

СОДЕРЖАНИЕ журнала №1-2 2014

ПРОФЕССОР Е. Е. ПОГОСЯНЦ (к 100-летию со дня рождения)

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

*Е. О. Игнатова, М. А. Фролова, А. В. Петровский, Е. В. Мальшиева,
Т. Л. Ажикина, С. А. Тюляндин*

**ДИСФУНКЦИЯ BRCA1 КАК МАРКЕР ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ПРОИЗВОДНЫМ ПЛАТИНЫ
ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО ВАРИАНТА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

С. В. Молчанов, Л. А. Коломиец, И. Г. Фролова, Н. В. Вяткина, Н. С. Бакланова

**ПЕРИТОНЕАЛЬНЫЙ КАНЦЕРОМАТОЗ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ: ЭХОСЕМИОТИКА,
КЛАССИФИКАЦИЯ**

С. В. Чулкова, И. С. Стилиди, Е. В. Глухов, Л. Ю. Гривцова, С. Н. Неред, Н. Н. Тупицын

**СЕЛЕЗЕНКА — ПЕРИФЕРИЧЕСКИЙ ОРГАН ИММУННОЙ СИСТЕМЫ. ВЛИЯНИЕ
СПЛЕНЭКТОМИИ
НА ИММУННЫЙ СТАТУС
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Ю. А. Борисова, Г. Б. Смирнова, Н. Т. Райхлин, Е. М. Трещалина, З. С. Шпрах

**РЕЗУЛЬТАТЫ СКРИНИНГА ФИТОАНТИЭСТРОГЕНА СЕКОИЗОЛАРИЦИРЕЗИНОЛА НА
ЭСТРОГЕНЗАВИСИМОЙ
АДЕНОКАРЦИНОМЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ CA755**

И. С. Брюховецкий, П. В. Мищенко, Ю. С. Хотимченко, А. С. Брюховецкий

**ОБОСНОВАНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO ФЕНОМЕНА НАПРАВЛЕННОЙ МИГРАЦИИ
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕВЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ВЗРОСЛЫХ
МЛЕКОПИТАЮЩИХ К
КЛЕТКАМ КРЫСИНОЙ ГЛИОМЫ ЛИНИИ C6
КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Е. А. Демина

**ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ ЛИМФОМОЙ
ХОДЖКИНА
ПОЗДНИХ СТАДИЙ ДО ЛЕЧЕНИЯ**

О. А. Богомолова, Н. Н. Тупицын, В. В. Родионов, В. В. Кометова, М. В. Родионова

**ИММУНОЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ОБНАРУЖЕНИЯ ДИССЕМНИРОВАННЫХ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
В КОСТНОМ МОЗГЕ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ДИСКУССИЯ**

И. В. Нехаев, А. О. Приходченко, С. В. Ломидзе, А. В. Сытов

ИНТЕНСИВНАЯ ТЕРАПИЯ СИСТЕМНЫХ МИКОЗОВ В ОНКОХИРУРГИИ

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Екатерина Олеговна Игнатова¹, Мона Александровна Фролова²,
Александр Валерьевич Петровский³, Елена Владимировна Малышева⁴,
Татьяна Леодоровна Ажикина⁵, Сергей Алексеевич Тюляндин⁶

ДИСФУНКЦИЯ BRCA1 КАК МАРКЕР ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ПРОИЗВОДНЫМ ПЛАТИНЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО ВАРИАНТА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ Аспирант, отделение клинической фармакологии и химиотерапии НИИ клинической онкологии
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² К. м. н., старший научный сотрудник, отделение клинической фармакологии и химиотерапии
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ К. м. н., старший научный сотрудник, отделение радиохимиотерапии НИИ клинической онкологии
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ Студент, факультет фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова
(119192, г. Москва, Ломоносовский проспект, г. 31, корп. 5)

⁵ Д. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория структуры и функций генов человека
Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН
(117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, г. 16/10)

⁶ Д. м. н., профессор, заведующий, отделение клинической фармакологии и химиотерапии
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ клинической онкологии
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН, отделение клинической фармакологии и химиотерапии,
Игнатова Екатерина Олеговна; e-mail: md.ignatova@gmail.com

В настоящее время на основании генетического профиля, а также экспрессии иммуногистохимических маркеров выделяют несколько молекулярных подтипов рака молочной железы. Тройной негативный рак молочной железы характеризуется отсутствием экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER2/неу, а также высоким индексом пролиферации. Данные особенности определяют агрессивность течения заболевания и отсутствие мишеней для молекулярно-направленной («таргетной») терапии. Таким образом, единственной терапевтической опцией при тройном негативном раке молочной железы остается химиотерапия. Под действием препаратов платины возникают двунитевые разрывы молекулы ДНК. Репарация двунитевых разрывов молекулы ДНК происходит по механизму гомологичной рекомбинации. Важным звеном гомологичной рекомбинации является функционирование комплекса BRCA1 и белков-корегуляторов BRCA2 и RAD51. Функция BRCA1 может быть нарушена при наследственных мутациях, частота которых при тройном негативном раке молочной железы составляет 10%. Помимо мутаций возможно развитие дисфункции гена *BRCA1*, к которой относятся снижение экспрессии BRCA1 и RAD51, гиперэкспрессия ID4, а также мутации и снижение экспрессии PTEN и мутации гена *TP53*. В результате дефицита гомологичной рекомбинации опухолевые клетки становятся чрезвычайно чувствительными к препаратам, повреждающим ДНК. Таким образом, определение дисфункции BRCA1 может быть потенциальным биомаркером чувствительности к химиотерапии с включением препаратов платины и позволит индивидуализировать подходы к лечению больных данной прогностически неблагоприятной группы.

Ключевые слова: рак молочной железы, тройной негативный фенотип, химиотерапия, дисфункция гена *BRCA1*, препараты платины.

В настоящее время на основании генетического профиля, а также экспрессии иммуногистохимических маркеров выделяют несколько молекулярных подтипов рака молочной железы (РМЖ), которые различаются по прогнозу и чувствительности к различным видам лекарственной терапии. Тройной негативный вариант РМЖ выделяют в отдельную группу в связи с агрессивным течением заболевания и отсутствием специфических терапевтических мишеней — рецепторов эстрогенов (ER), рецепторов прогестерона (PgR) и рецепторов эпидермального фактора роста-2 (HER2/neu). В настоящее время при тройном негативном варианте РМЖ вследствие отсутствия мишеней для молекулярно-направленной («таргетной») терапии единственной терапевтической опцией является химиотерапия (ХТ). При использовании стандартных режимов ХТ результаты лечения остаются неудовлетворительными. Один из подходов к повышению эффективности лечения заключается в предоперационной ХТ. Известно, что при достижении полной патоморфологической регрессии выживаемость больных тройным негативным РМЖ (ТНРМЖ) приближается к выживаемости при более благоприятных подтипах. Одним из путей улучшения результатов лечения больных данной группы является интенсификация предоперационной ХТ. Ведется поиск дополнительных маркеров для определения прогноза заболевания, при этом не менее важны прогностические маркеры, позволяющие судить о чувствительности опухоли к проводимому лечению.

СВЯЗЬ МЕЖДУ ТРОЙНЫМ НЕГАТИВНЫМ ФЕНОТИПОМ, BRCA1-АССОЦИИРОВАННЫМ И БАЗАЛЬНОПОДОБНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Большой интерес представляет общность генотипических характеристик тройного негативного варианта, базальноподобного подтипа и BRCA1-ассоциированного РМЖ. У 90% больных РМЖ с герминальной мутацией *BRCA1* имеется тройной негативный фенотип. При этом 80–90% BRCA1-ассоциированного РМЖ является базальноподобным. Только в 10% случаев при тройном негативном варианте РМЖ встречается герминальная мутация *BRCA1* [1].

Характер экспрессии генов трех этих подгрупп сходен, вследствие чего они имеют много общих фенотипических черт [2]. BRCA1-ассоциированный рак в большинстве случаев характеризуется отсутствием экспрессии ER, PgR, HER2/neu и экспрессией маркеров базальноподобных опухолей (p53, Р-кадгерин, цитokerатин-5/6, цитokerатин-17, цитokerатин-14, EGFR1 и рецептор c-kit) [3]. Как и тройной негативный вариант, BRCA1-ассоциированный РМЖ чаще встречается у молодых женщин (моложе 50 лет), а также в афро-американской и испанской этнических группах. Все три описанные подгруппы характеризуются неблагоприятным течением и прогнозом [4].

Наличие общих генетических и фенотипических характеристик у BRCA1-ассоциированного РМЖ и спо-

радикального тройного негативного/базальноподобного подтипа РМЖ свидетельствует о возможной схожести этих подтипов [5].

РОЛЬ BRCA1 В РЕПАРАЦИИ ДНК

BRCA1 является геном-супрессором, роль которого заключается в подавлении опухолевого роста и поддержании стабильности генетического аппарата клеток. Продукт, кодируемый геном *BRCA1*, образует комплекс белков BARA (BRCA-associated genome surveillance complex), которые участвуют в репарации ДНК, обеспечивая целостность генома [6]. Главная функция белкового комплекса BRCA1 — регуляция восстановления двуниевых разрывов ДНК по механизму гомологичной рекомбинации [7; 8].

Первый этап гомологичной рекомбинации заключается в вырезании поврежденных нуклеотидов эндонуклеазами. На втором этапе происходит сборка нуклеопротеиновых филаментов, образовавшихся после связывания белкового комплекса, распознающего двуниевые разрывы ДНК, с местом повреждения ДНК. Филаменты играют решающую роль в реализации дальнейших этапов рекомбинации и представляют собой платформу для последовательного взаимодействия репаративных белков. В функции филаментов входят поиск гомологичной матричной ДНК, соединение азотистых оснований с гомологичным участком раскрученной сестринской хроматиды и трансляция или удлинение цепочки нуклеотидов. В составе филаментов регистрируется около 20 белков, при этом ключевыми в их структуре считаются RAD51 и BRCA2. Конечным этапом гомологичной рекомбинации является отделение от сестринской хроматиды и образование полноценной спирали ДНК [9].

Результатом дисфункции гена *BRCA1* может быть нарушение ассоциированного с BRCA1 механизма репарации ДНК в спорадических опухолях. Как следствие, эти опухоли могут быть чрезвычайно чувствительны к цитостатикам, повреждающим ДНК, — производным платины. Препараты платины вызывают двуниевые разрывы ДНК. В результате того что механизм гомологичной рекомбинации не работает, в клетках с дисфункцией BRCA1 не восстанавливается ДНК. Использование препаратов платины приводит к гибели опухолевых клеток. На основании этих данных высказано предположение, что дисфункция гена *BRCA1* может быть потенциальным биомаркером чувствительности к ХТ с включением препаратов платины.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИИ BRCA1 В СПОРАДИЧЕСКОМ ТНРМЖ

Механизм развития дисфункции *BRCA1* в спорадическом ТНРМЖ представлен на рисунке. К дисфункции BRCA1 относят спонтанные мутации гена *BRCA1*, гиперэкспрессию ID4, нарушение функции RAD51, а также мутации генов — опухолевых супрессоров *TP53* и *PTEN*.

Спорадические мутации, метилирование, снижение экспрессии мРНК BRCA1

В спорадических опухолях молочной железы дисфункция гена *BRCA1* может развиваться по различным механизмам, например по механизму спонтанных со-

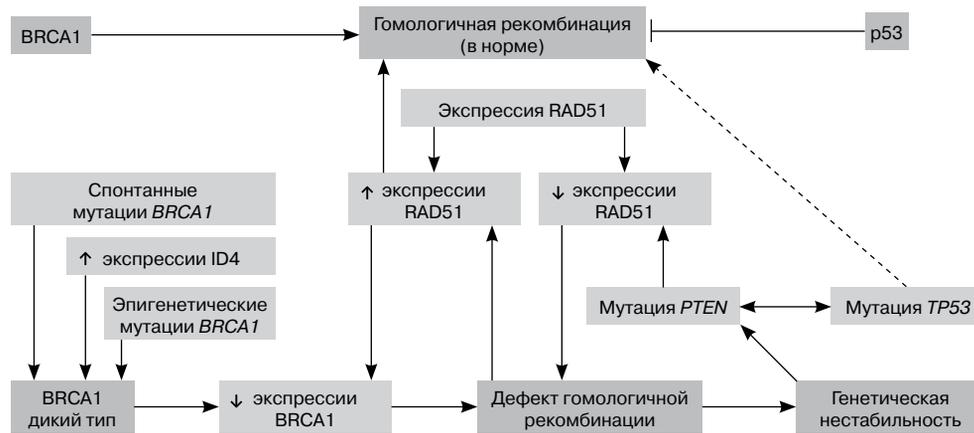


Рисунок. Механизм развития дисфункции BRCA1 в спорадическом ТНПМЖ.

матических мутаций гена и по механизму гиперметилирования промотора *BRCA1*. Подобные спорадические мутации приводят к снижению или даже отсутствию экспрессии мРНК *BRCA1*.

Показано, что снижение экспрессии мРНК *BRCA1* в опухолях молочной железы с тройным негативным фенотипом встречается чаще, чем в каких-либо других подтипах [10—12]. Для славянской этнической группы определен ряд характерных мутаций *BRCA1* (*5382insC*, *185delAG*, *T300G*), возникновение которых приводит к развитию РМЖ [13; 14]. Данные мутации обуславливают развитие наследственного РМЖ, однако возможно возникновение спорадических мутаций в указанных локусах в ткани опухоли в процессе канцерогенеза.

Метилирование промоторного участка гена *BRCA1*, по данным исследования Е. Н. Lips и соавт. (2013), регистрируется в 27—37% случаев ТНПМЖ [15]. В работе S. A. Joosse и соавт. (2011) 34% образцов базальноподобного РМЖ характеризовались метилированием промоторного участка *BRCA1*, что значимо коррелировало с нарушением регуляции *BRCA1* (во всех образцах снижена экспрессия *BRCA1*) [16]. Сходные результаты получены в более ранних работах, где уровень метилирования промоторного участка гена *BRCA1* составил 32% [17; 18]. При этом в исследовании N. C. Turner и соавт. (2007) уровень метилирования *BRCA1* в базальноподобном РМЖ составил всего 12%, что авторы объясняют различием в методологии определения базальноподобного фенотипа [10].

В исследовании D. P. Silver и соавт. (2010) снижение экспрессии мРНК *BRCA1* статистически значимо ассоциировалось с ответом на лечение. В работе оценивали патоморфологические регрессии после проведения 4 курсов ХТ цисплатином в монорежиме. У всех 5 пациентов, у которых определялся низкий уровень экспрессии мРНК *BRCA1*, отмечался хороший ответ на лечение. Уровень экспрессии мРНК *BRCA1* был ниже в опухолях, в которых также регистрировалось метилирование промоторного участка гена. Они характеризовались лучшим ответом на лечение, чем опухоли без метилирования (75 и 27% соответственно; $p = 0,04$). Авторы сделали вывод, что дисфункция *BRCA1* является маркером чувствительности к платиносодержащим режимам ХТ [12].

Гиперэкспрессия промотора ID4 — обратного регулятора *BRCA1*

К семейству белков ID (inhibitor of DNA binding) относятся ключевые регуляторные белки, которые посредством обратной регуляции транскрипции влияют на процесс дифференцировки клеток [19; 20]. В составе этих белков выделяют ID4 (inhibitor of DNA binding 4) — обратный регулятор промотора *BRCA1*.

Увеличение экспрессии мРНК ID4 — один из механизмов развития дисфункции *BRCA1* [21]. Еще в 2005 г. N. Umetani и соавт. сообщили о потенциальной роли гиперэкспрессии мРНК ID4 в обратной регуляции *BRCA1*, которая проявлялась только в клетках базальноподобного РМЖ и отсутствовала в контрольных группах, как и метилирование ID4 [22]. В работе G. Roldan и соавт. (2006) подтверждена обратная связь между экспрессией мРНК *BRCA1* и мРНК ID4 ($p = 0,028$) [23].

В исследовании N. C. Turner и соавт. (2007) изучались уровень экспрессии мРНК *BRCA1*, метилирование промоторного участка *BRCA1* и уровень экспрессии мРНК ID4 в клетках базальноподобного РМЖ, полученных из послеоперационного материала. Оказалось, что уровень метилирования *BRCA1* в клетках базальноподобного РМЖ и в контроле не различался. При этом уровень экспрессии мРНК *BRCA1* был статистически значимо ниже, а уровень экспрессии мРНК ID4 — статистически значимо выше в клетках базальноподобного РМЖ. Авторы назвали увеличение экспрессии мРНК ID4 и снижение экспрессии мРНК *BRCA1* возможными маркерами эффективности лечения больных данной неблагоприятной группы [10].

В последней публикации Y. H. Wen и соавт. (2012) показано, что гиперэкспрессия белка ID4 в клетках ТНПМЖ выявлялась чаще (>50%), чем в клетках ER-позитивного варианта РМЖ (5%). В данном исследовании авторы подтвердили результаты работ G. Roldan и соавт. (2006) и N. C. Turner и соавт. (2007) [10; 23; 24].

Нарушение экспрессии RAD51

RAD51 — это ДНК-рекомбиназа, которая входит в состав протеинового комплекса *BRCA1* в качестве белка-корегулятора. Уровень экспрессии RAD51 находится под

контролем гена *BRCA1* и индуцируется повреждением ДНК. При любой дисфункции *BRCA1* нарушается гомологичная рекомбинация, что приводит к компенсаторному повышению экспрессии мРНК RAD51. В то же время RAD51 по механизму отрицательной обратной связи способен снижать экспрессию мРНК *BRCA1* [25].

Методом иммунофлюоресцентной микроскопии в области двунитевого повреждения ДНК выявляется образование филаментов, которые формируются белками, участвующими в процессе репарации ДНК. В сформированных филаментах регистрируются фокусы RAD51. Поскольку снижение образования фокусов RAD51 уже на самом первом этапе блокирует рекомбинацию, это снижение называют инициальным дефектом гомологичной рекомбинации [26].

На клеточных линиях с дефектом репарации в виде мутации *BRCA1* показано, что после повреждения ДНК фокусы белка RAD51 не формируются [27]. Отсутствие подобных фокусов в образцах РМЖ после облучения также коррелировало с дефектом пути *BRCA1*. Авторы делают вывод, что анализ появления фокусов белка RAD51 в ответ на повреждение ДНК как маркер репарации может быть полезен для определения потенциальных возможностей терапии данной опухоли [28; 29].

В работе М. Graeser и соавт. (2012) изучалось формирование фокусов белка RAD51 методом иммунофлюоресцентной микроскопии в биопсийном материале больных с диагнозом РМЖ. Соге-биопсия выполнялась через 24 ч после проведения первого курса ХТ. В исследование включены пациентки, получающие различные схемы лечения. Уровень экспрессии RAD51 оценивался в баллах как отношение числа пролиферирующих клеток к числу клеток с фокусами RAD51. Среди образцов 26% характеризовались низкой экспрессией RAD51, которая коррелировала с высокой степенью злокачественности опухоли ($p = 0,031$) и высоким уровнем Ki-67 ($p = 0,005$). Такие образцы чаще регистрировались у пациентов с тройным негативным фенотипом, чем с ER/Her2-позитивным (67 и 19% соответственно; $p = 0,0036$). Отсутствие фокусов RAD51 ассоциировалось с развитием полной патоморфологической регрессии после неoadъювантной ХТ с включением антрациклинов. При этом авторы сделали вывод, что дефект гомологичной рекомбинации в виде низкого уровня экспрессии RAD51 в баллах может быть маркером чувствительности к цитостатикам, вызывающим двунитевые повреждения ДНК [13].

В исследовании Т. Fukuda и соавт. (2013), представленном на 13-й конференции по адъювантной терапии РМЖ (Сен-Галлен, Швейцария), пациенткам с диагнозом РМЖ биопсия опухолевого узла выполнялась до проведения ХТ и после первого цикла по схеме эпирубицин, циклофосфамид. Ответ на повреждения ДНК оценивался по шкале от 0 до 4 баллов. При этом оценка 4 балла соответствовала самой высокой степени повреждения. Ее определяли по 4 показателям репарации ДНК: наличие фокусов *BRCA1*, γ -H2AX и RAD51 перед лечением и наличие фокусов RAD51 после ХТ. У пациенток с высоким уровнем ответа на повреждение ДНК (4 балла) прогноз был статистически значимо хуже, и они, по мнению авторов, нуждались в более тщательном, отличном от стандартного назначении ХТ [30].

В то же время при нарушении гомологичной рекомбинации иными возможными механизмами она способна компенсаторно восполняться за счет гиперэкспрессии RAD51 [31]. Например, клетки, в которых нарушен механизм гомологичной рекомбинации, приобретают дефект гена *TP53*. При этом происходит регуляторное увеличение экспрессии RAD51, что приводит к стабилизации генома и уменьшению генетической нестабильности. Поэтому так важно при анализе дисфункции *BRCA1* определять уровень экспрессии RAD51 в совокупности с активностью гена *TP53* [31].

Мутация *TP53*

p53 широко известен как белок — супрессор опухолевого роста, функция которого реализуется посредством активации сигнальных путей BAX, PUMA и NOXA. Эти сигнальные пути индуцируют апоптоз в том случае, если в клетках произошла опухолевая трансформация [32; 33].

Ряд авторов описали существенную роль p53 в репарации ДНК [34; 35]. В ответ на повреждение ДНК происходит посттрансляционная модификация под действием киназ (ATM), ацетилтрансфераз и PARP-1, что приводит к активации p53 и индуцирует его связывание с регуляторными последовательностями генома [36—38].

В результате ряда исследований выяснено, что p53 ингибирует восстановление двунитевых разрывов ДНК [34; 39; 40]. В исследованиях Y. Saintigny и соавт. (2002) и С. Janz и соавт. (2002) показано, что p53 ингибирует избыточную репарацию ДНК, а также гомологичную рекомбинацию, возникающую без предшествующего повреждения ДНК. Таким образом, активируя пути апоптоза, p53 предотвращает случайные изменения генома и поддерживает генетическую стабильность клетки [41; 42].

В семейство белков p53 входят транскрипционный фактор p63 и белок p73. Они экспрессируются преимущественно при ТНРМЖ. Белок p63 обеспечивает выживание опухолевых клеток посредством подавления опосредованного p73 апоптоза. Показано, что при воздействии цисплатином происходит диссоциация комплекса p63/p73 и активируется p73. Апоптоз опухолевых клеток подавляется [43; 44].

В работе S. P. Linke и соавт. (2003) описаны взаимоотношения p53 и RAD51. Для исследований была использована плаزمиды с мутантным RAD51, не способным связываться с p53. В ходе эксперимента, включавшего оценку фокусов белка RAD51, показано отсутствие формирования филаментов в ответ на повреждение ДНК. Таким образом, ингибируя образование филаментов, p53 препятствует прохождению рекомбинации [45].

В то же время для базальноподобного РМЖ характерно вторичное развитие мутаций гена *TP53*, которые возникают в результате нестабильности генома [35].

D. P. Silver и соавт. (2010) определяли p53-статус у пациенток с тройным негативным фенотипом. Всем больным проводилась неoadъювантная ХТ цисплатином в монорежиме. У пациенток, достигших полной патоморфологической регрессии, регистрировалась мутация *TP53*, в то время как в группе частичного ответа мутации *TP53* обнаружены не были. Авторы сделали вывод, что мутация *TP53* может рассматриваться как маркер чувствительности к препаратам платины [12].

Отсутствие экспрессии PTEN

Ген *PTEN* — один из основных генов — супрессоров опухолевого роста. Продукт данного гена является фосфатазой, которая ингибирует сигнальный путь PI3K, ответственный за выживание, злокачественную трансформацию, миграцию клеток, ангиогенез, а также развитие геномной нестабильности. Различные мутации гена *PTEN*, связанные с активацией сигнального пути PI3K, характерны для глиом, рака эндометрия, меланомы кожи, РМЖ [46]. При базальноподобном РМЖ мутации гена *PTEN* встречаются менее чем в 5% случаев, однако у 25% больных наблюдается отсутствие или значительное снижение экспрессии продукта гена — белка *PTEN* [47]. По данным исследования S. Y. Phuah и соавт. (2012), отсутствие экспрессии белка *PTEN* зарегистрировано в 82,4% (в 28 из 34) образцов ТНРМЖ с мутацией гена *BRCA1* [48].

Причинами отсутствия экспрессии *PTEN* могут служить точковые мутации (инверсии и инсерции) и потеря гетерозиготности, заключающиеся в фокальной интрааллельной мультипликации второго экзона. Метилирование промоторной области гена не влияет на экспрессию белка *PTEN*.

Снижение экспрессии *BRCA1* ведет к дефекту гомологичной рекомбинации, развитию аллельного дисбаланса и генетической нестабильности в опухоли. Генетическая нестабильность приводит к накоплению спорадических мутаций генов — опухолевых супрессоров, в том числе *PTEN*. В исследовании L. H. Saal и соавт. (2005) установлено, что массивные хромосомные перестройки гена *PTEN* ассоциированы с мутациями гена *BRCA1*, тогда как точковые мутации преимущественно связаны с диким типом гена *BRCA1*. Авторы делают вывод, что отсутствие экспрессии *PTEN* ассоциировано с развитием дисфункции гена *BRCA1* [47].

В работах W. H. Shen и соавт. (2007) отмечается влияние *PTEN* на ассоциированную с *RAD51* гомологичную рекомбинацию [49]. В исследовании S. C. West (2003) показано, что в клетках, в которых отсутствовала экспрес-

сия *PTEN*, формирование фокусов *RAD51* в ответ на нанесение двунитевых разрывов ДНК было значительно ниже, чем в клетках с диким типом гена (или с нормальной экспрессией) [50].

В исследовании A. N. Tutt и соавт. (2005) показано, что клетки, в которых отсутствовала экспрессия *PTEN*, были в 5 раз более чувствительны к цисплатину, чем аналогичные культуры с диким типом гена *PTEN* [51]. Данное исследование подтверждает предположение, что уровень экспрессии *PTEN* может служить предиктором ответа опухоли на препараты группы платины.

ИНДУКЦИОННАЯ ХТ У БОЛЬНЫХ ТНРМЖ

В различных исследованиях проводилась оценка эффективности стандартных, содержащих антрациклин и таксаны режимов лечения при ТНРМЖ. Уровень полной морфологической регрессии в работах составил от 20 до 30% (табл. 1) [52–55].

Оказалось, что, несмотря на высокую скорость пролиферации, отсутствие гормональных рецепторов и высокую степень злокачественности, собственно тройной негативный вариант РМЖ не является независимым маркером чувствительности к ХТ.

Обращает на себя внимание исследование R. Rouzier и соавт. (2005) с участием 22 больных, у которых с помощью исследования генетического профиля констатирован базальноподобный вариант РМЖ. Частота полной морфологической регрессии в этом исследовании оказалась достаточно высокой и составила 45% [54].

При анализе литературы создается впечатление, что комбинированное лечение с включением цисплатина, возможно, является более эффективным для больных ТНРМЖ, т. к. частота полной морфологической регрессии при этом составляет от 40 до 72% (табл. 2) [12; 56–58].

В исследовании T. Byrski и соавт. (2009) у больных с истинными мутациями *BRCA1* частота полной морфологической регрессии составила 71% при использовании цисплатина в монорежиме [57]. При анализе этого же режима у больных ТНРМЖ в исследовании D. P. Silver

Таблица 1

Эффективность индукционной ХТ у больных ТНРМЖ

Исследование	Популяция	Число больных	Режим ХТ	пПР, %
C. Liedtke (2008) [53]	ТНРМЖ	255	FAC/FEC/AC	22
			TFAC/TFEC	28
S. Darb-Esfahani (исследование Geparduo, 2009) [52]	ТНРМЖ	33	ADOC/AC-DOC	24,2
R. Rouzier (2005) [54]	БПРМЖ; 95% ER-; 86% Her2-	22	Тах, 80 мг/м ² 12 нед + 4 курса FAC	45
L. A. Carey (2007) [55]	ТНРМЖ	34	AC	27

БПРМЖ — базальноподобный РМЖ; пПР — полная морфологическая регрессия; AC — доксорубин, циклофосфамид; ADOC — доксорубин, доцетаксел; DOC — доцетаксел; FAC — 5-фторурацил, доксорубин, циклофосфамид; FEC — 5-фторурацил, эпирубин, циклофосфамид; Тах — паклитаксел; TFAC — паклитаксел/доцетаксел, 5-фторурацил, доксорубин, циклофосфамид; TFEC — паклитаксел/доцетаксел, 5-фторурацил, эпирубин, циклофосфамид.

(2010) полная морфологическая регрессия достигнута в 22% из 28 случаев (при этом у 2 больных с истинной мутацией *BRCA1*) и в 33% из 26 случаев с экспрессией p63/p73 [12].

При анализе комбинированного лечения с включением цисплатина у больных ТНРМЖ полная морфологическая регрессия достигнута в 40% случаев [56].

Обращает на себя внимание исследование G. Frasci (2009), в котором при использовании у больных ТНРМЖ комбинированной ХТ с включением доксорубина, паклитаксела и цисплатина в еженедельном режиме в течение 8 нед с поддержкой гранулоцитарным колониестимулирующим фактором частота полной морфологической регрессии оказалась чрезвычайно высокой — 62% [58].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время при использовании стандартных режимов индукционной ХТ, содержащих антрациклин и таксаны, результаты лечения больных ТНРМЖ остаются неудовлетворительными. Однако включение в эти режимы препаратов платины позволяет значительно увеличить частоту достижения полной морфологической регрессии. В недавно проведенных исследованиях показано, что определение дисфункции *BRCA1* позволяет выделить группу больных, высокочувствительных к платиносодержащим режимам ХТ. Таким образом, можно предположить, что определение дисфункции *BRCA1* может служить потенциальным биомаркером чувствительности к ХТ с включением препаратов платины и позволит индивидуализировать подходы к лечению больных данной прогностически неблагоприятной группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chacon R. D., Costanzo M. V. Triple-negative breast cancer // *Breast Cancer Res.* — 2010. — 12 Suppl 2. — P. S3.
2. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets / Sorlie T., Tibshirani R., Parker J., Hastie T., Marron J. S., Nobel A., Deng S., Johnsen H., Pesich R., Geisler S., Demeter J., Perou C. M., Lønning P. E., Brown P. O., Børresen-Dale A. L., Botstein D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — Vol. 100, N 14. — P. 8418–8423.

3. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications / Sorlie T., Perou C. M., Tibshirani R., Aas T., Geisler S., Johnsen H., Hastie T., Eisen M. B., van de Rijn M., Jeffrey S. S., Thorsen T., Quist H., Matese J. C., Brown P. O., Botstein D., Lønning P. E., Børresen-Dale A. L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98, N 19. — P. 10 869–10 874.

4. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer / Haffty B. G., Yang Q., Reiss M., Kearney T., Higgins S. A., Weidhaas J., Harris L., Hait W., Toppmeyer D. // *J. Clin. Oncol.* — 2006. — Vol. 24, N 36. — P. 5652–5657.

5. Turner N., Tutt A., Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers // *Nat. Rev. Cancer.* — 2004. — Vol. 4, N 10. — P. 814–819.

6. BASC a super complex of *BRCA1*-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures / Wang Y., Cortez D., Yazdi P., Neff N., Elledge S. J., Qin J. // *Genes Dev.* — 2000. — Vol. 14, N 8. — P. 927–939.

