



ISSN: 2686-9039 Online

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
**Южно-Российский
онкологический журнал**

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL

**South Russian
Journal of Cancer**

ТОМ vol. **2** № **3/2021**

www.cancersp.com

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL
South Russian Journal of Cancer

"South-Russian Oncological Journal": professional medical publication. It publishes news from the medical and pharmaceutical communities, scientific and practical articles for the target audience-oncologists. The editorial board of the journal aims to popularize the research works and achievements of oncologists of the Southern Federal District, to analyze the process of deep reorganization of healthcare in Russia. The editorial board invites as authors all those who are looking for and find interesting solutions to the multifaceted problems facing modern medicine, and want to share their thoughts and observations with colleagues.

Purpose: to promote the development of cancer medicine in the South of Russia and the introduction of its achievements into practice.

Tasks: to highlight the current achievements of the oncology service in the South of Russia; to promote the exchange of experience and advanced knowledge between specialists; to inform readers about the results of major medical forums.

The journal contains publications of various categories: literature reviews, meta-analyses, clinical studies, observations of clinical cases, discussions, announcements and descriptions of new treatment methods

The journal accepts for publication: original articles, health organizations, radiation diagnostics, exchange of experience, reviews, clinical case reviews.

EDITOR-IN-CHIEF

Oleg I. Kit,

Corr. Member RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Aleksei Yu. Maksimov,

Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

EXECUTIVE SECRETARY

Elena A. Dzhenkova,

Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

PROOFREADER

Liubov V. Elivanova

DESIGNER

Sergei I. Khodosov,

Printed by «P-Center», Moscow, Russia

Founder and Publisher:

Autonomous Non-profit Organization "Perspectives of Oncology"
(ANO "Perspectives of Oncology")

Editorial and publisher address:

63, G, room 1, 14 line, Rostov-on-Don 344037, Russia
E-mail: info@cancersp.com
Pfone: +7 (903) 547-04-62, +7 (863) 295-53-62
www.cancersp.com

The journal is registered at the Roskomnadzor on 28.10.2019,
PI № FS 77-77100 – print.
From 15.03.2021 EL № FS 77-80665 of 15.03.2021 – online.
Frequency: 4 issues per year.

Published 09.09.2021

EDITORIAL BOARD

Irina A. Baldueva,

Dr. Sci. (Med.), N.N.Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia

Lyubov Yu.

Vladimirova, Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

Marina A. Engibaryan,

Dr. Sci. (Med.), National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

Elena Yu. Zlatnik,

Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

Tatyana Yu. Semiglazova,

Dr. Sci. (Med.), Prof., N.N.Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia

Aleksandr V. Snezhko,

Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Natalya V. Soldatkina,

Dr. Sci. (Med.), Rostov Research Oncological Institute, Rostov-on-Don, Russia

Aleksandr V. Soldatov,

Dr. Sci. (Phys.-Math.), Prof., Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

Aleksandr G. Khitryan,

Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University, Central Clinical Hospital "Russian Railways-Medicine", Rostov-on-Don, Russia

Tatyana P. Shkurat,

Dr. Sci. (Biol.), Prof., Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

Subscription: the magazine is subscribed to via the electronic editorial system on the website. The price is free.

Advertisers are responsible for the accuracy of the information provided in the advertisements. The editorial board's point of view may not coincide with the authors opinion.

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ Южно-Российский онкологический журнал

«Южно-Российский онкологический журнал»: профессиональное медицинское издание. В нем публикуются новости медицинского и фармацевтического сообществ, научно-практические статьи для целевой аудитории – врачей-онкологов. Редакция журнала ставит своей задачей популяризацию научно-исследовательских работ и достижений онкологов Южного федерального округа, анализ процесса глубокой реорганизации здравоохранения в России. Редакция приглашает в качестве авторов всех, кто ищет и находит интересные решения многогранных задач, стоящих перед современной медициной, и хочет поделиться своими мыслями и наблюдениями с коллегами.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Кит Олег Иванович,

чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Максимов Алексей Юрьевич,

д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Дженкова Елена Алексеевна,

д.б.н., доцент, ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

КОРРЕКТОР

Эливанова Любовь Владимировна

ДИЗАЙНЕР

Ходосов Сергей Иванович,

Типография П-Центр, Москва, Россия

Издатель и учредитель:

Автономная некоммерческая организация
«Перспективы онкологии» (АНО «Перспективы онкологии»)

Адрес редакции и издателя:

344037, Россия, Ростов-на-Дону, 14-я линия, д. 63,
литер Г, комната 1
E-mail: info@cancersp.com
Телефон: +7 (903) 547-04-62, +7 (863) 295-53-62
Сайт: www.cancersp.com

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре 28.10.2019 г.,
ПИ № ФС 77-7100 – печатное издание.
С 15.03.2021 г. Эл № ФС 77-80665 – сетевое издание.
Периодичность: 4 раза в год.

Опубликовано 09.09.2021

Цель: способствовать развитию онкологической медицины Юга России и внедрению её достижений в практику.

Задачи: освещать современные достижения онкологической службы Юга России; содействовать обмену опытом и передовыми знаниями между специалистами; информировать читателей об итогах крупных медицинских форумов.

В журнале размещаются публикации различных рубрик: обзоры литературы, мета-анализы, клинические исследования, наблюдения клинических случаев, обсуждения, анонсы и описания новых методов лечения.

Журнал принимает к публикации: оригинальные статьи, организации здравоохранения, лучевой диагностики, обмен опытом, обзоры, клинические наблюдения.

РЕДКОЛЛЕГИЯ

Балдуева Ирина Александровна,

д.м.н., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Владимирова Любовь Юрьевна,

д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Енгибарян Марина Александровна,

д.м.н., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Златник Елена Юрьевна,

д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Семиглазова Татьяна Юрьевна,

д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Снежко Александр Владимирович,

д.м.н., доцент, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Солдаткина Наталья Васильевна,

д.м.н., ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Солдатов Александр Владимирович,

д.ф.-м.н., проф., директор, ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, Россия

Хитарьян Александр Георгиевич,

д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «РостГМУ», ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина», Ростов-на-Дону, Россия

Шкурят Татьяна Павловна,

д.б.н., проф., ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, Россия

Журнал открытого доступа, весь контент находится в свободном доступе бесплатно для пользователя или его учреждения.

За достоверность сведений, указанных в рекламных объявлениях, ответственность несут рекламодатели. Точка зрения редакции может не совпадать с мнением авторов.

ORIGINAL ARTICLES

- Blood levels of growth and progression factors in patients with locally advanced breast cancer during neoadjuvant chemotherapy
E.M.Frantsiyants, N.Yu.Samaneva, L.Yu.Vladimirova, A.E.Storozhakova, E.A.Kalabanova, S.N.Kabanov, A.V.Tishina 06

- Functional state of cardiomyocyte mitochondria in malignant process in presence of comorbid pathology in experiment
E.M.Frantsiyants, I.V.Neskubina, N.D.Cheryarina, E.I.Surikova, A.I.Shikhlyarova, V.A.Bandovkina, L.A.Nemashkalova, I.V.Kaplieva, L.K.Trepitaki, P.S.Kachesova, I.M.Kotieva, M.I.Morozova, Yu.A.Pogorelova 13

- Influence of oncolytic strains of a new unclassified group of human rotaviruses on peripheral blood lymphocytes
O.I.Kit, S.Yu.Filippova, S.V.Timofeeva, A.O.Sitkovskaya, E.Yu.Zlatnik, S.A.Kolpakov, E.P.Kolpakova, E.S.Bondarenko, I.A.Novikova 23

REVIEW

- Biomarkers for non-small cell lung cancer immunotherapy
D.A.Kharagezov, Yu.N.Lazutin, E.Yu. Zlatnik, A.B.Sagakyants, E.A.Mirzoyan, A.G.Milakin, O.N.Stateshny, A.V.Chubaryan, I.A.Leyman 31

