммунной тромбоцитопении, малое число лекарственных взаимодействий, а также прием первой дозы после операции при использовании для профилактики ТГВ [14].

Учитывая требования Американского общества регионарной анестезии (см. ниже), мы не можем рекомендовать фондапаринукс (полученный путем химического синтеза каталитический центр молекул гепарина, ответственный за их связь с антитромбином).

Мы не можем также рекомендовать для медикаментозной профилактики ВТЭО у данной категории больных антагонисты витамина К (варфарин, аценокумарол, фениндион), так как в процессе их приема (по определенной схеме) необходимо достичь и поддерживать МНО на уровне 2,5 (2,0–3,0) [2]. В таких условиях не представляется возможным безопасно (без риска возникновения эпидуральной гематомы) удалить установленный перед операцией эпидуральный катетер.

Мы не можем рекомендовать дабигатран, первую дозу которого, по предписаниям производителя, следует принимать не ранее чем через 2 ч после удаления эпидурального катетера. Учитывая сроки продленной регионарной анестезии в НИИ КО ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» при операциях эндопротезирования (не менее 3 сут, в среднем 4–5 сут), а также частое обнаружение тромбов на 3 сутки после операции, такая отсроченная профилактика вряд ли приемлема.

Лабораторное обследование имеет две цели – выявление тромбоза вен и контроль эффективности и безопасности применения антикоагулянтов.

1. Повышенный уровень D-димера в крови свидетельствует об активном тромбообразовании, но не позволяет судить о локализации тромба. Наибольшую чувствительность (более 90%) обеспечивают количественные методы определения уровня D-димера, основанные на иммуноферментном (ELISA) или иммунофлюоресцентном (ELFA) анализе. Высокой чувствительностью обладают также количественные экспресс-методы, основанные на фотометрическом определении агглютинации частиц латекса. Качественные и полуколичественные методы, основанные на визуальном определении агглютинации частиц латекса или эритроцитов, обладают меньшей чувствительностью (85–90%). Наряду с высокой чувствительностью тест имеет низкую специфичность. Образование фибрина и, соответственно, высокий уровень D-димера возможны при многих состояниях, в том числе – при опухолях, воспалении, инфекции, некрозе, после хирургических вмешательств и во время беременности, а также у пожилых людей и пациентов, находящихся в стационаре [1].

2. Кроме определения уровня Д-димера, проводят пред- и послеоперационный контроль числа тромбоцитов, АЧТВ, протромбинового времени, МНО, клиренса креатинина или скорости клубочковой фильтрации. Эти показатели необходимы для принятия решения о возможности использования нейроаксиальных блокад, в том числе – в случае планового предоперационного приема антитромботических препаратов, а также в качестве критериев эффективности и безопасности медикаментозной профилактики ВТЭО.

Инструментальное обследование. В настоящее время признано клинически и экономически нецелесообразным проведение всем больным УЗДС вен нижних конечностей [7]. Тем не менее, у больных данной категории предоперационное и послеоперационное УЗДС может быть полезным, так как позволит определить, следует ли переходить от профилактики ВТЭО к лечению венозного тромбоза.

Порядок проведения нейроаксиальных блокад. Для ограничения риска возникновения эпидуральной гематомы при спинальной или эпидуральной анестезии/анальгезии и при удалении эпидурального катетера на фоне медикаментозной профилактики ВТЭО ESA разработан специальный алгоритм действий [15].

Следует иметь в виду, что требования ASRA по применению антикоагулянтов и нейроаксиальных блокад значительно отличаются от европейских в сторону ужесточения ограничений. Так, согласно указаниям ASRA, до удаления эпидурально-перинеурального катетера противопоказано введение: НФГ, 7500 МЕ в виде внутривенной инфузии 3 раза в сутки, фондапаринукса, 2,5 мг/сут или менее, эноксапарина, 30–40 мг каждые 12 ч, далтепарина, 200 ед/кг/сут или 100 ед/кг 2 раза в сутки, дабигатрана, ривароксабана, 15–20 мг/сут, варфарина, аргатробана, бивалирудина, лепирудина [16].

Таким образом, проблема использования антикоагулянтов при продленных регионарных блокадах не ограничивается соблюдением временных интервалов, индивидуальных для каждого препара-

та и пациента (интервалы удлиняются при появлении признаков почечной недостаточности). Немалые трудности могут возникнуть при назначении лечения в случае обнаружения тромбов у пациента с эпидуральным катетером.

Локальные стандарты, утвержденные административным приказом по учреждению, могли бы стать руководством к действию для всех сотрудников, принимающих участие в лечении пациентов этой непростой категории. Утвержденный местный стандарт необходимо пересматривать и обновлять не реже 1 раза в 3 года.

Заключение

Эндопротезирование крупных суставов нижних конечностей, тем более у онкологических больных, резко повышает вероятность ВТЭО независимо от наличия других факторов риска. У таких пациентов обязательна не только механическая, но и медикаментозная профилактика тромботических осложнений, поскольку частота ТГВ остается высокой, а его последствия могут быть самыми непредсказуемыми и печальными.

Выводы

1. До операции частота образования тромбов в венах нижних конечностей составила: перед эндопротезированием тазобедренного сустава – 15,2% (10/66), перед эндопротезированием коленного сустава – 2,8% (8/284), перед тотальным протезированием бедренной кости – 0/24.
2. После эндопротезирования тазобедренного сустава частота образования тромбов в венах нижних конечностей составила 14,3% (8/56), после эндопротезирования коленного сустава – 5,8% (16/276), после тотального протезирования бедренной кости – 16,7% (4/24).
3. Применение НМГ в профилактической дозе после эндопротезирования тазобедренного сустава не увеличивало объем периперационной кровопотери.

Литература

1. Приказ МЗ РФ № 233 от 09.06.2003 г. "об утверждении отраслевого стандарта ОСТ 91500.11.0007-2003: "Протокол ведения больных. Профилактика тромбоэмболии легочной артерии при хирургических и иных инвазивных вмешательствах".
2. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений // Флебология. – 2010. – Т. 4, выпуск 2. – С. 2–37.
3. Профилактика венозных тромбоэмболических осложнений в травматологии и ортопедии. Российские клинические рекомендации // Травматол. и ортопед. России. – 2012. – Т. 63, № 1. – С. 1–24.
4. Российские клинические рекомендации по профилактике и лечению венозных тромбоэмболических осложнений у онкологических больных [Электронный ресурс] // Ассоциация флебологов России. – URL: http://www.phlebo-union.ru/db.img/vte_in_oncology_final_04.05.2011.pdf свободный (дата обращения: 31.03.2014).
5. Guideline on the Prevention of Symptomatic Pulmonary Embolism in Patients Undergoing Total Hip or Knee Arthroplasty [Электронный ресурс] // American Academy of Orthopaedic Surgeons. Clinical Practice Guidelines. – 2007 May 18. – URL: <http://www.aaos.org/Research/guidelines/guide.asp>, свободный (дата обращения 14.04.2014).
6. Prevention of Symptomatic Pulmonary Embolism in Patients Undergoing Total Hip or Knee Arthroplasty / Johanson N. A., Lachiewicz P. F., Lieberman J. R., Lotke P. A., Parvizi J., Pellegrini V., Stringer T. A., Tornetta P., Haralson R. H., Watters W. C. // J. Am. Acad. Orthop. Surg. – 2009. – Vol. 17, N 3. – P. 183–196.
7. Preventing Venous Thromboembolic Disease in Patients Undergoing Elective Hip and Knee Arthroplasty / Mont M. A., Jacobs J. J., Boggio L. N., Bozic K. J., Della Valle C. J., Goodman S. B., Lewis C. G., Yates A. J., Watters W. C., Turkelson C. M., Wies J. L., Donnelly P., Patel N., Sluka P. // J. Am. Acad. Orthop. Surg. – 2011. – Vol. 19. – P. 768–776.

8. Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition) / Geerts W. H., Bergqvist D., Pineo G. F., Heit J. A., Samama C. M., Lassen M. R., Colwell C. W. // Chest. – 2008. – Vol. 133, Suppl. 6. – P. 381–453.
9. Executive Summary: Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines / Guyatt G. H., Akl E. A., Crowther M., Gutterman D. D., Schünemann H. J. // Chest. – 2012. – Vol. 141, Suppl. 2. – 7S–47S.
10. Venous thromboembolism – reducing the risk [Электронный ресурс] // National Institute for Health and Clinical Excellence, London, CG92. – 2010. – URL: <http://publications.nice.org.uk/venous-thromboembolism-reducing-the-risk-cg92>, свободный (дата обращения: 31.03.2014).
11. Venous Thromboembolism Prophylaxis in Orthopedic Surgery [Электронный ресурс] // Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, USA. – 2012. – URL: <http://effectivehealthcare.ahrq.gov/index.cfm/search-for-guides-reviews-and-reports/?productid=999&pageaction=displayproduct>, свободный (дата обращения: 31.03.2014).
12. Prevention of venous thromboembolism: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy / Geerts W. H., Pineo G. F., Heit J. A., Bergqvist D., Lassen M. R., Colwell C. W., Ray J. G. // Chest. – 2004. – Vol. 126, N 3. – P. 338S–400S.
13. Prevention of venous thromboembolism. International Consensus Statement. Guidelines compiled in accordance with the scientific evidence. Cardiovascular Disease Educational and Research Trust and the International Union of Angiology / Nicolaides A. N., Breddin H. K., Fareed J., Goldhaber S., Haas S., Hull R., Kalodiki E., Myers K., Samama M., Sasahara A. // Int. Angiol. – 2001. – Vol. 20, N 1. – P. 1–37.
14. Явелов И. С. Антикоагулянты для профилактики венозных тромбоэмболических осложнений у хирургических больных: особенности применения на практике // Клин. патофизиол. – 2013. – № 4. – С. 34–43.
15. European Society of Anaesthesiology. Regional anaesthesia and antithrombotic agents: recommendations of the European Society of Anaesthesiology / Gogarten W., Vandermeulen E., Van Aken H., Kozek S., Llau J. V., Samama C. M. // Eur. J. Anaesthesiol. – 2010. – Vol. 27, N 12. – P. 999–1015.
16. Regional anesthesia in the patient receiving antithrombotic or thrombolytic therapy. American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine Evidence-Based Guidelines (third edition) / Horlocker T. T., Wedel D. J., Rowlingson J. C., Enneking F. K., Kopp S. L., Benzon H. T., Brown D. L., Heit J. A., Mulroy M. F., Rosengquist R. W., Tryba M., Yuan C. S. // Reg. Anesth. Pain Med. – 2010. – Vol. 35. – P. 64–101.
Поступила 16.04.2014

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

в/в	– внутривенный
п/к	– подкожно
АЧТВ	– активированное частичное тромбопластиновое время
ВТЭО	– венозные тромбоэмболические осложнения,
МНО	– международное нормализованное отношение
НМГ	– низкомолекулярный гепарин
НПВП	– нестероидные противовоспалительные препараты
НФГ	– нефракционированного гепарина
ПВ	– протромбиновое время
ТГВ	– тромбоз глубоких вен
ТЭЛА	– тромбоэмболию легочных артерий
УЗДС	– ультразвуковое дуплексное сканирование
ESA	– Европейским обществом анестезиологов
ASRA	– Американского общества регионарной анестезии

От главного редактора

Дорогие коллеги!

Надеюсь на дальнейшее сотрудничество с вами в издании "Вестника РОНЦ".

В планах редакции – тематические номера, посвященные юбилеям виднейших ученых нашего центра, его основателей, основоположников – Натальи Иннокентьевны Переводчиковой, Анатолия Анатолиевича Клименкова, Бориса Павловича Матвеева, Владимир Львовича Кассиля, Марка Борисовича Бычкова.

От души поздравляем со славной датой Ирину Анатольевну Буяльскую. Мы все Ваши дети, дорогая Ирина Анатольевна!

Приглашаем принять участие в дискуссиях, начало которым положил этот номер журнала.