7. Deng C. X., Brodie S. G. Roles of *BRCA1* and its interacting proteins // *Bioassay.* — 2000. — Vol. 22, N 8. — P. 728–737.

8. Parvin J. D. *BRCA1* at a branch point // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98, N 11. — P. 5952–5954.

9. Weinberg R. A. Maintenance of genomic integrity and the development of cancer // *The biology of cancer / Weinberg R. A.* — New York: Garland Science. — 1st ed. — 2007. — P. 505–517.

10. *BRCA1* dysfunction in sporadic basal-like breast cancer / Turner N. C., Reis-Filho J. S., Russell A. M., Springall R. J., Ryder K., Steele D., Savage K., Gillett C. E., Schmitt F. C., Ashworth A., Tutt A. N. // *Oncogene.* — 2007. — Vol. 26, N 14. — P. 2126–2132.

11. Prognostic significance of *BRCA1* expression in sporadic breast carcinomas / Lambie H., Miremadi A., Pinder S. E., Bell J. A., Wencyk P., Paish E. C., Macmillan R. D., Ellis I. O. // *J. Pathol.* — 2003. — Vol. 200, N 2. — P. 207–213.

12. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer / Silver D. P., Richardson A. L., Eklund A. C., Wang Z. C., Szallasi Z., Li Q., Juul N., Leong C. O., Calogrias D., Buraimoh A., Fatima A., Gelman R. S., Ryan P. D., Tung N. M., Ganesan S., Miron A., Colin C., Sgroi D. C., Ellisen L. W., Winer E. P., Garber J. E. // *J. Clin. Oncol.* — 2010. — Vol. 28, N 7. — P. 1145–1153.

13. A marker of homologous recombination predicts pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer / Graeser M., McCarthy A., Lord C. J., Savage K., Hills M., Salter J., Orr N., Parton N., Smith I. E., Reis-Filho J. S., Dowsett M., Ashworth A., Turner N. C. // *Clin. Cancer Res.* — 2010. — Vol. 16, N 24. — P. 6159–6168.

14. Поиск часто встречающихся мутаций в генах предрасположенности к раку молочной железы / Мандельштам М. Ю., Голубков В. И., Ламбер Е. П., Шапиро И. М., Брежнева Т. В., Семиглазов В. Ф., Липовецкий Б. М., Хансон К. П., Гайцхоки В. С. // *Генетика.* — 2001. — Т. 37, №12. — С. 1681–1686.

Таблица 2

Эффективность индукционной ХТ с применением препаратов платины у больных ТНРМЖ

Исследование	Популяция	Число больных	Режим ХТ	пПР, %
T. Byrski (2009) [57]	<i>BRCA1</i> -ассоциированный ПМЖ (80% ТНРМЖ)	25	4 курса Pt, 75 мг/м ² каждые 3 нед	72
D. P. Silver (2010) [12]	ТНРМЖ	28	4 курса Pt, 75 мг/м ² каждые 3 нед	22% (из них 2 больные с мутацией <i>BRCA1</i>), 33% (с экспрессией p63/p73)
G. Frasci (2009) [58]	ТНРМЖ	74	8 курсов Pt/E/Tax + G-CSF еженедельно	62%
R. Torrisi (2008) [56]	ТНРМЖ	30	4 курса E/Pt/5FU + 3 курса Tax	40%

пПР — полная морфологическая регрессия; 5FU — 5-фторурацил; E — эпирубин; G-CSF — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; Pt — цисплатин; Tax — паклитаксел.

15. Triple-negative breast cancer: BRCAness and concordance of clinical features with BRCA1-mutation carriers / Lips E. H., Mulder L., Oonk A., van der Kolk L. E., Hogervorst F. B., Imholz A. L., Wesseling J., Rodenhuis S., Nederlof P. M. // *Br. J. Cancer*. — 2013. — Vol. 108, N 10. — P. 2172–2177.
16. Genomic signature of BRCA1 deficiency in sporadic basal-like breast tumors / Joosse S. A., Brandwijk K. I., Mulder L., Wesseling J., Hannemann J., Nederlof P. M. // *Genes. Chromosomes. Cancer*. — 2011. — Vol. 50, N 2. — P. 71–81.
17. BRCA1 promoter methylation associated with poor survival in Chinese patients with sporadic breast cancer / Chen Y., Zhou J., Xu Y., Li Z., Wen X., Yao L., Xie Y., Deng D. // *Cancer Sci*. — 2009. — Vol. 100, N 9. — P. 1663–1667.
18. BRCA1 expression in triple negative sporadic breast cancers / Galizia E., Giorgetti G., Piccinini G., Santinelli A., Loretelli C., Bianchi F., Gagliardini D., Carbonari G., Pisa E., Belvederesi L., Bracci R., Ferretti C., Corradini F., Cellerino R. // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* — 2010. — Vol. 32, N 1. — P. 24–29.
19. de Candia P., Benera R., Solit D. B. A role for Id proteins in mammary gland physiology and tumorigenesis // *Adv. Cancer Res.* — 2004. — Vol. 92. — P. 81–94.
20. Perk J., Iavarone A., Benezra R. Id family of helix-loop-helix proteins in cancer // *Nat. Rev. Cancer*. — 2005. — Vol. 5, N 8. — P. 603–614.
21. Identification of Id4 as a regulator of BRCA1 expression by using a ribozyme-library-based inverse genomics approach / Beger C., Pierce L. N., Kruger M., Marcusson E. G., Robbins J. M., Welch P., Welch P. J., Welte K., King M. C., Barber J. R., Wong-Staal F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2001. — Vol. 98, N 1. — P. 130–135.
22. Aberrant hypermethylation of ID4 gene promoter region increases risk of lymph node metastasis in T1 breast cancer / Umetani N., Mori T., Koyanagi K., Shinozaki M., Kim J., Giuliano A. E., Hoon D. S. // *Oncogene*. — 2005. — Vol. 24, N 29. — P. 4721–4727.
23. Roldan G., Delgado L., Muse I. M. Tumor expression of BRCA1, estrogen receptor alpha and ID4 protein in patients with sporadic breast cancer // *Cancer Biol. Ther.* — 2006. — Vol. 5, N 5. — P. 505–510.
24. Id4 protein is highly expressed in triple-negative breast carcinomas: possible implications for BRCA1 downregulation / Wen Y. H., Ho A., Patil S., Akram M., Catalano J., Eaton A., Norton L., Benezra R., Brogi E. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2012. — Vol. 135, N 1. — P. 93–102.
25. The breast cancer susceptibility gene BRCA1 is required for subnuclear assembly of Rad51 and survival following treatment with the DNA cross-linking agent cisplatin / Bhattacharyya A., Ear U. S., Koller B. H., Weichselbaum R. R., Bishop D. K. // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275, N 31. — P. 23 899–23 903.
26. Deficiency in the repair of DNA damage by homologous recombination and sensitivity to poly(ADP-ribose) polymerase inhibition / McCabe N., Turner N. C., Lord C. J., Kluzek K., Bialkowska A., Swift S., Giavara S., O'Connor M. J., Tutt A. N., Zdzienicka M. Z., Smith G. C., Ashworth A. // *Cancer Res.* — 2006. — Vol. 66, N 16. — P. 8109–8115.
27. Venkitaraman A. R. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2 // *Cell*. — 2002. — Vol. 108, N 2. — P. 171–182.
28. Willers H., Dahm-Daphi J., Powell S. N. Repair of radiation damage to DNA // *Br. J. Cancer*. — 2004. — Vol. 90, N 7. — P. 1297–1301.
29. Targeting Homologous Recombination Repair in Cancer / Willers H., Heike N. P., Zou L. // *DNA Repair in Cancer Therapy Molecular Targets and Clinical Applications* / Kelley M. R. (ed.). — 1st ed. — Indianapolis: Elsevier, 2012 — P. 119–160.
30. Fukuda T., Ohta H. Association of DNA damage response with poor prognosis in NAC-Treated primary breast cancer // 13th St. Gallen Conference Primary therapy of early breast cancer, 13–16 Mar, 2013. — P. S47–S48.
31. Schild D., Wiese C. Overexpression of RAD51 suppresses recombination defects: a possible mechanism to reverse genomic instability // *Nucleic Acids Res.* — 2010. — Vol. 38, N 4. — P. 1061–1070.
32. Lane D. P. Cancer. p53, guardian of the genome // *Nature*. — 1992. — Vol. 358, N 6381. — P. 15–16.
33. Levine A. J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division // *Cell*. — 1997. — Vol. 88, N 3. — P. 323–231.
34. p53 mutated in the transactivation domain retains regulatory functions in homology-directed double-strand break repair / Boehden G. S., Akyuz N., Roemer K., Wiesmuller L. // *Oncogene*. — 2003. — Vol. 22, N 26. — P. 4111–4117.
35. Hemel D., Domchek S. M. Breast cancer predisposition syndromes // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* — 2010. — Vol. 24, N 5. — P. 799–814.
36. ATM-dependent telomere loss in aging human diploid fibroblasts and DNA damage lead to the post-translational activation of p53 protein involving poly(ADP-ribose) polymerase / Vaziri H., West M. D., Allsopp R. C., Davison T. S., Wu Y. S., Arrowsmith C. H., Poirier G. G., Benchimol S. // *EMBO J.* — 1997. — Vol. 16, N 19. — P. 6018–6033.
37. Poly(ADP-ribosylation) is required for p53-dependent signal transduction induced by radiation / Wang X., Ohnishi K., Takahashi A., Ohnishi T. // *Oncogene*. — 1998. — Vol. 17, N 22. — P. 2819–2825.
38. Phosphorylation site interdependence of human p53 post-translational modifications in response to stress / Saito S., Yamaguchi H., Higashimoto Y., Chao C., Xu Y., Fornace A. J. Jr, Appella E., Anderson C. W. // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278, N 39. — P. 37 536–37 544.
39. DNA substrate dependence of p53-mediated regulation of double-strand break repair / Akyuz N., Boehden G. S., Susse S., Rimek A., Preuss U., Scheidtmann K. H., Wiesmuller L. // *Mol. Cell Biol.* — 2002. — Vol. 22, N 17. — P. 6306–6317.
40. BLM helicase-dependent transport of p53 to sites of stalled DNA replication forks modulates homologous recombination / Sengupta S., Linke S. P., Pedoux R., Yang Q., Farnsworth J., Garfield S. H., Valerie K., Shay J. W., Ellis N. A., Wasyluk B., Harris C. C. // *EMBO J.* — 2003. — Vol. 22, N 5. — P. 1210–22.
41. Janz C., Wiesmuller L. Wild-type p53 inhibits replication-associated homologous recombination // *Oncogene*. — 2002. — Vol. 21, N 38. — P. 5929–5933.
42. Saintigny Y., Lopez B. S. Homologous recombination induced by replication inhibition is stimulated by expression of mutant p53 // *Oncogene*. — 2002. — Vol. 21, N 3. — P. 488–492.
43. The p63/p73 network mediates chemosensitivity to cisplatin in a biologically defined subset of primary breast cancers / Leong C. O., Vidnovic N., DeYoung M. P., Sgroi D., Ellisen L. W. // *J. Clin. Invest.* — 2007. — Vol. 117, N 5. — P. 1370–1380.
44. Tumor-specific p73 up-regulation mediates p63 dependence in squamous cell carcinoma / DeYoung M. P., Johannessen C. M., Leong C. O., Faquin W., Rocco J. W., Ellisen L. W. // *Cancer Res.* — 2006. — Vol. 66, N 19. — P. 9362–9368.
45. p53 interacts with hRAD51 and hRAD54, and directly modulates homologous recombination / Linke S. P., Sengupta S., Khabie N., Jeffries B. A., Buchhop S., Miska S., Henning W., Pedoux R., Wang X. W., Hofseth L. J., Yang Q., Garfield S. H., Stürzbecher H. W., Harris C. C. // *Cancer Res.* — 2003. — Vol. 63, N 10. — P. 2596–2605.
46. Salmena L., Carracedo A., Pandolfi P. P. Tenets of PTEN tumor suppression // *Cell*. — 2008. — Vol. 133, N 3. — P. 403–414.
47. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma / Saal L. H., Holm K., Maurer M., Memeo L., Su T., Wang X., Yu J. S., Malmström P. O., Mansukhani M., Enoksson J., Hibshoosh H., Borg A., Parsons R. // *Cancer Res.* — 2005. — Vol. 65, N 7. — P. 2554–2559.
48. Triple-negative breast cancer and PTEN (phosphatase and tensin homologue) loss are predictors of BRCA1 germline mutations in women with early-onset and familial breast cancer, but not in women with isolated late-onset breast cancer / Phuah S. Y., Looi L. M., Hassan N., Rhodes A., Dean S., Taib N. A., Yip C. H., Teo S. H. // *Breast Cancer Res.* — 2012. — Vol. 14, N 6. — P. 142.
49. Essential role for nuclear PTEN in maintaining chromosomal integrity / Shen W. H., Balajee A. S., Wang J., Wu H., Eng C., Pandolfi P. P., Yin Y. // *Cell*. — 2007. — Vol. 128, N 1. — P. 157–170.
50. West S. C. Molecular views of recombination proteins and their control // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2003. — Vol. 4, N 6. — P. 435–445.
51. Exploiting the DNA repair defect in BRCA mutant cells in the design of new therapeutic strategies for cancer / Tutt A. N., Lord C. J., McCabe N., Farmer H., Turner N., Martin N. M., Jackson S. P., Smith G. C., Ashworth A. // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* — 2005. — Vol. 70. — P. 139–148.
52. Identification of biology-based breast cancer types with distinct predictive and prognostic features: role of steroid hormone and HER2 receptor expression in patients treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy / Darb-Esfahani S., Loibl S., Muller B. M., Roller M., Denkert C., Komor M., Schluns K., Blohmer J. U., Budczies J., Gerber B., Noske A., du Bois A., Weichert W., Jackisch C., Dietel M.,

Richter K., Kaufmann M., von Minckwitz G. // *Breast Cancer Res.* — 2009. — Vol. 11, N 5. — P. R69.

53. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer / Liedtke C., Mazouni C., Hess K. R., André F., Tordai A., Mejia J. A., Symmans W. F., Gonzalez-Angulo A. M., Hennessy B., Green M., Cristofanilli M., Hortobagyi G. N., Pusztai L. // *J. Clin. Oncol.* — 2008. — Vol. 26, N 8. — P. 1275—1281.

54. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy / Rouzier R., Perou C. M., Symmans W. F., Ibrahim N., Cristofanilli M., Anderson K., Hess K. R., Stec J., Ayers M., Wagner P., Morandi P., Fan C., Rabiul I., Ross J. S., Hortobagyi G. N., Pusztai L. // *Clin. Cancer Res.* — 2005. — Vol. 11, N 16. — P. 5678—5685.

55. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes / Carey L. A., Dees E. C., Sawyer L., Gatti L., Moore D. T., Collichio F., Ollila D. W., Sartor C. I., Graham M. L., Perou C. M. // *Clin. Cancer Res.* — 2007. — Vol. 13, N 8. — P. 2329—2334.

56. Tailored preoperative treatment of locally advanced triple negative (hormone receptor negative and HER2 negative) breast cancer with

epirubicin, cisplatin, and infusional fluorouracil followed by weekly paclitaxel / Torrisi R., Balduzzi A., Ghisini R., Rocca A., Bottiglieri L., Giovanardi F., Veronesi P., Luini A., Orlando L., Viale G., Goldhirsch A., Colleoni M. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 62, N 4. — P. 667—672.

57. Response to neoadjuvant therapy with cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients / Byrski T., Huzarski T., Dent R., Gronwald J., Zuziak D., Cybulski C., Kladny J., Gorski B., Lubinski J., Narod S. A. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2009. — Vol. 115, N. 2. — P. 359—363.

58. Preoperative weekly cisplatin-epirubicin-paclitaxel with G-CSF support in triple-negative large operable breast cancer / Frasci G., Comella P., Rinaldo M., Iodice G., Di Bonito M., D'Aiuto M., Petrillo A., Lastoria S., Siani C., Comella G., D'Aiuto G. // *Ann. Oncol.* — 2009. — Vol. 20, N 7. — P. 1185—1192.

Поступила 05.11.2013

*Ekaterina Olegovna Ignatova¹, Mona Alexandrovna Frolova²,
Alexander Valerievich Petrovsky³, Elena Vladimirovna Malysheva⁴,
Tatiana Leodorovna Azhikina⁵, Sergey Alexeyevich Tjulandin⁶*

BRCA1-ASSOCIATED DNA REPAIR DYSFUNCTION AS A POTENTIAL PREDICTIVE BIOMARKER TO PLATINUM-BASED CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER

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

² MD, PhD, Senior Researcher, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

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

⁴ Student, Fundamental Medicine Faculty, M. V. Lomonosov Moscow State University
(31/5, Lomonosovsky pr., Moscow, 119192, RF)

⁵ PhD, DSc, Senior Researcher, Human Gene Structure and Function Laboratory,
M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute for Bioorganical Chemistry, RAS
(16/10, Miklukho-Maklaya ul., Moscow, 117997, RF)

⁶ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Ignatova Ekaterina Olegovna, Clinical Pharmacology and
Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, 24, Kashirskoye sh.,
Moscow, 115478, RF; e-mail: md.ignatova@gmail.com

Recent gene expression profiling of breast cancer has identified specific subtypes with clinical, biologic, and therapeutic implications. The triple negative breast cancer group of tumors is associated with aggressive behavior and poor prognosis, and typically does not express hormone receptors or HER-2. Therefore, patients with triple negative breast cancer do not benefit from currently available targeted systemic therapy. There is much evidence of a link between triple negative breast cancer and BRCA1-associated DNA-repair dysfunction. Triple negative breast cancers and tumors that arise in carriers of BRCA1 germline mutations share many clinical characteristics and molecular features. Some studies demonstrated that BRCA1 mRNA expression was lower in triple negative sporadic cancers than in age- and grade-matched controls. BRCA1 is rarely mutated in sporadic breast cancers and may therefore be a result of epigenetic mechanisms such as acquired methylation of the BRCA1 gene promoter or dysfunction in the pathways that regulate BRCA1 expression, such as overexpression of ID4. The profound similarities between hereditary BRCA1-related breast tumors and triple negative tumors strongly implicate a fundamental defect in the BRCA1 or associated DNA-repair pathways (p53, PTEN) in sporadic triple negative tumors. There is increasing evidence that the BRCA1-related DNA-repair defects, especially defective homologous recombination, determine sensitivity to certain agents, such as platinum-based chemotherapy. The complexity in downregulation of BRCA1 expression suggests that these approaches may be effective in the treatment of a subset of sporadic triple negative breast cancers only. Identification of specific markers for these cancers will be essential for translation of the understanding of defective DNA repair into targeted therapies for this poor prognosis subtype.

Key words: breast cancer, triple negative phenotype, chemotherapy, BRCA1 dysfunction, platinum agents.

Сергей Валериевич Молчанов¹, Лариса Александровна Коломиец²,
Ирина Георгиевна Фролова³, Нина Вадимовна Вяткина⁴,
Надежда Сергеевна Бакланова⁵

ПЕРИТОНЕАЛЬНЫЙ КАНЦЕРОМАТОЗ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ: ЭХОСЕМИОТИКА, КЛАССИФИКАЦИЯ

¹ К. м. н., научный сотрудник, отделение гинекологии с группой профилактики
ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, г. 5)

² Д. м. н., профессор, заведующая, отделение гинекологии с группой профилактики
ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, г. 5)

³ Д. м. н., профессор, заведующая, отделение лучевой диагностики
ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, г. 5)

⁴ Аспирант, младший научный сотрудник, отделение лучевой диагностики
ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, г. 5)

⁵ Врач ультразвуковой диагностики, рентгенологическое отделение ГБУЗ «Новосибирский областной
онкологический диспансер» (630108, РФ, г. Новосибирск, ул. Плеханова, г. 2)

Адрес для переписки: 634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5,
ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, отделение гинекологии с группой профилактики,
Молчанов Сергей Валериевич; e-mail: SergeyMolchanov1980@gmail.com

Актуальность адекватной диагностики канцероматоза брюшины при раке яичников обусловлена трудностями правильного определения стадии заболевания на дооперационном этапе, неполноценным представлением о характере распространения опухоли, неудовлетворительными результатами лечения диссеминированных форм заболевания. Среди неинвазивных методов эхография благодаря безвредности и возможности многократного применения остается самым доступным методом диагностики при диссеминированном раке яичников. Однако сохраняются трудности в выявлении канцероматоза брюшины вследствие многообразия эхосемиотики, отсутствия систематизации данных, ограничения возможностей ультразвукового исследования в определении степени канцероматоза из-за выраженного слоя подкожной жировой клетчатки, метеоризма, отсутствия свободной жидкости, значительного спаечного процесса в брюшной полости. Наряду с адекватной диагностикой канцероматоза брюшины у больных диссеминированным раком яичников большое значение имеет оценка степени его выраженности, которую характеризуют распространенность, размер очагов диссеминации, имеющие большое значение как для планирования, так и для оценки эффективности проводимой терапии. Разработанные классификации канцероматоза брюшины в основном используются только при диссеминированных злокачественных опухолях желудочно-кишечного тракта. Представляется перспективным применение существующих классификаций канцероматоза брюшины при диссеминированном раке яичников в целях более адекватной оценки возможности выполнения оптимальных циторедуктивных вмешательств.

Ключевые слова: диссеминированный рак яичников, эхосемиотика, канцероматоз брюшины, индекс канцероматоза брюшины.

Рак яичников (РЯ) составляет 4—6% всех злокачественных новообразований у женщин, однако в экономически развитых странах, в том числе в России, по такому показателю, как смертность, данная патология занимает первое место среди всех гинекологических опухолей [1—3]. В России в период с 2000 по 2010 г. распространенность РЯ выросла с 44,7 до 63,1 на 100 000

населения [4]. Высокая смертность объясняется агрессивными биологическими свойствами и способностью к частому возникновению рецидивов, быстрому и обширному метастазированию злокачественных опухолей яичников.

Канцероматоз брюшины (КБ), или так называемый перитонеальный канцероматоз, — один из распространенных путей метастазирования РЯ [5]. Факторами риска возникновения опухолевой диссеминации по брюшине являются инвазия серозной оболочки органа опухолью и низкая степень дифференцировки опухоли [6; 7].

РЯ может распространяться на соседние органы контактным путем при эксфолиации опухолевых клеток, которые попадают в брюшную полость и имплантируются в висцеральный или париетальный листок брюшины. Опухолевые клетки отшнуровываются от опухоли и попадают в жидкость, циркулирующую в брюшной полости. В связи с особенностями гидродинамики перитонеальной жидкости наиболее часто при этом поражается правое поддиафрагмальное пространство, включая диафрагму, поверхность печени и карман Моррисона. Другими типичными местами поражения брюшины являются сальник, левый купол диафрагмы, селезенка, околокишечная клетчатка, брыжейка, а также поверхность петель тонкой и толстой кишки. Кроме того, метастазирование в брюшину может происходить лимфогенным путем [8; 9].

Проблеме предоперационной диагностики КБ посвящено множество статей как отечественных, так и зарубежных авторов [5; 10—14]. Знание путей возможного распространения опухоли является ключевым при интерпретации данных, получаемых во время диагностики КБ при РЯ методами визуализации, в том числе методом ультразвукового исследования (УЗИ). Отсутствие специфических диагностических тестов существенно затрудняет диагностику [10; 15].

ЭХОСЕМИОТИКА ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ДИССЕМИНАЦИИ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Среди неинвазивных методов УЗИ благодаря безвредности и возможности многократного применения остается самым доступным методом диагностики при диссеминированном РЯ [3; 16; 17].

При УЗИ метастазы РЯ в различных отделах висцеральной и париетальной брюшины малого таза и брюшной полости проявляются в виде канцероматоза брюшной полости и асцита.

Современная аппаратура экспертного класса и накопленный опыт специалистов ультразвуковой диагностики позволяют повысить качество УЗИ. Это дает возможность выявлять при УЗИ специфический асцит, поражение большого сальника, опухолевую диссеминацию по брюшине [7].

Ультразвуковым методом канцероматоз чаще всего визуализируется по брюшине малого таза. Опухолевые очаги определяются в позадматочном пространстве и в области пузырно-маточной складки, несколько реже диссеминация распространяется по висцеральной брюшине сбоку от матки и по париетальной брюшине в проекции нижней трети латеральных каналов [9]. Метастазы по брюшине могут быть единичными и множественными и имеют различные варианты эхографического изображения [18].

При удовлетворительной визуализации брюшина выглядит как перитонеальный лист, который включает брюшину и глубокую фасцию живота. Это отчетливо видно только при сканировании высокочастотным датчиком. При избытке экстраперитонеального жира брюшина и фасция видны как две отдельные линии [19].

КБ определяется в виде отдельных сосочков или папиллярных разрастаний минимальным диаметром 8 мм, в виде «напластований» по брюшине, петлям кишки, купо-

лам диафрагмы и по висцеральной поверхности печени либо в виде более крупных разрастаний в виде цветной капусты; реже метастатические очаги имеют кистозно-солидное строение [6; 18; 19].

Наличие свободной жидкости в значительной степени облегчает визуализацию метастазов в брюшной полости и в области малого таза. Асцит создает акустическое окно, улучшающее выявление канцероматоза. На фоне асцита канцероматозные узелки визуализируются в виде гиперэхогенных образований с четким ровным контуром, выявляемых по брюшине, петлям кишечника, по висцеральной поверхности печени или правому куполу диафрагмы. Их размеры ограничены 6—8 мм. Без асцита выявить подобные образования значительно труднее, и в этих условиях наименьший размер определяемых метастазов составляет 15—25 мм, поскольку они схожи по эхогенности с окружающими тканями [18—20].

Эхографическим признаком КБ может быть также утолщение контура париетальной брюшины: неравномерное или равномерное, локальное или на значительном протяжении, в брюшной полости или полости малого таза [7]. С учетом многообразия эхоэмиотики КБ в настоящее время делаются попытки систематизации данных. Так, С. О. Степановым, Л. А. Митиной и соавт. (2013) выделено 5 экотипов, из которых для перитонеальной диссеминации при РЯ в большинстве случаев характерен I экотип — отдельные узловые образования на брюшине гипо- или почти анэхогенной гетерогенной структуры с четкими ровными контурами. Остальные варианты эхографической картины характерны для диссеминации при колоректальном раке и раке желудка [7].

В то же время диагностические возможности УЗИ в определении степени КБ часто ограничены из-за выраженного слоя подкожной жировой клетчатки, метеоризма, отсутствия свободной жидкости, значительного спаечного процесса в брюшной полости, малого размера очагов и формы метастазов [9; 10; 19]. По данным разных авторов [11; 12; 18—20], затруднена визуализация очагов диссеминации размером 6—10 мм, а также плоских метастазов в виде бляшек или «напластований» по брюшине [11; 18; 19; 21].

Важным ультразвуковым признаком диссеминированного РЯ является метастазирование в большой сальник [9; 19]. Метастазы в сальнике также лучше выявляются при асците, так как жидкость, располагаясь над и под большим сальником и отделяя его от петель кишечника и передней брюшной стенки, значительно улучшает визуализацию. Пораженный метастазами большой сальник лоцируется в виде бугристого плоского образования под передней брюшной стенкой, как правило, с гипоэхогенными очагами различной величины; средний размер метастатических очагов составляет 12—42 мм [19]. По другим данным, метастатически измененный большой сальник представляет собой гиперэхогенное солидное образование, расположенное непосредственно под передней брюшной стенкой, с мелкобугристыми контурами, средняя толщина его составляет 20—60 мм [8]. Метастатические образования в сальнике размером более 15—20 мм выявляются и без асцита в виде округлой формы гипоэхогенных образований под передней брюш-

ной стенкой. Реже на передней поверхности большого сальника располагаются папиллярные разрастания [19]. Как и визуализация метастазов по брюшине, визуализация поражения большого сальника ограничена выраженностью слоя подкожной жировой клетчатки и метеоризма, а также спаечным процессом и размерами очагов менее 10 мм. Патологически измененный сальник может определяться в эпи- и мезогастральной области — так называемый укороченный большой сальник, либо нижний полюс большого сальника может визуализироваться в гипогастральной области — панцирный сальник. При распространенном метастатическом процессе нижний полюс сальника может быть припаян либо к передней брюшной стенке (при этом граница между ними отчетливо не определяется), либо к дну мочевого пузыря. Метастатически пораженный сальник может прикрывать вход в малый таз и в сочетании со спаечным процессом затруднять визуализацию опухоли яичников при лапароскопии [12; 19].

В исследовании, выполненном группой сотрудников медицинского факультета Каирского университета Египта, параметры доплерографии утолщенного сальника были сопоставлены между группами пациентов со злокачественными и так называемыми доброкачественными изменениями большого сальника (туберкулезный перитонит, неходжкинская лимфома, мезотелиома, псевдомиксома брюшины). Доплеровское исследование различных видов поражений сальника показало, что средние значения средней (V_{mean}) и максимальной (V_{max}) скоростей кровотока во внутрисальниковых сосудах в группе злокачественного поражения сальника были значительно выше, чем в группе доброкачественного поражения. Это объясняется неоваскуляризацией, которая происходит в злокачественных новообразованиях в зависимости от индивидуальных характеристик опухоли. В этом исследовании средние значения индекса резистентности и пульсационного индекса в обеих группах статистически значимо не различались.

Влияние артефактов, связанных с перистальтикой кишечника и дыхательными движениями, наличие асцита и масса тела пациента ограничивают возможности доплерографии. По данным проведенного исследования, применение доплеровского режима сканирования измененного большого сальника для дифференциальной диагностики злокачественного и доброкачественного поражения дает противоречивые результаты, что ограничивает клиническое значение метода [12].

Выявление метастазов по капсуле печени с помощью УЗИ возможно в том случае, если они располагаются в проекции VI и VII сегментов по висцеральной поверхности или в области VIII сегмента по диафрагмальной поверхности. Множественные мелкие просовидные метастазы при эхографии выглядят как шероховатость и волнистость контуров капсулы печени [18].

Повышение эффективности эхографической диагностики метастазов РЯ по капсуле печени и париетальной брюшине возможно с дополнительным применением линейных датчиков высокой частоты. Так, по данным С. В. Луновой (2005) [22], дополнительное использование линейных датчиков высокой частоты (7,5—11 МГц) для определения метастазов по капсуле печени и париеталь-

ной брюшине при ультразвуковой оценке распространенности рака желудка позволило улучшить визуализацию участков поражения на капсуле печени по костальной и частично диафрагмальной и висцеральной поверхностям — наиболее труднодоступным для исследования датчиками низкой частоты. Минимальный размер метастаза по капсуле печени, выявленный с использованием данной методики, составил 3 мм [22]. С увеличением частоты ультразвуковых датчиков возрастает их разрешающая способность — возможность различать примыкающие структуры как отдельные, но при этом уменьшается глубина проникновения ультразвука до 30—40 мм.

Таким образом, при выявлении диссеминации стандартное УЗИ датчиками частотой 3,5—5 МГц имеет ряд существенных недостатков, снижающих диагностическую эффективность метода. За пределами диагностических возможностей стандартного УЗИ остается диссеминация опухолевого процесса по капсуле печени и брюшине. Использование датчиков высокого разрешения (7,5—11 МГц) позволяет расширить диагностические возможности УЗИ при выявлении диссеминации по капсуле печени и париетальной брюшине при условии, что слой подкожной жировой клетчатки выражен незначительно и отсутствует вздутие кишечника [22].