- The importance of developing new mannan tests in the diagnosis of invasive candidiasis in oncology patients
O.Yu.Kutsevalova, Yu.Yu.Kozel, N.E.Nifantiev, A.V.Antonets, V.B.Krylov 42

CLINICAL
CASE REPORT

- Changes in the level of cardiomarkers in the development of acute myocardial infarction on the background of chemotherapy of a patient with tongue cancer
N.K.Guskova, L.Yu.Vladimirova, E.A.Sycheva, A.A.Morozova, D.A.Rosenko, A.K.Donskaya, O.N.Selyutina, A.M.Skopintsev, N.V.Golomeeva 48

ОРИГИНАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

Содержание факторов роста и прогрессирования в крови
больных местнораспространенным раком молочной железы
в процессе неoadъювантной химиотерапии
*Е.М.Франциянц, Н.Ю.Саманева, Л.Ю.Владиминова, А.Э.Сторожакова,
Е.А.Калабанова, С.Н.Кабанов, А.В.Тишина*..... 06

Функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов
при злокачественном процессе на фоне коморбидной
патологии в эксперименте
*Е.М.Франциянц, И.В.Нескубина, Н.Д.Черярина, Е.И.Сурикова, А.И.Шихлярова,
В.А.Бандовкина, Л.А.Немашкалова, И.В.Каплиева, Л.К.Трепитаки,
П.С.Качесова, И.М.Котиева, М.И.Морозова, Ю.А.Погорелова* 13

Влияние онколитических штаммов новой
неклассифицированной группы ротавирусов человека
на лимфоциты периферической крови
*О.И.Кит, С.Ю.Филиппова, С.В.Тимофеева, А.О.Ситковская, Е.Ю.Златник,
С.А.Колпаков, Е.П.Колпакова, Е.С.Бондаренко, И.А.Новикова*..... 23

ОБЗОР

Биомаркеры для иммунотерапии немелкоклеточного
рака легкого
*Д.А.Харагезов, Ю.Н.Лазутин, Е.Ю.Златник, А.Б.Сагакянц, Э.А.Мирзоян,
А.Г.Милакин, О.Н.Статешный, А.В.Чубарян, И.А.Лейман*..... 31

Значение разработки новых маннанных тестов
в диагностике инвазивного кандидоза
у онкологических больных
О.Ю.Куцевалова, Ю.Ю.Козель, Н.Э.Нифантьев, А.В.Антонец, В.Б.Крылов 42

КЛИНИЧЕСКОЕ
НАБЛЮДЕНИЕ

Изменение уровня кардиомаркеров при развитии острого
инфаркта миокарда на фоне химиотерапии больного
раком языка
*Н.К.Гуськова, Л.Ю.Владиминова, Е.А.Сычева, А.А.Морозова, Д.А.Розенко,
А.К.Донская, О.Н.Селютина, А.М.Скопинцев, Н.В.Голомеева* 48

СОДЕРЖАНИЕ ФАКТОРОВ РОСТА И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ В КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Е.М.Франциянц, Н.Ю.Саманева*, Л.Ю.Владиминова, А.Э.Сторожакова, Е.А.Калабанова,
С.Н.Кабанов, А.В.Тишина

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение уровня TGF- β , TGFR2, TNF- α , TNF- α R1, TNF- α R2, CD44 и MMP9 в крови больных раком молочной железы различных биологических подтипов, получивших неоадьювантную химиотерапию.

Материалы и методы. В работе представлены результаты исследования изучения содержания факторов роста и прогрессирования (TGF- β , TGFR2, TNF- α , TNF- α R1, TNF- α R2, CD44 и MMP9) в крови у 162 больных местнораспространенным раком молочной железы различных биологических подтипов, которым было проведено 8 курсов неоадьювантной химиотерапии.