Главный редактор,

директор "РОНЦ им. Н.Н. Блохина", академик РАН,

Михаил Давыдов

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

© Стрельцова О. Н., Мещерякова Л. А., Тарачкова Е. В., Панов В. О., Тюрин И. Е., 2014

УДК 618.36-006.325-073.756.8

Ольга Николаевна Стрельцова¹, Людмила Александровна Мещерякова², Елена Владимировна Тарачкова³,

Вадим Олегович Панов⁴, Игорь Евгеньевич Тюрин⁵

МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ

В ДИАГНОСТИКЕ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОЙ ОПУХОЛИ ПЛАЦЕНТАРНОГО ЛОЖА

¹к. м. н., кафедра лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, отдел лучевой диагностики и интервенционной радиологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

²д. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение гинекологии НИИ Клинической онкологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

³Аспирант, кафедра лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, отдел лучевой диагностики и интервенционной радиологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁴к. м. н., доцент, кафедра лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, отдел лучевой диагностики и интервенционной радиологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

⁵д. м. н., профессор, заведующий, кафедра лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, отдел лучевой диагностики и интервенционной радиологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Адрес для переписки: 115478 г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», кафедра лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Стрельцова Ольга Николаевна;

e-mail: dr.streltsova@gmail.com

Трофобластическая опухоль плацентарного ложа – наиболее редкий вариант гестационной трофобластической неоплазии. Клиническое течение трофобластической опухоли плацентарного ложа бывает как доброкачественным, так и злокачественным с неблагоприятным исходом. В трудных случаях магнитно-резонансная томография может играть ведущую роль в диагностике. Пациентка 35 лет поступила в РОНЦ им. Н.Н. Блохина с жалобами на кровянистые выделения из половых путей в течение 1,5 мес после срочных родов через естественные родовые пути. При магнитно-резонансной томографии в области дна и правого туберного угла матки были выявлены: округлое объемное образование с нечеткими и неровными контурами, с жидкостными включениями, врастающее в миометрий вплоть до серозной оболочки, и расширенные сосуды в прилежащем миометрии. По данным обследования был предположен диагноз «трофобластическая опухоль плацентарного ложа». Пациентке выполнена гистерэктомия с сохранением придатков.

При плановом гистологическом исследовании послеоперационного материала диагностирован плацентарный узелок. Результаты предоперационной магнитно-резонансной томографии (инвазия в миометрий и расширенные сосуды) заставили морфологов провести дополнительное изучение послеоперационного материала, которое подтвердило опухоль плацентарного ложа.

Ультразвуковое исследование принято считать основным методом визуализации трофобластической опухоли плацентарного ложа. МРТ применяется как метод уточняющей диагностики в сложных случаях. Выявляемые при магнитно-резонансной томографии изменения неспецифичны, однако она позволяет уточнить локализацию, размеры и глубину инвазии опухоли.

Ключевые слова: трофобластическая опухоль плацентарного ложа, гестационная трофобластическая неоплазия, магнитно-резонансная томография.

Гестационные (т. е. обусловленные беременностью) ГТН – гетерогенная группа опухолей, обусловленных беременностью, развивающихся из трофобласта и включающих пузырный занос и трофобластические опухоли.

Согласно последней (2003) гистологической классификации ВОЗ [1], к ГТН относятся следующие новообразования:

1. Трофобластические опухоли:

1. хориокарцинома,
2. ТОПЛ,
3. эпителиоидная трофобластическая опухоль,
4. молярная беременность,
5. пузырный занос (полный, частичный, инвазивный/метастатический).

2. Неопухолевые трофобластические поражения:

- а. узлы и бляшки плацентарной площадки,
- б. аномально увеличенная плацентарная площадка.

ТОПЛ – наиболее редкий вариант ГТН: ее частота не превышает 0,2–2% [2; 3]. ТОПЛ была впервые описана R. J. Kurman et al. в 1976 г. как трофобластическая псевдоопухоль матки, характеризующаяся, по мнению авторов, благоприятным течением. Однако в последующие годы выяснилось, что возможно и агрессивное поведение опухоли с фатальным исходом [4]. В 1981 г. R. E. Scully и R. H. Young предложили современное название «трофобластическая опухоль плацентарного ложа», отражающее, по их мнению, биологические особенности развития и течения данного новообразования [5].

ТОПЛ – это, как правило, солидная опухоль, развивающаяся из клеток промежуточного трофобласта, инвазирующая миометрий с внедрением в стенки сосудов и растущая в просвет полости матки. Обычно ТОПЛ не распространяется за пределы матки, тем не менее, она способна метастазировать в отдаленные органы: легкие, печень, лимфатические узлы, головной мозг.

Болеют чаще женщины репродуктивного возраста, средний возраст пациенток – 28 лет. В большинстве случаев ТОПЛ развивается после родов [6]. Промежуток времени между появлением ТОПЛ и последней беременностью колеблется в широких пределах: от 1 нед до 14 лет [7]. Как правило, развитию ТОПЛ предшествует беременность девочкой [2], что само по себе может быть фактором неблагоприятного прогноза [8].

К основными проявлениям ТОПЛ относятся маточное кровотечение и аменорея. Реже наблюдаются перфорация матки и нефротический синдром [9]. Уровень β -субъединицы хорионического гонадотропина (β -ХГ) при ТОПЛ в отличие от других ГТН повышается незначительно. Более информативно определение уровня ПЛ в сыворотке крови, что объясняется гистологическим строением опухоли: клетки промежуточного трофобласта продуцируют много ПЛ и мало β -ХГ.

По причине чрезвычайной редкости ТОПЛ проблемы ее диагностики и особенности визуализации недостаточно освещены в литературе. Мы представляем собственное наблюдение пациентки с гистологически доказанной ТОПЛ, в котором результаты МРТ оказались основополагающими для своевременной постановки диагноза.

Клиническое наблюдение

Пациентка Ф., 35 лет, поступила в гинекологическое отделение РОНЦ им. Н.Н. Блохина с жалобами на кровянистые выделения из половых путей в течение 1,5 мес после срочных родов через естественные родовые пути. В анамнезе – 3 беременности, 2 из которых закончились родами в срок, и 1 аборт. Менструальный цикл до последней беременности – без особенностей. Сопутствующие заболевания и хирургические вмешательства в анамнезе не отмечены.

Анамнез заболевания. Срочные роды 15.03.13. На 3-й день после родов при УЗИ органов малого таза в правом трубном углу матки обнаружено узловое образование $\varnothing$ до 3 см с кровотоком; 18.03.13 проведена вакуум-аспирация. Гистологическое исследование выявило сгустки крови. При контрольном УЗИ в правом трубном углу матки сохранялось узловое образование прежних размеров с активным кровотоком; 21.03.13 выполнена гистероскопия, при осмотре полости матки патологии не обнаружено. Уровень β -ХГ в сыворотке крови в послеродовом периоде снизился с 201,0 до 4,0 МЕ/мл. В связи с продолжающимися кровянистыми выделениями из половых путей и сохранением узлового образования в матке пациентка госпитализирована в РОНЦ им. Н.Н. Блохина.

При вагинальном исследовании обнаружено: несколько увеличенное тело матки мягковатой консистенции, безболезненное, придатки не увеличены. Уровень β -ХГ в сыворотке крови составлял 4,0 МЕ/мл. Уровень ПЛ в сыворотке крови был повышен до 0,086 мг/мл и за время наблюдения в стационаре вырос до 0,46 мг/мл. При трансвагинальном УЗИ от 18.04.13 выявлено следующее: матка увеличена, в области дна справа – образование $4,0 \times 3,8 \times 2,6$ см, располагающееся в миометрии и пролабирующее в полость матки, по структуре идентичное трофобластической опухоли, правые маточные сосуды умеренно расширены; шейка матки, яичники – без особенностей, свободная жидкость в малом тазу не определяется.

По данным трансвагинального УЗИ от 30.04.13, тело матки увеличено, его размеры

$8,3 \times 5,4 \times 6,5$ см, контуры неровные, структура миометрия неоднородная; в области дна справа определяется опухолевое образование величиной $4,9 \times 4,2 \times 3,9$ см с неровным контуром, гиперэхогенной неоднородной ячеистой структурой и расширенными сосудами, образование инфильтрирует эндометрий в верхней и средней третях полости матки; шейка матки, яичники без особенностей, свободная жидкость в малом тазу не определяется.

МРТ органов малого таза от 29.04.13: тело матки имеет размеры $8,3 \times 7,4 \times 5,5$ см; переходносоединительная зона неравномерно расширена и имеет толщину от 0,55 до 1,99 см; в области дна и правого трубного угла матки определяется объемное образование $4,7 \times 4,1 \times 3,1$ см, неоднородной кистозно-сольной структуры, с жидкостными включениями до $2,5 \times 1,8$ см, с нечеткими, неровными контурами, врастающее в миометрий вплоть до серозной оболочки функциональный слой эндометрия неоднородной структуры, с нечеткими контурами, имеет толщину до 0,3 см ($2 \times 0,15$ см).

КТ органов грудной клетки от 23.04.13: утолщение плевры справа, вероятнее всего, последствия перенесенного воспаления, хондрома VII ребра слева.

УЗИ органов брюшной полости: патологии не выявлено.

В связи с ростом уровня ПЛ в сыворотке крови до 0,46 мг/л, увеличением размеров опухолевого образования в матке, нарастанием кровянистых выделений из половых путей на фоне гемостатической терапии и в связи с угрозой перфорации 07.05.13 пациентке в экстренном порядке выполнена операция в объеме экстирпации матки. Интраоперационно: тело матки увеличено до 8 нед беременности, в области правого трубного угла определяется опухолевый узел диаметром до 5,0 см, при ревизии органов брюшной полости и малого таза другой патологии не выявлено.

При плановом гистологическом исследовании послеоперационного материала диагностирован плацентарный узелок.

Результаты гистологического исследования противоречили клиническим данным и данным методов визуализации (МРТ): увеличение размеров опухолевого образования, рост ПЛ, инвазия в миометрий и расширенные сосуды свидетельствовали в пользу злокачественной природы новообразования. Дополнительное изучение послеоперационного материала, выполненное по настоянию лечащих врачей, подтвердило опухоль плацентарного ложа.

Послеоперационный период протекал удовлетворительно. Спустя 2 нед после операции уровень ПЛ нормализовался.

Обсуждение

ТОПЛ – редкая, медленно растущая разновидность ГТН с непредсказуемым клиническим течением. Она развивается из клеток промежуточного трофобласта, играющего важную роль в процессе имплантации. Как правило, ТОПЛ предшествуют роды, однако возможно развитие заболевания после самопроизвольного выкидыша, искусственного прерывания беременности, эктопической беременности или пузырного заноса. Период, отделяющий возникновение опухоли от последней беременности, колеблется от нескольких месяцев до нескольких лет и в среднем составляет 18–36 мес. Принято считать: чем больше интервал между беременностью и развитием ТОПЛ, тем хуже прогноз [10].

Макроскопически ТОПЛ представляет собой солидную опухоль с нечеткими и неровными контурами, инфильтрирующую миометрий и стенки сосудов. В структуре опухоли часто определяются кистозные полости, соответствующие участкам некроза. Кровоизлияния встречаются редко. Опухоль может прорасти стенку матки насквозь, разрушая ее серозную оболочку и приводя к перфорации. Как правило, новообразование не распространяется за пределы матки, тем не менее, почти у 30% пациенток на момент постановки диагноза обнаруживаются отдаленные метастазы.

Клинически ТОПЛ проявляется маточными кровотечениями различной степени выраженности, развивающимися в некоторых случаях после периода аменореи. Для ТОПЛ характерно повышение ПЛ в сыворотке крови, в то время как уровень β -ХГ увеличивается незначительно [2; 8; 11].