У больных диссеминированным РЯ наряду с адекватной диагностикой КБ большое значение имеет оценка степени его выраженности — распространенности и размера очагов диссеминации, имеющих большое значение для оценки не только эффективности терапии, но и возможностей проведения оптимальной циторедуктивной операции.

КЛАССИФИКАЦИЯ КБ

В настоящее время разработан ряд классификаций КБ как для систематизации его распространенности при диссеминированных формах злокачественных образований брюшной полости, так и для определения вероятности выполнения оптимальных циторедуктивных вмешательств. В 1994 г. была представлена классификация Gilly, учитывающая распространение и размер очагов диссеминации для больных злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта — ЖКТ (табл. 1).

На основании представленной классификации выделены стадии КБ у больных с новообразованиями ЖКТ. За основу классификации взяты размеры очагов диссеминации. В то же время авторы подчеркивают, что при II стадии в случае обширной диссеминации процесса опухолевые узлы могут быть нерезектабельными, в то время как при III или IV стадии в некоторых случаях может быть выполнена циторедуктивная операция; это является основным недостатком указанной классификации [13].

В 1996 г. Р. Jacquet и Р. Н. Sugarbaker разработали другую классификацию для диссеминированных форм злокачественных опухолей ЖКТ, основанную на расчете индекса КБ (PCI) [23]. Согласно данной системе, брюшная полость условно делится на 9 частей, а тонкая кишка — на 4 (см. рисунок). Цифровое обозначение опухолевых узлов в зависимости от локализации и размера для последующего расчета PCI представлено в табл. 2.

Таблица 1

Классификация КБ при злокачественных новообразованиях ЖКТ по Gilly

Стадия	Характеристика
0	Диссеминация макроскопически не определяется
1	Опухолевые узлы диаметром < 5 мм, локализованные в одной части брюшной полости
2	Опухолевые узлы диаметром < 5 мм, диссеминированные по брюшной полости
3	Опухолевые узлы диаметром 5—20 мм, локализованные или распространенные по брюшной полости
4	Локализованные или распространенные опухолевые узлы диаметром > 20 мм

Для расчета PCI цифры, соответствующие указанным выше областям локализации опухолевых узлов и их размерам, складывают; полученная сумма соответствует исходному индексу. При этом минимальный PCI составляет

0, максимальный — 39. Для колоректального рака при $PCI \leq 19$ статистически значимая вероятность выполнения оптимального хирургического вмешательства выше, чем при $PCI > 19$ [14].

Таблица 2

Цифровое обозначение и локализация опухолевых узлов для расчета PCI

Цифровое обозначение	Локализация опухолевых узлов	
0	Центральная область	Большой сальник, поперечная ободочная кишка
1	Правое подреберье	Верхняя поверхность правой доли печени, брюшина поддиафрагмальной поверхности справа
2	Эпигастрий	Малый сальник, левая доля печени, серповидная связка печени
3	Левое подреберье	Брюшина поддиафрагмальной поверхности слева, хвост поджелудочной железы, селезенка, передняя и задняя поверхность желудка
4	Левый фланк	Нисходящий отдел толстой кишки, левый боковой канал
5	Левая подвздошная область	Брюшная стенка латеральнее сигмовидной кишки, сигмовидная кишка
6	Малый таз	Яичники, маточные трубы, матка, мочевого пузыря, дугласово пространство, ректосигмоидный переход, прямая кишка
7	Правая подвздошная область	Брюшная стенка латеральнее слепой кишки, слепая кишка, червеобразный отросток
8	Правый фланк	Восходящий отдел толстой кишки, правый боковой канал
9	Начальные отделы тощей кишки	—
10	Конечные отделы тощей кишки	—
11	Начальные отделы подвздошной кишки	—
12	Конечные отделы подвздошной кишки	—

PCI = 0 — макроскопически опухоль отсутствует; PCI = 1 — опухолевые узлы менее 5 мм; PCI = 2 — опухолевые узлы 5—50 мм; PCI = 3 — опухолевые узлы более 50 мм

Таблица 3

Условное деление брюшной полости на области для расчета упрощенного индекса КБ (SPCI)

Условная область брюшной полости	Локализация опухолевых узлов
I	Малый таз
II	Правая подвздошная область, поддиафрагмальная область справа
III	Большой сальник, поперечная ободочная кишка, селезенка
IV	Поддиафрагмальная область справа
V	Поддиафрагмальная область слева
VI	Подпеченочная область, малый сальник
VII	Тонкая кишка, брыжейка тонкой кишки

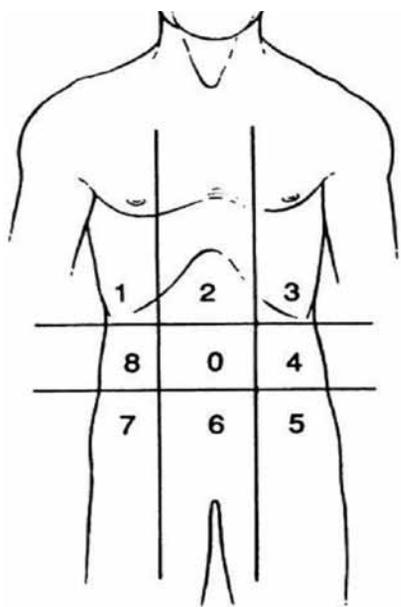
SPCI = 0 — макроскопически опухоль отсутствует; SPCI = 1 — опухолевые узлы менее 10 мм; SPCI = 2 — опухолевые узлы 10–50 мм; SPCI = 3 — опухолевые узлы более 50 мм

В последующем в Нидерландском институте рака (Netherlands Cancer Institute) был разработан упрощенный индекс КБ (Simplified Peritoneal Cancer Index, SPCI), который используется при оценке распространенности колоректального рака и рака червеобразного отростка. Согласно данной классификации, брюшная полость условно делится на 7 областей, в каждой из которых оценивается суммарный размер опухолевых узлов (табл. 3) [24].

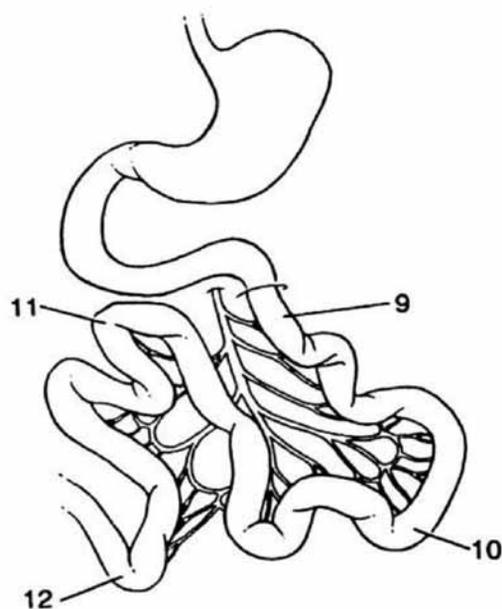
Расчет SPCI также проводится путем суммирования цифр, соответствующих указанным выше областям локализации опухолевых узлов и их размерам. Значения упрощенного индекса КБ могут варьировать от 0 до

21 балла. Показано, что у больных колоректальным раком частота развития послеоперационных осложнений статистически значимо выше, а частота оптимальных циторедуктивных вмешательств — ниже при наличии канцероматоза в 5 из 7 указанных областей [24]. В то же время в доступной нам литературе мы не нашли данных об использовании определения индексов КБ у больных диссеминированным РЯ.

Таким образом, широкое применение УЗИ дает возможность выявить специфический асцит, поражение большого сальника и корня брыжейки и опухолевую диссеминацию по брюшине у больных с диссеминиро-



А



Б

Рисунок. Условное деление на участки при расчете PCI. А. Деление брюшной полости. Б. Деление тонкой кишки.

ванными формами РЯ. Кроме того, применение ультразвуковых аппаратов позволяет систематизировать эхо-семиотику КБ с оценкой его распространенности путем вычисления индексов КБ для более адекватного определения стадии диссеминированного РЯ на дооперационном этапе обследования больных и для объективизации возможности выполнения первичной циторедуктивной операции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cancer statistics, 2010 / Jemal A., Siegel R., Xu J., Ward E. // *CA Cancer J. Clin.* — 2010. — Vol. 60. — P. 277—300.
2. Внутрибрюшная химиотерапия при распространенном раке яичников / Кузнецов В., Стенина М., Тюляндин С., Тюляндина А. // *Врач.* — 2010. — № 6. — С. 6—9.
3. Востров А. Н., Степанов С. О., Корнеева И. А. История и современные тенденции применения ультразвукового исследования при раке яичников // *Луч. диагн. и тер.* — 2013. — Т. 4, № 3. — С. 22.
4. Чиссов В. И., Старинский В. В., Петрова Г. В. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность). — М.: ФГУ МНИОИ им. П. А. Герцена Росздрав, 2011. — 188 с.
5. Glockzin G., Schlitt H. J., Piso P. Peritoneal carcinomatosis: patients selection, perioperative complications and quality of life related to cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy // *World J. Surg. Oncol.* — 2009. — Vol. 7. — P. 5—12.
6. Шпенкова А. А. Рак яичников: эффективность лечения в зависимости от градаций карциноматоза или нерешенные вопросы стадирования // *Вестн. Новгородского гос. ун-та.* — 2010. — № 59. — С. 116—120.
7. Визуализация перитонеальной диссеминации при ультразвуковом исследовании / Степанов С. О., Митина Л. А., Гуц О. В., Беспалов П. Д. // *Луч. диагн. и тер.* — 2013. — Т. 4, № 3. — С. 66—69.
8. Лучевая диагностика в гинекологии. Руководство для врачей / Под ред. Труфанова Г. Е., Панова В. О. — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008. — 592 с.
9. Халикова Л. В. Особенности метастазирования рака яичников [Электронный ресурс] // *Креативная онкология и хирургия.* — 2013. — № 2. — URL: <http://www.eoncosurg.com> (дата обращения: 11.11.2013).
10. Антонеева И. И., Генинг Т. П., Абакумова Т. В. Алгоритм диагностики прогрессирующих форм рака яичников [Электронный ресурс] // *Мед. альманах.* — 2012. — Т. 23, № 4. — URL: <http://www.medalmanac.ru> (дата обращения: 17.05.2013).
11. Диагностические алгоритмы комплексного мониторинга при специальном лечении распространенного рака яичников / Хвастунов Р. А., Столоренко В. В., Лютая Е. Д., Девятченко Т. Ф., Егин Е. И. // *Современ. онкол.* — 2004. — Т. 6, № 1. — С. 11—16.
12. Maha S. Hasab Allah, Dalia A. Omran, Naglaa A. Zayed. Differentiation of Benign and Malignant Omental Thickening: The Efficacy of Morphologic Ultrasonographic Features and Doppler Flow Parameters [Электронный ресурс] // *Ann. Gastroenterol. Hepatol.* — 2012. — URL: <http://www.slm-gastroenterology.com> (дата обращения: 20.05.2013)
13. Glehen O., Mohamed F., Gilly F. N. Peritoneal carcinomatosis from digestive tract cancer: new management by cytoreductive surgery and intraperitoneal chemohyperthermia // *Lancet Oncol.* — 2004. — Vol. 5. — P. 219—228.
14. Harmon R. L., Sugarbaker P. H. Prognostic indicators in peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer // *Intern. Semin. Surg. Oncol.* — 2005. — Vol. 2. — P. 1477—1480.
15. Вельшер Л. З., Поляков Б. И., Петерсон С. Б. Клиническая онкология. Избранные лекции: учебное пособие. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 496 с.
16. Ультразвуковые критерии эффективности лечения рака яичников / Синицина М. Е., Чекалова М. А., Горбунова В. А., Кедрова А. Г., Мазырко М. А. // *Современ. онкол.* — 2007. — Т. 9, № 1. — С. 74—78.
17. Чекалова М. А., Синицина М. Е. Особенности ранней диагностики рецидивов рака яичников ультразвуковым методом // *Ультразв. и функций. диагн.* — 2007. — № 2. — С. 40—47.
18. Место эхографии в уточнении подходов к лечению рака яичников. Опухоли женской репродуктивной системы / Синицина М. Е., Чекалова М. А., Брюзгин В. В., Махова Е. Е. // *Ежеквартальный науч.-практ. журн.* — 2008. — № 4. — С. 72—76.
19. Болдогоева И. М. Совершенствование инструментальных методов в диагностике рака яичников: Автореф. дис... канд. мед. наук. — Уфа, 2007. — 21 с.
20. Место УЗТ при планировании лечения злокачественных эпителиальных опухолей яичников / Чекалова М. А., Поддубная И. В., Мазырко М. А., Синицина М. Е. // *Современ. онкол.* — 2007. — Т. 9, № 1. — С. 66—70.
21. Болдогоева И. М., Берзин С. А. Методы визуализации в диагностике рака яичников // *Урал. мед. журн.* — 2007. — № 2. — С. 70—75.
22. Лунева С. В. Комплексная ультразвуковая диагностика распространенности рака желудка: Дис... канд. мед. наук. — Томск, 2005. — 128 с.
23. Jacquet P., Sugarbaker P. H. Clinical research methodologies in diagnosis and staging of patients with peritoneal carcinomatosis // *Cancer Treatment Res.* — 1996. — Vol. 82. — P. 359—374.
24. Toxicity of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy / Verwaal V. J., van Tinteren H., Ruth S. V., Zoetmulder F. A. N. // *J. Surg. Oncol.* — 2004. — Vol. 85. — P. 61—67.

Поступила 12.09.2013

*Sergey Valerievich Molchanov¹, Larisa Alexandrovna Kolomiyets²,
Irina Georgievna Frolova³, Nina Vadimovna Vyatkina⁴,
Nadezhda Sergeevna Baklanova⁵*

PERITONEAL CARCINOMATOSIS IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER: ECHOSEMIOTICS AND CLASSIFICATION

¹ MD, PhD, Researcher, Gynecology Department with Prevention Group,
Oncology Research Institute, SD, RAS (5, Kooperativny per., Tomsk, 634050, RF)

² MD, PhD, DSc, Professor, Head, Gynecology Department with Prevention Group,
Oncology Research Institute, SD, RAS (5, Kooperativny per., Tomsk, 634050, RF)

³ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Radiation Diagnosis Department,
Oncology Research Institute, SD, RAS (5, Kooperativny per., Tomsk, 634050, RF)

⁴ MD, Postgraduate Student, Junior Researcher, Radiation Diagnosis Department,
Oncology Research Institute, SD, RAS (5, Kooperativny per., Tomsk, 634050, RF)

⁵ MD, Ultrasound Diagnosis Physician, Radiological Department, Novosibirsk Regional Cancer Clinic
(2, Plakhotnogo ul., Novosibirsk, 630108, RF)

Address for correspondence: Molchanov Sergey Valerievich, Gynecology Department with Prevention Group,
Oncology Research Institute, SD, RAS, 5, Kooperativny per., Tomsk, 634050, RF;
e-mail: SergeyMolchanov1980@gmail.com

Adequate diagnosis of peritoneal carcinomatosis in patients with ovarian cancer is a serious clinical problem associated with difficulty in accurate preoperative disease staging, unknown character of disease spread, poor treatment outcomes in metastatic disease. Echography is the most usable non-invasive diagnostic option in metastatic ovarian carcinoma. Detection of peritoneal carcinomatosis is a challenge due to multiple echosemiotics, lack of systematization of data, limited capacity of carcinomatosis grading by ultrasound due to thick subcutaneous fat layer, meteorism, lack of free fluid, marked abdominal commissures. Of much importance both for therapy planning and efficacy is staging of peritoneal carcinomatosis basing on disease advance and metastatic lesion size. The available classifications of peritoneal carcinomatosis are used mainly for metastatic digestive tract cancer. It seems reasonable to use the current peritoneal carcinomatosis classifications also for metastatic ovarian cancer to evaluate more adequately patient eligibility to optimal cytoreductive interventions.

Key words: metastatic ovarian cancer, echosemiotics, peritoneal carcinomatosis, peritoneal carcinomatosis index.

Светлана Васильевна Чулкова¹, Иван Сократович Стилиди²,
Евгений Вячеславович Глухов³, Людмила Юрьевна Гривцова⁴,
Сергей Николаевич Неред⁵, Николай Николаевич Тупицын⁶

СЕЛЕЗЕНКА — ПЕРИФЕРИЧЕСКИЙ ОРГАН ИММУННОЙ СИСТЕМЫ. ВЛИЯНИЕ СПЛЕНЭКТОМИИ НА ИММУННЫЙ СТАТУС

¹ К. м. н., старший научный сотрудник, лаборатория иммунологии гемопоэза отдела клинической иммунологии НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² Член-корреспондент РАМН, профессор, г. м. н., заведующий, хирургическое отделение № 6 абдоминальной онкологии НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ Аспирант, хирургическое отделение № 6 абдоминальной онкологии НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ К. м. н., старший научный сотрудник, лаборатория иммунологии гемопоэза отдела клинической иммунологии НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ Д. м. н., ведущий научный сотрудник, хирургическое отделение № 6 абдоминальной онкологии НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁶ Д. м. н., профессор, руководитель, лаборатория иммунологии гемопоэза отдела клинической иммунологии НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24,
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН, хирургическое отделение № 6
абдоминальной онкологии, Глухов Евгений Вячеславович; e-mail: drgluhov@mail.ru

Обзор литературы посвящен иммунокомпетентному органу — селезенке. Дается краткий анализ строения селезенки и ее функций. Подробно описаны лимфоциты, содержащиеся в селезенке. Особое внимание уделено влиянию спленэктомии на иммунный статус организма.

Ключевые слова: селезенка, лимфоциты, иммунокомпетентные клетки, иммунитет, иммуносупрессия, гастроспленэктомия.

Главным компонентом иммунной системы человека является лимфоидная ткань, основу которой составляют ретикулярные волокна и ретикулярные клетки, образующие сеть с ячейками различной величины. В петлях этой сети располагаются иммунокомпетентные клетки (ИКК), способные к осуществлению различного рода иммунологических реакций. Все ИКК происходят из единой родоначальной стволовой клетки красного костного мозга и делятся на 2 типа: гранулоциты и агранулоциты. К гранулоцитам относят нейтрофилы, эозинофилы и базофилы, к агранулоцитам — макрофаги, В- и Т-лимфоциты.

Различают центральные органы иммунной системы: тимус и красный костный мозг, где начинается лимфопо-

эз, — а также периферические органы и системы. К последним относятся селезенка, лимфатические узлы, печень, лимфатические скопления в разных органах, пути циркуляции ИКК [1].

Именно в периферических органах иммунной системы происходит встреча антигена с ИКК. Антиген в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости экспонируется антигенпрезентирующими клетками на их поверхности. Т-лимфоциты могут распознавать такие комплексы, взаимодействуя с ними, и в результате запускается каскад клеточных реакций, что ведет к развитию специфического иммунного ответа.

Анатомо-физиологический принцип устройства иммунной системы является органоциркуляторным. Это означает, что ИКК постоянно находятся в состоянии рециркуляции, т. е. лимфоциты рециркулируют между лимфоидными органами и нелимфоидными тканями

через лимфатические сосуды и кровь. Это необходимо, чтобы создать условия для встречи антигена с единичными лимфоцитами, так как каждый отдельный антиген распознается лишь очень небольшой частью популяции лимфоцитов.

Незрелые лимфоциты поступают в периферические лимфоидные органы и возвращаются в циркуляторное русло уже в виде эффекторных клеток для последующего распределения по лимфатической системе, а также для селективного возвращения в место их первой встречи с антигеном — в анатомически специализированные зоны периферических органов. Этот процесс в литературе часто называют «homing effect».

Одним из важнейших периферических органов иммунной системы является селезенка. Содержание лимфоцитов в белой пульпе селезенки достигает 85% общего числа клеток, что составляет почти 25% всех лимфоцитов организма, причем практически на 50% лимфоциты белой пульпы селезенки представлены В-клетками. Таким образом, именно селезенка наряду с лимфатическими узлами является органом, обеспечивающим гуморальный иммунитет.

Несмотря на относительно небольшие размеры (масса всего 150 г), селезенка отлично кровоснабжается: через нее ежеминутно протекает 200–300 мл крови, что соответствует приблизительно 5% объема крови, выбрасываемого сердцем за это время.

В селезенке различают красную пульпу, составляющую от 70 до 80% массы органа, и белую пульпу, на долю которой приходится от 6 до 20% массы селезенки. Красная пульпа представлена венозными синусами и пульпарными тяжами. В ней происходит разрушение эритроцитов и поглощение их макрофагами. В белой пульпе селезенки преобладают лимфоциты. Они накапливаются вокруг артериол в виде так называемых периартериоллярных муфт. Т-зависимая зона муфты непосредственно окружает артериолу, а В-клеточные фолликулы располагаются ближе к краю муфты [1–3].

Лимфоциты, образующие скопления белой пульпы по ходу центральных артерий, представлены Т-лимфоцитами, из которых 75% составляют клетки CD4+, а 25% — лимфоциты CD8+ [3–6]. В селезенке присутствуют только периферические (наивные и зрелые) Т-лимфоциты, прошедшие селекцию в тимусе. Под влиянием антигенного стимула эти клетки активируются, подобно тому как это происходит в лимфатических узлах.

В селезенке происходят также процессы активации В-клеток. В-клетки, специфичные в отношении аутологических антигенов, не поступают в фолликулы, они задерживаются в наружной зоне периартериоллярных лимфоидных муфт и гибнут [7].

Во время иммунного ответа на различные антигены происходит связывание специфического для В-лимфоцитов иммуноглобулинового рецептора, после чего движение всех В-клеток в наружной зоне периартериоллярных лимфоидных муфт значительно замедляется. В том случае, если не происходит взаимодействия с Т-клетками, необходимого для реализации иммунного ответа на тимус-зависимые антигены, активированные В-лимфоциты погибают. При наличии кооперации с

Т-клетками наивные В-клетки поступают преимущественно в фолликулы, где подвергаются дифференцировке в зародышевых центрах в ходе первичных иммунных ответов.

При вторичных иммунных ответах В-клеток памяти на тимус-зависимые антигены наблюдается выраженная В-клеточная пролиферация и дифференцировка в плазматические клетки в пределах наружной зоны периартериоллярных лимфоидных муфт; фолликулярная В-клеточная пролиферация при этом несколько слабее, чем при первичных ответах [8; 9].

Кроме того, в селезенке имеется особая популяция клеток, которые отграничивают белую пульпу от красной. Эта область получила название краевой или маргинальной зоны, где располагаются как Т-, так и В-клетки с относительным преобладанием последних [10]. Клетки маргинальной зоны располагаются в сети первичных кровяных синусов селезенки, что позволяет им взаимодействовать с антигенами, переносимыми кровью [11; 12]. Популяция В-клеток маргинальной зоны не гомогенна: в нее входят наивные В-клетки, а также В-клетки иммунологической памяти, генерированные в ходе как Т-зависимых, так и Т-независимых антительных ответов первого типа [13].

В-клетки маргинальной зоны не являются рециркулирующими, хотя происходят из рециркулирующих В-лимфоцитов, возвратившихся в маргинальную зону селезенки. Эти клетки имеют специфические морфологические черты: на их мембране экспрессированы молекулы иммуноглобулина (Ig) М, но отсутствуют молекулы IgD [14]. Для них характерна высокая экспрессия рецепторов CR2 (молекул CD21), что позволяет им успешно связывать антигены ТН-2 (Т-cell independent type 2 antigens), представленные, в частности, на инкапсулированных бактериях [15]. В-лимфоциты с таким фенотипом определяются и в других лимфоидных тканях, но только маргинальная зона селезенки аккумулирует наибольшее число этих клеток в организме.

В маргинальной зоне селезенки определяются также дендритные клетки (ДК). Эти клетки открыты в 1808 г. П. Лангергансом. Существуют незрелые и зрелые ДК.

Незрелые ДК захватывают из кровотока антигены, но не способны представлять антигены и стимулировать Т-клетки. Незрелые ДК энергично поглощают антигены путем фагоцитоза и пиноцитоза, а затем претерпевают сложный процесс созревания [16].

Зрелые ДК представляют ранее поглощенный антигенный материал и тем самым индуцируют Т-клеточный ответ. Это связано со значительным повышением экспрессии антигенов HLA и костимулирующих молекул [17; 18]. Зрелые ДК мигрируют в Т-клеточные зоны белой пульпы селезенки, где они образуют пул интердигитирующих ДК. Там они активируют наивные антиген-специфические Т-хелперы к дифференцировке в Т-хелперы 2-го типа (Th2), которые индуцируют рост В-клеток и продукцию антител [19–21]. Таким образом, ДК играют двоякую роль: на стадии незрелых клеток они являются ранними антиген-специфическими эффекторами противовирусного и противобактериального иммунного ответа, тогда как на стадии зрелых клеток они участвуют в индукции антиген-специфического ответа

против этих возбудителей [22]. Активность ДК с возрастом меняется.

Помимо собственно лимфоидных элементов большое внимание исследователей привлекают стромальные клетки селезенки, которые осуществляют не только стромальную, но и регуляторную функцию [23]. Клеткам стромы селезенки придается большое значение, поскольку, продуцируя ряд цитокинов, они оказывают регуляторное влияние на пролиферацию и дифференцировку натуральных киллеров (NK-клеток) и Т- и В-лимфоцитов [24]. По данным И. Г. Беляевой и соавт. [25], после ксенотрансплантации стромальных клеток селезенки происходит формирование стромальной сети, заполняющейся собственными клетками реципиента, которые и формируют активно работающую пульпу селезенки. По мнению авторов, это приводит к улучшению функциональных показателей гемопоэтической, гемостатической и иммунной систем по сравнению с таковыми после спленэктомии. Тем самым уменьшается вероятность септических и тромбозоэмболических послеоперационных осложнений и повышается иммунная резистентность организма.

Таким образом, селезенка выполняет две основные функции: является большим фагоцитарным фильтром в организме и наиболее значительным антителопродуцирующим органом [26]. Отличительная особенность фагоцитов селезенки состоит в том, что они способны поглощать неопсонизированные микробные частицы, тогда как мононуклеарные фагоциты печени способны фагоцитировать только опсонизированные частицы [27]. Медленный кровоток в красной пульпе способствует тесному и пролонгированному контакту антигенов с фагоцитами, поэтому процесс фагоцитоза возможен без специфических лиганд-рецепторных взаимодействий. Такая уникальная способность фагоцитов селезенки определяет ее важную роль в очищении организма от возбудителей инфекций на ранней стадии бактериальной инвазии, до продукции специфических антител [28; 29].

В работах, посвященных изучению функции селезенки и выполненных на животных, показано, что после спленэктомии в сыворотке крови снижаются уровень IgM и фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов. Однако если селезенка реимплантируется, то концентрация IgM повышается. Учеными установлено, что IgM играют важную роль в индукции апоптоза опухолевых клеток и В-лимфоцитов [30; 31].

Следует подчеркнуть, что селезенка — основное место синтеза IgM [32; 33]. Антитела класса IgM являются наиболее ранними в иммуногенезе и составляют около 6% всех иммуноглобулинов; период их полувыведения равен 5—6,5 дня. Антитела класса IgM продуцируются активированными В-клетками при первичном иммунном ответе в периферических лимфоидных органах, в число которых входят также лимфатические узлы и лимфоидные образования слизистых оболочек [34].

Вместе с тем клетки селезенки способны продуцировать различные цитокины. В эксперименте показано, что при антигенной стимуляции спленоциты продуцируют интерлейкин (ИЛ) 2, интерферон- γ и ИЛ-7, которые, в свою очередь, стимулируют пролиферацию В-клеток и продукцию ими иммуноглобулинов [35].

Давно обсуждается вопрос о влиянии хирургического вмешательства на иммунный статус человека. Показано, что в клеточном звене иммунитета под влиянием хирургического вмешательства наблюдаются количественные и качественные изменения. Снижается содержание клеток CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+ и DR+, но при этом повышается концентрация в сыворотке ИЛ-2, ИЛ-6 и фактора некроза опухоли. В фагоцитарной системе иммунитета уменьшается количество основных фагоцитирующих клеток (нейтрофилов и моноцитов) и снижается их способность к фагоцитозу. Нарушается презентация чужеродных антигенов макрофагами Т- и В-лимфоцитам. Изменения гуморального иммунитета заключаются в понижении уровня иммуноглобулинов всех классов (IgG, IgA, IgM). В целом хирургическое вмешательство сложно и многогранно влияет на иммунную систему. Оно по-разному действует на иммунорегуляторные клетки, функционально противоположные друг другу: активация клеток Th2 ведет к развитию хирургических инфекций, активация клеток Th1 — к развитию септического шока. Все указанные изменения иммунной системы характерны для любого вида хирургического вмешательства, но они, как правило, преходящие [36—38].

Поскольку селезенка является наиболее крупным периферическим органом иммунной системы, нарушения иммунитета после спленэктомии могут быть более выраженными и длительными. Клинические наблюдения свидетельствуют, что улучшение самочувствия и клинико-лабораторных показателей после спленэктомии в ряде случаев сменяется развитием иммунодефицитного состояния. В настоящее время это подтверждено экспериментально и в зарубежной литературе обозначается термином «непреодолимые (фатальные) постспленэктомические инфекции» (overwhelming post-splenectomy infections — OPSI) [39—41]. Синонимом этого названия является термин «постспленэктомический гипоспленизм», признаками которого являются снижение общего тонуса и работоспособности и восприимчивость к вирусным, бактериальным, паразитарным и грибковым инфекциям [41; 42]. В периферической крови при этом наблюдаются: изменение размеров и формы эритроцитов, наличие телец Жолли, увеличение количества тромбоцитов, снижение содержания тафтсина в сыворотке [43; 44].

Известно, что гипоспленизм обусловлен целым рядом нарушений в звеньях клеточного и гуморального иммунитета. Так, W. Timens и соавт. [26] показали, что удаление селезенки приводит к нарушению фагоцитарной активности, особенно в отношении неопсонизированных микробов, увеличению периода пребывания лимфоцитов в периферическом кровотоке, снижению содержания IgM в сыворотке, угнетению активации комплемента по альтернативному пути, снижению продукции тафтсина, повышению активности аутоантител, снижению числа Т-супрессорных клеток.

Наряду с этим в работе В. Balsalorbe и соавт. [45] установлено, что иммуносупрессия проявляется также в виде уменьшения числа клеток CD3+, главным образом за счет Т-хелперов (CD4), и в виде снижения пролиферативного ответа лимфоцитов на действие митогенов.

Эти данные согласуются с результатами исследований японских коллег [46; 47]. В Японии еще с 1960 г. больные раком желудка подвергались обязательной гастроспленэктомии в целях более адекватной лимфодиссекции. В результате проведенных исследований у таких больных выявлено снижение количества клеток CD3+, CD4+ и CD8+ на фоне компенсаторного повышения содержания NK-клеток (CD16+ и CD57+). Авторы сделали вывод, что спленэктомия приводит к значительному ослаблению Т-клеточных реакций. Для коррекции выявленных нарушений больным, подвергшимся спленэктомии, рекомендовалась аутоотрансплантация селезенки [47–49].

Итак, селезенка является важнейшим периферическим органом иммунной системы. В селезенке сосредоточено более 80% ИКК. Наряду с этим огромную роль в формировании полноценного иммунного ответа играют ее ДК и стромальные клетки. Селезенка является не только важным антителопродуцирующим органом, но и уникальным фагоцитарным фильтром организма благодаря способности ее фагоцитов поглощать неопсонизированные микробные частицы.