Результаты. Уровни TGF- β , TGFR2, TNF, TNF- α , TNFR1, TNFR2, CD44, MMP9 у пациентов со всеми подтипами РМЖ были высокими до лечения. После циклов химиотерапии значения статистически значимо снизились во всех подтипах РМЖ: CD44 уменьшился на 25,2 %, 30 % и 54,7 % в люминальном А, В и TNBC соответственно; TNF α – на 26,2 %, 48,3 % и 50,8 % соответственно; TNF- α R1 – на 52,1 %, 39,2 % и 50,3 % соответственно; TNF- α R2 – на 31,7 %, 32,8 % и 41,9 % соответственно; MMP9 – 35,3 %, 32,6 % и 43,3 % соответственно.

Заключение. Выявлен комплекс факторов роста и прогрессии, определяющий чувствительность и резистентность к химиотерапии при всех подтипах РМЖ, а именно снижение уровня TGF- β , TNF- α , MMP9 и CD44 после неоадьювантной химиотерапии определяет в дальнейшем ремиссию в течение минимум 3 лет. Напротив, стабилизация или увеличение этих показателей приводит в дальнейшем к раннему прогрессированию злокачественного процесса.

Ключевые слова:

рак молочной железы, биологические подтипы, неоадьювантная полихимиотерапия, факторы роста и прогрессирования, ИГХ, ремиссия, прогрессирование, резистентность к химиотерапии.

Для корреспонденции:

Саманева Наталья Юрьевна – к.м.н., младший научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей, врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: prettyfairy19@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0843-6012>

SPIN: 1181-0659, AuthorID: 734488

ResearcherID: AAH-7905-2019

Scopus Author ID: 57192874030

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Франциянц Е.М., Саманева Н.Ю., Владииминова Л.Ю., Сторожакова А.Э., Калабанова Е.А., Кабанов С.Н., Тишина А.В. Содержание факторов роста и прогрессирования в крови больных местнораспространенным раком молочной железы в процессе неоадьювантной химиотерапии. Южно-Российский онкологический журнал. 2021; 2(3): 6-12. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-1>

Получено 25.06.2021, Рецензия (1) 15.07.2021, Рецензия (2) 19.07.2021, Опубликовано 09.09.2021

BLOOD LEVELS OF GROWTH AND PROGRESSION FACTORS IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER DURING NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY

E.M.Frantsiyants, N.Yu.Samaneva*, L.Yu.Vladimirova, A.E.Storozhakova, E.A.Kalabanova, S.N.Kabanov, A.V.Tishina

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose of the study. An analysis of blood levels of TGF- β , TGFR2, TNF- α , TNF- α R1, TNF- α R2, CD44 and MMP9 in patients with various biological subtypes of breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy.

Materials and methods. This article presents an analysis of levels of growth and progression factors (TGF- β , TGFR2, TNF- α , TNF- α R1, TNF- α R2, CD44 and MMP9) in the blood of 162 patients with various biological subtypes of locally advanced breast cancer receiving 8 cycles of neoadjuvant chemotherapy.

Results. Levels of TGF- β , TGFR2, TNF, TNF- α , TNFR1, TNFR2, CD44, MMP9 in patients with all BC subtypes were high before the treatment. After chemotherapy cycles, the values decreased statistically significantly in all BC subtypes: CD44 decreased by 25.2 %, 30 % and 54.7 % in luminal A, luminal B and TNBC, respectively; TNF α – by 26.2 %, 48.3 % and 50.8 %, respectively; TNF α -R1 – by 52.1 %, 39.2 % and 50.3 % respectively; TNF α -R2 – by 31.7 %, 32.8 % and 41.9 % respectively; MMP9 – 35.3 %, 32.6 % and 43.3 % respectively.

Conclusions. We identified a combination of growth and progression factors which determines the chemotherapy sensitivity and resistance in all subtypes of breast cancer; so, a decline in the levels of TGF- β , TNF α , MMP9 and CD44 after neoadjuvant chemotherapy predicts further remission for at least 3 years. On the contrary, stabilization or an increase of these indicators leads to the early tumor progression.