Основным методом лечения ТОПЛ (одновременно уточняющим диагноз) является гистерэктомия [2]. У пациенток, желающих сохранить репродуктивную функцию, возможно выполнение органосохраняющих хирургических вмешательств в объеме гистеротомии с иссечением опухолевого узла [12]. При наличии отдаленных метастазов в послеоперационном периоде проводится химиотерапия, включающая метотрексат, этопозид/цисплатин, дактиномицин и циклофосфамид [2; 9; 13–16]. К сожалению, ТОПЛ малочувствительна к медикаментозному лечению [17; 18]. Кроме того, оценка риска развития резистентности по шкале (классификации) ВОЗ (2000) у пациенток с ТОПЛ в отличие от больных с другими ГТН не позволяет прогнозировать течение заболевания.

Непредсказуемое течение ТОПЛ и ее резистентность к химиотерапии диктуют необходимость своевременной диагностики заболевания, пока опухоль не распространилась за пределы матки и хирургического вмешательства может быть достаточно для излечения пациентки.

Чрезвычайная редкость ТОПЛ препятствует созданию стандартных подходов к ее диагностике. УЗИ с доплерометрией принято считать основным методом визуализации ГТН, и ТОПЛ в частности. МРТ применяется как метод уточняющей диагностики в тех случаях, когда однозначная интерпретация результатов УЗИ затруднительна. Выявляемые при МРТ изменения неспецифичны, но она позволяет уточнить локализацию и размеры опухоли, глубину инвазии и наличие расширенных сосудов. В совокупности с клинической картиной и уровнями β -ХГ и ПЛ МРТ дает возможность с высокой точностью диагностировать ТОПЛ на предоперационном этапе и оценить возможность выполнения органосохраняющих операций, что особенно важно для пациенток, желающих сохранить репродуктивную функцию.

Согласно данным литературы, в большинстве случаев ТОПЛ представляет собой солидное образование, располагающееся в полости матки, не имеющее четких границ и характеризующееся гетерогенной интенсивностью МР-сигнала и кистозными полостями; сосуды в прилежащем миометрии расширены [19–21]. В редких случаях расширенные сосуды не определяются, а сама опухоль имеет четкие и ровные контуры и не содержит кистозных включений [22]. Причины, по которым в одних случаях наблюдается гиперваскулярная ТОПЛ, а в других – относительно гиповаскулярная, к настоящему времени неясны. Возможно, обилие расширенных сосудов в гиперваскулярной ТОПЛ обусловлено внедрением в сосуды клеток промежуточного трофобласта, участвующих в формировании маточно-плацентарного кровотока [23].

В нашем случае при МРТ в области дна и правого трубного угла матки интрамурально было выявлено объемное образование $4,7 \times 4,1 \times 3,1$ см, неоднородной кистозно-солидной структуры, с жидкостными включениями до $2,5 \times 1,8$ см, с нечеткими и неровными контурами, прорастающее в миометрий вплоть до серозной оболочки. На Т1-последовательностях МР-сигнал от солидного компонента опухоли был изоинтенсивен сигналу от нормального миометрия, на Т2-последовательностях – изо- и слегка гиперинтенсивен. В прилежащем к опухолевому узлу миометрию определялись расширенные сосуды. Цельность переходно-соединительной зоны в месте расположения объемного образования была нарушена.

Выявленная нами МРТ-картина с учетом клинических данных (маточное кровотечение, беременность в анамнезе, рост уровня ПЛ в сыворотке крови) позволила предположить ТОПЛ уже на предоперационном этапе. Так как у пациентки было уже 2 детей, ей выполнили экстирпацию матки с сохранением придатков.

Интерпретация гистологических находок оказалась затруднительной для патоморфологов. При первичном изучении послеоперационного материала был диагностирован плацентарный узелок. Плацентарный узелок (старое название – плацентарный полип) – неопуховое трофобластическое поражение/образование, представляющее собой остатки промежуточного трофобласта от предыдущей беременности, не подвергшиеся полной регрессии [24; 25]. Как правило, это образование небольших размеров (от 1,0 до 14 мм, в среднем 2,1 мм), с четкими контурами, гиалинизированной стромой и редкими митозами дегенеративно измененных клеток промежуточного трофобласта. Для плацентарного узелка нехарактерны ни инвазия в миометрий и сосуды, ни некрозы. В отличие от ТОПЛ плацентарный узелок – доброкачественное поражение, не требующее специального лечения и наблюдения.

Таким образом, если исходить из упомянутых особенностей плацентарного узелка и ТОПЛ, было очевидно несоответствие морфологического диагноза и клинических и МРТ-данных. Это послужило причиной повторного, более тщательного исследования послеоперационного материала и пересмотра гистологического заключения в пользу ТОПЛ.

В настоящее время пациентка находится под наблюдением в РОНЦ им. Н.Н. Блохина.

Заключение

Данное клиническое наблюдение демонстрирует важную роль МРТ в диагностике ТОПЛ. МРТ оказалась точнее УЗИ в описании размеров и структуры опухоли, а также глубины ее инвазии в миометрий с истончением стенки матки. Все эти изменения подтверждены интраоперационными находками.

Несмотря на неспецифичность МРТ-картины, выявленные изменения в совокупности с клиническими данными позволили уже на предоперационном этапе диагностировать ТОПЛ и избежать диагностической ошибки, которая могла бы стоить жизни пациентке.

Очевидно, при нетипичном течении трофобластической болезни следует шире применять МРТ с целью раннего выявления редких злокачественных форм и оптимизации тактики лечения. Важно накопить как можно больший клинико-диагностический опыт применения МРТ при патологии трофобласта для своевременной и правильной интерпретации выявляемых изменений.

Литература

1. Tavassolli F. A., Stratton M. A. Gestational trophoblastic disease. // In World Health Organisation Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. – Lyon: IACR Press, 2003. – P. 250–254.
2. Placental site trophoblastic tumour: clinical features and management / Hassadia A., Gillespie A., Tidy J., Everard R. G. N., Wells M., Coleman R., Hancock B. // Gynecol. Oncol. – 2005. – Vol. 99. – P. 603–607.
3. Placental site trophoblastic tumor / Ajithkumar T. V., Abraham E. K., Rejnishkumar R., Minimole A. L. // Obstet. Gynecol. Surv. – 2003. – Vol. 58. – P. 484–488.
4. Trophoblastic pseudotumour – evidence of malignant disease potential / Twiggs L. B., Okagaki T., Phillips G. L., Stroemer J. R., Adcock L. L. // Gynecol. Oncol. – 1981. – Vol. 12. – P. 238–248.
5. Scully R. E., Young R. H. Trophoblastic pseudotumor: a reappraisal // Am. J. Surg. Pathol. – 1981. – Vol. 5. – P. 75–81.
6. Мещерякова Л. А., Козаченко В. П., Кузнецов В. В. Трофобластические опухоли // Лекции по онкогинекологии / Под ред. М. И. Давыдова, В. В. Кузнецова, В. М. Нечушкиной – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – С. 330–347.
7. Kurman R. J. The morphology, biology and pathology of intermediate trophoblast: a look back to the present // Hum. Pathol. – 1991. – Vol. 22. – P. 847–855.
8. Finkler N. J. Placental site trophoblastic tumor: diagnosis, clinical behaviour and treatment // J. Reprod. Med. – 1991. – Vol. 36. – P. 27–30.
9. Surgery and chemotherapy in the management of placental site tumor / Dessau R., Rustin G. J. S., Dent J., Paradinas F. J., Bagshawe K. D. // Gynecol. Oncol. – 1990. – Vol. 39. – P. 56–59.
10. Sebire N. J., Lindsay I. Current issues in the histopathology of gestational trophoblastic tumors // Fetal. Pediatr. Pathol. – 2010. – Vol. 29. – P. 30–44.
11. Placental site trophoblastic tumour: molecular analysis and clinical experience / Bower M., Paradinas F. J., Fisher R. A., Nicholson S., Rustin G. J. S., Begent R. H., Bagshawe K. D., Newlands E. S. // Clin. Cancer Res. – 1996. – Vol. 2. – P. 897–902.
12. Fertility-sparing partial hysterectomy for placental-site trophoblastic tumour / Pfeffer P. E., Seibre N., Lindsay I., McIndoe A., Lim A., Seckl M. // J. Lancet Oncol. – 2007. – Vol. 8. – P. 744–746.
13. King L., Okagaki T., Twiggs L. B. Resolution of pulmonary metastases with chemotherapy in a patient with placental site trophoblastic tumour // Int. J. Gynecol. Cancer. – 1992. – Vol. 2. – P. 328–331.
14. Etoposide and cisplatin/etoposide, methotrexate, and actinomycin D (EMA) chemotherapy for patients with high-risk gestational trophoblastic tumors refractory to EMA/cyclophosphamide and vincristine chemotherapy and patients presenting with metastatic placental site trophoblastic tumors / Newlands E. S., Mulholland P. J., Holden L., Seckl M., Rustin G. J. // J. Clin. Oncol. – 2000. – Vol. 18. – P. 854–859.
15. Prolonged remission of recurrent, metastatic placental site trophoblastic tumor after chemotherapy / Randall T. C., Coukos G., Wheeler J. E., Rubin S. C. // Gynecol. Oncol. – 2000. – Vol. 76. – P. 115–117.
16. Metastatic placental site trophoblastic tumor. Report of a case with complete response to chemotherapy / Mangili G., Garavaglia E., De Marzi P., Zanetto F., Taccagni G. // J. Reprod. Med. – 2001. – Vol. 46. – P. 259–262.
17. Kim S. J. Placental site trophoblastic tumor best practice and research // Clin. Obstet. Gynecol. – 2003. – Vol. 17. – P. 969–984.
18. Placental site trophoblastic tumor in a patient with brain and lung metastases / Guvendag Guven E. S., Guven S., Esinler I., Ayhan A., Kucukali T., Usulutun A. // Int. J. Gynecol. Cancer. – 2004. – Vol. 14. – P. 558–563.
19. Invasive mole and placental site trophoblastic tumor: two entities of gestational trophoblastic disease with a common ultrasonographic appearance / Caspi B., Elchalal U., Dgani R., Ben-Hur H., Rozenman D., Nissim F. // J. Ultrasound Med. – 1991. – Vol. 10. – P. 517–519.
20. Sonographic appearance of placental site trophoblastic tumor / Sakamoto C., Oikawa K., Kashimura M., Egashira K. // Ultrasound Med. – 1990. – Vol. 9. – P. 533–535.
21. Placental site trophoblastic tumor: a report of radiologic, surgical and pathologic methods of evaluating the extent of disease / Hoffman J. S., Silverman A., Gelber J., Cartun R. // Gynecol. Oncol. – 1993. – Vol. 50. – P. 110–114.
22. Unusual endovaginal ultrasonography and magnetic resonance imaging of placental site trophoblastic tumor / Abulafia O., Sherer D. M., Fultz P. J., Sternberg L. B., Angel C. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1994. – Vol. 170. – P. 750–752.
23. Brandt K. R., Coakley K. J. MR appearance of placental site trophoblastic tumor: a report of three cases // Am. J. Roentgenol. – 1998. – Vol. 170. – P. 485–487.
24. Huettnier P. C., Gersell D. J. Placental site nodule: a clinicopathologic study of 38 cases // Int. J. Gynecol. Pathol. – 1994. – Vol. 13. – P. 191–198.
25. Young R. H., Kurman R. J., Scully R. E. Placental site nodules and plaques: a clinicopathologic analysis of 20 cases // Am. J. Surg. Pathol. – 1990. – Vol. 4. – P. 1001–1009.