Таким образом, операции, в результате которых удаляется селезенка, наносят значительный ущерб звеньям как клеточного, так и гуморального иммунитета и приводят к стойким нарушениям механизмов иммунного ответа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тупицын Н. Н. Структура и функции иммунной системы человека. — 2-е изд. — М.: Медицина, 2007. — С. 46—65.
2. Сапин М. Р., Этинген Л. Е. Иммунная система человека. — М.: Медицина. — 1996. — 302 с.
3. Abbas A. K., Lichtman A. H., Pober J. S. Cellular and molecular Immunology. — W. B. Saunders company, 1996. — P. 28—32.
4. Isolation of the intact white pulp. Quantitative and qualitative analysis of the cellular composition of the splenic compartments / Nolte M., Hoen E., van Stijn A., Kraal G., Mebius R. // Eur. J. Immunol. — 2000. — Vol. 30, N 2. — P. 626—634.
5. Фрейдлин И. С., Тотолян А. А. Клетки иммунной системы III—V. — СПб.: Наука, 2001. — 390 с.
6. Function of CD4+, CD3+ -cell in relation to B- and T-zone stroma in spleen / Kim M., McConnell F., Gaspal F., White A., Glanville S., Bekiaris V., Walker L., Caamano J., Jenkinson E., Anderson G., Lane P. // Blood. — 2007. — Vol. 109, N 4. — P. 1602—1610.
7. Cyster J. C., Goodnow C. C. Antigen-induced exclusion from follicles and anergy are separate and complementary processes that influence peripheral B cell fate // Immunity. — 1995. — Vol. 3. — P. 691—701.
8. Liu Y. J. Sites of B lymphocyte selection, activation, and tolerance in spleen (review) // J. Exp. Med. — 1997. — Vol. 186. — P. 625—629.
9. Mebius R., Kraal G. Structure and function of the spleen // Nature Rev. Immunol. — 2005. — Vol. 5. — P. 606—616.
10. B cell are crucial for both development and maintenance of the spleen marginal zone / Nolte M., Arens R., Kraus M., van Oers M., Kraal G., van Lier R., Mebius R. // J. Immunol. — 2004. — Vol. 172, N 6. — P. 3620—3627.
11. Mebius R., Nolte M., Kraal G. Development and function of the splenic marginal zone // Crit. Rev. Immunol. — 2004. — Vol. 24, N 6. — P. 449—464.
12. Kraal G., Mebius R. New insights into the cell biology of the marginal zone of the spleen // Int. Rev. Cytol. — 2006. — Vol. 250. — P. 175—215.
13. Age-dependent development of the splenic marginal zone in human infants is associated with different causes of death / Kruschinski C., Zidan M., Debertin A., von Hörsten S., Pabst R. // Hum. Pathol. — 2004. — Vol. 35, N 1. — P. 113—121.
14. Migrant $\mu + \delta +$ and static $\mu + \delta -$ B lymphocyte subsets / Gray D.,

- MacLennan I. C. M., Bazin H., Khan M. // Eur. J. Immunol. — 1982. — Vol. 12. — P. 564—569.
15. Zandvoort A., Timens W. The dual function of the splenic marginal zone essential for initiation of anty-T1-2 responses but also vital in the general fist — line defense against blood — borne antigens // Clin. Exp. Immunol. — 2002. — Vol. 130, N 1. — P. 4—11.
16. Quah B., Ni K., O'Neill H. In vitro hematopoiesis produces a distinct class of immature dendritic cells from spleen progenitors with limited T cell stimulation capacity // Int. Immunol. — 2004. — Vol. 16, N 4. — P. 567—577.
17. Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites / Dieu M., Vandervliet A., Vicari J., Bridon J., Oldham E., Ait-Yahia S., Briere F., Zlotnik A., Lebecque S., Caux C. // J. Exp. Med. — 1998. — Vol. 188. — P. 373.
18. Dendritic cell development in long-term spleen stromal cultures / O'Neill H., Wilson H., Quah B., Abbey J., Despars G., Ni K. // Stem Cell. — 2004. — Vol. 22, N 4. — P. 475—486.
19. Crowley M., Reilly C., Lo D. Influence of lymphocytes on the presence and organization of dendritic cell subsets in the spleen // J. Immunol. — 1999. — Vol. 163. — P. 4894—4900.
20. Чкадау Г. З., Заботина Т. Н., Буркова А. А. Получение зрелых популяций дендритных клеток человека. Некоторые общие вопросы иммунитета, иммунодиагностики и иммунотерапии на модели хирургических инфекций // Мед. иммунол. — 2001. — Т. 3, № 2. — С. 282—283.
21. Макаренкова В. П., Кост Н. В., Щурин М. Р. Система дендритных клеток: роль в индукции иммунитета и в патогенезе инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний // Иммунология. — 2002. — № 2. — С. 68—76.
22. Пашенков М. В., Пинегин Б. В. Основные свойства дендритных клеток // Иммунология. — 2002. — № 1. — С. 27—32.
23. Stieninger B., Barth P., Hellinger A. The perfollicular and marginal zone of the human splenic white pulp: do fibroblasts guide lymphocyte immigration? // Am. J. Pathol. — 2001. — Vol. 159, N 2. — P. 501—512.
24. Briard D., Brouty-Boye D., Azzarone B. Fibroblasts from human spleen regulate NK cell differentiation from blood CD34+ progenitors via cell surface II—15 // J. Immunol. — 2002. — Vol. 168, N 9. — P. 4326—4332.
25. Беляева И. Г., Галибин О. В., Вавилова Т. В. Восстановление утраченных функций селезенки методом ксенотрансплантации культур клеток // Вестн. гематол. — 2005. — Т. 1, № 3. — С. 40—42.
26. Timens W., Leemans R. Splenic autotransplantation and the immune system. Adequate testing required for evaluation of effect // Ann. Surg. — 1992. — Vol. 215, N 3. — P. 256—260.
27. Pabst R. The spleen in lymphocyte migration // Immunol. Today. — 1988. — Vol. 9. — P. 43—45.
28. Lockwood C. Immunological function of the spleen // Clin. Haematol. — 1983. — Vol. 12. — P. 449—465.
29. Splenectomy and sepsis: the role of the spleen in the immune-mediated bacterial clearance / Altamura M., Caradonna L., Amati L., Pellegrino N., Urgesi G., Miniello S. // Immunopharmacol. Immunotoxicol. — 2001. — Vol. 23. — P. 153—161.
30. Human monoclonal IgM antibodies with apoptotic activity isolated from cancer patients / Brandlein S., Lorenz J., Ruoff N., Nensel F. // Hum. Antibodies. — 2002. — Vol. 11, N 4. — P. 107—119.
31. Ellmark P., Furebring C., Borrebaeck C. A. Pre-assembly of the extracellular domains of CD40 is not necessary for rescue of mouse B cells from anti-immunoglobulin M-induced apoptosis // Immunology. — 2003. — Vol. 108, N 4. — P. 452—457.
32. Human immunoglobulin M memory B cells controlling Streptococcus pneumoniae infections are generated in the spleen / Krutzmann S., Rosado M. M., Weber H., Germing U., Tourmilhac O., Peter H., Berner R., Peters A., Boehm T., Plebani A., Quinti I., Carsetti R. // J. Exp. Med. — 2003. — Vol. 197, N 7. — P. 939—945.
33. Di Sabatino A., Rosado M., Ciccocioppo R. Depletion of immunoglobulin M memory B cells is associated with splenic hypofunction in inflammatory bowel disease // Am. J. Gastroenterol. — 2005. — Vol. 100, N 8. — P. 1788—1795.
34. Профилактическая иммунология / Михайленко А. А., Базанов Г. А., Покровский В. И., Коненков В. И. — М., Тверь: Триада, 2004. — 448 с.
35. Yanagisawa K., Kamiyama T. In vitro activation of mouse spleen

cells by a lysate of *Theileria sergenti*-infected bovine red blood cells // *Vet. Parasitol.* — 1997. — Vol. 68, N 3. — P. 241—249.

36. Карсонова М. И., Юдина Т. И., Пинегин Б. В. Некоторые общие вопросы иммунитета, иммунодиагностики и иммунотерапии на модели хирургических инфекций // *Мед. иммунол.* — 1999. — Т. 1, № 1—2. — С. 119—126.

37. Винницкий Л. И., Бунятян К. А., Николаев В. В. Особенности иммунного статуса у хирургических больных в послеоперационном периоде // *Аллергол. и иммунол.* — 2001. — Т. 2, № 2. — С. 36—43.

38. Influence of surgical intervention in the immune response of severely injured patients / Flohe S., Lendemans S., Schade F., Kreuzfelder E., Waydhas C. // *Intensive Care Med.* — 2004. — Vol. 30, N 1. — P. 96—102.

39. William B., Corazza G. Hyposplenism: a comprehensive review. Part I: basic concepts and causes // *Hematology.* — 2007. — Vol. 12, N 1. — P. 1—3.

40. William B., Thawani A., Sae-Tia S. Hyposplenism: a comprehensive review. Part II: clinical manifestations, diagnosis, and management // *Hematology.* — 2007. — Vol. 12, N 2. — P. 89—98.

41. Hansen K., Singer D. Asplenic-hyposplenic overwhelming sepsis: postsplenectomy sepsis revisited // *Pediatr. Devel. Pathol.* — 2001. — Vol. 4. — P. 105—121.

42. Sumaraju V., Smith L., Smith S. Infectious complications in asplenic hosts // *Infect. Dis. Clin. North Am.* — 2001. — Vol. 15. — P. 551—565.

43. Alteration of the immune system following splenectomy in childhood / Kreuzfelder E., Obertacke U., Erhard J., Funk R., Steinen R., Scheiermann N., Thraenhart O., Eigler F., Schmit-Neuerburg K. // *J. Trauma.* — 1991. — Vol. 31, N 3. — P. 358—364.

44. In vivo immunopharmacological properties of tuftsin and four analogs / Kraus-Berthier L., Remond G., Visalli M., Héno D., Portevin B., Vincent M. // *Immunopharmacology.* — 1993. — Vol. 25, N 3. — P. 261—267.

45. Balsalorbe B., Carbonell-Tatay F. Cellular immunity in splenectomized patients // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* — 1991. — Vol. 1, N 4. — P. 235—238.

46. Shimazu T., Tabata T., Tanaka H. Immunologic alterations after splenectomy for trauma // *J. Parasitol.* — Vol. 80, N 4. — P. 558—562.

47. Suppression of T-cell function in gastric cancer patients after total gastrectomy with splenectomy: implications of splenic autotransplantation / Okuno K., Tanaka A., Shigeoka H., Hirai N., Kawai I., Kitano Y., Yasutomi M. // *Gastric Cancer.* — 1999. — Vol. 2. — P. 20—25.

48. Yoshino K., Haruyama K., Nacamura S. Evaluation of splenectomy for gastric carcinoma // *Jpn. J. Gastroenterol. Surg.* — 1979. — Vol. 12. — P. 944—949.

49. Brown E. J., Hosea S. W., Frank M. M. The role of complement in the localization of pneumococci in splenic reticuloendothelial system during experimental bacteremia // *J. Immunol.* — 1980. — Vol. 16. — P. 2230—2235.

Поступила 22.12.2013

*Svetlana Vasilievna Chulkova*¹, *Ivan Socratovich Stilidi*²,
*Evgeny Vyacheslavovich Glukhov*³, *Lyudmila Yurievna Grivtsova*⁴,
*Sergey Nikolayevich Nered*⁵, *Nikolay Nikolayevich Tupitsyn*⁶

THE SPLEEN AS A PERIPHERAL IMMUNITY ORGAN. SPLENECTOMY EFFECT ON THE IMMUNITY STATUS

¹ MD, PhD, Senior Researcher, Hemopoiesis Immunology Laboratory,
Clinical Immunology Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

² MD, PhD, DSc, Professor, Associate Member of RAMS, Head, Abdominal
Oncology Surgery Department No. 6,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

³ MD, Postgraduate Student, Abdominal Oncology Surgery Department No. 6,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁴ MD, PhD, Senior Researcher, Hemopoiesis Immunology Laboratory,
Clinical Immunology Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁵ MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Abdominal Oncology Surgery Department No. 6,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁶ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Hemopoiesis Immunology Laboratory,
Clinical Immunology Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Glukhov Evgeny Vyacheslavovich,
Abdominal Oncology Surgery Department No. 6, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: drgluhov@mail.ru

The paper reviews the literature on an immunocompetent organ, the spleen. Spleen structure and functions are analyzed briefly. Spleen-contained lymphocytes are described in detail. Special attention is paid to the effect of splenectomy on body immune status.

Key words: spleen, lymphocytes, immunocompetent cells, immunity, immunosuppression, gastrosplenectomy.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Юлия Александровна Борисова¹, Галина Борисовна Смирнова²,
Натан Танфелевич Райхлин³, Елена Михайловна Трещалина⁴,
Зоя Сергеевна Шпрах⁵

РЕЗУЛЬТАТЫ СКРИНИНГА ФИТОАНТИЭСТРОГЕНА СЕКОИЗОЛАРИЦИРЕЗИНОЛА НА ЭСТРОГЕНЗАВИСИМОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Са755

¹ Младший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ Д. м. н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник,
отдел патологической анатомии опухолей человека
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ Д. м. н., профессор, заведующая, лаборатория комбинированной терапии опухолей
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ К. фарм. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория готовых лекарственных форм
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

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

Экспериментальные исследования проведены на перевиваемой аденокарциноме молочной железы мышей Са755, содержащей на поверхности клеток рецепторы эстрогенов, с субстанцией секоизоларицирезинола. Субстанцию вводили мышам перорально ежедневно 10-кратно в разовых дозах от 50 до 500 мг/кг. Показано, что секоизоларицирезинол в диапазоне разовых доз 250—500 мг/кг (суммарно 2,5—5,0 г/кг) реализует ингибирующий рост опухоли эффект с торможением ее роста на 67—76% ($p < 0,05$). При разовой дозе 250 мг/кг эффект верифицирован по увеличению зоны индуцированного некроза и снижению митотической активности в опухоли.

Ключевые слова: фитоантиэстроген, секоизоларицирезинол, мыши, эстрогензависимая аденокарцинома молочной железы, скрининг.

Антиэстрогены различного механизма действия применяются для лечения гормонозависимых опухолей человека. В этой группе широкое применение нашел препарат с непатентованным международным названием тамоксифен, который выпускается также

под следующими торговыми названиями: Зитазониум (Венгрия), Йеноксифен (Германия), Новофен (Кипр), Тамоксен (Израиль) и др. Эти препараты чаще используются многократно и длительно для адъювантной терапии эстрогензависимого рака молочной железы (РМЖ) [1].

В Российской Федерации проводятся исследования по разработке отечественного аналога тамоксифена на основе нового фитоантиэстрогена секоизоларицирезинола (СЕКО) [2]. Поскольку при РМЖ в клинике антиэстрогены используют длительно [3], для Ca755 со сроком гибели мышей от опухоли через 3—4 нед выбран максимально длительный 10-кратный курс лечения СЕКО с тем, чтобы оценить его эффективность, как требуется, в течение не менее чем 12 дней. Такой курс на доступной эстрогензависимой аденокарциноме молочной железы позволяет не только провести адекватное лечение, но и троекратно оценить ингибирующий эффект после его окончания, соответственно действующим требованиям [4].

СЕКО получен из сучковых зон лиственницы и пихты и относится к природным полифенолам класса лигнанов [5]. Они широко известны в качестве природных антиоксидантов и проявляют эстрогенную или антиэстрогенную активность в зависимости от примененной дозы [6; 7]. Разнообразие лигнанов достигается благодаря содержащимся в них функциональным заместителям при ароматических и алифатических атомах углерода. СЕКО представляет собой дифенольное соединение растительного происхождения, которое состоит из двух пропилбензольных (С3—С6) структурных фрагментов, соединенных между собой атомами С8 и С8'; в качестве функциональных заместителей выступают группы OH^- и OCH_3^- [8] (рис. 1).

Цель исследования — получение первичных данных об ингибировании роста эстрогензависимой опухоли под действием СЕКО.

Задачи исследования: определение ингибирующего действия СЕКО при ежедневном 10-кратном введении в желудок мышей; патоморфологический контроль ингибирующего действия СЕКО на опухоль.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные животные

В опытах использованы мыши из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА, которых содержали в конвенциональных условиях в отделе лабораторных животных ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН на брикетированных кормах. В экспериментах использовано 120 самок мышей-гибридов BDF1 и 10 мышей-самок линии C57BL6j массой тела 20—21 г (доноры опухолевого материала). После трансплантации опухоли мышей ранжировали по группам ($n = 10$). Основные группы получали лечение субстанцией СЕКО. Группы мышей без специфического воздействия, получавшие растворитель для СЕКО по аналогичной схеме, считали контрольными.

Опухолевая модель

Использован штамм эстрогензависимой (около 20 фмоль рецепторов эстрогенов (РЭ) на клетку) аденокарциномы молочной железы мышей Ca755 РЭ+, содержащей на поверхности клеток РЭ, из банка опухолевых

штаммов ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН [9; 10]. Взвесь опухолевой ткани готовили и трансплантировали самкам мышей-гибридов BDF1 под кожу бока в соответствии с рекомендованной методикой [4]. В опытах использованы опухоли различных пассажей *in vivo*.

Секоизоларицирезинол

Для исследований использовали водонерастворимую субстанцию СЕКО в виде кристаллического порошка белого цвета с кремовым оттенком, приготовленную ЗАО «Биохиммак СТ» (Москва).

Условия введения СЕКО мышам

СЕКО изучен в диапазоне разовых доз от 50 до 500 мг/кг при ежедневном 10-кратном пероральном введении с помощью металлического зонда. В качестве растворителя использован 1% крахмальный клейстер в объеме 0,2—0,4 мл на мышь в разных концентрациях. Лечение проводили на 3—12-е сутки после перевивки опухоли.

Оценка эффективности

После окончания введения СЕКО у всех мышей трижды определяли размеры опухоли с помощью электронного измерителя и рассчитывали объем по формуле: $V = a \times b \times c$, где a — длина; b — ширина; c — высота опухолевого узла. После этого определяли средний объем опухоли ($V_{\text{ср}}$) в каждой группе и вычисляли стандартный показатель эффективности — торможение роста опухоли (ТРО, %). $\text{ТРО} = (V_0 - V_k) / (V_k) \times 100$, где V_0 и V_k — величина $V_{\text{ср}}$ в опыте и в контроле соответственно. В качестве минимального критерия эффективности использовали скрининговое значение $\text{ТРО} > 50\%$ длительностью не менее 1 нед [4].

Оценка переносимости воздействия

Оценку переносимости воздействия проводили по состоянию и поведению мышей в процессе эксперимента, а также следили за возможной гибелью от токсичности. Павших или умерщвленных мышей подвергали аутопсии для выявления макроскопических патологических изменений внутренних органов.

Патоморфологическое исследование опухоли

На 12-е сутки после лечения из основной и контрольной групп умерщвляли по 3 мыши, опухоли удаляли и готовили материал для патоморфологического исследования. Удаленные опухоли фиксировали в 10% нейтральном формалине, заключали в парафин, из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5—7 мкм и окрашивали гематоксилин и эозином. Препараты просматривали в световом микроскопе «Поливар» (Австрия). В срезах опухоли при увеличении $\times 200$ определяли площадь некроза, число клеток с признаками апоптоза и число клеток в митозе.

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 $p < 0,05$.

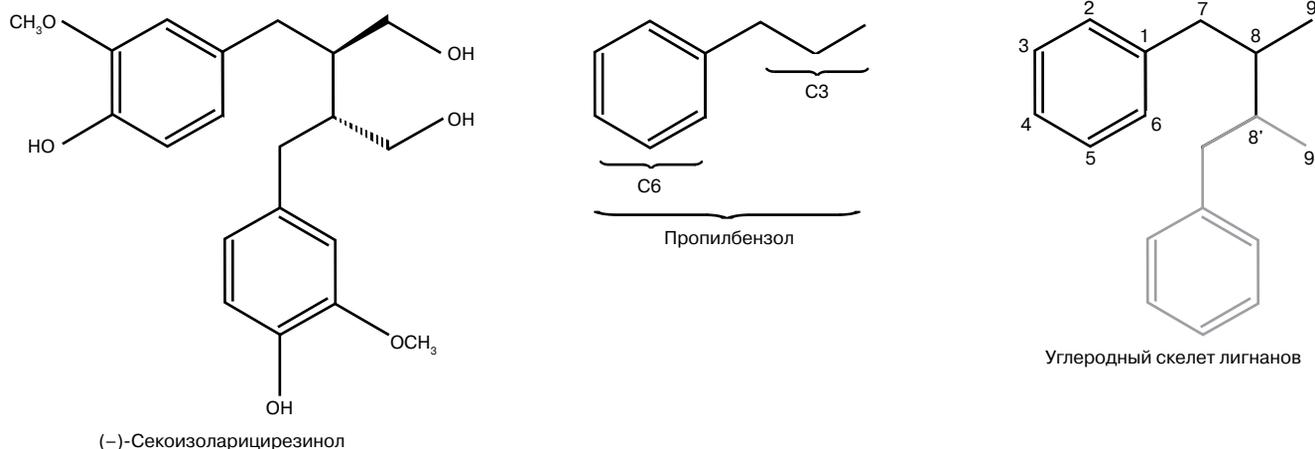


Рисунок 1. Структура СЕКО и характеристических структурных элементов лигнанов.

Завершение экспериментов

Мышей умерщвляли передозировкой эфирного наркоза и кремировали в специализированном подразделении ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН в соответствии с международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, изложенными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (ЕЭС, Страсбург, 1985 г.), а также в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации и Всемирной медицинской ассоциации [11; 12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении ингибирующего действия на рост опухоли СЕКО вводили перорально мышам в разовых дозах 50, 250 или 500 мг/кг ежедневно 10-кратно на 3–12-е сутки после трансплантации. Полученные данные представлены на рис. 2. СЕКО в разовой дозе 50 мг/кг в последний срок наблюдения оказал слабый кратковременный, но достоверный ингибирующий эффект ниже минимально значимого уровня (ТРО составило 49%; $p < 0,05$). При разовых дозах 250 и 500 мг/кг (суммарно 2,5 и 5,0 г/кг соответственно) эффект регистрировался в течение 11 дней после окончания лечения на практически одинаковом уровне (ТРО составило 67 и 76% соответственно; $p < 0,05$).

В повторном опыте воспроизведен ингибирующий эффект СЕКО в разовой дозе 250 мг/кг и впервые определен эффект разовой дозы 375 мг/кг при ежедневном 10-кратном пероральном введении (рис. 3).

При обеих разовых дозах СЕКО продемонстрировал значимый и достоверный эффект в течение 12 дней после лечения на уровне ТРО = 76–83% ($p < 0,05$) без достоверных различий между дозами.

Таким образом, на Са755 РЭ+ выявлено значимое и достоверное ингибирующее действие СЕКО на рост опухоли при 10-кратном пероральном введении в диапазоне разовых доз от 250 до 500 мг/кг (суммарно 2,5–5,0 г/кг).

Контроль состояния и поведения мышей в процессе и после введения СЕКО показал отсутствие отклонений. При аутопсии умерщвленных в конце опыта мышей патологических изменений внутренних органов не выявлено.

Патоморфологическая верификация достигнутого результата выполнена с использованием опухолей от мышей, получивших СЕКО в минимальной достаточной разовой дозе 250 мг/кг.

Патоморфологическое исследование

В результате анализа гистологических срезов показано, что Са755 РЭ+ без лечения состоит из крупных клеток со светлой цитоплазмой, содержащей округло-овальной формы ядра с диффузным хроматином. Характерен сплошной рост клеток с образованием солидных ячеек, разделенных местами слабо развитой стромой. В отдельных участках опухоли видны 5–6 митозов в поле зрения, а иногда — единичные клетки с признаками апоптоза. Некрозы определяются лишь на периферии опухоли, они небольших размеров и составляют 2–5% площади среза.

В группе мышей, получивших эффективное лечение СЕКО, опухоль имеет обычное гистологическое строе-

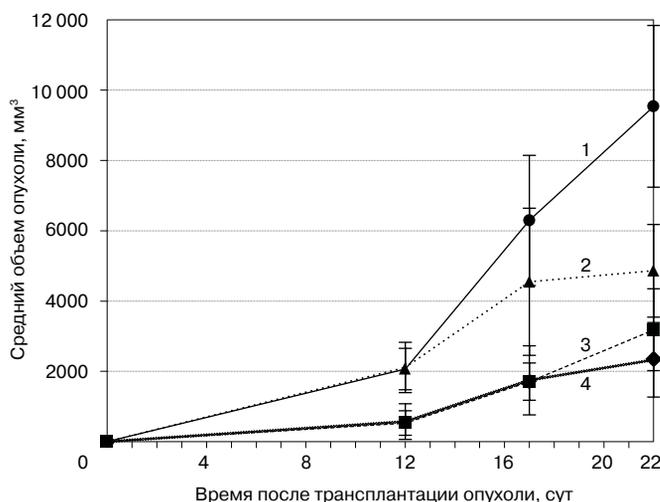


Рисунок 2. Динамика роста Са755 РЭ+ под действием СЕКО, примененного перорально в разовых дозах 50, 250 или 500 мг/кг в режиме ежедневного 10-кратного введения. 1 — контроль; 2 — СЕКО, 50 мг/кг; 3 — СЕКО, 250 мг/кг; 4 — СЕКО, 500 мг/кг.

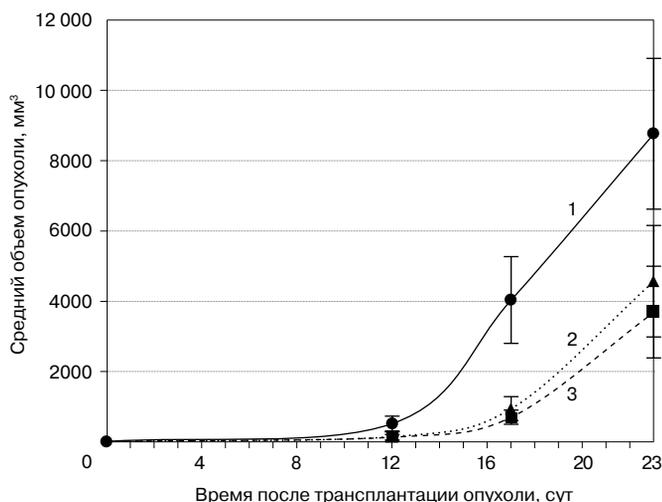


Рисунок 3. Динамика роста Ca755 РЭ+ под действием СЕКО при 10-дневном пероральном введении в разовых дозах 250 и 375 мг/кг. 1 — контроль; 2 — СЕКО, 250 мг/кг; 3 — СЕКО, 375 мг/кг.

ние, клетки образуют солидные структуры в виде ячеек, окруженных тонкими соединительнотканными волокнами и частично полнокровными сосудами. При увеличении $\times 200$ видно уменьшение числа клеток с митозами до 2–3 в поле зрения на фоне небольшого числа клеток с признаками апоптоза и увеличение участков некроза до 5–8% площади среза. Вокруг очагов некроза в отдельных участках отмечается полнокровие сосудов.

Таким образом, под действием 10-дневного курса введения СЕКО в разовой дозе 250 мг/кг увеличивается площадь некроза и снижается митотическая активность в срезах Ca755 РЭ+.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения субстанции нового фитоантиэстрогена СЕКО по программе скрининга на Ca755 РЭ+ выявлено верифицированное достоверное ингибирующее действие на уровне 67–76% при 10-кратном ежедневном пероральном введении мышам в диапазоне разовых доз 250–500 мг/кг (суммарно 2,5–5,0 г/кг). Оценка переносимости СЕКО при изученной терапевтической схеме и дозах показала отсутствие отрицательной динамики в состоянии и поведении мышей, а также от-

сутствие патологических изменений их желудочно-кишечного канала.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Под ред. Н. И. Переводчиковой. — 2011. — С. 257–260.
2. 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.
3. 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.
4. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств / Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К., Андропова Н. В., Гарин А. М. — М.: Изд. Гриф и К., 2012. — С. 642–657.
5. Milder I. E., Arts I. C., van de Putte B. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol // Br. J. Nutr. — 2005. — Vol. 93, N 3. — P. 393–402.
6. Enterolactone Inhibits the Growth of 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene-induced Mammary Carcinomas in the Rat / Saarinen N. M., Huovinen R., Wäri 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.
7. 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.
8. Moss G. P. Nomenclature of lignans and neolignans (IUPAC Recommendations 2000) // Pure Appl. Chem. — 2000. — Vol. 72. — P. 1493–1523.
9. Кубасова И. Ю. Рациональные подходы к сочетанию химиотерапии со стероидными гормонами и оксикобаламином при лечении злокачественных опухолей: Автореф. дис... канд. мед. наук. — М., 1994. — 24 с.
10. Эффективность неоадьювантной химиотерапии по схеме АС в сочетании с бинарной каталитической системой терафтал + аскорбиновая кислота на модели рака молочной железы / Калишьян М. С., Седакова Л. А., Райхлин Н. Т., Трещалина Е. М., Лукашева Е. В. // Рос. биотер. журн. — 2009. — Т. 8. — № 3. — С. 51–57.
11. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, ЕЭС, Страсбург, 1985 г. // Ланималогия. — 1993. — № 1. — С. 29.
12. Большаков О. П., Незнанов Н. Г., Бабаханян Р. В. Доклинические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных // Качественная клин. практ. — 2002. — № 1. — С. 58–61.

Поступила 15.01.2014

*Yulia Alexandrovna Borisova¹, Galina Borisovna Smirnova²,
Natan Tanfelevich Raikhlin³, Helena Mikhailovna Treschalina⁴,
Zoya Sergeyevna Shprakh⁵*

RESULTS OF PHYTOANTIESTROGEN SEKOISOLARICIRE SINOL SCREENING IN ESTROGEN-DEPENDENT MURINE MAMMARY ADENOCARCINOMA

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

² *PhD, Senior Researcher, Tumor Combination Therapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis
and Treatment Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

³ *MD, PhD, DSc, Professor, RF Honored Scientists, Leading Researcher, Human Tumor Pathology Anatomy
Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁴ *MD, PhD, DSc, Professor, Head, Tumor Combination Therapy Laboratory, Tumor Experimental
Diagnosis and Treatment Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁵ *PhD, Leading Researcher, Ready Drug Formulation Laboratory, Tumor Experimental
Diagnosis and Treatment Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

Address for correspondence: Smirnova Galina Borisovna, Tumor Combination Therapy Laboratory,
Tumor Experimental Diagnosis and Treatment Research Institute, N. N. Blokhin RCRC,
24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; email: gsmir53@yandex.ru

Sekoisolariciresinol experimental study was performed on transplanted estrogen-dependent murine mammary adenocarcinoma Ca755 ER+. Sekoisolariciresinol was administrated *per os* at 50–500 mg/kg daily for 10 days. Sekoisolariciresinol induced a 67 to 76% ($p < 0.05$) tumor growth inhibition at 250–500 mg/kg (total dose 2.5–5.0 g/kg). Pathology verification of this effect after therapy at 250 mg/kg (total 2.5 g/kg) found induced tumor necrosis and reduction in mitotic activity.

Key words: phytoantiestrogen, sekoisolariciresinol, mice, estrogen-dependent murine mammary adenocarcinoma, screening.