Keywords:

breast cancer, biological subtypes, neoadjuvant polychemotherapy, growth and progression factors, IHC, remission, progression, chemotherapy resistance.

For correspondence:

Natalia Yu. Samaneva – Cand. Sci. (Med.), Junior Researcher of the Department of Drug Treatment of Tumors, doctor of the Department of antitumor Drug Therapy No. 2, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: prettyfairy19@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0843-6012>

SPIN: 1181-0659, AuthorID: 734488

ResearcherID: AAH-7905-2019

Scopus Author ID: 57192874030

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Frantsiyants E.M., Samaneva N.Yu., Vladimirova L.Yu., Storozhakova A.E., Kalabanova E.A., Kabanov S.N., Tishina A.V. Blood levels of growth and progression factors in patients with locally advanced breast cancer during neoadjuvant chemotherapy. South Russian Journal of Cancer. 2021; 2(3): 6-12. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-1>

Received 25.06.2021, Review (1) 15.07.2021, Review (2) 19.07.2021, Published 09.09.2021

Несмотря на улучшение показателей 10-летней общей выживаемости больных раком молочной железы, это заболевание остается основной причиной смерти от рака у женщин во всем мире. Одной из основных причин является возникновение рецидива опухоли и резистентности к терапии [1]. Появляется все больше свидетельств того, что агрессивная природа опухолей ТНРМЖ может быть обусловлена наличием более высокой частоты присутствия раковых стволовых клеток (CD44 высокий/CD2 низкий) по сравнению с другими подтипами рака молочной железы [2, 3]. Эти наблюдения позволяют предположить, что подгруппа раковых стволовых клеток в опухолях является гетерогенной по природе в отношении фенотипа и, возможно, функционирует среди различных подтипов рака молочной железы. Одноклеточный транскриптомный анализ первичных и метастатических опухолей различных подтипов рака молочной железы, безусловно, может дать очень интересную информацию о гетерогенности раковых стволовых клеток. Такая информация могла бы затем обеспечить основу для гипотезы о том, как гетерогенность в компартменте раковых стволовых клеток в различных подтипах рака молочной железы может быть предиктором ответа на терапию и резистентности к терапии.

В настоящее время клинической проблемой в лечении рака молочной железы является развитие резистентности к терапии, прогрессирование заболевания за счет появления рецидивов и отдаленного метастазирования. Регуляция функции раковых стволовых клеток и индукция химиорезистентности под воздействием внешних факторов, таких как цитокины, хемокины и гипоксия, становятся очевидными потенциальными стратегиями. Они могут быть направлены на взаимодействие раковых стволовых клеток с клеточными и неклеточными компонентами внеклеточного матрикса в качестве более эффективных терапевтических подходов.

Роль трансформирующего фактора роста β (TGF- β) в регуляции пролиферации опухолевых клеток, метастазирования и ремоделирования внеклеточного матрикса также хорошо документирована [4]. По данным литературы, длительное воздействие TGF- β на эпителиальные клетки молочной железы человека усиливает фенотип эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) и увеличивает количество CD44 клеток – известного маркера стволовых раковых клеток [5, 6]. В ответ на воздействие TGF- β клетки эпителия

и карциномы подвергаются частичному или полному эпителиально-мезенхимальному переходу, что способствует прогрессированию рака. Этот процесс рассматривается как обратимый, потому что клетки возвращаются к эпителиальному фенотипу после удаления TGF- β . Однако авторы обнаружили, что длительное воздействие TGF- β способствует стабильному ЭМП в клетках эпителия молочной железы и карциномы, в отличие от обратимого ЭМП, вызванного более коротким воздействием. Стабилизированный ЭМП сопровождался стабильно повышенной выработкой стволовых клеток и устойчивостью к противоопухолевым препаратам.