Поступила 17.11.2013

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ГТН	– гестационные трофобластические неоплазии
ТОПЛ	– трофобластическая опухоль плацентарного ложа
ПЛ	– плацентарный лактоген

© Чикинев Ю. В., Анисеева О. Ю., Дробязгин Е. А., Тевс К. С., Кудрявцев А. С., Пашковская О. А., 2014

УДК 616.231-006.6-085.477.2:615.849.1

Юрий Владимирович Чикинев¹, Ольга Юрьевна Анисеева², Евгений Александрович Дробязгин³, Корней Сергеевич Тевс⁴, Александр Сергеевич Кудрявцев⁵, Оксана Александровна Пашковская⁶**ПЕРВЫЙ ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТКИ С ПЕРВИЧНЫМ РАКОМ ТРАХЕИ**¹д. м. н., профессор, заведующий, кафедра госпитальной и детской хирургии, лечебный факультет Новосибирского государственного медицинского университета (630087, РФ, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, д. 130)²к. м. н., заведующая, центр онкологии и радиохирургии, ФГБУ "ННИИПК им. акад. Е. Н. Мешалкина" (630055, РФ, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15)³д. м. н., профессор, кафедра госпитальной и детской хирургии, лечебный факультет Новосибирского государственного медицинского университета; ведущий научный сотрудник, центр онкологии и радиохирургии, ФГБУ ННИИПК им. акад. Е. Н. Мешалкина (630087, РФ, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, д. 130)⁴Врач-радиолог, центр онкологии и радиохирургии, ФГБУ ННИИПК им. акад. Е. Н. Мешалкина (630055, РФ, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15)⁵Врач-онколог, торакальный хирург, центр онкологии и радиохирургии, ФГБУ ННИИПК им. акад. Е. Н. Мешалкина (630055, РФ, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15)⁶Медицинский физик, центр онкологии и радиохирургии, ФГБУ ННИИПК им. акад. Е. Н. Мешалкина (630055, РФ, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15)**Адрес для переписки:** 630087, РФ, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, д. 130, ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», отделение торакальной хирургии, Дробязгин Евгений Александрович;**e-mail:** evgenyidrob@inbox.ru

Представлен опыт комбинированного лечения 31-летней пациентки, страдавшей первичным раком трахеи. Первым этапом лечения стало эндопротезирование трахеи саморасправляющимся металлическим стентом. В дальнейшем проводился курс конформной лучевой терапии. При обследовании прогрессирования заболевания не отмечено. Считаем необходимым выполнение стентирования трахеи перед курсом лучевой терапии.

Ключевые слова: рак трахеи, стентирование трахеи, конформная лучевая терапия.

Первичные опухоли трахеи составляют лишь 0,1–0,4% злокачественных новообразований [1; 2]. В ретроспективном исследовании B. D. Webb et al. [3] 55,4% всех пациентов составили мужчины, из которых 77,3% были курильщиками. Каждый год регистрируется 2,6 новых случая первичного рака трахеи на 1 млн человек [1].

На плоскоклеточный и аденокистозный рак трахеи приходится примерно 71,6% в общей структуре заболеваемости. Продолжительность жизни пациентов составляет в среднем от 6 до 14 мес [4].

Лечение первичного рака трахеи носит комплексный характер и включает лучевую терапию и хирургическое вмешательство [4; 5]. Для восстановления проходимости верхних дыхательных путей в качестве паллиативной меры или подготовки к лечению прибегают к установке в просвет трахеи стентов [6–9].

Представляем сообщение о лечении пациентки, страдавшей первичным раком трахеи.

Клинический пример

Пациентка В., 31 года, поступила в клинику кафедры госпитальной и детской хирургии, в отделение торакальной хирургии ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», 28.01.13 с жалобами на одышку в покое, усиливающуюся при физической нагрузке.

Из анамнеза: данные жалобы появились около 3 мес. назад. При обследовании в стационаре по месту жительства была обнаружена опухоль верхней трети трахеи (гистологический диагноз: низкодифференцированный плоскоклеточный рак) с метастатическим поражением лимфатических узлов шеи T₃N₂M₀.

Состояние при поступлении средней тяжести. Шея обычной формы. При пальпации определяются незначительно увеличенные до 12–13 мм лимфатические узлы. Дыхание шумное, со стридо-

розным компонентом. Грудная клетка обычной формы, обе половины участвуют в акте дыхания. При пальпации болей нет. В легких – везикулярное дыхание, которое проводится во все отделы, хрипов нет.

При томографии (28.01.13) определяется сужение просвета трахеи на протяжении 7 см более чем на $\frac{2}{3}$ ее нормального диаметра и оттеснение трахеи влево. Верхний край сужения находится на 2–2,5 см ниже голосовых складок (рис. 1А).

Фибротрехеоларингоскопия (28.01.13) дала следующие результаты. Голосовые складки смыкаются, подвижны. На расстоянии 3,5–4 см ниже голосовых складок просвет трахеи неравномерно сужен до $\frac{1}{2}$ – $\frac{2}{3}$ ее нормального диаметра за счет экзопитных разрастаний грязно-красного цвета, расположенных преимущественно по правой боковой стенке на протяжении 4,5–5 см и кровоточащих при контакте с аппаратом. Расстояние от нижнего края опухоли до карины бифуркации трахеи составляет 7–7,5 см. Слизистая оболочка трахеи ниже участка опухолевого поражения ровная, блестящая, умеренно гиперемизированная. Сосудистый рисунок не изменен. Карина не смещена, обычной формы.

Слизистая оболочка бронхиального дерева гладкая, блестящая, незначительно отечна, умеренно гиперемизирована. Подвижность бронхов обычная. Архитектоника бронхиального дерева, по эндоскопической картине, не изменена. Все сегментарные и субсегментарные бронхи доступны осмотру и свободно проходимы. Устья бронхов не изменены, округлой формы. Рисунок хрящевых колец обычный. Эластичность трахеи и бронхов обычная. Кровоточивость слизистой оболочки не изменена. Сосудистый рисунок не изменен. Пристеночно и в просвете бронхов с обеих сторон, больше справа, – значительное количество вязкого слизистого секрета.

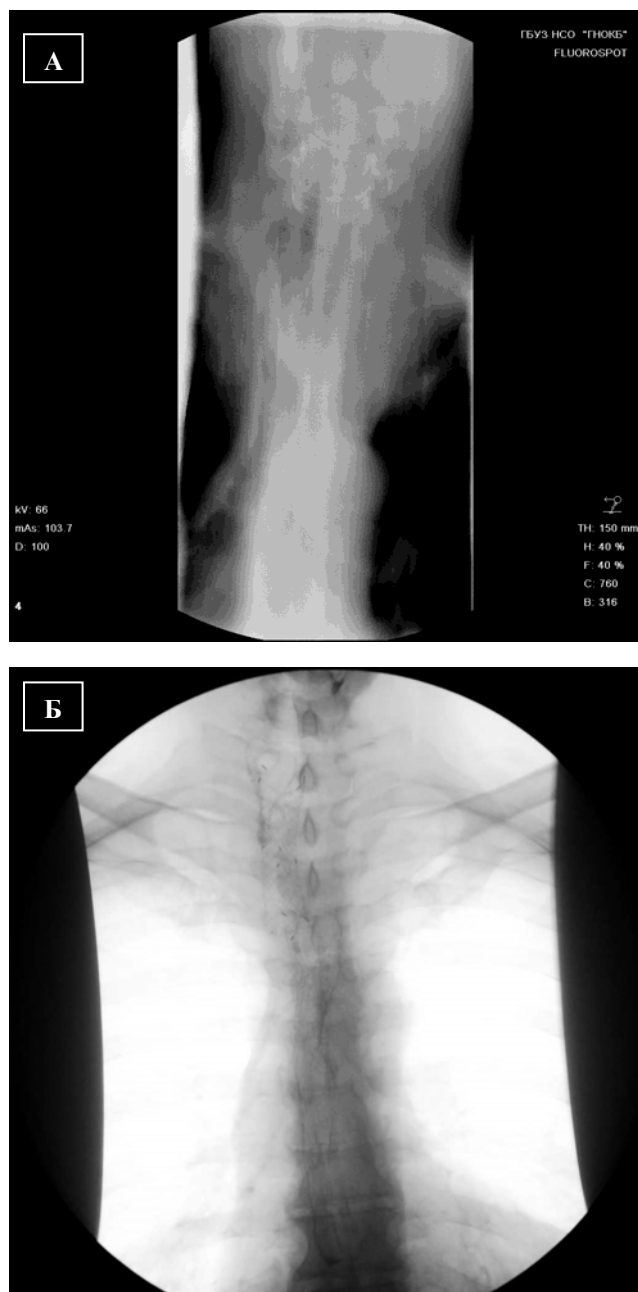


Рис. 1. Томограмма трахеи пациентки В., 31 года.

- А. Исходно определяется участок сужения трахеи за счет опухоли.
- Б. После установки стента: он полностью раскрыт, просвет трахеи без особенностей.

Заключение: опухоль верхней трети трахеи. Стеноз трахеи II степени. Диффузный катаральный I степени интенсивности воспаления эндобронхит.

С учетом характера выявленных изменений было принято решение о стентировании суженного участка трахеи с последующим проведением лучевой терапии.

Литература

1. McGrath E. E., Warriner D., Anderson P. The insertion of self expanding metal stents with flexible bronchoscopy under sedation for malignant tracheobronchial stenosis: a single-center retrospective analysis // Arch. Bronconeumol. – 2012. – Vol. 48, N 2. – P. 43–48.

30.01.13 выполнена операция: стентирование трахеи нитиноловым саморасправляющимся стентом длиной 6 см и диаметром 18 мм. Операция прошла без технических сложностей.

При контрольной томографии трахеи стент полностью раскрыт на всем протяжении (рис. 1Б). Пациентка жалоб не предъявляла. Дыхание было без особенностей, затруднений не отмечалось. Выписана из отделения 05.02.13.

Дальнейшее лечение пациентки проводилось в Центре онкологии и радиохирургии ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина с 13.02.13 по 01.07.13. Был проведен курс стереотаксической конформной дистанционной лучевой терапии по радикальной программе методикой VMAT в режиме 5 раз в неделю. Для очага в трахее РОД составила 2 Гр, СОД – 72 Гр. Для надключичных лимфатических узлов и средостения РОД соответствовала 2 Гр, СОД – 46 Гр (рис. 3А-Б; см. обложку).

Состояние после лучевого лечения удовлетворительное. Дыхание свободное, одышки нет.

Контрольное обследование и фибробронхоскопия (июль 2013 г.) дали следующие результаты. Голосовые складки смыкаются, подвижны. На расстоянии 3 см ниже голосовых складок определяется верхний край стента. Слизистая оболочка в области верхнего края стента умеренно отечная, гиперемизованная. Аппарат свободно проведен через стент.

На стенках стента – небольшое количество вязкого слизистого секрета. Протяженность стента 6 см. Нижний его край расположен на 4,5–5 см выше карины бифуркации трахеи. Отмечается умеренная отечность слизистой оболочки в зоне контакта с краем стента.

Карина бифуркации трахеи не смещена, обычной формы. Слизистая оболочка бронхиального дерева гладкая, блестящая, незначительно отечная и умеренно гиперемизованная. Подвижность бронхов обычная. Архитектоника бронхиального дерева, по эндоскопической картине, не изменена. Все сегментарные и субсегментарные бронхи доступны осмотру, свободно проходимы. Устья бронхов не изменены, округлой формы. Рисунок хрящевых колец обычный. Эластичность трахеи и бронхов обычная. Кровоточивость слизистой оболочки не изменена. Сосудистый рисунок не изменен.

Пристеночно и в просвете бронхов с обеих сторон, больше справа, – значительное количество вязкого слизистого секрета. Заключение: опухоль верхней трети трахеи. Состояние после стентирования трахеи (январь 2013 г.). Стент в трахее. Диффузный катаральный I степени интенсивности воспаления эндобронхит.

Данный клинический пример показывает эффективность сочетанного лечения при первичном раке трахеи. Считаем необходимым перед проведением курса лучевой терапии выполнять стентирование трахеи при сужении ее просвета более чем на $\frac{1}{2}$ нормального диаметра.