*Игорь Степанович Брюховецкий¹, Полина Викторовна Мищенко²,
Юрий Степанович Хотимченко³, Андрей Степанович Брюховецкий⁴*

ОБОСНОВАНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO ФЕНОМЕНА НАПРАВЛЕННОЙ МИГРАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ВЗРОСЛЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ К КЛЕТКАМ КРЫСИНОЙ ГЛИОМЫ ЛИНИИ С6

¹ К. м. н., старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной и клеточной нейробиологии, Школа биомедицины ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет» (690091, РФ, г. Владивосток, ул. Суханова, г. 8); научный сотрудник, лаборатория фармакологии ФГБУН «Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского» ДВО РАН (690041, РФ, г. Владивосток, ул. Пальчевского, г. 17)

² Аспирант, лаборатория фармакологии, ФГБУН «Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского» ДВО РАН (690041, РФ, г. Владивосток, ул. Пальчевского, г. 17)

³ Д. б. н., профессор, директор, Школа биомедицины ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет» (690091, РФ, г. Владивосток, ул. Суханова, г. 8)

⁴ Д. м. н, профессор, генеральный директор, ЗАО «Клиника восстановительной и интервенционной неврологии и терапии "Нейровита"» (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 23); руководитель, Центр биомедицинских технологий ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» ФМБА России (115682, РФ, г. Москва, Ореховый бульвар, г. 28)

Адрес для переписки: 690091, РФ, г. Владивосток, ул. Суханова, д. 8, Школа биомедицины ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», лаборатория молекулярной и клеточной нейробиологии, Брюховецкий Игорь Степанович; e-mail: bruhovetsky@mail.ru

Мультиформная глиобластома — наиболее распространенная первичная высокоинвазивная злокачественная опухоль центральной нервной системы. Прогноз крайне неблагоприятный. Медиана продолжительности жизни больных после хирургической резекции, облучения и химиотерапии не превышает 12—15 мес, что обуславливает необходимость поиска новых подходов к лечению заболевания. Феномен направленной миграции стволовых клеток в опухолевый очаг открывает новые перспективы для создания технологий адресной доставки лекарственных веществ и других терапевтических средств непосредственно в опухолевый очаг. Гемопоэтические стволовые клетки CD34+ /CD133+ обладают большим репаративным потенциалом и инертны по отношению к нормальной нервной ткани. Цель работы — подтвердить способность взрослых предшественников гемопоэза к направленной миграции к клеткам глиомы. В опытах использовали линию глиомы С6, культуру гемопоэтических стволовых клеток CD34+ /CD133+, первичные культуры астроцитов и фибробластов крысы. Клетки культивировали в течение 5 дней. Эксперимент позволил обнаружить формирование клеточного вала гемопоэтически-ми стволовыми клетками по периметру культуральной вставки, содержавшей культуру глиомы. Такую картину не наблюдали в лунках с культурами фибробластов и астроцитов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что гемопоэтические стволовые клетки обладают высоким потенциалом направленной миграции к клеткам глиомы линии С6; это позволяет рассматривать их в качестве перспективной линии для разработки новых противоопухолевых биомедицинских технологий и проливает свет на ранее не известные аспекты канцерогенеза глиальных опухолей.

Ключевые слова: мультиформная глиобластома, глиома линии С6, гемопоэтические стволовые клетки, нейральные стволовые клетки.

Мультиформная глиобластома — наиболее распространенная первичная глиальная высокоинвазивная злокачественная опухоль центральной нервной системы с крайне неблагоприятным прогнозом. Медиана про-

должительности жизни больных после хирургической резекции, облучения и химиотерапии не превышает 12—15 мес [1—3]. Опухоль характеризуется инвазивным ростом, выраженной инфильтрацией вещества мозга и

высокой резистентностью к лучевой и лекарственной терапии, что обуславливает необходимость поиска новых подходов к лечению заболевания [4].

В последние годы в центре внимания исследователей оказался феномен направленной миграции нейральных стволовых и прогениторных клеток в опухолевый очаг, открывающий широкие перспективы для адресной доставки в опухоль лекарственных молекул, специфических генов, антител и других терапевтических средств [5–9]. Особую актуальность приобретает проблема выбора оптимальных клеточных линий, безопасных для трансплантации, поскольку использование собственных нейральных стволовых клеток нейроонкологического больного сопряжено с высоким риском их неопластической трансформации [10–12].

Как мы полагаем, альтернативой могут стать гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) CD34+/CD133+, получение и хранение которых не представляет больших технических сложностей, а применение не сопряжено с этическими и юридическими ограничениями. Кроме того, эти клетки уже более полувека успешно используются для лечения онкологических больных [13].

Внимание ученых сосредоточено также на нейральных стволовых и прогениторных клетках головного мозга человека как на наиболее вероятном источнике происхождения злокачественных глиом [5; 14–16]. В свою очередь, способность клеток — предшественников гемопоэза взрослых млекопитающих и человека направленно мигрировать в неопластический очаг открывает принципиально новые аспекты процессов канцерогенеза в головном мозге.

Цель настоящей работы состояла в получении экспериментальных доказательств способности клеток — предшественников гемопоэза взрослых млекопитающих к направленной миграции к клеткам крысиной глиомы линии С6 при совместном культивировании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ГСК крысы

Культура крысиных ГСК предоставлена АНО «Национальный институт регенеративной медицины» (Москва). Фенотип и чистоту клеточной популяции характеризовали на проточном цитофлуориметре Becton Dickinson FACScan с использованием anti-CD34/anti-CD133 FITC-conj-Mab. Перед внесением в сочетанную культуру клетки окрашивали флюоресцентным маркером Vybrant® CFDA SE Cell Tracer (Life Technologies, V12883) в соответствии с рекомендациями производителя.

Культура клеток глиомы линии С6

По данным литературы, культура крысиной глиомы линии С6 по характеру поражения вещества мозга соответствует мультиформной глиобластоме человека [17; 18]. Линия глиомы С6 для проведения эксперимента предоставлена Школой биомедицины Дальневосточного федерального университета. Аликвоту, содержащую

1×10^6 опухолевых клеток, размораживали в течение 10 мин при температуре 37°C, отмывали от DMSO средой DMEM (Gibco®), содержащей FBS (10%) и антибиотик-антимикотик (10 000 ЕД/мл). Клетки осаждали центрифугированием и высаживали в 50-миллиметровые культуральные матрасы. Культивирование продолжали до образования монослоя. После этого клетки снимали ферментативной диссоциацией (0,05% раствор трипсина-ЭДТА, 1:4, 10 мин, 37°C), центрифугировали (120 г, 6 мин), супернатант сливали. Опухолодеродность используемой в эксперименте клеточной линии глиомы С6 проверяли посредством имплантации $0,5 \times 10^6$ клеток глиомы линии С6 в головной мозг половозрелых крыс с помощью стереотаксического аппарата (David Kopf Instruments) по методике, описанной Карен Эбоди [5].

Выделение первичной культуры фибробластов крысы

Для получения первичной культуры фибробластов использовали крысиные 12-дневные эмбрионы. Самку крысы глубоко наркотизировали эфиром, тело протирали спиртом. В стерильных условиях вскрывали брюшную полость, из рогов матки вынимали эмбрионы и помещали их в раствор Хенкса с добавлением антибиотика. У эмбриона удаляли конечности, голову и внутренние органы. Оставшуюся массу измельчали ножницами на маленькие кусочки и подвергали ферментной диссоциации (0,25% трипсин, 40 мин, 37°C). Клетки осаждали центрифугированием (1000 г, 5 мин). Осадок ресуспендировали в полной среде DMEM/F12, NEPEs (Gibco®), содержащей 10% FBS, 2 мМ L-глутамин, 0,8% глюкозы, 0,2 ед/мл инсулина и антибиотик-антимикотик (10 000 ЕД/мл).

Выделение первичной культуры астроцитов крысы

Для работы использовали новорожденных белых крыс. Животных глубоко наркотизировали, в стерильных условиях отделяли голову, вскрывали череп, мозг вынимали и помещали в чашку Петри с раствором Хенкса. Затем выделяли кору больших полушарий, очищали ее от сосудистых оболочек, нарезали ножницами на мелкие кусочки, отмывали 2 раза раствором Хенкса и подвергали ферментативной диссоциации 0,05% раствором трипсина-ЭДТА в течение 10 мин при температуре 37°C. Ферментативную диссоциацию останавливали добавлением 5% FBS (в растворе Хенкса). Клеточную суспензию осаждали центрифугированием и ресуспендировали в полной среде (DMEM/F12 (90%), FCS (10%), L-глутамин (2 мМ), глюкоза (0,8%), инсулин (0,2 ед/мл), NEPEs (25 мМ), антибиотик-антимикотик (10 000 ЕД/мл)).

Создание совместных культур

Для создания совместных культур использовали культуральные вставки (Millipore) диаметром 12 мм с порами размером 0,4 мкм. Дно лунок 12-луночного культурального планшета покрывали полиэтиленгликолем (Gibco®), а затем ламином (Gibco®). После этого в каждую лунку планшета помещали культуральную вставку, которую иммобилизовали каплей стерильного парафина. Внутрь культуральной вставки вносили по $0,5 \times 10^6$ опухолевых клеток, нормальных астроцитов и фибробластов. Одну из вставок оставляли пустой (рис. 1, А). Планшет с культуральными вставками инкубировали в течение 24 ч,

затем на дно лунки планшета высаживали по $0,25 \times 10^6$ ГСК. Через 3 ч инкубации клетки, не прикрепившиеся к дну лунки, отбирали. Визуально анализировали распределение ГСК по дну лунки (рис. 1, Б). Подсчет клеток в области проекции мембраны культуральной вставки осуществляли с помощью программы Photo-Capt v. 12.4 с 1-го по 5-й день культивирования.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Statistica 6.0 и MS Excel (2010).

Экспериментальная часть работы одобрена Комиссией по биомедицинской этике Института биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН (протокол № 12 от 14.12.2012).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Культура ГСК

По данным цитофлуориметрии чистота популяции ГСК CD34+/CD133+ составила 88,9%. При окрашивании трейсером Vybrant® CFDA SE клетки приобрели устойчивую флуоресценцию, видимую даже на малых увеличениях (рис. 2, А, Б).

Первичная культура глиомы линии С6

Культура глиомы линии С6 была представлена гетерогенной популяцией активно пролиферирующих клеток различной формы и размера. Через 24 ч культивирования клетки, прикрепившиеся к дну культуральной

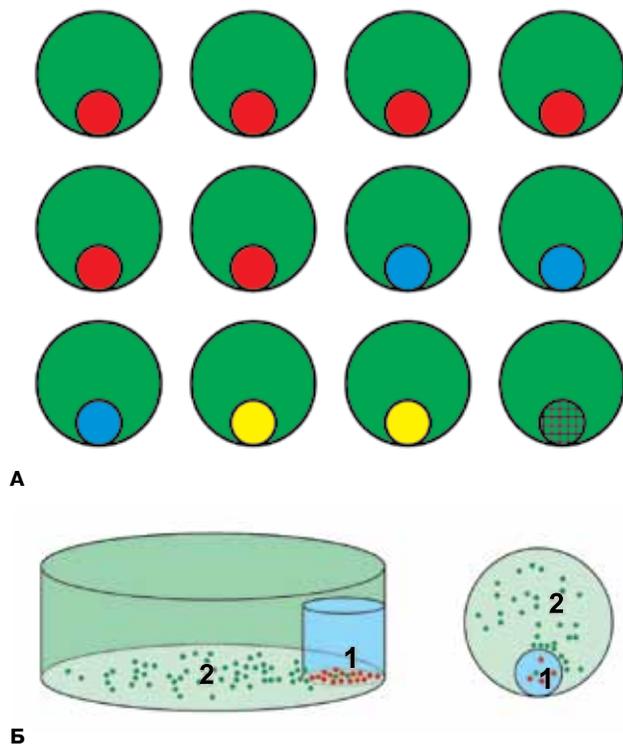


Рисунок 1. Общая схема эксперимента.

А. Культуральный планшет содержит клетки глиомы линии С6 (красный), астроциты (синий), фибробласты (желтый) и ГСК (зеленый). **Б.** Культуральная вставка с клетками глиомы линии С6 (1), культивируемая совместно с ГСК (2).

вставки, приобретали астроцитоподобный фенотип, другие — формировали многочисленные отростки различной формы и размера. Клетки окрашивались моноклональными антителами против GFAP. Микроскопия на малых увеличениях и последующая окраска DAPI позволили визуализировать многочисленные неопластические ядра различной формы и размера (рис. 2, В, Г). Стереотаксическая имплантация клеток глиомы линии С6 в количестве 3×10^4 в мозг половозрелых крыс приводила к развитию опухолей, что сопровождалось выраженной астенией, резким снижением массы тела животных и тяжелым течением с отеком и дислокацией мозговых структур и подтверждалось данными морфологического и нейровизуализирующего исследований (рис. 2, Д, Е).

Первичная культура фибробластов крысы

Фибробласты крыс после окраски гематоксилином и эозином представляли собой клетки различной формы и размера с округлым ядром правильной формы (рис. 3, А). Функциональный анализ клеток, проведенный с использованием FluoSpheres® Collagen I-Labeled Microspheres (Life Technologies F-20892) по методике производителя, продемонстрировал активный фагоцитоз частиц коллагена (рис. 3, Б). Данную культуру применяли в эксперименте в качестве контроля.

Первичная культура астроцитов крысы

Культуру астроцитов крысы окрашивали DAPI, характеризовали с использованием моноклональных антител против GFAP и применяли в качестве контроля (рис. 3, В, Г).

Исследование процессов миграции ГСК в совместных культурах с астроцитами, фибробластами и глиомой линии С6

При совместном культивировании ГСК и опухолевых клеток наблюдали формирование клеточного вала, состоявшего из ГСК и располагавшегося по периметру культуральной вставки, которая содержала клетки глиомы (рис. 3, Д). Данный феномен, достигавший максимума ко 2-му дню эксперимента, был отчетливо выражен в культурах, содержащих клетки глиомы, и отсутствовал в культурах с фибробластами и астроцитами (рис. 3, Е, Ж). Подсчет количества клеток, окрашенных флуоресцентным маркером, показал четкое ($p \leq 0,05$) увеличение числа взрослых предшественников гемопоэза в области мембраны во всех культурах, содержащих клетки глиомы, со 2-го по 5-й день эксперимента (рис. 4). Значимых изменений числа ГСК в культурах с нормальными астроцитами и фибробластами мы не наблюдали (рис. 5). Очевидно, что направленная миграция ГСК к культурам глиомы обусловлена продукцией неопластическими клетками различных цитокинов и хемоаттрактантов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Открытие феномена направленной миграции ГСК в область травмы, ишемического или неопластического повреждения нервной системы стало важным шагом в понимании биологии процессов регенерации и канцерогенеза. Идентифицировано более 79 цитокинов, хемоаттрактан-

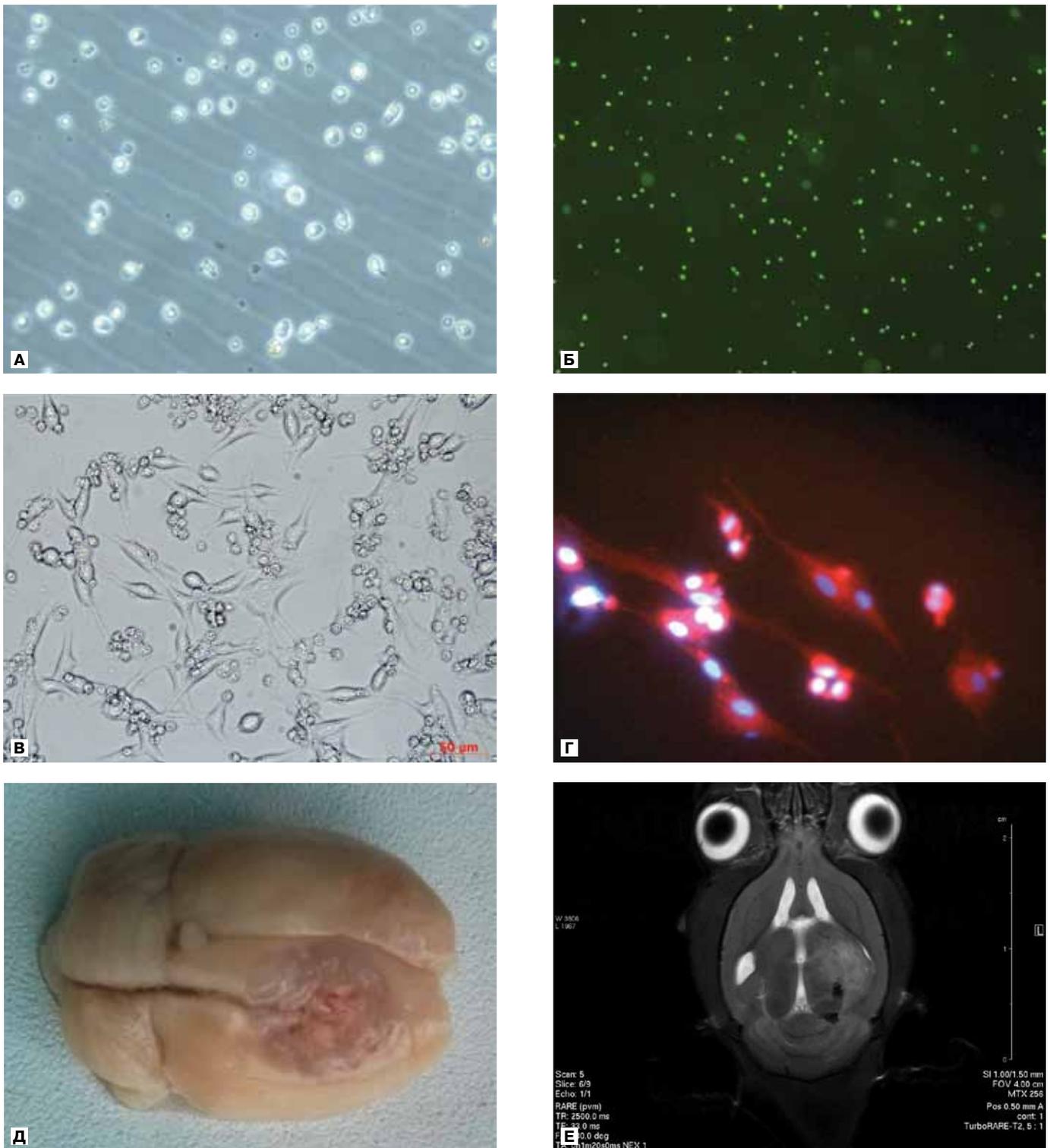


Рисунок 2. Характеристика ГСК и неопластических клеток глиомы линии С6.

А. ГСК в культуре, фазовый контраст (×20). **Б.** Флюоресценция ГСК, окрашенных Vybrant® CFDA SE Cell Tracer непосредственно перед внесением в культуру (×10). **В.** Неопластические клетки крысиной глиомы линии С6: клетки различной формы и размера на 3-й день культивирования активно расплываются по поверхности, формируя многочисленные отростки; отчетливо видны многоядерные клетки. Инvertированная микроскопия (×32). **Г.** Неопластические клетки глиомы линии С6 окрашены anti-GFAP Mab, ядра докрашены DAPI (×100). **Д.** Препарат мозга крысы через 6 дней после имплантации клеток глиомы линии С6. **Е.** Магнитно-резонансная томограмма мозга крысы через 7 дней после имплантации клеток глиомы линии С6, T2-взвешенное изображение: видны признаки сдавления желудочков мозга, отека и дислокации срединных мозговых структур.

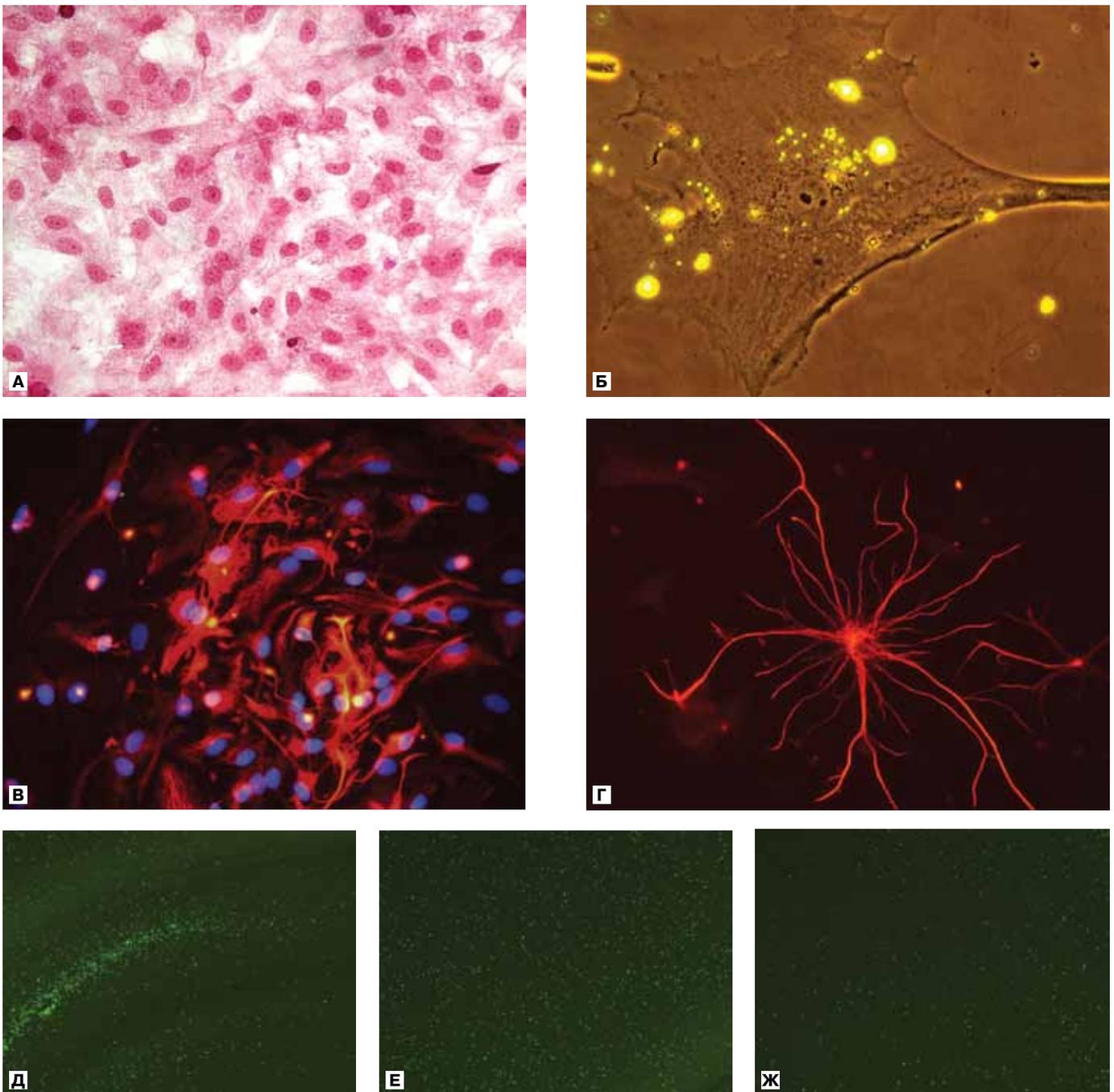


Рисунок 3. Характеристика клеточных линий контрольных культур фибробластов и астроцитов и реакция различных клеточных линий на совместное культивирование с клетками глиомы в ходе эксперимента.

А. Фибробласты крысы, окраска гематоксилином и эозином ($\times 40$). **Б.** Фибробласт крысы: фагоцитоз коллагена, иммобилизованного на поверхности флуоресцирующих микрочастиц FluoSpheres[®] Collagen I-Labeled Microspheres ($\times 630$). **В.** Астроциты крысы при окраске anti-GFAP Mab, ядра докрашены DAPI ($\times 200$). **Г.** Астроцит крысы при окраске anti-GFAP Mab ($\times 200$). **Д.** Формирование ГСК, окрашенных Vybrant[®] CFDA SE Cell Tracer, флуоресцирующего клеточного вала по периметру культуральной вставки, содержащей клетки глиомы ($\times 10$). **Е.** Культура ГСК и фибробластов крысы: формирования клеточного вала не происходит ($\times 10$). **Ж.** Культура ГСК и астроцитов крысы: формирования клеточного вала не происходит ($\times 10$).

тов и факторов роста и не менее 20 типов рецепторов, управляющих процессами миграции и хоуминга ГСК.

Доказана первостепенная роль в этом процессе SDF-1 α (stromal cell-derived factor-1 α), или фактора стромаль-

ных клеток, или хемокина CXCL12 подсемейства CXC, закодированного у человека геном CXCL12. SDF-1 α связывается с рецепторами CXCR4 и CXCR7 мембраны стволовых клеток и вовлекает их в миграционный про-

цесс. SDF-1 α выступает не только в роли хемоаттрактанта, он может стимулировать пролиферацию клеток и способствовать их выживанию в условиях ишемии [19].

Фактор стволовых клеток (SCF), фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), белок хемотаксиса моноцитов (MCP-1), ядерный негистоновый белок HMGB1, активатор плазминогена урокиназного типа (uPA), интерлейкин-6, β 1- и β 2-интегрины, L-селектин и ряд других лигандов являются важнейшими регуляторами трафика стволовых клеток в организме [20].

Основным источником хемоаттрактантов, привлекающих ГСК, служат поврежденные нейроны, астроциты, клетки микроглии и дегенерирующие элементы межклеточного матрикса, высвобождаемые в кровеносное русло.

Как следует из эксперимента, первичным источником цитокинов является именно ткань опухоли. Способность

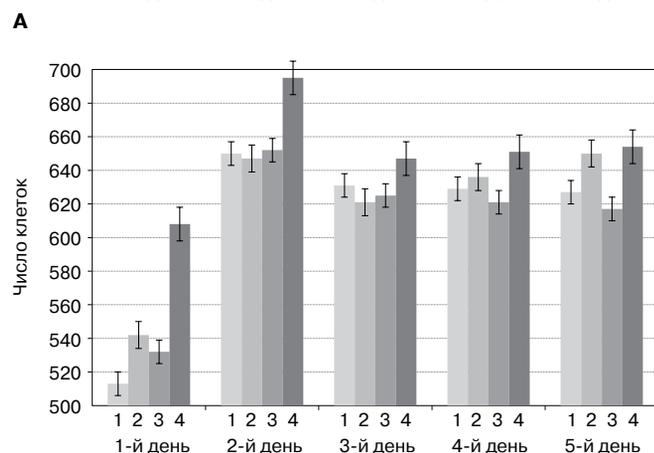
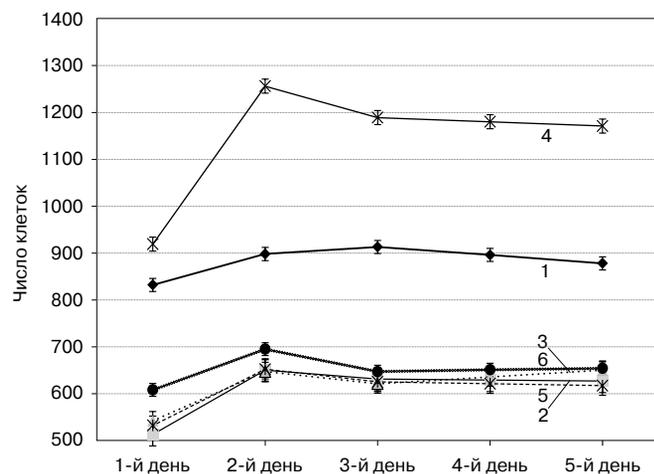


Рисунок 4. Распределение числа ГСК в культурах глиомы с 1-го по 5-й день эксперимента. 1 — лунка № 1; 2 — лунка № 2; 3 — лунка № 3; 4 — лунка № 4; 5 — лунка № 5; 6 — лунка № 6.

А. Динамика числа ГСК в проекции мембраны культуральной вставки различных культур, содержавшей клетки глиомы линии С6. **Б.** Экспликация достоверных результатов увеличения количества ГСК в культурах, содержавших неопластические клетки глиомы.

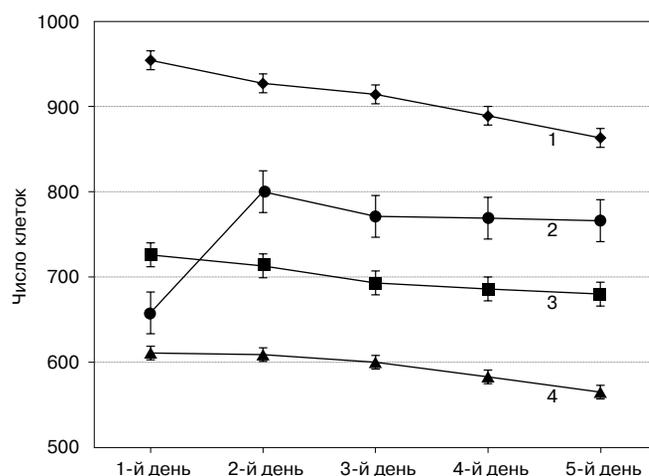


Рисунок 5. Сравнительная динамика числа ГСК в культуральных вставках, содержавших клетки глиомы линии С6, астроциты и фибробласты, с 1-го по 5-й день эксперимента. 1 — контроль; 2 — глиома; 3 — астроциты; 4 — фибробласты.

нейроэпителиальных опухолей продуцировать тенасцин, фибронектин, ламинин, коллаген различных типов и ряд других биологически активных молекул описана в литературе [20].

Очевидно, в естественных условиях основным источником мультипотентных клеточных элементов становятся герминативные зоны зрелого мозга. Привлекая и активно рекрутируя вовлеченные в процессы мутации нейральные стволовые клетки, опухоль аккумулирует их и стимулирует экспрессию большинства онкогенов, активно используя их репликативный и миграционный потенциал [21].

Клетки — предшественники гемопоэза взрослых млекопитающих и человека в отличие от нейральных стволовых клеток значительно меньше вовлечены в мутационный процесс, о чем свидетельствует анализ их протеомных профилей [22]. Кроме того, высокий репаративный потенциал при сохранении интактного отношения к нормальной нервной ткани позволяет рассматривать клетки — предшественники гемопоэза взрослых в качестве наиболее перспективной клеточной линии для лечения большинства неврологических заболеваний и травм мозга [23; 24].

Результаты экспериментов позволяют сделать вывод о выраженном патотропизме ГСК млекопитающих к глиоме линии С6. Это открывает широкие перспективы клинического применения ГСК. Однако роль ГСК и прогениторных клеток в канцерогенезе злокачественных новообразований головного мозга нуждается в дальнейшем изучении.

Работа поддержана Министерством образования и науки РФ (код проекта 314).

ЛИТЕРАТУРА

- Schiff D., Purow B. Neuro-oncology: Five new things // *Neurol. Clin. Pract.* — 2013. — Vol. 3, N 4. — P. 326—333.
- Omuro A., DeAngelis L. M. Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review // *JAMA.* — 2013. — Vol. 310, N 17. — P. 1842—1850.