Другие цитокины, такие как фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) и эндотелиальный фактор роста (EGF), регулируют активность стволовых раковых клеток. Когда опухолевые клетки из люминального А подтипа рака молочной железы подвергались воздействию TNF- α , популяция клеток РМЖ становилась обогащенной для фенотипа CD44+CD29+CSC обладающего повышенными метастатическими свойствами [7]. Дальнейшие исследования должны проводиться для оценки содержания TNF- α и их рецепторов в сыворотке различных подтипах рака молочной железы до и после стандартного лечения [8].

Исследование биомаркеров рака могут играть важную роль в таких областях, как диагностика и прогнозирование рака, мониторинг прогрессирования заболевания, прогнозирование рецидива заболевания, мониторинг и прогнозирование эффективности лечения и скрининг рака. По данным некоторых исследований, уровень экспрессии рецепторов белка p53 при люминальных подтипах различен. При гормон-позитивных опухолях высокий уровень экспрессии p53 ассоциирован с гиперэкспрессией или мутацией Her2neu [9]. Было обнаружено, что MMP9 является потенциальным биомаркером для нескольких видов рака [10, 11]. Его можно использовать в качестве маркера в таких областях, как диагностика, мониторинг эффективности лечения и мониторинг прогрессирования заболевания. Некоторые биомаркеры могут не обладать достаточной специфичностью для клинической применимости, когда они используются в качестве одного маркера. Использование комбинации биомаркеров является одной из стратегий повышения их специфичности. Для достижения этой цели MMP9 также можно использовать в сочетании с другими биомаркерами рака [9].

Цель исследования: изучение уровня TGF- β , TGF β 2, TNF- α , TNF- α R1, TNF- α R2, CD44 и MMP9 в крови больных раком молочной железы различных биологических подтипов, получивших неоадьювантную химиотерапию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены данные о 162 больных местно-распространенным первично неоперабельным Her2 негативным раком молочной железы III стадии в возрасте от 30 до 65 лет, имеющих соматический статус по шкале ECOG-WHO от 0 до 1 балла (по шкале Карновского от 100 % до 80 %). После установления диагноза и проведения комплексного лечения больные находились под наблюдением, по результатам которого были разделены на 2 группы. Первую группу составили данные о 58 больных, у которых ранее наблюдалось прогрессирование заболевания (местный рецидив или отдаленное метастазирование) в сроки от 6 до 12 мес. Во вторую группу включены 104 пациентки, у которых ремиссия после проведенного лечения сохранялась в течение не менее 3 лет (36 мес.).

По биологическому подтипу больные распределены следующим образом: в 1 группе было 58,62 % (34) пациента, у которых диагностирован трижды-негативный вариант опухоли, у 41,38 % (24) пациенток – люминальный B Her2 негативный подтип. Люминальный A подтип в 1 группе не отмечен ни у одной больной; во 2 группе наиболее часто встречались гормонозависимые подтипы опухоли (82

пациентки – 78,85 %). Люминальный B, Her2 негативный подтип диагностирован у 40 больных (38,46 %), люминальный A подтип – у 42 больных (40,39 % случаев). Также у 21,15 % (22 пациенток) диагностирован трижды-негативный вариант опухоли.

В сыворотке крови больных с помощью стандартных тест-систем ИФА методами определяли уровень: TGF- β 1, TNF- α , CD44, MMP9 (Bender Med System, Австрия); TGF- β 2 (Ray Biotech, США); TNF- α R1 и TNF- α R2 (R&D systems, USA&Canada).

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического пакета STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Описательная статистика количественных признаков представлена в виде средней арифметической и стандартной ошибки средней арифметической ($M \pm s$). Достоверность отличий между выборками оценивали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (отличия считали достоверными при $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Интересными являются результаты изучения показателей в крови до лечения в зависимости от биологического подтипа опухоли у больных с последующей прогрессией в течение 6-12 мес. (табл. 1)

Прежде необходимо отметить, что в эту группу вошли только больные раком молочной железы с люминальным B и ТНРМЖ. Найдено, что в крови больных люминальным B до начала химиотерапии все исследуемые показатели имели значимые от-

Таблица 1. Факторы роста и прогрессирования в крови больных раком молочной железы с последующей прогрессией в течение 6-12 мес.