2. Meyers F. B., Mathisen D. J. Management of tracheal neoplasm // *Oncologist*. – 1997. – Vol. 2. – P. 245–253.
3. Primary tracheal malignant neoplasms: the University of Texas MD Anderson Cancer Center experience / Webb B. D., Walsh G. L., Roberts D. B., Sturgis E. M. // *J. Am. Coll. Surg.* – 2006. – Vol. 202. – P. 237–246.
4. Tracheal adenocarcinoma treated with adjuvant radiation: a case report and literature review / Chowdhury Q., Rahman M. A., Sultana L., Islam M. A., Chowdhury G. M. // *Case Rep. Oncol.* – 2013. – Vol. 6, N 2. – P. 280–284.
5. Qiu X., Chen J., Zhou Q. Advancements on diagnosis and treatments of primary tracheal tumors // *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. – 2011. – Vol. 14, N 1. – P. 58–62.
6. Becker H. D. Endobronchial treatment of malignant airway obstructions // *Dtsch. Med. Wochenschr.* – 2009. – Vol. 134, N 10. – P. 454–60.
7. Heitz M. Stents in the tracheobronchial tree // *Ther. Umsch.* – 2003. – Vol. 60, N 4. – P. 211–217.
8. Tracheal cancer treated with a short course of external and endoluminal radio-chemotherapy combined with cetuximab – a case report / Papadopoulou A., Froudarakis M., Abatzoglou I., Koukourakis M. I. // *J. Contemp. Brachyther.* – 2010. – Vol. 2. – P. 160–162.
9. Endobronchial stent for malignant airway obstructions / Yerushalmi R., Fenig E., Shitrit D., Bendayan D., Sulkes A., Flex D., Kramer M. R. // *Isr. Med. Assoc. J.* – 2006. – Vol. 8, N 9. – P. 615–617.

Поступила 24.02.2014

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

VMAT

– ротация с моделированным по интенсивности облучением

Юрий Сергеевич Сидоренко (к 75-летию со дня рождения)

8 ноября 2014 г. исполнилось 75 лет выдающемуся ученому, онкологу, хирургу, изобретателю, организатору здравоохранения Юрию Сергеевичу Сидоренко.

Он родился в Херсоне. После окончания медицинского факультета Ужгородского государственного университета в 1968 г. работал в сельских больницах Закарпатской области, в Новочеркасской гинекологической больнице, а с 1972 г. – в Ростовском научно-исследовательском онкологическом институте. Окончив аспирантуру и защитив кандидатскую диссертацию на тему «Эндолимфатическая полихимиотерапия в лечении рака шейки матки», Ю. С. Сидоренко стал главным врачом клиники института. В 1979–1982 гг. работал главным врачом Ростовской городской больницы № 20, где реорганизовал лечебную работу, создал ряд новых отделений и служб, существенно укрепил материальную базу клиники.

С 1982 г. в течение почти 30 лет Юрий Сергеевич руководил РНИОИ. В 1988 г. защитил докторскую диссертацию на тему «Некоторые аспекты диагностики и диспансеризации онкологических больных». С его приходом в институт началась целенаправленная работа по превращению этого учреждения в региональный онкологический центр юга РСФСР: мощность стационара была увеличена до 800 коек, появились новые клиники и лаборатории, разнообразная диагностическая аппаратура. Все это позволило поднять диагностику и лечение онкологических больных на качественно новый уровень.

Юрий Сергеевич занимается исследованиями в области клинической и экспериментальной онкологии, умело внедряя полученные результаты в практическое здравоохранение. Он внес существенный вклад в развитие медицинской метрологии и создание хирургического инструментария и приборов. Ю. С. Сидоренко имеет 204 патента и авторских свидетельства. Он удостоен звания «заслуженный изобретатель РСФСР» (1990 г.), награжден несколькими золотыми и серебряными медалями, состоит членом правления Российского общества онкологов и заместителем председателя Всероссийского медико-технического общества.

Академик РАН Ю. С. Сидоренко сформулировал и экспериментально обосновал теорию нового метода биотерапии рака с использованием в качестве растворителя цитостатиков естественных биологических сред организма – центральной лимфы, крови и ее фракций, костномозговой взвеси, спинномозговой жидкости, брюшного и плеврального выпотов. Предложенная методика, признанная приоритетной во всем мире, существенно повысила эффективность химиотерапии, более того, она оказывает терапевтический эффект за счет феномена адресной транспортировки цитостатиков к опухоли при резком снижении их токсичности.

Стремясь улучшить качество жизни онкологических больных, Ю. С. Сидоренко разработал и внедрил в практику ряд оригинальных функционально-щадящих и органосберегающих операций, носящих его имя, за что был удостоен премии Правительства РСФСР (1991 г.). В последние годы им предложены методики антирефлюксных анастомозов при энтеростомии малого таза, а также методики вакуумной экстракции паренхимы тестикул с пластикой гелем, содержащим гормональные препараты пролонгированного действия.

Академик Ю. С. Сидоренко – крупный организатор здравоохранения. Он создал модель оригинального популяционного скрининга рака, основанного на психологическом феномене самоформирования групп риска, предполагающем самонаблюдение и самоконтроль. Более 25 лет в РНИОИ и других лечебных учреждениях региона проводился День открытого приема, благодаря которому выявляемость злокачественных опухолей была в десятки раз выше по сравнению с результатами обычных профилактических осмотров.

Ю. С. Сидоренко является соавтором около 600 научных работ, в том числе 27 монографий и 3 книг; он подготовил 45 докторов и 57 кандидатов медицинских наук и носит высокое звание «заслуженный деятель науки РФ». Академиком Ю. С. Сидоренко организованы и проведены III, IV и VI съезды онкологов России, многочисленные конференции и симпозиумы с участием зарубежных специалистов, пленумы общества онкологов.

В трудные для страны 1990–1993 гг. Юрий Сергеевич был народным депутатом РСФСР, председателем комиссии по вопросам депутатской этики, членом фракции «Гражданское общество». Юрий Сергеевич одним из первых в России стал возрождать духовное наследие русской клинической медицины, привнося исцеляющую силу православной культуры в стены медицинского учреждения. Благодаря его глубокой вере и подвижничеству на территории РНИОИ в 1997 г. воздвигнут храм Святого Великомученика и Целителя Пантелеймона, а затем и единственная в России часовня по невинноубиенным, получившие благословение Патриарха Алексия II во время его пребывания на Донской земле. В гармоничном сочетании с храмом выстроен филиал Православного Свято-Тихоновского гуманитарного университета. За возрождение и развитие духовности православной культуры Ю. С. Сидоренко награжден орденом Русской Православной Церкви святого благоверного князя Даниила Московского III степени, орденом преподобного Сергия Радонежского, Иерусалимским Орденом Гроба Господня.

Академик Ю. С. Сидоренко – член президиума Южного научного центра РАН и РАМН, главный онколог Южного федерального округа, заведующий кафедрой онкологии Ростовского государственного медицинского университета, член экспертного совета Высшей аттестационной комиссии. Он награжден орденами «Знак Почета» (1981 г.) и Дружбы (2005 г.), медалью ВОЗ за заслуги в медицине, золотой медалью Министерства здравоохранения РФ (2001 г.), золотой медалью Н. Пирогова Европейской ассоциации хирургов (2006 г.).

Юрий Сергеевич – человек энциклопедических знаний и эрудиции, тонкий ценитель живописи, литературы и национальной культуры, в нем сочетаются глубокая вера и милосердие, интуиция и опыт практического врача-хирурга, фундаментальные знания и прогностические способности ученого-естествоиспытателя. Основными качествами академика Ю. С. Сидоренко являются честь, порядочность, справедливость и доброта, которые проявляются в каждом его поступке.

Мы сердечно поздравляем Юрия Сергеевича с юбилеем и желаем ему доброго здоровья и дальнейшей многолетней плодотворной деятельности.



Коллектив ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Коллеги, ученики и друзья

УДК 616.36-006.441-073.756.8

Александр Борисович Лукьянченко¹, Наталья Александровна Фалалеева², Ксения Александровна Романова³.**ПЕРВИЧНАЯ НЕХОДЖКИНСКАЯ ЛИМФОМА ПЕЧЕНИ**¹Профессор, д.м.н., ведущий научный сотрудник, отдел лучевой диагностики и интервенционной радиологии НИИ КО, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» (115478 РФ, Москва, Каширское шоссе, д. 24)²к.м.н., с.н.с., отделение химиотерапии гемобластозов НИИ КО ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»³аспирант, отдел лучевой диагностики и интервенционной радиологии НИИ клинической онкологии, ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»**Адрес для переписки:** 115478 г. Москва, Каширское шоссе, д. 24; ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», НИИ клинической онкологии, отдел лучевой диагностики и интервенционной радиологии, Лукьянченко Александр Борисович; **e-mail:** lukalex@mail.ru

Представлены 3 наблюдения пациентов с первичной неходжкинской лимфомой печени (2 мужчины, 22 и 46 лет, 1 женщина 24 лет). Отсутствие специфических клинических проявлений заболевания и нетипичность выявленных при УЗИ, РКТ, МРТ изменений в печени позволили лишь заподозрить наличие опухолевого процесса. Наблюдаемая картина поражений органа обладала каждый раз определенной индивидуальностью, однако не позволяла высказаться корректно о возможном генезе новообразований. В связи с отсутствием надежных диагностических критериев окончательный диагноз «первичная лимфома печени» был установлен только после расширенных клинических и лабораторных исследований, включая иммуноморфологическое изучение биоптата.

Ключевые слова: лимфома, печень, диагностика, РКТ, МРТ.Alexander Borisovich Lukiyanchenko¹, Natalia Alexandrovna Falaleeva², Ksenia Alexandrovna Romanova³**PRIMARY LIVER NON-HODGKIN LYMPHOMA**¹MD, PhD, DSc, Professor, Senior Researcher, Division of Imaging and Interventional Radiology, N.N. Blokhin RCRC (24, Kashirskoe shosse, Moscow, RF, 115478)²MD, PhD, Senior Researcher, Division of Oncological Hematology, N.N. Blokhin RCRC (24, Kashirskoe shosse, Moscow, RF, 115478)³MD, Postgraduate Student, Division of Imaging and Interventional Radiology, N.N. Blokhin RCRC (24, Kashirskoe shosse, Moscow, RF, 115478)**Address for correspondence:** Lukiyanchenko Alexander Borisovich, Division of Imaging and Interventional Radiology, N.N. Blokhin RCRC; 24, Kashirskoe shosse, Moscow, RF, 115478.**E-mail:** lukalex@mail.ru

The three cases of PLL are presented (two men of 22 and 46 y.o. and a woman of 24 y.o.). The lack of specific clinical features and atypical US, CT and MR imaging findings allowed us only to suggest malignant liver lesions. The imaging features had some particular but indefinite/indistinctive details. So the final diagnosis of PLL was made on the basis of immunomorphological evaluation of liver specimens after biopsy.

Key words: lymphoma, liver, radiology, CT, MRI.

ПЛП впервые описана в 1965 году А.А. Ата, I.A. Kamel [1]. В 1986 году Сассамо D. et al. [2] охарактеризовали заболевание как изолированное поражение органа при отсутствии иных проявлений опухолевого процесса (т.е., других его локализаций), в том числе, увеличенных лимфатических узлов, спленомегалии, нарушений гематологических показателей и/или признаков поражения костного мозга, в течение как минимум шести месяцев после выявления поражения печени.

Первичная лимфома печени – крайне редкое заболевание, составляет лишь 0,016% от всех НХЛ и только 0,4% среди всех экстранодальных НХЛ [3]. В то же время, поражение печени при генерализованных стадиях НХЛ наблюдается у 16-22% больных [4]. По некоторым данным, среди всех первичных опухолей печени первичная лимфома составляет около 1,1% [5].