3. Patterns of care and survival for patients with glioblastoma multiforme diagnosed during 2006 / Yabroff K. R., Harlan L., Zeruto C., Abrams J., Mann B. // *Neuro. Oncol.* — 2012. — Vol. 14, N 3. — P. 351–359.
4. Surgical strategies for nonenhancing slow-growing gliomas with special reference to functional reorganizations: review with own experience / Hayashi Y., Nakada M., Kinoshita M., Hamada J. // *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*. — 2013. — Vol. 53, N 7. — P. 438–446.
5. Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: Evidence from intracranial gliomas / Aboody K. S., Brown A., Rainov N. G., Bower K. A., Liu S., Yang W., Small J. E., Herrlinger U., Ourednik V., Black P. M., Breakefield X. O., Snyder E. Y. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2000. — Vol. 97, N 23. — P. 12 846–12 851.
6. Human neural stem cell tropism to metastatic breast cancer / Zhao D., Najbauer J., Annala A. J., Garcia E., Metz M. Z., Gutova M., Polewski M. D., Gilchrist M., Glackin C. A., Kim S. U., Aboody K. S. // *Stem Cells*. — 2012. — Vol. 30, N 2. — P. 314–325.
7. Neural stem cell-mediated CE/CPT-11 enzyme/prodrug therapy in transgenic mouse model of intracerebellar medulloblastoma / Gutova M., Shackelford G. M., Khankaldyyan V., Herrmann K. A., Shi X. H., Mittelholtz K., Abramyan Y., Blanchard M. S., Kim S. U., Annala A. J., Najbauer J., Synold T. W., D'Apuzzo M., Barish M. E., Moats R. A., Aboody K. S. // *Gen. Ther.* — 2013. — Vol. 20, N 2. — P. 143–150.
8. Frank R. T., Najbauer J., Aboody K. S. Concise review: stem cells as an emerging platform for antibody therapy of cancer // *Stem Cells*. — 2010. — Vol. 28, N 11. — P. 2084–2087.
9. Tabatabai G., Weller M. Glioblastoma stem cells // *Cell Tissue Res.* — 2011. — Vol. 343, N 3. — P. 459–465.
10. Soltanian S., Matin M. M. Cancer stem cells and cancer therapy // *Tumour Biol.* — 2011. — Vol. 32, N 3. — P. 425–440.
11. Combined activation of Ras and Akt in neural progenitors induces glioblastoma formation in mice / Holland E. C., Celestino J., Dai C., Schaefer L., Sawaya R. E., Fuller G. N. // *Nat. Genet.* — 2000. — Vol. 25, N 1. — P. 55–57.
12. Circulating progenitor cells: a comparison of patients with glioblastoma or meningioma / Alexiou G. A., Vartholomatos G., Karamoutsios A., Batistatou A., Kyritsis A. P., Voulgaris S. // *Acta Neurol. Belg.* — 2013. — Vol. 113, N 1. — P. 7–11.
13. Grobden B., De Deyn P. P., Slegers H. Rat C6 glioma as experimental model system for the study of glioblastoma growth and invasion // *Cell Tissue Res.* — 2002. — Vol. 310, N 3. — P. 257–270.
14. Стволовые клетки в канцерогенезе мультиформной глиобластомы / Брюховецкий И. С., Брюховецкий А. С., Кумейко В. В., Мищенко П. В., Хотимченко Ю. С. // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. — 2013. — Т. VIII, № 2. — С. 13–19.
15. Goffart N., Kroonen J., Rogister B. Glioblastoma-initiating cells: relationship with neural stem cells and the micro-environment // *Cancers (Basel)*. — 2013. — Vol. 5, N 3. — P. 1049–1071.
16. Neural stem cell tropism to glioma: critical role of tumor hypoxia / Zhao D., Najbauer J., Garcia E., Metz M. Z., Gutova M., Glackin C. A., Kim S. U., Aboody K. S. // *Mol. Cancer Res.* — 2008. — Vol. 6, N 12. — P. 1819–1829.
17. Barth R. F., Kaur B. Rat brain tumor models in experimental neuro-oncology: the C6, 9L, T9, RG2, F98, BT4C, RT-2 and CNS-1 gliomas // *J. Neurooncol.* — 2009. — Vol. 94, N 3. — P. 299–312.
18. Cheng M., Qin G. Progenitor cell mobilization and recruitment: SDF-1; CXCR4; $\alpha 4$ -integrin, and c-kit // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* — 2012. — Vol. 111. — P. 243–264.
19. CXCR4-mediated bone marrow progenitor cell maintenance and mobilization a modulated by c-kit activity / Cheng M., Zhou J., Wu M., Boriboun C., Thorne T., Liu T., Xiang Z., Zeng Q., Tanaka T., Tang Y. L., Kishore R., Tomasson M. H., Miller R. J., Losordo D. W., Qin G. // *Circ. Res.* — 2010. — Vol. 107, N 9. — P. 1083–1093.
20. Роль системных механизмов миграции и хоуминга стволовых клеток в развитии злокачественных опухолей центральной нервной системы и разработке новых методов противоопухолевой терапии / Брюховецкий И. С., Брюховецкий А. С., Мищенко П. В., Хотимченко Ю. С. // *Российский биотерапевтический журнал*. — 2013. — Т. 12, № 4. — С. 3–12.
21. The role of chemokine receptor CXCR4 and its ligand CXCL12 in the process of proliferation and migration of oral squamous cell carcinoma / Yin D., Zhang Z., Gao S., Li B. // *West China J. Stomatol.* — 2013. — Vol. 31, N 1. — P. 8–12.
22. Сравнительное протеомное картирование опухолевых стволовых клеток, выделенных из глиобластомы человека линии U87, и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека: от каталогизации клеточных белков к инновационной парадигме протеом-основанной клеточной терапии опухолей / Брюховецкий А. С., Шевченко В. Е., Чехонин В. П., Брюховецкий И. С., Ковалев С. В., Баклаушев В. П., Давыдов М. И. // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. — 2013. — Т. VIII, № 2. — С. 85–92.
23. P53 and PTEN control neural and glioma stem/progenitor cell renewal and differentiation / Zheng H., Ying H., Yan H., Kimmelman A. C., Hiller D. J., Chen A. J., Perry S. R., Tonon G., Chu G. C., Ding Z., Stommel J. M., Dunn K. L., Wiedemeyer R., You M. J., Brennan C., Wang Y. A., Ligon K. L., Wong W. H., Chin L., DePinho R. A. // *Nature*. — 2008. — Vol. 455, N 7216. — P. 1129–1133.
24. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for hematopoietic stem-cell maintenance / Greenbaum A., Hsu Y. M., Day R. B., Schuettpelz L. G., Christopher M. J., Borgerding J. N., Nagasawa T., Link D. C. // *Nature*. — 2013. — Vol. 495, N 7440. — P. 227–230.

Поступила 01.12.2013

*Igor Stepanovich Bryukhovetsky¹, Polina Victorovna Mischenko²,
Yury Stepanovich Khotimchenko³, Andrey Stepanovich Bryukhovetsky⁴*

DIRECTED MIGRATION OF ADULT HEMOPOIETIC PROGENITOR CELLS TOWARDS C6 RAT GLIOMA IN VITRO

¹ MD, PhD, Senior Researcher, Molecular and Cellular Neurobiology Laboratory, School of Biomedicine,
Far Eastern Federal University (8, Sukhanova ul., Vladivostok, RF, 690091);

Researcher, Laboratory of Pharmacology, A. V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, FEB RAS
(17, Palchevskogo ul., Vladivostok, RF, 690041)

² Postgraduate Student, Laboratory of Pharmacology, A. V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology,
FEB RAS (17, Palchevskogo ul., Vladivostok, RF, 690041)

³ MD, PhD, DSc, Professor, Director, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University
(8, Sukhanova ul., Vladivostok, RF, 690091)

⁴ MD, PhD, DSc, Professor, Director General, NeuroVita Interventional and Restorative Neurology
and Therapy Clinic (23, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478);

Head, Center of Biomedical Technologies, Federal Research and Clinical Center for Specialized
Medical Care and Health Technologies, FMBA (28, Orehovy Bulvar, Moscow, RF, 115682)

Address for correspondence: Bryukhovetskiy Igor Stepanovich, Laboratory of Molecular and Cellular Neurobiology,
School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, 8, Sukhanova ul., Vladivostok, 690091, RF;
e-mail: bruhovetsky@mail.ru

Glioblastoma multiforme is the most common, highly invasive, primary malignant tumor of the central nervous system with an extremely poor prognosis. Median survival of patients after surgical resection, radiation, and chemotherapy is not more than 12 to 15 months, and new approaches to the treatment of the disease are therefore needed. The observed directed migration of stem cells to the tumor center opens the opportunity for targeted delivery of therapeutic agents directly to the brain tumor. Hematopoietic CD34 + /CD133 + stem cells have a great reparative potential and are inert to normal neural tissue. The purpose of this study was to demonstrate experimentally the directed migration of adult hematopoietic progenitor cells towards glioma. We used C6 glioma line, culture of hematopoietic CD34 + /CD133 + stem cells, primary cultures of rat astrocytes and fibroblasts. The cells were cultured for 5 days. Hemopoietic cells formed a cell shaft on the perimeter of the glioma-containing culture insert. This phenomenon was not observed in the fibroblast and astrocyte culture. The conclusion may be made that hematopoietic stem cells have a high potential for directional migration towards C6 glioma cells, and may therefore be a promising candidates for the development of new anticancer biomedical technologies.

Key words: glioblastoma multiforme, glioma C6, hematopoietic stem cells, neural stem cells.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Валентина Николаевна Блиндарь¹, Галина Николаевна Зубрихина²,
Ирина Ивановна Матвеева³, Елена Ангреевна Демина⁴

ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА ПОЗДНИХ СТАДИЙ ДО ЛЕЧЕНИЯ

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

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

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

⁴ Д. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение химиотерапии гемобластозов НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН, клиничко-диагностическая лаборатория централизованного клиничко-лабораторного отдела, Блиндарь Валентина Николаевна; e-mail: bld51@list.ru

Исследование клинического анализа крови и оценка анемиического синдрома проведены у 16 пациентов с лимфомой Ходжкина по 47 показателям на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-2100-1. Определяли содержание ферритина, растворимых рецепторов трансферрина и эритропоэтина с помощью иммуноферментного анализа, свободный гемоглобин — гемиглобинцианидным методом. Всем больным ставили прямую пробу Кумбса, подсчитывали лейкоцитарную формулу и изучали морфологию эритроцитов. Анемия диагностирована у 12 больных, у 10 из них анемиический синдром характеризовался как анемия хронического заболевания, у 2 выявлена железодефицитная анемия, у 4 пациентов анемии не было. Анемия хронического заболевания характеризовалась микроцитарными гипохромными эритроцитами и ретикулоцитами при неадекватной степени анемии продукции эритропоэтина и при функциональном дефиците железа у большинства больных. Исследование показало, что, как и железодефицитная анемия, анемия у больных с лимфомой Ходжкина с распространенными стадиями заболевания может быть микроцитарной гипохромной. Для своевременного определения типа анемии у больных с лимфомой Ходжкина и для адекватной коррекции анемии до начала лечения и в процессе его проведения в алгоритм обследования больных необходимо включать методы лабораторной диагностики, объективно отражающие метаболизм железа (оценка уровня ферритина, растворимых рецепторов трансферрина) и адекватность гормонального ответа на степень анемии (выработка эритропоэтина).

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, анемия хронического заболевания, растворимые рецепторы трансферрина, ферритин, эритропоэтин.

Анемиический синдром (АС) выявляется у онкогематологических больных еще до начала лечения, его частота достигает 40—70% при распространенных стадиях заболевания [1]. Чаще всего АС носит характер анемии хронического заболевания (АХЗ); он не только снижает качество жизни, но и является самостоятельным неблагоприятным

прогностическим признаком, влияющим как на безрецидивную выживаемость, так и на продолжительность жизни больных [2—4]. По этой причине анемия входит в такие прогностические системы для злокачественных лимфом, как IPI (International Prognostic Index — международный прогностический индекс)

и FLIPI (Follicular Lymphoma International Prognostic Index — международный прогностический индекс фолликулярной лимфомы).

Одним из частых осложнений современных интенсифицированных программ лечения больных со злокачественными лимфомами является развитие АС, который препятствует планомерному проведению лечения и обуславливает необходимость применения массивной заместительной и симптоматической терапии [5]. Предшествующая анемия, обусловленная характером течения опухолевого процесса, усугубляет эту проблему. Своевременное определение типа анемии и адекватная коррекция АС до начала лечения и в процессе его проведения помогают решить многие проблемы современной терапии злокачественных лимфом.

АХЗ является частью так называемого гематологического стресс-синдрома при злокачественных новообразованиях. Системное воздействие злокачественной опухоли на организм может проявляться реактивным лейкоцитозом, тромбоцитозом, метаболическими и иммунными нарушениями. Все характерные патофизиологические черты АХЗ: уменьшение периода жизни эритроцитов, нарушение реутилизации железа костным мозгом (КМ), неадекватная продукция эритропоэтина (ЭПО) — это результат активации иммунной системы, вызванной цитокинами, которые продуцируются злокачественными клетками [6; 7]. Активация ряда факторов воспаления (α -фактор некроза опухоли, интерлейкины-1, -6 и -10 и γ -интерферон) может потенциально способствовать развитию АХЗ. Патогенез АХЗ чрезвычайно сложен и представлен большим разнообразием факторов, лежащих в основе развития АС; он недостаточно изучен, а необходимость выбора вариантов АС делает актуальными такие проблемы, как дифференциальная диагностика анемии и ее раннее выявление.

Целью нашего исследования явились изучение и анализ использования ряда количественных и качественных показателей периферической крови для дифференциальной диагностики АС у больных с лимфомой Ходжкина (ЛХ) до лечения. Основной задачей была оценка показателей крови, исследование которых в дальнейшем сможет помочь ранней дифференциальной диагностике и адекватной коррекции АС у больных с распространенными стадиями ЛХ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В соответствии с целью и задачей исследования для предварительного анализа выбрана небольшая группа больных ($n = 16$) с распространенными стадиями ЛХ до лечения. Больные, поступившие на лечение в гематологическое отделение РОНЦ, имели дополнительные неблагоприятные прогностические факторы, такие как большая масса опухоли и агрессивное течение заболевания. Всего было 10 женщин в возрасте от 17 лет до 41 года ($31,4 \pm 3,4$ года) и 6 мужчин в возрасте от 27 до 63 лет ($38,0 \pm 6,8$ года). В качестве контрольной группы выбраны 49 здоровых лиц (сотрудники, доноры), у кото-

рых проведено исследование аналогичных показателей крови.

Клинический анализ крови (гемограмму) исследовали по 47 показателям на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-2100-1 (Япония). Из показателей красной крови помимо числа эритроцитов и содержания в них гемоглобина оценивали расчетные показатели — среднее содержание и среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците, средний объем эритроцита и содержание фрагментов эритроцитов. Анализировали также абсолютное и относительное число ретикулоцитов и ретикулоцитарные индексы, характеризующие степень зрелости ретикулоцитов, — число мелких (зрелых), средних, крупных (молодых) ретикулоцитов и отдельно число незрелых форм (как сумму крупных (молодых) и средних ретикулоцитов). Исследовали концентрацию гемоглобина в ретикулоците.

Определяли число тромбоцитов и тромбоцитарные индексы: средний объем тромбоцита, тромбоцит, ширину распределения тромбоцитов по объему, отражающую количественно гетерогенность этих клеток по размеру — степень анизоцитоза тромбоцитов, и фракцию незрелых тромбоцитов.

В плазме крови методом иммуноферментного анализа определяли содержание ферритина (ФР) с помощью наборов фирмы «Orgentec Diagnostika GmbH» (Германия), растворимый рецептор трансферрина (pPTФ) — с помощью наборов фирмы «BioVendor» (Чехия) и уровень эндогенного ЭПО — с помощью наборов фирмы «Biomerica» (США).

Ставили прямую пробу Кумбса на основе гелевых технологий (прямой антиглобулиновый тест). Определение свободного гемоглобина (СГЕМ) в плазме крови проводили гемиглобинцианидным методом на спектрофотометре (США). Уровни СГЕМ в граммах на 1 л крови высчитывали по калибровочной кривой.

Число микро- и макроцитов, гипо- и гиперхромных эритроцитов определяли на анализаторе Advia-120 (США). У всех больных подсчитывали лейкоцитарную формулу и исследовали морфологию эритроцитов с помощью микроскопа Leica (Германия).

Статистическую обработку данных (определение среднего значения, среднего квадратического отклонения, статистической значимости результатов) проводили по Стьюденту с использованием критерия t . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У больных ЛХ до лечения выявили значительный ($p = 0,001$) лейкоцитоз и тромбоцитоз (табл. 1). Число лейкоцитов было увеличено, в основном за счет гиперпродукции сегментоядерных нейтрофилов. Напротив, число лимфоцитов оказалось снижено в относительных значениях (в процентах) и сохранено в абсолютных значениях (в миллиардах клеток (10^9) в 1 л крови). Содержание лейкоцитов и тромбоцитов и абсолютное число нейтрофилов у пациентов с АС и АХЗ оказались значительно выше, чем у больных без АС ($p = 0,01$). Качественные характеристики тромбоцитов (тромбоцитарные индексы) существенно не отличались от нормальных во всех группах больных.

Таблица 1

Показатели крови у больных с ЛХ до лечения ($X \pm m$)

Группа	Показатель							
	WBC, $\times 10^9/\text{л}$	Нейтрофилы, % ($\times 10^9/\text{л}$)	Лимфоциты, % ($\times 10^9/\text{л}$)	PLT, $\times 10^9/\text{л}$	PCT, %	PDW, %	MPV, фл	IPF, ед.
Контроль (n = 49)	6,2 \pm 0,2	57,8 \pm 0,8 (3,58 \pm 0,5)	29,7 \pm 0,5 (1,84 \pm 0,4)	226 \pm 22,6	0,3 \pm 0,04	14,3 \pm 0,3	10,9 \pm 0,5	2,4 \pm 0,1
Больные (n = 16)	13,8 \pm 1,4 ^a	79,4 \pm 1,9 ^a (10,9 \pm 2,2)	13,2 \pm 1,8 (1,8 \pm 0,4)	411,8 \pm 29,6 ^a	0,4 \pm 0,03	10,9 \pm 0,3	9,8 \pm 0,2	2,3 \pm 0,3
Больные с АС (n = 12)	14,9 \pm 1,8 ^a	80,1 \pm 4,0 ^a (11,9 \pm 2,3)	13,4 \pm 2,2 (2,0 \pm 0,7)	456,9 \pm 28,5 ^a	0,4 \pm 0,03	10,5 \pm 0,2	9,6 \pm 0,2	2,3 \pm 0,3
Больные с АХЗ (n = 10)	16,4 \pm 1,8 ^a	81,3 \pm 2,1 ^a (13,3 \pm 2,7)	11 \pm 2,1 (1,8 \pm 0,7)	468,5 \pm 33,1 ^a	0,4 \pm 0,03	10,5 \pm 0,2	9,6 \pm 0,2	2,0 \pm 0,3
Больные без АС (n = 4)	10,5 \pm 0,9 ^a	80,1 \pm 2,3 ^a (8,4 \pm 2,7)	9,6 \pm 1,7 (1,0 \pm 0,5)	276,5 \pm 25,6	0,3 \pm 0,01	11,9 \pm 0,8	10,3 \pm 0,5	2,8 \pm 0,5

IPF — фракция незрелых тромбоцитов; MPV — средний объем тромбоцита; n — число больных; PCT — тромбокрит; PDW — ширина распределения тромбоцитов по объему; PLT — тромбоциты; WBC — лейкоциты.

^a Различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы.

Известно, что показатели красной крови имеют свои особенности в зависимости от пола, поэтому все пациенты, как и здоровые добровольцы контрольной группы, были разделены на подгруппы по половому принципу (мужчины, женщины), в которых прослеживалась общая закономерность изменений показателей крови (табл. 2). У больных ЛХ при сохраненном числе эритроцитов отмечались низкая концентрация гемоглобина и снижение качественных характеристик эритроцитов (среднего объема и среднего содержания гемоглобина). В результате получено статистически значимое ($p = 0,001$) увеличение числа эритроцитов с уменьшенным объемом (микроцитов) и гипохромией (гипохромных эритроцитов). При этом констатировано значительное увеличение содержания фрагментоцитов эритроцитов ($p = 0,001$). Следует отметить, что число микроцитарных, гиперхромных и в меньшей степени гипохромных форм эритроцитов, превышающее норму, констатировано также у пациентов без АС (см. табл. 2). Однако небольшое число больных в этой группе не позволяет сделать вывод о значении этого наблюдения.

Анализируя количественные и качественные характеристики ретикулоцитов, мы отметили, что у пациентов с АС и АХЗ значительно снижены концентрация гемоглобина в ретикулоците и число мелких форм — показатель зрелости ретикулоцитов. Напротив, количество более молодых, незрелых форм (средних и крупных ретикулоцитов) оказалось значительно выше нормы ($p < 0,05$). При этом общее число ретикулоцитов как в абсолютных, так и в относительных величинах не превышало верхней границы нормы во всех группах больных (табл. 3).

Отмечено высокое или нормальное содержание ФР (233,8 \pm 96,5 нг/мл) с колебаниями от 18,2 до 1552 нг/мл. Концентрация ФР у мужчин была выше (424,2 \pm 49,7 нг/мл), чем у женщин (155,9 \pm 67,2 нг/мл).

У пациентов без АС уровень ФР (100 \pm 19,8 нг/мл) оказался ниже, чем у больных с АС и АХЗ (табл. 4).

У больных до лечения средний уровень эндогенного ЭПО составил 137,3 \pm 44,0 МЕ/мл с колебаниями от 10,3 до 494,1 МЕ/мл, при этом результаты как у мужчин, так и у женщин были сопоставимы. У пациентов с АС и АХЗ уровень ЭПО был выше, чем у пациентов без АС (см. табл. 4).

Среди уровней рРТФ преобладали низкие и нормальные, у 2 больных отмечена высокая концентрация рРТФ. Колебания этого показателя составили от 0,4 до 4,0 мкг/мл, но в среднем у больных до лечения он достигал 1,6 \pm 0,2 мкг/мл, статистически значимо не различаясь по разным подгруппам больных (см. табл. 4).

Для исключения аутоиммунной гемолитической анемии ставили прямую пробу Кумбса (гелевый тест), которая была отрицательной у всех больных. Исследование СГЕМ, которое проводится для исключения внутрисосудистого гемолиза эритроцитов, не выявило значительно увеличения СГЕМ в плазме крови — показатели были на нижней границе нормы (см. табл. 4).

При подсчете лейкоцитарной формулы обнаружено значительное увеличение числа сегментоядерных форм нейтрофилов без морфологических особенностей. В ходе детального анализа морфологии эритроцитов отмечена популяция клеток со сниженным объемом и гипохромией, при этом не выявили пойкилоцитоза (разных патологических форм эритроцитов); клеток, содержащих ядра (нормобластов); клеток с остатками ядерных субстанций (тельца Жолли, клетки Кебота, базофильная зернистость); не выявили также полихроматофилии эритроцитов.

На основании лабораторных данных АС диагностирован у 12 больных. У 10 из них АС характеризовался как АХЗ, у 2 — выявлена железодефицитная анемия (ЖДА).

Таблица 2

Количественные и качественные характеристики красной крови у больных с ЛХ до лечения ($X \pm m$)

Группа	Показатель								
	RBC, $\times 10^{12}/л$	HGB, г/л	MCV, фл	MCH, пг	MICRO, %	HYPO, %	MACRO, %	HYPER, %	FRC, % ($\times 10^9/л$)
Контроль, мужчины (n = 20)	5,1 ± 0,4	155 ± 2,0	89,1 ± 0,6	30,2 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,04	0,7 ± 0,2	0,2 ± 0,03 (10,2 ± 1,1)
Контроль, женщины (n = 29)	4,6 ± 0,5	136 ± 2,0	89,2 ± 1,0	29,4 ± 0,4	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,2 ± 0,04 (9,2 ± 0,7)
Больные (n = 16)	4,6 ± 0,2	108 ± 4,0 ^a	77,6 ± 1,6 ^a	24,1 ± 0,7 ^a	10,3 ± 1,9 ^a	2,6 ± 0,7 ^a	0,3 ± 0,2	2,3 ± 1,3	1,2 ± 0,1 ^a (61,9 ± 2,5)
Мужчины (n = 6)	5,2 ± 0,1	119 ± 7,2 ^a	72,6 ± 4,5 ^a	22,9 ± 1,78 ^a	8,2 ± 1,9 ^a	0,9 ± 0,5	0,2 ± 0,03	1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,2 ^a (72,8 ± 2,7)
Женщины (n = 10)	4,2 ± 0,2	106 ± 5,0 ^a	79,1 ± 1,6	24,9 ± 0,7	10,8 ± 2,6 ^a	1,0 ± 0,01	0,4 ± 0,1	2,9 ± 0,9	1,6 ± 0,5 ^a (42,3 ± 1,9)
Больные с АС (n = 12)	4,3 ± 0,7	101 ± 3,0 ^a	77,0 ± 2,2	23,9 ± 1,2 ^a	10,7 ± 3,3 ^a	2,8 ± 0,9 ^a	0,02 ± 0,0	2,9 ± 0,4 ^a	1,7 ± 0,5 ^a (73,1 ± 2,9)
Больные с АХЗ (n = 10)	4,3 ± 0,1	101 ± 3,1 ^a	75,5 ± 1,9 ^a	23,4 ± 0,7 ^a	9,4 ± 2,5 ^a	2,8 ± 0,1 ^a	0,02 ± 0,0	0,8 ± 0,2	1,8 ± 0,6 ^a (77,4 ± 2,3)
Больные без АС (n = 4)	4,9 ± 0,9	131 ± 2,0	80,8 ± 0,9	28,0 ± 0,7	9,17 ± 1,9 ^a	1,5 ± 0,1 ^a	0,67 ± 0,02	5,2 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,03 (4,9 ± 0,5)

FRC — фрагментциты эритроцитов; HGB — гемоглобин; HYPER — гиперхромные эритроциты; HYPO — гипохромные эритроциты; MACRO — макроциты; MCH — среднее содержание гемоглобина в эритроците; MCV — средний объем эритроцита; MICRO — микроциты; n — число больных; RBC — эритроциты.
^a Различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы.

АХЗ в основном соответствовала I и II степени с колебаниями уровня гемоглобина от 87 до 115 г/л ($101 \pm 3,1$ г/л), с сохраненным числом эритроцитов ($4,3 \pm 0,1 \times 10^{12}/л$), со сниженным средним объемом эритроцита ($75,5 \pm 1,9$ фл), сниженным средним содержанием гемоглобина в эритроците ($23,4 \pm 0,7$ пг), сниженным содержанием гемоглобина в ретикулоците ($26,8 \pm 1,1$ пг) и с нормальным числом ретикулоцитов. В этой группе больных отмечено статистически значимое ($p = 0,001$) увеличение популяции микроцитов ($9,4 \pm 2,5\%$) и гипохромных эритроцитов ($2,8 \pm 0,1\%$) по сравнению с таковыми в контроле ($0,5 \pm 0,1\%$). Показатель содержания фрагментцитов эритроцитов и в относительных ($1,86 \pm 0,6\%$), и особенно в абсолютных значениях ($77,4 \pm 2,3 \times 10^9/л$) был значительно ($p = 0,001$) выше нормы.

Уровень ФР (см. табл. 4) оказался выше верхней границы нормы и в среднем составил $318,2 \pm 147,2$ нг/мл со значительным разбросом от 52,3 до 1552 нг/мл. Концентрация ЭПО ($189,2 \pm 63,1$ МЕ/мл) была значительно ($p = 0,02$) выше нормы с колебаниями от 7,4 до 189,1 МЕ/мл. У 6 больных с АХЗ уровень эндогенного ЭПО был неадекватный, а у 4 пациентов продукция ЭПО оказалась адекватной степени АС с разбросом от 149,9 до 494,2 МЕ/мл. Уровень рРТФ в среднем по группе не превышал нормы ($1,2 \pm 0,18$ мкг/мл), однако

отмечались как очень низкие, так и нормальные значения. Функциональный дефицит железа выявлен у 7 из 10 пациентов с АХЗ (см. табл. 1—3). Уровень СГЕМ ($0,09 \pm 0,02$ г/л) был на нижней границе нормы.

У больных до лечения ЖДА соответствовала I степени (гемоглобин 100 и 97,3 г/л) с сохраненным числом эритроцитов ($5,59 \times 10^{12}/л$ и $3,7 \times 10^{12}/л$), с микроцитарными (средний объем эритроцита — 59,7 и 67,2 фл; доля микроцитов — 19 и 17,6%) и гипохромными (среднее содержание гемоглобина в эритроците — 17,9 и 22,8 пг; содержание гемоглобина в ретикулоците — 18,1 и 23,4 пг; доля гипохромных эритроцитов — 13,4 и 12,7%) характеристиками эритроцитов и ретикулоцитов и со сниженным ($18,2$ нг/мл) или нормальным ($67,4$ нг/мл) содержанием ФР.

Напротив, концентрация рРТФ (4,0 и 3,3 мкг/мл) превышала норму почти в 3 раза, что свидетельствовало о значительном дефиците железа. У первого больного с ЖДА концентрация ЭПО (22,9 МЕ/мл) была неадекватной, у второго — оказалась достаточной (150,2 МЕ/мл), т. е. адекватной степени АС. В первом случае диагностирована регенераторная стадия ЖДА с неадекватной продукцией эндогенного ЭПО, во втором — АС расценен как гипорегенераторная стадия ЖДА с продукцией ЭПО, адекватной степени АС.

Таблица 3

Ретикулоцитарные индексы у больных с ЛХ до лечения ($X \pm m$)

Группа	Показатель						
	RET, %	RET, $\times 10^9/\text{л}$	IRF, %	LFR, %	MFR, %	HFR, %	RET-HE, пг
Контроль (n = 49)	1,0 \pm 0,03	42,6 \pm 3,5	8,2 \pm 0,1	91,8 \pm 0,3	7,4 \pm 0,3	0,8 \pm 0,1	34,6 \pm 0,5
Больные (n = 16)	1,1 \pm 0,09	55,2 \pm 4,7	13,6 \pm 1,7 ^a	82,3 \pm 3,5 ^a	11,9 \pm 1,1 ^a	2,6 \pm 0,7 ^a	27,6 \pm 1,0 ^a
Больные с АС (n = 12)	1,1 \pm 0,1	51,2 \pm 1,2	14,3 \pm 2,0 ^a	84,4 \pm 1,7 ^a	12,5 \pm 1,1 ^a	3,0 \pm 0,7 ^a	26,3 \pm 1,0 ^a
Больные с АХЗ (n = 10)	1,2 \pm 0,1	50 \pm 1,1	12,5 \pm 1,4 ^a	86 \pm 1,6 ^a	11,7 \pm 1,2 ^a	2,1 \pm 0,43 ^a	27,1 \pm 0,9 ^a
Больные без АС (n = 4)	1,2 \pm 0,1	61 \pm 2,2	10,5 \pm 2,3	89,4 \pm 2,3	9,3 \pm 2,1	1,2 \pm 0,3	29,2 \pm 1,7

HFR — крупные (молодые) ретикулоциты; IRF — незрелые ретикулоциты; LFR — мелкие (зрелые) формы ретикулоцитов; MFR — средние ретикулоциты; n — число больных; RET — ретикулоциты; RET-HE — концентрация гемоглобина в ретикулоците.

^a Различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы.

В зависимости от числа лейкоцитов до лечения все больные были разделены на 2 группы (табл. 5). Число лейкоцитов в 1-й группе превышало верхнюю границу нормы ($> 10,0 \times 10^9/\text{л}$), во 2-й группе — было менее $10,0 \times 10^9/\text{л}$.

Пациенты 1-й группы характеризовались значительным лейкоцитозом, тромбоцитозом и фрагментоцитозом; содержание лейкоцитов, тромбоцитов и фрагментоцитов эритроцитов было значительно выше как по сравнению с контролем, так и по сравнению с группой больных с меньшим числом лейкоцитов. Уровень ФР был высоким ($296,9 \pm 171,5$ нг/мл) со значительным раз-

бросом от 52,3 до 1552 нг/мл ($p = 0,5$) и более низкой ($p = 0,2$), чем у больных 2-й группы, концентрацией ЭПО ($93,8 \pm 60,2$ МЕ/мл). Концентрация рРТФ у больных 1-й группы была ниже, чем у больных 2-й группы ($p = 0,2$). АС был выявлен у всех больных 1-й группы, у 7 больных он характеризовался как АХЗ с продукцией ЭПО, неадекватной степени АС. Во 2-й группе АС отмечен у 4 из 8 пациентов. АХЗ диагностирована только у 2 больных, у одного продукция ЭПО оказалась неадекватной степени анемии. Функциональный дефицит железа выявлен у 6 из 8 больных 1-й группы и у единичных больных 2-й группы (см. табл. 5).

Таблица 4

Уровни ФР, эндогенного ЭПО, рРТФ и СГЕМ в плазме крови у больных с ЛХ до лечения ($X \pm m$)

Группа	Показатель			
	ФР, нг/мл	ЭПО, МЕ/мл	рРТФ, мкг/мл	СГЕМ, г/л
Контроль, мужчины (n = 20)	78,0 \pm 11,9	26,6 \pm 2,3	1,4 \pm 0,072	0,27 \pm 0,0
Контроль, женщины (n = 29)	57,7 \pm 11,5			
Больные (n = 16)	233,8 \pm 96,5	137,3 \pm 44,0 ^a	1,6 \pm 0,2	0,09 \pm 0,01
Мужчины (n = 6)	424,2 \pm 49,7 ^a	123,9 \pm 48,4 ^a (10—473)	1,9 \pm 0,3 (0,75—4,0)	0,08 \pm 0,01
Женщины (n = 10)	155,9 \pm 67,2	122,4 \pm 54,3 ^a	1,4 \pm 0,3	0,08 \pm 0,007
Больные с АС (n = 12)	278,6 \pm 125,9	170,3 \pm 53,8 ^a	1,6 \pm 0,3	0,09 \pm 0,02
Больные с АХЗ (n = 10)	318,2 \pm 147,2	189 \pm 63,1	1,2 \pm 0,1	0,09 \pm 0,01
Больные без АС (n = 4)	100 \pm 19,8	78,4 \pm 35,3	1,3 \pm 0,27	0,11 \pm 0,002

n — число больных.

^a Различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы.

Таблица 5

Показатели периферической крови у больных с ЛХ в зависимости от числа лейкоцитов ($X \pm m$)

Показатель	Группа	
	WBC > 10,0 × 10 ⁹ /л (1-я группа; n = 8)	WBC < 10,0 × 10 ⁹ /л (2-я группа; n = 8)
WBC, × 10 ⁹ /л	18,6 ± 1,8 ^a	9,0 ± 0,3
Нейтрофилы, × 10 ⁹ /л	15,6 ± 1,4 ^a	6,7 ± 0,5
RBC, × 10 ¹² /л	4,2 ± 0,2	4,6 ± 0,2
HGB, г/л	103 ± 4,6	114 ± 5,2
MCV, фл	78,1 ± 2,1	77,7 ± 2,2
MCH, пг	24,6 ± 0,7	24,3 ± 0,9
MCHC, г/л	314 ± 0,3	316 ± 0,4
FRC, %	1,84 ± 0,6	0,6 ± 0,2
FRC, × 10 ⁹ /л	78,1 ± 7,3 ^a	27,6 ± 0,1
PLT, × 10 ⁹ /л	479,1 ± 47,8 ^a	351,5 ± 23,7
ФР, нг/мл	296,9 ± 171,5	170,7 ± 82,8
ЭПО, МЕ/мл	93,8 ± 60,2	138,2 ± 59,7
pPTФ, мкг/мл	1,1 ± 0,3	1,9 ± 0,3

FRC — фрагментоциты эритроцитов; HGB — гемоглобин; MCH — среднее содержание гемоглобина в эритроците; MCHC — средняя концентрация гемоглобина в эритроците; MCV — средний объем эритроцита; n — число больных; PLT — тромбоциты; RBC — эритроциты; WBC — лейкоциты.

^a Различия показателей по сравнению со 2-й группой статистически значимы.

ОБСУЖДЕНИЕ

За последние 50 лет в лечении ЛХ достигнуты успехи, доказавшие возможность излечения большинства больных. С 70-х годов XX века ЛХ признана потенциально излечимым заболеванием, а за последние 10 лет выживаемость больных увеличилась более чем на 11% [4; 5; 8]. С появлением новых, более эффективных программ лечения число излечившихся больных возрастает. У онкологических больных при диагностике заболевания или в процессе лечения часто выявляется АС, который существенно ухудшает качество жизни и является самостоятельным негативным фактором, снижающим продолжительность жизни. В настоящее время АС наряду с размером опухоли и стадией заболевания рассматривают как независимый фактор прогноза, влияющий на выживаемость [2; 3].

Любое злокачественное новообразование — это хроническое системное заболевание, при котором наруша-

ется система гомеостаза; в частности, выявляется цитокиновая дисрегуляция, которая способствует развитию гематологического стресс-синдрома, следствием чего является АХЗ. Самые выраженные изменения отмечаются у больных на более поздних стадиях заболевания.

Наше исследование показало, что у отдельных больных с распространенными стадиями отмечаются значительный лейкоцитоз с гиперпродукцией сегментоядерных нейтрофилов и тромбоцитоз, а это свидетельствует о реактивном костномозговом кроветворении [9]. Стимуляция кроветворения провоспалительными цитокинами затрагивает и эритропоэз, вызывая ускоренное созревание клеток эритроидного ряда КМ. Это приводит к нарушению их дифференцировки и, как следствие, к появлению в периферической крови функционально неполноценных эритроцитов, что может способствовать развитию АС.

В нашем исследовании в группе с распространенными стадиями ЛХ выявлена значительная популяция микроцитарных гиперхромных и гипохромных эритроцитов как у больных с АС, так и у больных без него. Наряду с этим отмечено увеличение числа фрагментоцитов эритроцитов в периферической крови, что может свидетельствовать о разрушении эритроцитов, и относительно невысокие показатели числа ретикулоцитов, что может быть признаком неэффективного эритропоэза у больных с АС.

На основании лабораторных данных АС диагностирован у 12 из 16 больных с распространенными стадиями ЛХ. АС характеризовался как АХЗ у 10 из 12 больных, а у больных с высоким лейкоцитозом АХЗ выявлена во всех случаях. Продукция ЭПО оказалась неадекватной степени анемии у большинства из них. У 2 больных диагностирована ЖДА. У 4 из 16 больных не оказалось АС, количественные и качественные показатели красной крови были в пределах нормы. Однако появление значительного числа микроцитарных гиперхромных и в меньшей степени гипохромных форм эритроцитов у пациентов без АС может свидетельствовать о латентной стадии ЖДА или АХЗ. В группе больных с АС число лейкоцитов, тромбоцитов и фрагментоцитов эритроцитов было значительно больше, чем в группе контроля и у пациентов без АС.

АХЗ — условное, собирательное понятие. Она развивается как у пациентов с различными хроническими воспалительными процессами, так и у онкологических больных. Общим для АХЗ является угнетение продукции ЭПО и нарушение метаболизма железа. Чаще развивается функциональный дефицит железа. Оно накапливается в макрофагах в виде ФР, перенос его от ФР к трансферрину нарушается, что влечет за собой снижение уровня железа в сыворотке крови. При этом концентрация ФР, отражающая запас (или депо) железа в организме, остается в норме или значительно повышается, а уровень pPTФ снижается [10; 11]. Напротив, у пациентов с ЖДА концентрация ФР должна быть низкой, а концентрация pPTФ — высокой, как и показало наше исследование.

АХЗ и ЖДА, являющиеся наиболее распространенными формами анемии, дифференцируются, в первую очередь, в зависимости от содержания железа. Однако стандартные (обычные) показатели содержания железа, такие как содержание ФР и количество железа в сыворотке крови, подвержены влиянию хронических

воспалительных процессов, которые нередко сопровождают опухолевые заболевания, что приводит к получению неоднозначных результатов. В отличие от ФР, концентрация рРТФ повышается при недостатке железа и существенно не изменяется при хронических болезнях. Таким образом, определение концентрации рРТФ в значительной степени повышает точность лабораторного диагноза при недостатке железа даже у больных со злокачественными и сопутствующими хроническими заболеваниями [10; 11]. Так, у одного пациента с ЖДА выявлена нормальная концентрация ФР, однако уровень рРТФ оказался высоким, что свидетельствовало о дефиците железа. Концентрация рРТФ информирует о железодефицитном эритропоэзе или о «железном голоде» эритрокарицитов КМ.

ФР и рРТФ служат главными маркерами двух звеньев метаболизма железа. ФР — главный белок депо железа в клетке, а рРТФ ответствен за посредничество поступления в клетку железа, связанного с трансферрином сыворотки. Повышенный синтез этого рецептора эритроидными клетками наблюдается во время уменьшенного снабжения железом КМ, а рРТФ, циркулирующий в крови, может рассматриваться как маркер адекватности снабжения железом КМ [12]. Высокий или нормальный уровень ФР в сочетании с концентрацией рРТФ выше 1,0 мкг/мл и с низкой концентрацией гемоглобина в ретикулоците расценивался нами как функциональный дефицит железа. Как показало наше исследование, функциональный дефицит выявляется у большинства больных с АХЗ и реактивным кроветворением и гораздо реже — у единичных больных с нормальными показателями лейкоцитов и тромбоцитов.

Наибольшее значение для дифференциальной диагностики АХЗ имеет определение ЭПО в сыворотке или плазме крови. Согласно многочисленным данным литературы, недостаток ЭПО вызывает ускоренный апоптоз эритроидных клеток в КМ и может привести к снижению продукции зрелых эритроцитов [6; 7; 11]. Неадекватно низкая продукция ЭПО по отношению к степени АС — характерная особенность АХЗ. Более выраженный дефицит эндогенного ЭПО отмечен у больных с лейкоцитозом, превышающим верхнюю границу нормы. Однако у некоторых больных концентрация ЭПО была высокой, адекватной степени АС.

Синтез и секреция ЭПО играют важную патофизиологическую роль в развитии первичных и вторичных нарушений эритрона, приводящих к изменению устойчивого эритроцитарного равновесия. Повышенная продукция ЭПО при анемиях может быть компенсаторной и адекватной, т. е. направленной на приспособление организма к изменениям оксигенации тканей и на приведение числа эритроцитов в соответствие с потребностями организма в кислороде. Точное измерение уровня ЭПО в крови при целом ряде первичных и вторичных нарушений эритрона имеет как диагностическое, так и терапевтическое значение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что у большинства больных с ЛХ еще до лечения выявляется АС. Чаще всего он характеризуется как АХЗ с неадекватной степе-

ни анемии продукцией ЭПО и с функциональным дефицитом железа, более выраженным у пациентов с высоким числом лейкоцитов и тромбоцитов. Это свидетельствовало о реактивном костномозговом кроветворении у больных с распространенными стадиями заболевания. АХЗ, как и ЖДА, характеризовалась микроцитарными гипохромными эритроцитами и ретикулоцитами. При АХЗ концентрация ФР, отражающая запас (или депо) железа в организме, была нормальной или значительно повышенной, а уровень рРТФ оказался сниженным или был в пределах верхней границы нормы. Напротив, у пациентов с ЖДА концентрация ФР была низкой, а уровень рРТФ превышал норму почти в 3 раза.

Таким образом, для своевременного определения типа анемии у больных с ЛХ и в целях адекватной коррекции АС до начала лечения и в процессе его проведения необходимо наряду с изучением количественных и качественных характеристик эритроцитов и ретикулоцитов включать в алгоритм обследования онкологических больных при АС методы лабораторной диагностики, объективно отражающие метаболизм железа (рРТФ, ФР) и адекватность гормонального ответа на степень анемии (выработка ЭПО). Это, в свою очередь, может способствовать решению проблем современной терапии злокачественных лимфом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сараева Н. О. Механизмы развития анемии при гемобластазах // Гематол. и трансфузиол. — 2007. — Т. 52, № 1. — С. 31—37.
2. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review / Caro J. J., Salas V., Ward A., Goss G. // Cancer. — 2001. — Vol. 91. — P. 2214—2221.
3. Hasenclever D., Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Projecton Advanced Hodgkin's Disease // N. Engl. J. Med. — 1998. — Vol. 339, N 21. — P. 1506—1514.
4. Escalated-dose BEACOPP in the treatment of patients with advanced stage Hodgkin's lymphoma: 10 years of follow-up of the GHSG HD9 study / Engert A., Diehl V., Franklin J., Lohri A., Dörken B., Ludwig W. D., Koch P., Hänel M., Pfreundschuh M., Wilhelm M., Trümper L., Aulitzky W. E., Bentz M., Rummel M., Sezer O., Müller-Hermelink H. K., Hasenclever D., Löffler M. // J. Clin. Oncol. — 2009. — Vol. 27, N 27. — P. 4548—4554.
5. Independent risk factors for anemia in cancer patients receiving chemotherapy: results from the European Cancer Anemia Survey / Barrett-Lee P. J., Ludwig H., Birgegard G., Bokemeyer C., Gascon P., Kosmidis P. A., Krzakowski M., Nortier J. W., Kongable G., Schneider M., Schrijvers D., Van Belle S. J. // Oncology. — 2006. — Vol. 70, N 1. — P. 34—48.
6. Павлов А. Д., Морщакова Е. Ф., Румянцев А. Г. Эритропоэз, эритропоэтин, железо. Молекулярные и клинические аспекты. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 299 с.
7. Thomas C., Thomas L. Anemia of chronic disease: pathophysiology and laboratory diagnosis // Lab. Hemat. — 2005. — Vol. 11, N 1. — P. 14—23.
8. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2004 г. // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2006. — Т. 17, № 3. — С. 45—77.
9. Analysis of bone marrow reactive changes and PET/CT diffuse bone marrow uptake in staging of Hodgkin Lymphoma / Colpo A., De March E., Lessi F., Gregorian M., Germani M., Zambello R., Alessandrini L., Iaria L., Marino F., Binotto G., Semenzato G., Trentin L. // Haematologica. — 2012. — Vol. 97, N 1. — P. 653.
10. Блиндарь В. Н., Зубрихина Г. Н., Матвеева И. И. Алгоритм современной лабораторной диагностики анемического синдрома онкологических больных // Клин. лаб. диагн. — 2012. — № 7. — С. 19—24.

11. Зубрихина Г. Н., Блиндарь В. Н., Матвеева И. И. Анемический синдром у онкологических больных // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2009. — Т. 20, № 4. — С. 57–62.
12. Рукавицин О. А. Актуальные вопросы диагностики и лече-

ния анемии при хронических заболеваниях // Онкогематология. — 2012. — Т. 5, № 4. — С. 296–304.

Поступила 22.12.2013

*Valentina Nikolayevna Blindar¹, Galina Nikolayevna Zubrikhina²,
Irina Ivanovna Matveyeva³, Elena Andreyevna Demina⁴*

LABORATORY CHARACTERIZATION OF ANEMIC SYNDROME IN PATIENTS WITH LATE STAGE HODGKIN'S LYMPHOMA BEFORE TREATMENT

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

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

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

⁴ MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Hematology Malignancy Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Blindar Valentina Nikolayevna, Clinical Diagnosis Laboratory, Central Clinical Laboratory Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: bld51@list.ru

Complete blood count and evaluation of anemic syndrome by 47 parameters were made in 16 patients with Hodgkin's lymphoma using a *Sysmex XE-2100-1* analyzer. The tests included measurement of ferritin, transferrin soluble receptors and erythropoietin by enzyme immunoassay, and free hemoglobin by hemiglobincyanide assay. All patients underwent direct Coombs test, leukocyte count with differential and erythrocyte morphology study. Anemia was diagnosed in 12 patients including 10 patients with anemic syndrome as anemia of chronic disease, 2 with iron-deficient anemia and 4 were anemia-free. Anemia of chronic disease was characterized by microcytic hypochromal erythrocytes and reticulocytes with erythropoietin production not corresponding to anemia degree and with functional iron deficiency in most cases. The study demonstrated that anemia in patients with advanced Hodgkin's lymphoma may be microcytic and hypochromal similarly to iron-deficient anemia. Laboratory diagnosis techniques that objectively reflect iron metabolism (measurement of transferrin soluble receptors, ferritin) and adequacy of hormonal response to anemia (erythropoietin production) should be incorporated into patient assessment algorithm to timely identify degree of anemia in Hodgkin's lymphoma patients and to adequately correct anemia before and during treatment.

Key words: Hodgkin's lymphoma, anemia of chronic disease, transferrin soluble receptors, ferritin, erythropoietin.

Оксана Андреевна Богомолова¹, Николай Николаевич Тупицын²,
Валерий Витальевич Родионов³, Влада Владимировна Кометова⁴,
Мария Валерьевна Родионова⁵

ИММУНОЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ОБНАРУЖЕНИЯ ДИССЕМИНИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В КОСТНОМ МОЗГЕ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ Аспирант, кафедра онкологии и лучевой диагностики Ульяновского государственного университета
(432017, РФ, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, г. 42)

² Д. м. н., профессор, заведующий, лаборатория иммунологии гемопоэза НИИ клинической онкологии
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ Д. м. н., профессор, заведующий, кафедра онкологии и лучевой диагностики Ульяновского государственного
университета (432017, РФ, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, г. 42)

⁴ К. м. н., врач, отделение патологической анатомии Областного клинического онкологического диспансера
(432063, РФ, г. Ульяновск, ул. 12 Сентября, г. 90)

⁵ Аспирант, хирургическое отделение № 5 НИИ клинической онкологии
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 432063, РФ, г. Ульяновск, ул. Кирова, д. 50, кв. 55,
Богомолова Оксана Андреевна; e-mail: oxana.bogomolova@gmail.com

В исследование включены 50 больных раком молочной железы I—IV стадии. Костный мозг изучали как стандартными морфологическими методами, так и с помощью проточной цитометрии с применением моноклональных антител к ЕрСАМ (CD326). Предварительно проведено иммуномагнитное обогащение клеток, связывающих антитела к ЕрСАМ. За пороговый диагностический уровень принято считать обнаружение 1 опухолевой клетки среди 1 млн миелокариоцитов. При цитологическом и гистологическом исследованиях метастазы в костном мозге выявлены у 1 (2%) и 2 (4%) пациентов соответственно. Методом проточной цитометрии подтвердилось поражение костного мозга в обоих случаях. Метод значительно увеличил частоту выявления микрометастазов и диссеминированных опухолевых клеток: они были обнаружены у 11 (22%) из 50 пациенток. По нашему мнению, проточная цитометрия с предварительным иммуномагнитным обогащением клеток с применением моноклональных антител к ЕрСАМ (CD326) может быть методом выбора для выявления диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге.

Ключевые слова: рак молочной железы, диссеминированные опухолевые клетки в костном мозге, микрометастазы, проточная цитометрия.

Диагностика гематогенного распространения эпителиальных опухолей на ранних стадиях — одна из главных проблем онкологии. Единичные разрозненные опухолевые клетки морфологически не определяются — для этого требуется применение высокочувствительных иммунологических методов. К таким методам в настоящее время относятся иммуноцитологические (иммуноцитохимический, проточная цитометрия) и молекулярно-биологические (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) методы. В клинической практике пока не найдены методы обнаружения микрометастазов. Методы исследования костного мозга (КМ) нуждаются в дальнейшем развитии. Однако накапливаются данные

о том, что количественное определение и характеристика диссеминированных опухолевых клеток (ДОК) позволяют получить важную прогностическую информацию и проводить мониторинг эффективности терапии. Стандартизация методов исследования и обеспечение их приемлемой чувствительности и специфичности позволит сделать еще один шаг к индивидуализации антиметастатической терапии [1; 2].

Целью настоящей работы явилось установление степени гематогенной диссеминации рака молочной железы (РМЖ) на основании обнаружения ДОК высокочувствительным иммуноцитологическим методом с применением моноклональных антител к эпителиальным антигенам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы материалы клинического, морфологического и иммуноцитологического обследо-

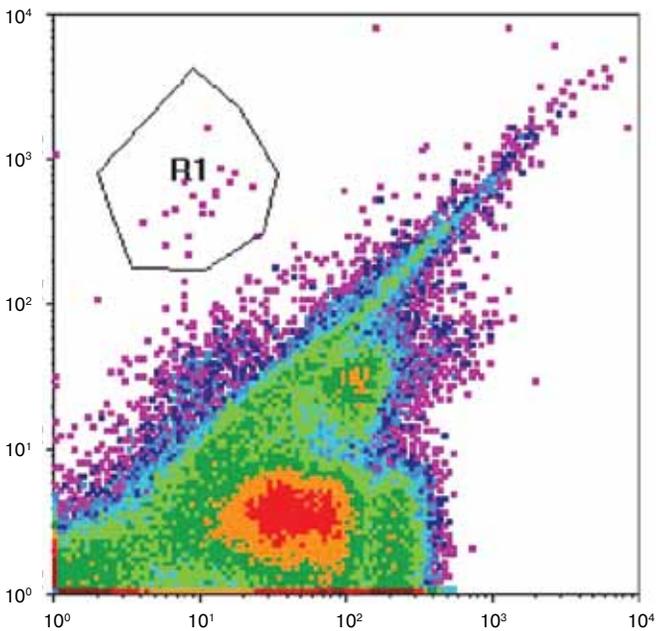


Рисунок 2. Цитограмма больной Б., 74 лет, с РМЖ IIВ стадии с микрометастазом в КМ, выявленным методом проточной цитометрии. R1 — «кластер» из 20 CD45-негативных клеток (ось абсцисс), положительных в реакции с антителами к EpCAM (CD326) (ось ординат). По оси абсцисс — уровни экспрессии лейкоцитарного антигена CD45. По оси ординат — уровни экспрессии эпителиального антигена EpCAM.

В нашем исследовании морфологические варианты РМЖ не влияли на диагностику ДОК в КМ: частота выявления ДОК при инфильтративном дольковом раке составила 40%, при инфильтративном протоковом раке — 27,8%, при инфильтративном смешанном раке — 13,3%, при других формах рака ДОК не были выявлены.

Статистически значимой связи между частотой выявления ДОК и размером, степенью злокачественности, рецепторным статусом, уровнем экспрессии HER2/пепс, индексом пролиферации Ki-67, воспалительной инфильтрацией и лимфоваскулярной инвазией первичной опухоли не выявлено. Кроме того, отсутствовала связь между микрометастазированием РМЖ в КМ и статусом регионарных лимфатических узлов. По данным однофакторного дисперсионного анализа ANOVA, статистически значимая корреляция обнаружения ДОК выявлена только для такого фактора прогноза, как суммарный балл злокачественности — СБЗ первичной опухоли ($p = 0,009$) (рис. 3).

СБЗ — интегральный морфологический прогностический индекс для оценки прогноза эпителиальных злокачественных опухолей. Он оценивается в баллах и складывается из следующих показателей: степень дифференцировки опухоли — наличие в опухолевой ткани структур с отчетливым просветом (1—3 балла); полиморфизм опухолевых клеток (1—3 балла); митотическая активность опухолевых клеток (1—3 балла); инфильтративный компонент (1—5 баллов); лимфоидная инфильтрация стромы опухолевого узла (0—3 балла); опухолевые эмболы в сосудах стромы (0—3 балла). СБЗ колеблется в пределах от 6 до 20 баллов. В зависимости

от СБЗ все опухоли можно разделить на 4 группы с различным прогнозом заболевания. Этот индекс разработан ульяновскими патоморфологами в 2009 г. и указывается ими в гистологическом заключении [3].

Полагая, что обнаружение одной изолированной опухолевой клетки может быть диагностически незначимым, ряд исследователей попытались количественно определить «критическую» опухолевую нагрузку, превышение которой было бы достоверно связано с увеличением частоты рецидива заболевания. Показано, что количество рецидивов РМЖ резко возрастает при обнаружении в КМ 10 или 15 изолированных опухолевых клеток [4]. В нашем исследовании не прослежена общая и безрецидивная выживаемость в связи с небольшим сроком от начала исследования. Однако 3 больные РМЖ IV стадии, у которых были выявлены микрометастазы в КМ, умерли от прогрессирования заболевания в течение 1—12 мес с момента постановки диагноза.

Нами проанализированы миелограммы 50 больных РМЖ. У одной больной с метастазами РМЖ в КМ, обнаруженными обоими морфологическими методами, количество миелокариоцитов было снижено ($40\ 000\ \text{мкл}^{-1}$ при норме $41\ 600\text{—}195\ 000\ \text{мкл}^{-1}$), гранулоцитарный и эритроидный ростки были относительно сохранены, но среди клеток красного ряда преобладали оксифильные формы (8,6% при норме 0,8—5,6%), отмечено увеличение количества моноцитов (4,2% при норме 0,7—3,1%). У другой пациентки с метастазами РМЖ в КМ в миелограмме обнаружены следующие отклонения: сужение гранулоцитарного роста за счет зрелых форм нейтрофилов, некоторое расширение эритроидного роста за счет оксифильных форм нормобластов (17,2% при норме 0,8—5,6%), снижение, соответственно, лейкоэритробластического отношения (1,2 при норме 2,1—4,5), увеличение количества лимфоцитов (22,8% при норме 4,3—13,7%).

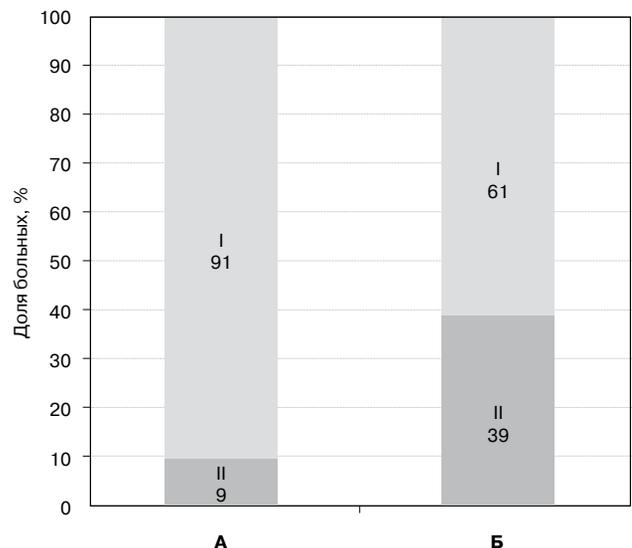


Рисунок 3. Распределение больных РМЖ в зависимости от СБЗ первичной опухоли и выявления ДОК в КМ. I — больные без ДОК в КМ; II — больные с ДОК в КМ. А. СБЗ 1—2. Б. СБЗ 3—4.

В работе О. В. Крохиной и соавт. [5] сделано предположение, что к наиболее ранним проявлениям реакции КМ на наличие отдельных опухолевых клеток можно отнести следующие изменения кроветворения по данным миелограмм: гипоклеточность КМ, скопления плазматических клеток, обнаружение крупных клеток с гиперхромным ядром и множественными нуклеолами, повышение лейкоэритробластического отношения, увеличение среднего количества моноцитов и лимфоцитов [5].

При проведении анализа миелограмм выявлено, что в группе больных с микрометастазами снижение клеточности КМ отмечалось чаще (36,4%), чем у пациентов без метастатического поражения (25,6%; $p > 0,05$). Содержание лимфоцитов в КМ у больных с микрометастазами было достоверно выше, чем в отсутствие опухолевого поражения КМ ($63,6 \pm 0,5$ и $30,8 \pm 0,47\%$ соответственно; $p = 0,048$). Не исключено, однако, что увеличение количества лимфоцитов было относительным. Обнаружено снижение лейкоэритробластического отношения в группе пациенток с микрометастазами по сравнению с таковым у больных без микрометастазов, но различие статистически незначимо. Увеличение содержания моноцитов чаще наблюдалось в группе больных без микрометастазов (53,8 и 18,2% соответственно).

В анализах периферической крови не обнаружено статистически значимых различий содержания эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и гемоглобина, а также различий других показателей в зависимости от наличия или отсутствия ДОК в КМ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проточная цитометрия может быть методом выбора для оценки ДОК в КМ после иммуномагнитного обогащения опухолевых клеток с применением моноклональных антител к ЕрСАМ (CD326). В то же время обнаружение малого количества опухолевых клеток при проточной цитометрии сложно трактовать в случаях, когда опухолевые клетки не формируют четкого кластера. При об-

наружении такого кластера микрометастазы могут быть констатированы даже при наличии менее 1 опухолевой клетки на 1 млн миелокариоцитов. Остается неясным, какова «критическая» опухолевая нагрузка КМ, превышение которой было бы связано с ростом частоты рецидива заболевания. На основании анализа миелограмм не удалось выявить косвенные признаки наличия единичных опухолевых клеток РМЖ.

Представленные нами данные демонстрируют необходимость внедрения в клиническую практику иммунологического исследования КМ, особенно на ранних стадиях РМЖ, для оценки распространенности опухолевого процесса и индивидуализации лечения.

Работа поддержана государственным заданием Минобрнауки РФ. Шифр государственного задания 4. 1219. 201.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alix-Panabieres C., Pantel K. Detection and characterization of disseminating cancer cells in patients with epithelial solid malignancies // Haematopoiesis Immunol. — 2012. — Vol. 10, N 1. — P. 79–93.
2. Tupitsyn N. N. Hematogenously disseminating operable cancer as a principal problem of oncology. Immunological tumor staging // Haematopoiesis Immunol. — 2007. — Vol. 4, N 2. — P. 7–13.
3. Занкин В. В., Кометова В. В., Лазаревский М. М. Гистологическая степень злокачественности эпителиальных опухолей как фактор прогноза рецидивирования и метастазирования после радикального лечения (взгляд патоморфолога на клинические проблемы) // Матер. VI Рос. науч.-практ. конф. «Модниковские чтения», г. Ульяновск, 22–23 окт. 2009 г. — С. 48–50.
4. Calaluce R., Miedema B., Yesus Y. Micrometastasis in colorectal carcinoma: A review // J. Surg. Oncol. — 1998. — Vol. 67, N 3. — P. 194–202.
5. Immunocytological diagnosis of micrometastatic bone marrow involvement in patients with breast cancer / Krokhina O. V., Letyagin V. P., Tupitsyn N. N., Blindar V. N., Ermilova V. D. // Haematopoiesis Immunol. — 2007. — Vol. 4, N 2. — P. 117–131.