Этиология возникновения первичной лимфомы печени до сих пор неясна. Ряд исследователей указывают на связь между возникновением лимфопролиферации и ВИЧ, вирусами гепатитов В и С, Эпштейн-Барр, циррозом печени, проведенной ранее иммуносупрессивной терапии по поводу аутоиммунного заболевания. Предполагается, что длительно существующий воспалительный процесс, связанный с вирусным поражением печени или аутоиммунным заболеванием, может играть независимую роль в развитии первичной лимфомы печени [6].

Клинические проявления первичной лимфомы печени разнообразны и не являются специфичными. Средний возраст заболевших около 50 лет, среди них преобладают мужчины [7]. Могут наблюдаться лихорадка, потеря веса и проливные ночные поты как проявления В-симптомов. Частыми жалобами являются тяжесть и боли в правом подреберье, дискомфорт в эпигастральной области, тошнота, рвота, слабость, кожный зуд.

В биохимическом анализе крови отмечается повышение уровня печёночных трансаминаз, ЩФ, общего и прямого билирубина, ЛДГ. Уровни АФП и РЭА остаются в пределах нормальных значений. При обследовании в дебюте заболевания у трети пациентов, страдающих ПЛП, выявляется одиночный опухолевый узел, у трети – 2 и более узла, у остальных имеет место диффузное поражение печени [6].

В связи с отсутствием надежных диагностических критериев диагноз устанавливается лишь на основании иммуноморфологического исследования биоптата печени. Среди вариантов НХЛ преобладает диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома – 46-68%, в 17% случаев встречается лимфома Беркитта, в 4% – фолликулярная лимфома, реже МАЛТ-лимфома, анапластическая крупноклеточная лимфома и лимфома зоны мантии [8]. Мы наблюдали 3 пациентов, которые соответствовали упомянутому выше критериям и имели адекватно документированные диагностические данные: 2 мужчин (22 и 46 лет) и одну женщину 24 лет.

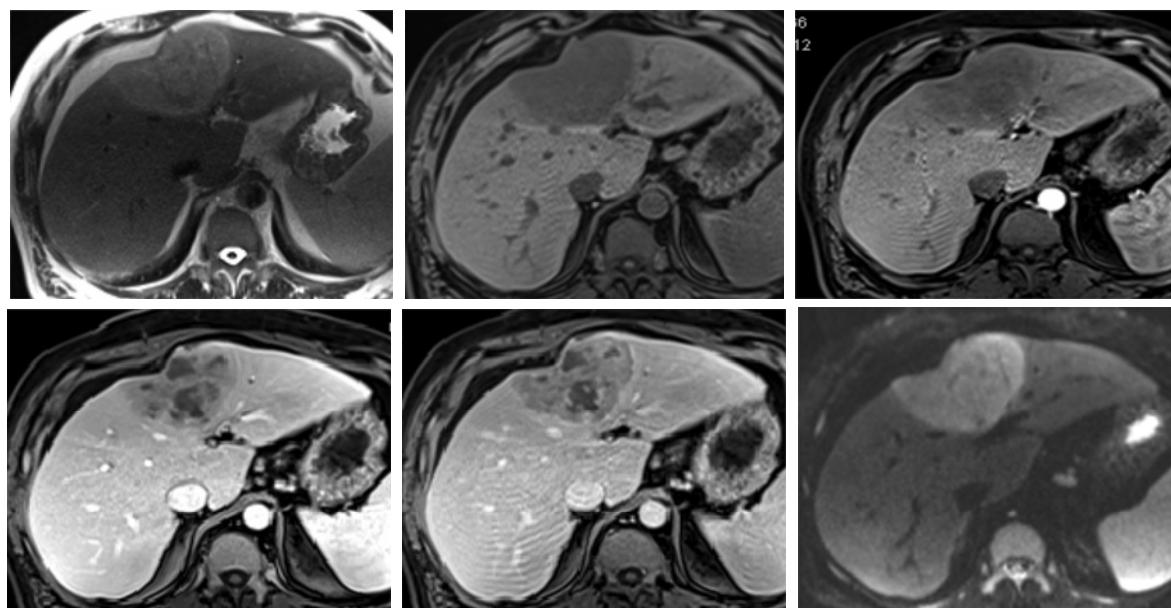


Рис. 1. Пациент П. 46 лет, первичная лимфома печени. Аксиальные МР томограммы брюшной полости.

А. округлое образование с довольно четкими и ровными контурами, повышенной и неоднородной интенсивности в Т2.

Б. тот же очаг, гипоинтенсивный и сравнительно однородный в Т1. В, В-Г. артериальная и венозная фазы: диффузное гетерогенное «усиление» всего объема опухоли с наличием неконтрастирующихся «лакун» различной величины и формы.

Д. отсроченная фаза: заметное периферическое «усиление» (по типу капсулы).

Е. диффузионно-взвешенная МР-томограмма ($b=50 \text{ с/мм}^2$): преимущественная гиперинтенсивность очага.

Ж. ИКД-карта: структура очага смешанная, преимущественно гипоинтенсивная.

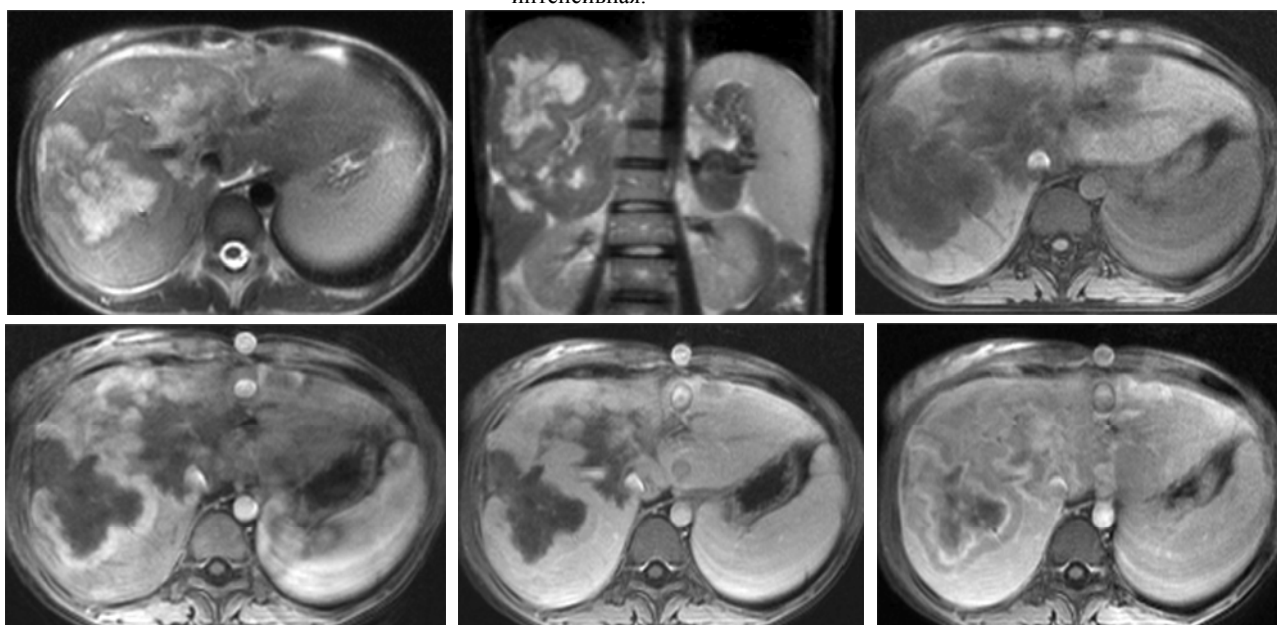


Рис. 2. Пациентка К. 24 лет, первичная лимфома печени. МР-томограммы брюшной полости.

А, Б – аксиальная и корональная Т2-томограммы: большую часть обеих долей печени занимают массивные узловые образования различной формы и размеров, контуры узлов нечеткие и неровные с выраженным гиперинтенсивным кистозным компонентом в их центральных отделах.

В – нативная Т1-томограмма: контуры узлов сравнительно четкие и неровные, внутренняя структура – неоднородно гипоинтенсивная.

Г – артериальная фаза: интенсивное периферическое «усиление» по типу «ободка».

Д – венозная фаза: периферическое вымывание, «ободок» становится двуслойным.

Е – отсроченная (5мин) фаза: диффузное гетерогенное контрастирование всего массива узлов с выраженным «усилением» внутренней части слоистого «ободка».

Не обсуждая особенности клинических проявлений заболевания у данных пациентов, мы решили остановиться только на особенностях выявленных у них (при РКТ/МРТ) изменений в печени. Следует сразу отметить, что наблюдаемая картина поражения печени обладала определенными индивидуальными особенностями, однако не позволила нам высказаться корректно о характере новообразований, совершенно не соответствующих отображению типичных, наиболее распространенных опухолевых процессов при гепатоцеллюлярном или холангиоцеллюлярном раке, либо метастазах. Нами были высказаны лишь предположения об опухолевом генезе изменений, но окончательный диагноз «лимфома» был установлен только после расширенных клинических и лабораторных исследований, включая морфологическое изучение биопсийного материала.

Во всех случаях было выявлено крупное опухолевое образование (пониженной плотности при РКТ) с частично четкими, частично нечеткими контурами, с неоднородной внутренней структурой, гипоинтенсивной в T1, преимущественно повышенной интенсивности в T2. Кроме того, нами отмечено еще несколько схожих особенностей, а именно: диффузное гетерогенное усиление всего объема новообразования в артериальную и венозную фазы (что, очевидно, характерно для всех злокачественных процессов), слоистость их контуров, наличие в массиве опухолей различного размера бесформенных, слабо- или неконтрастирующихся лакун (рис. 1, рис. 2).

При диффузионно-взвешенной МРТ (в одном случае; (рис. 1Е) выявлялась гиперинтенсивность образования при различных значениях b-value (50-400-800 с/мм²). На ИКД-картах отображе-

ние его структуры было смешанным (рис. 1Ж), но преимущественно гипоинтенсивным (с аморфными гиперинтенсивными участками в центральных отделах).

В целом (рис. 1Ж) отметим, что диагностика первичных лимфом печени (также как и других редких ее опухолей) только с помощью УЗИ, РКТ или МРТ представляется крайне сложной и часто неразрешимой задачей [9; 10].

Низкий уровень заболеваемости первичной лимфомой печени является причиной отсутствия стандартного лечебного подхода.

В настоящее время отдается предпочтение проведению ПХТ, возможно, с добавлением таргетной иммунотерапии, в зависимости от иммуноморфологического варианта лимфомы и традиций клиники.

Первичная лимфома печени – заболевание с разнообразными клиническими проявлениями и различными результатами лечения. Большинство исследователей признают, что агрессивный характер опухоли и частое наличие сопутствующих иммунокомпрометирующих заболеваний обуславливают неблагоприятный прогноз.

Медиана ОБ в группе больных первичной лимфомой печени 15,3 мес. Однако, этот показатель значительно варьирует в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующих заболеваний, составляя по разным данным от 3 до 123,6 мес [11]. Отмечена взаимосвязь между продолжительностью жизни больных и иммуноморфологическим вариантом лимфомы [7; 8; 12]. Показана значительная разница между показателями 1- и 3-летней ОБ в группах больных с очаговым – 700 и 57% – и диффузным – 38 и 18 % соответственно – поражением печени [13].

Литература

1. Ata A.A., Kamel I.A. Primary reticulum cell sarcoma of the liver. A case report// J Egypt Med Assoc.-1965.-Vol.48, N 7.-P.514-521.
2. Caccamo D., Pervez N.K., Marchevsky A. Primary lymphoma of the liver in the acquired immunodeficiency syndrome// Arch Pathol Lab Med.-1986.- Vol.110.-P.553-555.
3. Freeman C., Berg J.W., Cutler S.J. Occurrence and prognosis of extranodal lymphomas// Cancer.-1972.-Vol.29, N 1.-P.252-260.
4. Focal liver lesions in non-Hodgkin's lymphoma: investigation of their prevalence, clinical significance and the role of Hepatitis C virus infection / Civardi G., Vallis D., Berte R., Lazzaro A., Moroni C.F., Cavanna L.// Eur J Cancer.-2002.-Vol.38, N 18.-P.2382-2387.
5. Craig J.R., Peters R.L., Edmondson H.A. Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts.-2nd Series.- Washington: Armed Forces Institute of Pathology.-1989.-P.244-246.
6. Primary hepatic non- Hodgkin's lymphoma: a case report and review of the literature / Santos E.S., Raez I.E., Salvatierra J., Morgensztern D., Shanmugan N., Neff G.W.// Am J Gastroenterol.-2003.-Vol.98, N 12.-P.2789-2793.
7. Zafar M.S., Aggarwal S., Bhalla S. Complete response to chemotherapy in primary hepatic lymphoma.// J Cancer Res Ther.-2012.-Vol. 8, N 1.-P.114-116.
8. Primary Hepatic Follicular Lymphoma: A case report and discussion and Outcomes / Gomyo H., Kagami Y., Kato H., Kawase T., Ohshiro A., Oyama T., Kamiya Y., Taji H., Nakamura S., Ogura M., Morishima Y. // J Clin Exp Hematop.-2007.-Vol.47, N 2.-P.73-77.
9. CT of Primary Lymphoma of the Liver / Sanders L.M., Botet J.F., Straus D.J., Ryan J., Filippa D.A., Newhouse J.H.// AJR.-1989.-Vol.152, N 2.-P.973-976.
10. Abdominal Manifestations of Extranodal Lymphoma: Spectrum of Imaging Findings / Lee W.K., Lau E.W., Duddalwar V.A., Stanley A.J., Ho Y.Y.// AJR.-2008.-Vol.191, N 1.-P.198-206.
11. Avlonitis V.S., Linos D. Primary hepatic lymphoma: a review.// Eur J Surg.-1999.-Vol.165, N 8.-P.725-729.
12. Primary lymphoma the liver - A complex diagnosis / Steller J.A., Maarten S van Leeuwen, Richard van Hillegerberg, Schipper E.I., Inne HM Borel Rinkes., Izaak Q Molenaar.// Word J Radiol.-2012.-Vol.4, N 2.-P.53-57.
13. Primary non- Hodgkin's lymphomas of the liver with nodular and diffuse infiltration patterns have different prognoses / Emile J.F., Azoulay D., Gornet J.M., Lopes G., Delvart V., Samuel D., Reynes M., Bismuth H., Goldwasser F.// Ann Oncol.-2001.-Vol.12, N 7.-P.1005-1010.

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ПЛП (PLL)	– первичная лимфома печени (primary liver lymphoma)
НХЛ	– неходжкинская лимфома

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ В СООТВЕТСТВИИ С ГИСТОЛОГИЧЕСКИМ ВАРИАНТОМ И СТЕПЕНЬЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ОПУХОЛИ

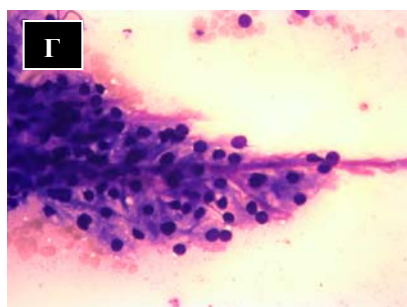
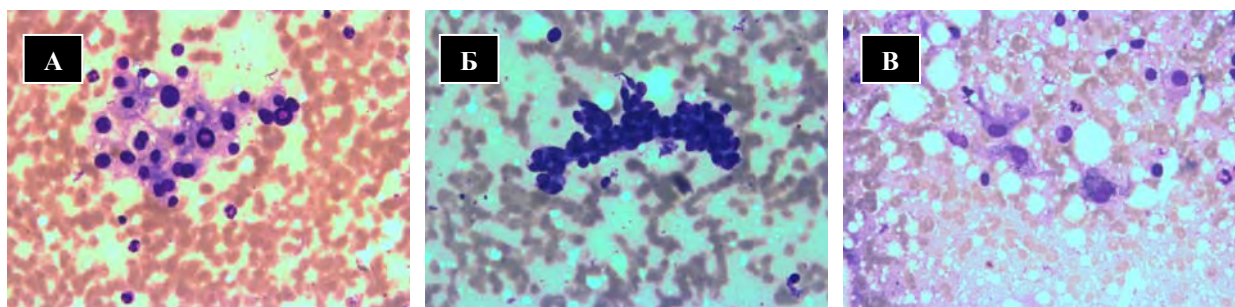


Рис. 1. Гиперплазия печеночного эпителия (световая микроскопия, окраска по методу Лейшмана, увеличение $\times 400$):

- а. внутриядерные включения типа «оргстекла», признаки жировой дистрофии;
- б. пролиферация эпителия внутрипеченочных желчных протоков;
- в. макрофаги печени;
- г. элементы сосудов.

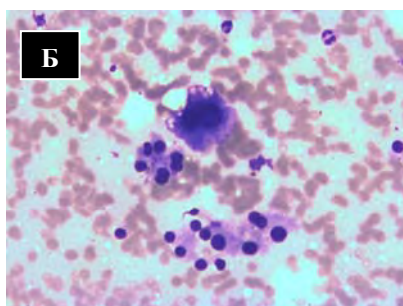
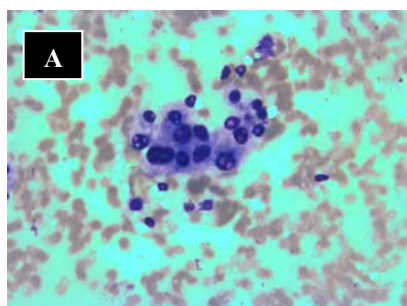


Рис. 2. Крупноклеточная дисплазия гепатоцитов (световая микроскопия, окраска по методу Лейшмана, увеличение $\times 400$):

- а. полиморфизм клеток и ядер;
- б. двуядерная клетка.

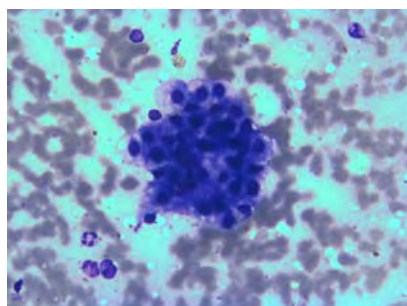


Рис. 3. Мелкоклеточная дисплазия гепатоцитов (световая микроскопия, окраска по методу Лейшмана, увеличение $\times 400$).

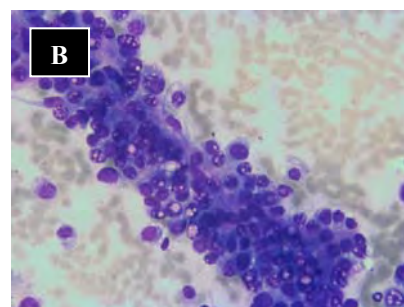
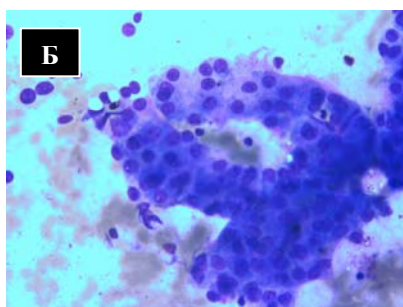
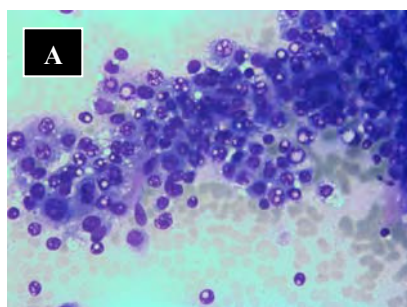


Рис. 4. Высокодифференцированная ГЦК (световая микроскопия, окраска по методу Лейшмана, увеличение $\times 400$):

- а. неровный контур ядер, высокое ядерно-цитоплазматическое отношение, «нагромождение» ядер;
- б. микротрабекулярная цитоархитектоника;
- в. псевдоацинарная и компактная цитоархитектоника;

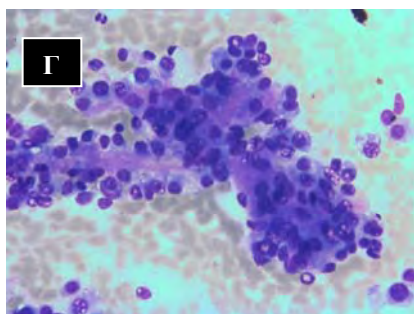


Рис. 4. Высокодифференцированная ГЦК (световая микроскопия, окраска по методу Лейшмана, увеличение $\times 400$):
г. тубулярная цитоархитектоника.

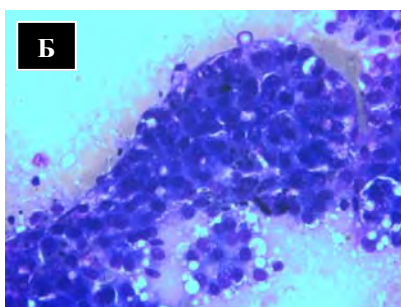
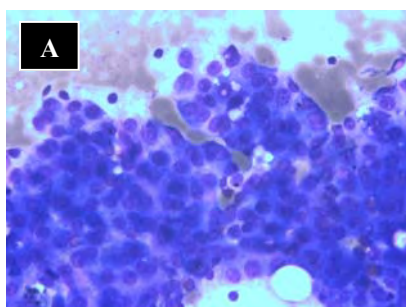


Рис. 5. Цитоархитектоника высокодифференцированной ГЦК (световая микроскопия, окраска по методу Лейшмана, увеличение $\times 400$):
а. трабекулы в виде обтекаемых пластов опухолевых клеток;
б. микротрабекула, окруженная эндотелием.

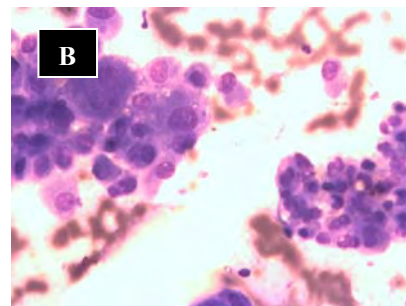
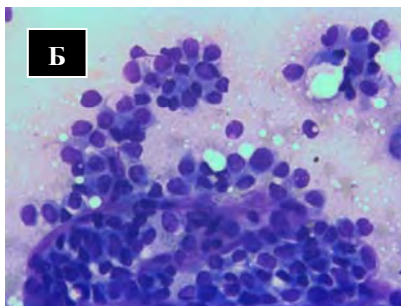
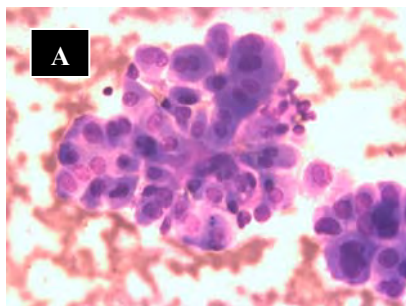


Рис. 6. Умеренно дифференцированная ГЦК (световая микроскопия, окраска по методу Лейшмана, увеличение $\times 400$):
а. полиморфизм клеток и ядер;
б. трабекулярная и псевдоацинарная цитоархитектоника;
в. чередование участков с высоким и низким ядерно-цитоплазматическим отношением.