Поступила 22.12.2013

*Oxana Andreyevna Bogomolova¹, Nikolay Nikolayevich Tupitsyn²,
Valery Vitalyevich Rodionov³, Vlada Vladimirovna Kometova⁴,
Maria Valeryevna Rodionova⁵*

IMMUNOCYTOLOGICAL DETECTION OF DISSEMINATED TUMOR CELLS IN BONE MARROW OF BREAST CANCER PATIENTS

¹ MD, Postgraduate Student, Chair of Oncology and Radiation Diagnosis, Ulyanovsk State University
(42, ul. Lva Tolstogo, Ulyanovsk, RF, 432017)

² MD, PhD, DSc, Professor, Head, Haematopoiesis Immunology Laboratory, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin Cancer Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

³ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Chair of Oncology and Radiation Diagnosis, Ulyanovsk State University
(42, ul. Lva Tolstogo, Ulyanovsk, RF, 432017)

⁴ MD, PhD, Physician, Patomorphology Department, Regional Clinical Cancer Center
(90, ul. 12 Sentyabrya, Ulyanovsk, RF, 432063)

⁵ MD, Postgraduate Student, Surgical Department No. 5, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin Cancer
Research Center RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)

Address for correspondence: Bogomolova Oksana Andreyevna, app. 55, bld. 50, ul. Kirova,
Ulyanovsk, RF, 432063; e-mail: oxana.bogomolova@gmail.com

The study was performed in 50 patients with I—IV stage breast cancer. Bone marrow assessment was made prior to treatment by standard morphological methods and flow cytometry using monoclonal anti-EpCAM antibodies (CD326). Flow cytometry was conducted after immunomagnetic enrichment of cells with anti-EpCAM antibodies. The presence of one or more disseminated tumor cells per 10⁶ myelokaryocytes was established as threshold level. Standard cytological and histological study discovered bone marrow metastases in 1 (2.0%) and 2 (4.0%) of 50 patients, respectively. Flow cytometry confirmed bone marrow involvement in both cases and significantly improved detection rate of micrometastases and disseminated tumor cells to a total of 11 patients (22.0%). In our opinion flow cytometry is the method of choice for disseminated tumor cell measurement after immunomagnetic enrichment with anti-EpCAM antibodies, especially in patients with early stage breast cancer for assessment of disease advance and personalization of treatment.

Key words: breast cancer, disseminated tumor cells in bone marrow, micrometastases, flow cytometry.

ДИСКУССИЯ

Игорь Владимирович Нехаев¹, Алексей Олегович Приходченко²,
Софья Валерьевна Ломидзе³, Александр Викторович Сытов⁴

ИНТЕНСИВНАЯ ТЕРАПИЯ СИСТЕМНЫХ МИКОЗОВ В ОНКОХИРУРГИИ

¹ Д. м. н., заведующий, отделение реанимации и интенсивной терапии № 1
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² Врач, отделение реанимации и интенсивной терапии № 1
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ К. м. н., старший научный сотрудник, отделение реанимации и интенсивной терапии № 1
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ К. м. н., старший научный сотрудник, отделение реанимации и интенсивной терапии № 1
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, отделение реанимации
и интенсивной терапии № 1 НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН,
Приходченко Алексей Олегович; e-mail: evpatii2004@mail.ru

В течение последних 20 лет наблюдаются изменения в видовом разнообразии дрожжевых грибов и увеличение количества инфекционных осложнений, вызванных ими. Летальность при инвазивных микозах остается высокой. При кандидемии умирают около 40% больных, и это в тех случаях, когда системные противогрибковые препараты назначаются вовремя. Позиция флуконазола как препарата выбора при системных микозах на данный момент вызывает сомнения, несмотря на наличие лабораторных данных о чувствительности грибов рода *Candida*, полученных *in vitro*. Применение препаратов из группы эхинокандинов — единственный оптимальный способ профилактики и лечения системных микозов.

Ключевые слова: системные микозы, флуконазол, онкохирургия, эхинокандины.

В течение последних 20 лет отмечается увеличение частоты развития у онкохирургических больных инфекционных осложнений, вызванных в том числе грибами рода *Candida* [1; 2]. Грибы рода *Candida* являются 4-й по частоте причиной инфекций кровотока в США, превосходя по этому показателю грамотрицательные бактерии [3]. В Европе, по разным данным, микозы, вызванные грибами рода *Candida*, занимают 6—10-е место среди причин ангиогенных инфекций [4—7]. В экономически развитых странах из года в год наблюдается тенденция к увеличению числа системных микозов. Например, в Англии и Уэльсе число зарегистрированных случаев ан-

гиогенных инфекций, вызванных грибами рода *Candida*, за 15 лет увеличилось в 4 раза (см. рисунок) [8—10].

В связи со сложностями клинической и лабораторной диагностики системных микозов повсеместно наблюдается неоправданное увеличение частоты назначения системной антимикотической терапии в качестве профилактической и лечебной меры, что ведет к увеличению резистентности к флуконазолу штаммов грибов. В терапевтической практике флуконазол назначается после любого курса антибиотиков, в том числе *ex juvantibus* в гинекологии, без исследования мазков и посевов из влагалища. На отечественном рынке представлено огромное количество дженериков флуконазола, ведется активная промоция в аптеках и на телевидении, что также в конечном итоге способствует увеличению резистентности грибов рода *Candida*.

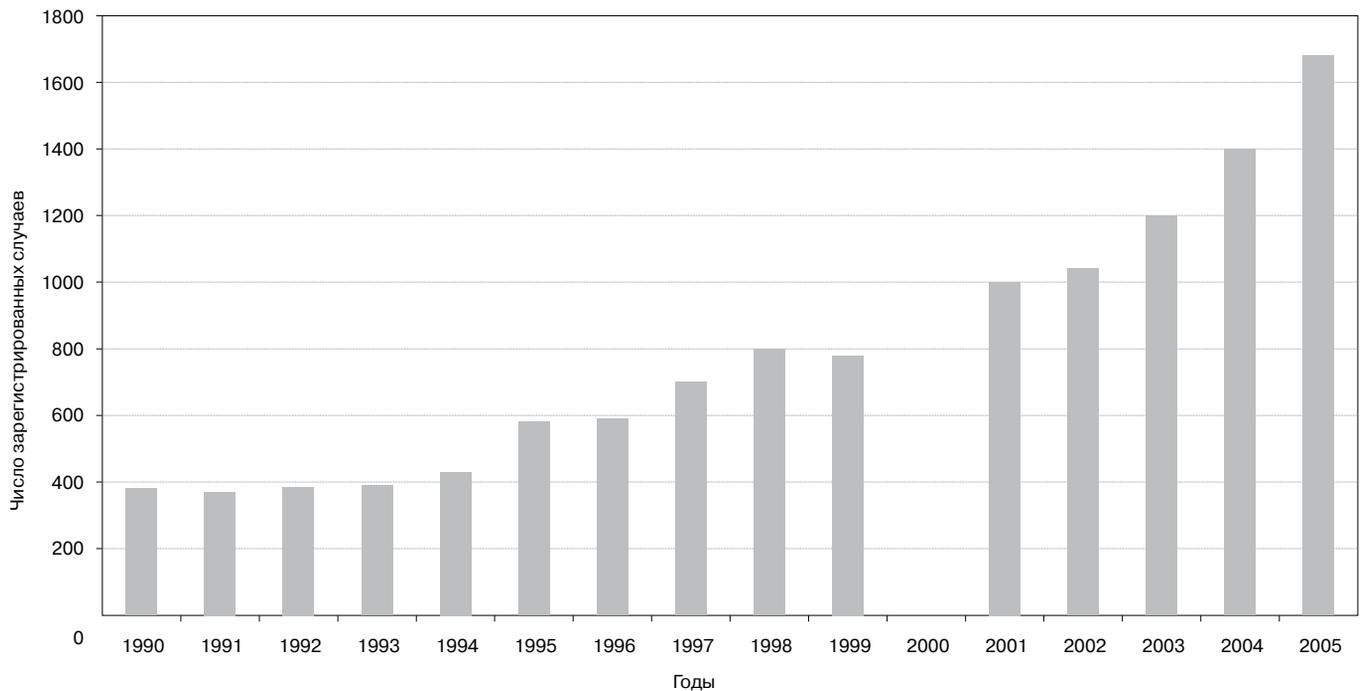


Рисунок. Системные инфекции, вызванные грибами рода *Candida*, в Англии и Уэльсе в 1990–2005 гг. [8–10].

По разным данным, в настоящее время количество инфекций, вызванных *Candida albicans*, примерно равно количеству инфекций, обусловленных *Candida non-albicans*, среди ангиогенных инфекций в США, Европе и Австралии (табл. 1) [11–13].

Смертность от инфекций, вызванных штаммами группы *C. non-albicans*, суммарно гораздо выше, чем от инфекций, вызванных *C. albicans*, учитывая исходную высокую резистентность *C. non-albicans*. По данным O. Leroу и соавт., нечувствительные к флуконазолу грибы рода *Candida* составляют 38,3% [14]. В большом европейском исследовании в течение 10,5 года *in vitro* получены следующие данные: среди 197 619 исследованных штаммов *Candida spp.* нечувствительными к флуконазолу были 30%, из них 3% — к вориконазолу (табл. 2) [15].

Несмотря на благополучие в отношении чувствительности *Candida spp. in vitro*, следует учитывать особенности противогрибкового иммунитета. Благодаря характерным чертам структуры, антигены грибов имеют относительно низкую иммуногенность. Они практически не индуцируют антителообразование (титры специфических антител остаются низкими), но стимулируют клеточное звено иммунитета, что подразумевает заверченный фагоцитоз, в котором должен участвовать «здоровый» функциональный нейтрофил (с нормальным фагоцитарным индексом). У пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) имеется вторичный иммунодефицит, т. е. обусловленный одной из трех причин: 1) незрелостью нейтрофилов, несмотря на нейтрофилия; 2) нейтропенией; 3) нарушением функции нейтрофилов. В этой ситуации показано использование препаратов, к которым в 100% случаев чувствительны грибы рода *Candida in vivo*, ввиду отсутствия четких прогностических правил в отношении эффективности противогрибковой терапии.

Таким образом, деление грибов рода *Candida* на *C. albicans* и *C. non-albicans* с выделением видов *non-albicans*, учитывая резистентность к стандартной противогрибковой терапии и тех, и других видов, не имеет прикладного значения. По нашему мнению, следует классифицировать грибы рода *Candida* по чувствительности к флуконазолу, т. е. *Candida fluco-S* и *C. fluco-R*. Например, в Италии, по данным M. Bassetti, частота высеваения *C. fluco-R* составляет 16,4%. Если к этой цифре прибавить грибы рода *Candida*, чувствительные *in vitro* и нечувствительные *in vivo* (ввиду сниженного иммунитета пациентов ОРИТ), то можно сделать вывод, что необходимо переосмыслить и структурировать современные подходы к лечению системных микозов.

ФАКТОРЫ РИСКА

Грибковым инфекциям более других подвержены пожилые пациенты; пациенты с фебрильной нейтропенией; пациенты, получающие цитостатическую или иммуносупрессивную терапию (в том числе по поводу трансплантации органов); больные со сниженным иммунитетом. Пребывание в ОРИТ более 4 дней также является фактором риска развития системных микозов. У всех больных, находящихся в ОРИТ, имеются центральный венозный катетер и мочевого катетер, у тяжелых пациентов проводится мониторинг центральной гемодинамики (катетер Свана—Ганса, технология PICCO₂), используется канюляция артерий. Большой объем хирургического вмешательства, дренирование плевральной и брюшной полостей и, соответственно, длительное полное парентеральное питание и исходный недостаточный трофологический статус больных (вплоть до кахексии) способствуют развитию системного микоза. К факторам риска относятся также сахарный диабет, хроническая почечная

Таблица 1

Число случаев кандидемии в США, Европе и Австралии

Вид <i>Candida</i>	Число случаев кандидемии, %		
	США (исследование NEMIS; 1993–1995)	Европа (исследование ЕСММ, 1997–1999)	Австралия (2001–2004)
<i>C. albicans</i>	48	56,4	47,3
<i>C. glabrata</i>	24	13,6	15,4
<i>C. tropicalis</i>	19	7,2	5,1
<i>C. parapsilosis</i>	7	13,3	19,9
<i>C. lusitanae</i>	2	0,7	1,0
<i>C. krusei</i>	–	1,9	4,3
<i>C. guilliermondii</i>	–	1,4	0,7
<i>C. dubliniensis</i>	–	–	1,9

недостаточность, особенно при диализе, и длительная искусственная вентиляция легких (ИВЛ). Ввиду большого количества инфекционных осложнений в ОРИТ приходится использовать массивную антибиотикотерапию, в том числе антибиотики резерва [16–19].

ДИАГНОСТИКА

Основным методом определения *Candida* spp. по-прежнему остается микробиологическая диагностика. К сожалению, в условиях интенсивной терапии она исключительно ретроспективно подтверждает диагноз. Чтобы обеспечить наиболее раннюю постановку диагноза и повысить выживаемость пациентов с системным кандидозом, наряду с микробиологической диагностикой возможно использование новых некультуральных методик, к которым относятся следующие:

- определение галактоманнана (специфичен только для аспергиллеза);
- (1,3)- β -D-глюкан (тест для исключения диагноза, не зарегистрирован в Российской Федерации);
- ПЦР-диагностика (отсутствуют стандартизованные тест-системы);
- определение антител к ростковым трубкам *C. albicans* (CAGTA — *C. albicans* germ tube antibodies);
- выявление маннана и антиманнанных антител (только грибы рода *Candida*) [20].

Эти методики не имеют достаточной чувствительности и специфичности для подтверждения или опровержения диагноза. К тому же для их применения требуются большие экономические затраты и отдельная лаборатория, работающая исключительно на ОРИТ.

Таким образом, на данный момент диагностика основывается на клинической картине, определении тяжести состояния больного (шкалы SOFA, APACHE) и на ретроспективном подтверждении диагноза микробиологическим методом.

Существует несколько мнений о начале антимикотической терапии или смене антимикотика. По опыту ОРИТ № 1 ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН, смена флуконазола на эхинокандины должна производиться в следующих случаях:

- отсутствие динамики состояния пациента при максимальной хирургической санации очага инфекции и адекватной антибиотикотерапии;
- отсутствие положительной динамики уровня прокальцитонина на 3-и сутки (снижение более чем на 30%);
- оценка по шкале APACHE более 16 баллов;
- оценка по шкале SOFA более 6 баллов;
- наличие дыхательной недостаточности (острое повреждение легких/острый респираторный дистресс-синдром);
- наличие 5 факторов риска или более (нахождение в ОРИТ более 4 дней; наличие центрального венозного катетера, мочевого катетера, канюляция артерий; большой объем хирургического вмешательства; полное парентеральное питание; кахексия; сахарный диабет; хроническая почечная недостаточность; ИВЛ; массивная антибиотикотерапия).

Частота высеивания грибов рода *Candida* в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН составила 16,6%, в ассоциации с бактериями — 74,1%, в монокультуре — 25,9%. Таким образом, дезскалационная терапия у онкологических больных в ОРИТ должна включать не только антибактериальные препараты широкого спектра действия, в том числе частое применение антибиотиков резерва ввиду резистентности штаммов бактерий, но и антимикотики.

Частота высеивания грибов рода *Candida* из разных биологических сред оказалась различной: мокрота — 32,9%, жидкость, получаемая при бронхоскопии, — 15,8%, отделяемое из брюшной полости — 12,9%, моча — 12,1%, плевральная жидкость — 9,8%, желчь — 6,2%, раневое

Таблица 2

Чувствительность *Candida* spp. in vitro к флуконазолу и вориконазолу, определенная дискодиффузионным методом (2001–2007 гг.)

Вид <i>Candida</i>	Флуконазол			Вориконазол		
	количество выделенных штаммов	чувствительные, %	нечувствительные, %	количество выделенных штаммов	чувствительные, %	нечувствительные, %
<i>Candida albicans</i>	128 625	98	1,4	125 965	98,5	1,2
<i>C. glabrata</i>	23 305	68,7	15,7	22 968	82,9	10
<i>C. tropicalis</i>	15 546	91	4,1	15 198	89,5	5,4
<i>C. parapsilosis</i>	12 788	93,2	3,6	12 453	97	1,8
<i>C. krusei</i>	5079	8,6	78,3	5005	83,2	7,6
<i>C. guilliermondii</i>	1410	73,5	11,4	1375	90,5	5,7
<i>C. lusitaniae</i>	1233	92,1	5,4	1215	96,7	2
<i>C. kefyr</i>	1044	96,5	2,7	1032	98,7	0,9
<i>C. inconspicua</i>	566	22,6	53,2	563	90,6	3,9
<i>C. famata</i>	622	79,1	10,3	606	90,3	5
<i>C. rugosa</i>	603	49,9	41,8	580	69,3	21,2
<i>C. dubliniensis</i>	21	96,1	2,6	308	98,4	1
<i>C. norvegensis</i>	248	41,9	40,7	247	91,5	4
<i>C. lipolytica</i>	13	66,2	28,5	128	77,3	14,1
<i>C. sake</i>	87	85,1	11,5	87	92	6,9
<i>C. pelliculosa</i>	87	89,7	6,9	86	94,2	4,7
<i>C. apicola</i>	57	98,2	1,8	57	98,2	1,8
<i>C. zeylanoides</i>	70	67,1	24,3	67	85,1	6
<i>C. valida</i>	21	23,8	61,9	22	81,8	13,6
<i>C. intermedia</i>	24	95,8	4,2	25	100	0
<i>C. pulcherrima</i>	14	100	0	14	100	0
<i>C. haemulonii</i>	9	88,9	11,1	9	88,9	11,1
<i>C. stellatoidea</i>	7	85,7	0	7	85,7	14,3
<i>C. utilis</i>	7	83,3	0	7	100	0
<i>C. humicola</i>	7	50	50	6	50	33,3
<i>C. lambica</i>	5	0	80	5	40	20
<i>C. ciferrii</i>	2	50	50	2	50	0
<i>C. colliculosa</i>	2	100	0	2	100	0
<i>C. holmii</i>	1	100	0	1	100	0
<i>C. marina</i>	1	0	0	1	100	0
<i>C. sphaerica</i>	1	100	0	1	100	0
<i>Candida</i> spp.	9744	86,2	8,9	9577	93,6	4,1

отделяемое — 6,9%, кровь — 3,4%. Низкая частота высева грибов из крови и появление их роста в исходно стерильных средах подтверждают гематогенный путь диссеминации и еще раз подчеркивают, что диагноз системного микоза должен устанавливаться при наличии роста из 2 биологических сред или более при соответствующей клинической картине и тяжести состояния больного.

ЛЕЧЕНИЕ

Основным препаратом для лечения и профилактики системных микозов остается флуконазол в стандартных дозах. Существует мнение о том, что доза флуконазола может быть увеличена до 800 мг/сут с учетом резистентности грибов рода *Candida*. Однако эти данные получены в исследованиях, которые проводились на небольшой выборке больных, и их результаты не являются достоверными. Соответственно, не учитывалась частота возникновения побочных реакций и нет уверенности в действенности данной дозы препарата. Поэтому необходимо проведение дополнительных исследований с адекватной выборкой больных для оценки эффективности применения и безопасности флуконазола в дозе 800 мг/сут. В Российской Федерации зарегистрировано и используется огромное количество дженериков флуконазола. Все имеющиеся доказательные данные об эффективности и безопасности антимикробной терапии сепсиса получены при исследовании оригинальных препаратов. Несомненно, при лечении угрожающих жизни инфекций, к которым относятся сепсис и системный кандидоз, фактор стоимости препарата не может превалировать над факторами эффективности и безопасности.

В отсутствие эффекта от флуконазола возможна его замена препаратами из группы полиенов или эхинокандинов. Липосомальный амфотерицин В на данный момент не зарегистрирован в Российской Федерации, другие препараты амфотерицина В оказывают выраженное побочное действие и плохо переносятся больными.

Препараты группы эхинокандинов (микафунгин, каспифунгин, анидулафунгин) неконкурентно ингибируют синтез (1,3)- β -D-глюкана — важного компонента клеточной стенки грибов, который отсутствует в клетках млекопитающих. В отличие от флуконазола эхинокандины обладают фунгицидной активностью в отношении грибов рода *Candida*. Высокая эффективность и безопасность эхинокандинов доказаны в огромном количестве исследований. Некоторые из этих препаратов разрешены к применению у детей.

У онкологических больных имеется вторичный иммунодефицит (сниженный противoinфекционный иммунитет), их хирургическое лечение сопровождается обширной травмой тканей (спленэктомия, массивные кровопотери, максимальная лимфодиссекция). В послеоперационном периоде таким больным требуются проведение высокоинвазивной интенсивной терапии и применение комбинированной антибиотикотерапии с первых дней лечения в ОРИТ ввиду высокой частоты развития инфекционных осложнений. В основном это пожилые пациенты, перенесшие химиотерапию, которая сопровождается цитопенией.

В современной онкохирургии хирургические вмешательства выполняются даже при прорастании опухоли в соседние органы и ткани и наличии отдаленных, но удалимых метастазов. Это обуславливает необходимость выполнения расширенных или комбинированных хирургических вмешательств. Ввиду анатомических особенностей при несостоятельности анастомоза дальнейшее хирургическое лечение не всегда выполнимо. Один из ярких примеров такой ситуации представлен ниже.

*Больной Б., 55 лет, с диагнозом «рак проксимального отдела желудка с переходом на пищевод, дисфагия II степени» поступил в ОРИТ № 1 после планового хирургического вмешательства в следующем объеме: чреслевральная субтотальная проксимальная резекция желудка с резекцией нижнегрудного отдела пищевода, спленэктомия. Индекс массы тела при поступлении 21,1 кг/м². Отмечено стабильное течение послеоперационного периода. На 7-е сутки переведен в профильное отделение. На 12-е сутки в связи с клинической картиной перитонита в экстренном порядке выполнена срединная релапаротомия. При ревизии выявлен флегмонозно измененный червеобразный отросток, расположенный ретроцекально. Другой патологии в брюшной полости не выявлено. Выполнены аппендэктомия, санация и гренирование брюшной полости. По данным гистологического исследования констатирован флегмонозный аппендицит. На 15-е сутки больной переведен в профильное отделение. В качестве антибактериальной терапии с 1-х суток в ОРИТ получал цефоперазон/сульбактам, 8 г/сут. На 21-е сутки больной вновь поступил в ОРИТ № 1 с диагнозом «септический шок на фоне медустинита вследствие несостоятельности пищеводно-желудочного анастомоза, синдром полиорганной недостаточности: острая дыхательная недостаточность на фоне острог респираторного дистресс-синдрома и правосторонней пневмонии, парез кишечника, энцефалопатия смешанного генеза». Уровень прокальцитонина 21 нг/мл, оценка по шкале SOFA 6 баллов, по шкале APACHE — 16 баллов. Выполнены посевы всех возможных сред, начата ранняя целенаправленная терапия. По данным посевов (ретроспективно): *Klebsiella pneumoniae* КОЕ 10⁶ из мокроты, плеврального дренажа, *S. albicans* КОЕ 10⁶ из мочи. Антибактериальная терапия: меропенем, 3 г/сут; ванкомицин, 2 г/сут; флуконазол, 400 мг/сут. Через 3 сут (24-е сутки) вновь выполнены посевы всех возможных сред. Состояние больного остается стабильно тяжелым. Суждения о диагнозе прежние. Число лейкоцитов снизилось с 21,3 тыс. до 17 тыс., наблюдалась постоянная гипертермия 37,7°C. Уровень прокальцитонина 18 нг/мл, оценка по шкале SOFA 6 баллов, по шкале APACHE — 16 баллов. Таким образом, клиническая картина без существенной динамики. Контроль над инфекционным процессом не достигнут (снижение уровня прокальцитонина менее 30%). Антимикотическая терапия заменена: назначен микамин, 100 мг/сут. Ретроспективно по данным посевов *S. albicans* КОЕ 10⁶ в моче и мокроте. С 25-х суток состояние больного с положительной динамикой. На 30-е сутки переведен на самостоятельное дыхание, на 31-е сутки посевы стерильны, уровень прокальцитонина 1 нг/мл, на 42-е сутки переведен из ОРИТ. Больному проводилась антимикробная, противоязвенная, инфузи-*

онно-трансфузионная терапия, ИВЛ, было назначено парентеральное питание.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бесконтрольное применение антибиотиков среди населения ведет к развитию резистентности возбудителей, с которыми больной поступает в ОРИТ. Большое количество инфекционных осложнений в ОРИТ вынуждает назначать длительно антибиотики широкого спектра действия, в том числе антибиотики резерва. В течение последних 15 лет отмечен рост частоты развития инфекций, вызванных грибами рода *Candida*. Это обуславливает необходимость назначения в качестве деэскалационной терапии как антибактериальных препаратов, так и антимикотиков. В последние годы частота высеваания *C. albicans* практически сравнялась с частотой высеваания *C. non-albicans*. Учитывая последние статистические данные, следует признать, что классификация грибов рода *Candida* по видовой принадлежности не имеет практического значения. Деление грибов рода *Candida* на fluco-R и fluco-S представляется практически более обоснованным.

Результаты ряда исследований свидетельствуют о варьировании эффективной дозы флуконазола, однако выборка пациентов в них не репрезентативна и эти работы не учитывают вопросы безопасности препарата при увеличении дозы. Флуконазол остается препаратом выбора для лечения и профилактики системных микозов. В отсутствие положительной динамики в клиническом состоянии больного флуконазол следует заменять эхинокандинами.

В последнее время отмечается увеличение количества *C. fluco-R* in vitro, по разным данным, от 16,4 до 38,3%. По нашему мнению, чувствительность грибов рода *Candida* in vitro и in vivo различается из-за особенностей иммунитета онкологических больных, находящихся в ОРИТ, что еще больше увеличивает количество *C. fluco-R* in vivo. В таких случаях логичнее применять препараты с фунгицидной, а не с фунгистатической активностью.

Позиция флуконазола как препарата выбора при системных микозах на данный момент вызывает сомнение, несмотря на наличие лабораторных данных о чувствительности грибов рода *Candida* in vitro. Препараты из группы эхинокандинов — единственный оптимальный способ профилактики и лечения системных микозов.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность *Candida fluco-R* растет.
2. Диагностика микозов, вызванных грибами рода *Candida*, основывается только на клинических данных.
3. Назрела необходимость переосмысления принципов профилактики и лечения микозов в интенсивной терапии.
4. Использование эхинокандинов — реальная возможность адекватного лечения системных микозов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vincent J.-L., Anaissie E., Bruining H. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care // *Intensive Care Med.* — 1998. — Vol. 24. — P. 206—216.
2. Грибковые инфекции у больных солидными опухолями и гемобластозами / Дмитриева Н. В., Петухова И. Н., Иванова Л. Ф., Смо-

лянская А. З., Багирова Н. С. // *Инфекции и антимикроб. химиотер.* — 2001. — Т. 3, № 3. — С. 92—93.

3. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study / Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S. M., Seifert H., Wenzel R. P., Edmond M. B. // *Clin. Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 39, N 3. — P. 309—317.

4. Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991—2000 / Marchetti O., Bille J., Fluckiger U., Eggimann P., Ruef C., Garbino J., Calandra T., Glauser M. P., Tauber M. G., Pittet D. // *Clin. Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 38. — P. 311—320.

5. Spencer R. C. Predominant pathogens found in the European Prevalence of Infection in Intensive Care Study // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* — 1996. — Vol. 15. — P. 281—285.

6. Candidemia in nonneutropenic critically ill patients: analysis of prognostic factors and assessment of systemic antifungal therapy. Study Group of Fungal Infection in the ICU / Nolla-Salas J., Sitges-Serra A., Leon-Gil C., Martinez-Gonzalez J., Leon-Regidor M. A., Ibanez-Lucia P., Torres-Rodriguez J. M. // *Intensive Care Med.* — 1997. — Vol. 23. — P. 23—30.

7. Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Europe from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997 and 1998 / Fluit A. C., Jones M. E., Schmitz F. J., Acar J., Gupta R., Verhoef J. // *Clin. Infect. Dis.* — 2000. — Vol. 30. — P. 454—460.

8. Lamagni T. L., Evans B. G., Shigematsu M. Emerging trends in the epidemiology of invasive mycoses in England and Wales (1990—1999) // *Epidemiol. Infect.* — 2001. — Vol. 126. — P. 397—414.

9. Health Protection Agency. Voluntary surveillance of candidaemia in England, Wales, and Northern Ireland // *Commun. Dis. Rep. Wkly.* — 2006. — Vol. 16. — P. 5—6.

10. Health Protection Agency. Polymicrobial bacteraemias and candidaemia, England and Wales, 2001 // *Commun. Dis. Rep. Wkly.* — 2002. — Vol. 12, N 51. — P. 5—13.

11. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. The National Epidemiology of Mycosis Survey / Blumberg H. M., Jarvis W. R., Soucie J. M., Edwards J. E., Patterson J. E., Pfaller M. A., Rangel-Frausto M. S., Rinaldi M. G., Saiman L., Wiblin R. T., Wenzel R. P. // *Clin. Infect. Dis.* — 2001. — Vol. 33. — P. 177—186.

12. Tortorano A. M., Peman J., Bernhardt H. Epidemiology of Candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 23. — P. 317—322.

13. Chen S., Slavin M., Nguyen Q. Active surveillance for candidemia, Australia // *Emerg. Infect. Dis.* — 2006. — Vol. 12. — P. 1508—1516.

14. Comparison of albicans vs. non-albicans candidemia in French intensive care units / Leroy O., Mira J.-P., Montravers P., Gangneux J.-P., Lortholary O., AmarCand Study Group // *Crit. Care.* — 2010. — Vol. 14, N 3. — R98.

15. Results from ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study 1997 to 2007: a 10,5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI Standardized Disk Diffusion / Pfaller M. A., Diekema D. J., Gibbs D. L., Newel V. A., Ellis D., Tullio V., Rodloff A., Fu W., Ling T. A., the Global Antifungal Surveillance Group // *J. Clin. Microbiol.* — 2010. — Vol. 48, N 4. — P. 1366—1377.

16. Pappas G., Rex J. H., Lee J. A prospective observational study of candidemia: Epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients // *Clin. Infect. Dis.* — 2003. — Vol. 37. — P. 634—643.

17. Ostrosky-Zeichner L., Sable C., Sobel J. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* — 2007. — Vol. 26. — P. 271—276.

18. Vincent J. L., Anaissie E., Bruining H. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care // *Intensive Care Med.* — 1998. — Vol. 24. — P. 206—216.

19. Wey S. B., Mori M., Pfaller M. A. Risk factors for hospital-acquired candidemia. A matched case-control study // *Arch. Intern. Med.* — 1989. — Vol. 149. — P. 2349—2353.

20. Веселов А. В. Эмпирическая, превентивная и профилактическая терапия инвазивных микозов: современное состояние проблемы // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* — 2009. — Т. 11, № 4. — С. 286—304.

Поступила 13.11.2013.

Igor Vladimirovich Nekhayev¹, Alexey Olegovich Prikhodchenko²,
Sophia Valerievna Lomidze³, Alexander Viktorovich Sytov⁴

INTENSIVE CARE FOR SYSTEMIC MYCOSIS IN CANCER SURGERY

¹ MD, PhD, DSc, Head, Resuscitation and Intensive Care Department No. 1,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

² MD, Physician, Resuscitation and Intensive Care Department No. 1,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

³ MD, PhD, Senior Researcher, Resuscitation and Intensive Care Department No. 1,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁴ MD, PhD, Senior Researcher, Resuscitation and Intensive Care Department No. 1,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Prikhodchenko Alexey Olegovich, Resuscitation and Intensive Care Department No. 1,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF;
e-mail: evpatii2004@mail.ru

Over the last two decades there was a change in fungal species pattern and increase in occurrence of fungal infectious complications. Lethality in invasive mycosis is high. Death rate in patients with candidemia reaches approximately 40% even with timely start of systemic antifungal therapy. Use of fluconazole as the therapy of choice in patients with systemic mycosis is equivocal in spite of *in vitro* laboratory evidence of susceptibility of *Candida* species to this drug. Echinocandines are the only optimal option for prevention and treatment of systemic mycosis.

Key words: systemic mycosis, fluconazole, cancer surgery, echinocandines.