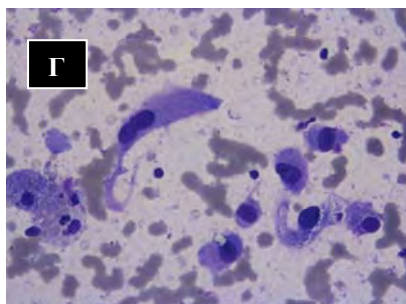
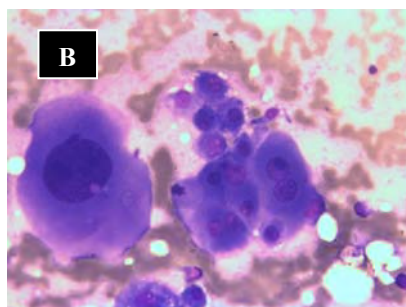
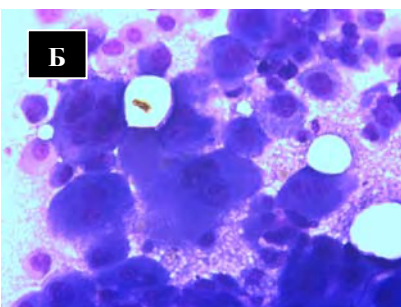
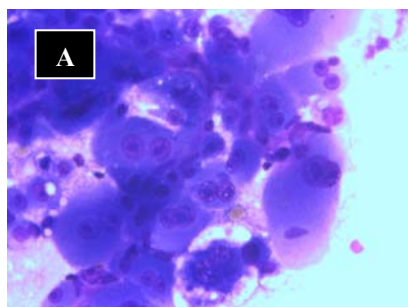
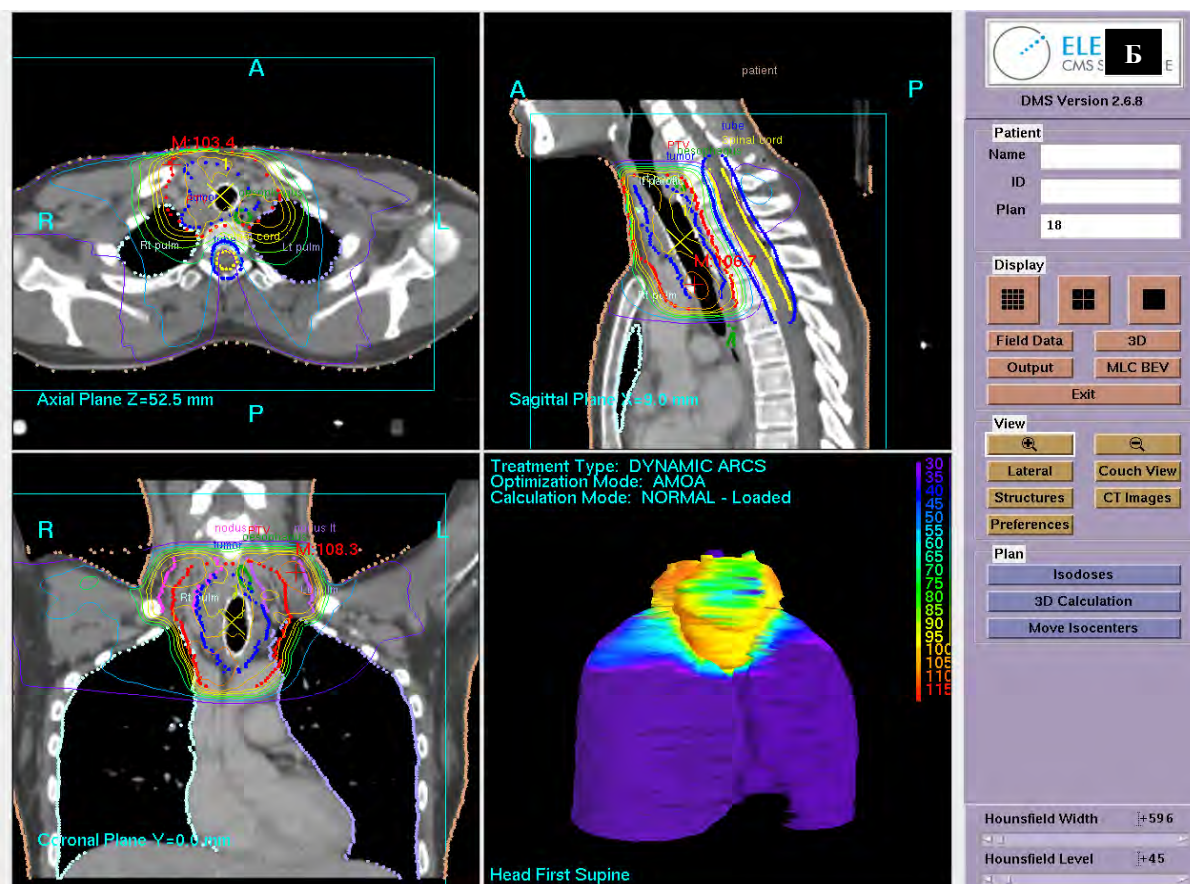


Рис. 7. Низкодифференцированная ГЦК (световая микроскопия, окраска по методу Лейшмана, увеличение $\times 400$):
а. трабекулярная цитоархитектоника, крупные, одиночные, центрально расположенные ядрышки;
б. выраженный полиморфизм опухолевых клеток;
в. плеоморфноклеточный вариант;
г. саркомоподобный вариант.



Б. При облучении надключичных лимфатических узлов и средостения.

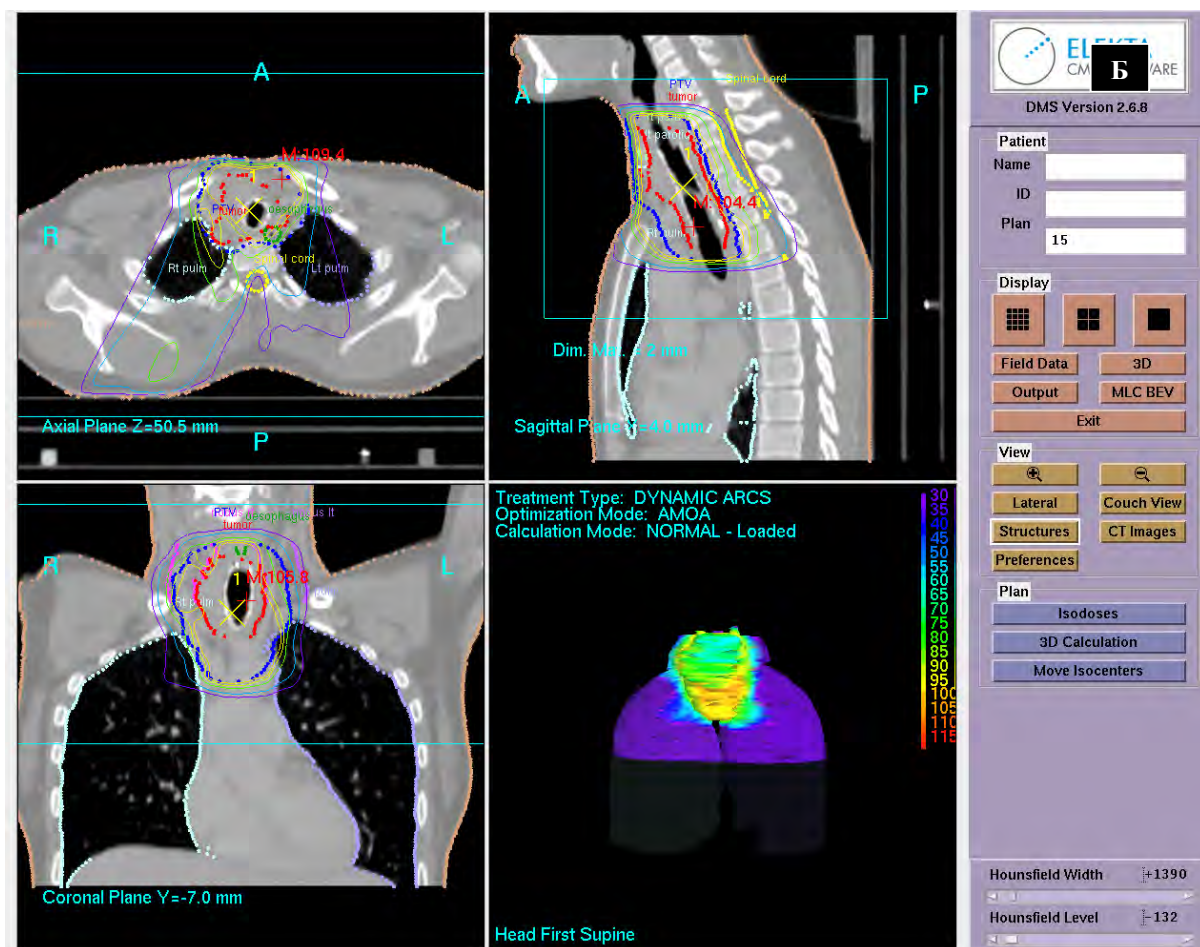
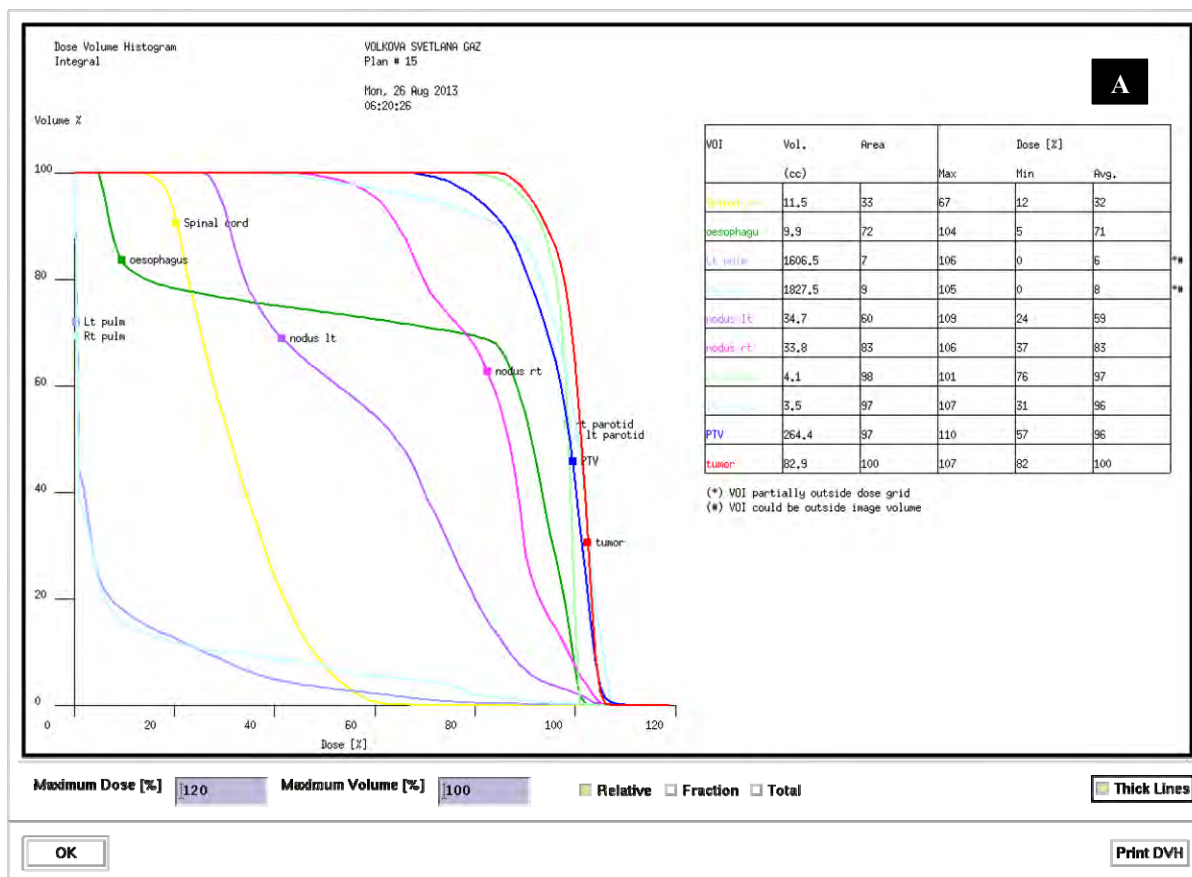


Рис. 3. DVH-гистограмма дозного распределения.

- А. При облучении трахеи.
Б. При облучении надключичных лимфатических узлов и средостения.