Показатели	Доноры	Люминальный B		ТНРМЖ	
		до лечения	после ХТ	до лечения	после ХТ
TGF- β пг/мл	210,1 \pm 19,6	392,9 \pm 34,3 ¹	331,7 \pm 31,5 ¹	194,1 \pm 18,3	178,9 \pm 16,9
TGF- β 2 пг/мл	99,7 \pm 8,2	194,3 \pm 17,5 ¹	316 \pm 28,2 ^{1,2}	255,1 \pm 26,1 ¹	479,2 \pm 43,8 ^{1,2}
TNF- α пг/мл	1,1 \pm 0,2	4,7 \pm 0,5 ¹	5,9 \pm 0,5 ^{1,2}	8,5 \pm 0,8 ¹	8,5 \pm 0,9 ¹
TNF- α R1 пг/мл	405,2 \pm 35,4	486,6 \pm 42,3 ¹	747,3 \pm 59,4 ^{1,2}	755,4 \pm 63,1 ¹	773,3 \pm 72,5 ¹
TNF- α R2 пг/мл	829,2 \pm 74,6	1471 \pm 112,8 ¹	2309,6 \pm 256,7 ^{1,2}	2757,7 \pm 242,1 ¹	2442,3 \pm 252,3 ¹
CD44 нг/мл	25,1 \pm 2,6	69,6 \pm 6,4 ¹	94,7 \pm 8,3 ^{1,2}	182,8 \pm 17,6 ¹	181,5 \pm 19,4 ¹
MMP9 нг/мл	48,3 \pm 4,6	181,6 \pm 17,9 ¹	243,2 \pm 21,5 ^{1,2}	162,4 \pm 14,2 ¹	237,5 \pm 24,2 ^{1,2}

Примечание: ¹ – достоверно по отношению к показателям доноров; ² – достоверно по отношению к этапу «до лечения» ($p \leq 0,05$)

личия от нормативных значений здоровых доноров. Так уровень TGF- β и его рецептора TGF- β R2 был в среднем в 1,9 раза выше, чем значения в крови доноров. Содержание TNF- α и его рецепторов TNF- α R1 и TNF- α R2 до начала лечения было повышено в 4,3 раза, 1,2 раза и 1,8 раза соответственно. Уровень CD44 и MMP9 в крови больных люминальным В РМЖ в этот срок исследования превосходил нормативные показатели в 2,8 раза и 3,8 раза соответственно. В крови больных ТНРМЖ с последующей прогрессией содержание TGF- β неожиданно оказалось на уровне значений у доноров, а уровень его рецептора TGF- β R2 был повышен в 2,6 раза. Содержание TNF- α и его рецепторов TNF- α R1 и TNF- α R2 до начала лечения было повышено в 7,7 раза, 1,9 раза и 3,3 раза соответственно. Уровень CD44 и MMP9 в крови больных был повышен в 7,3 раза и 3,4 раза соответственно.

Анализируя динамику изменений показателей после химиотерапии в крови больных с последующей прогрессией было выявлено (табл. 1), отсутствие значимых изменений уровня TGF- β относительно показателя до лечения. Рецептор TGF- β R2, напротив, повысился при люминальном В РМЖ в 1,6 раза относительно показателя до лечения и стал в 3,2 раза выше, чем показатель нормы; при ТНРМЖ повышение по сравнению с показателями до лечения составило 1,9 раза и соответственно показатель в 4,8 раза превышал нормативные значения.

После неoadъювантных курсов химиотерапии уровень CD44 при люминальном В РМЖ повысился в 1,4 раза и стал в 3,8 раза выше нормы, при ТНРМЖ – остался без изменений. Уровень TNF- α в этот срок исследования при люминальном В РМЖ повысился на 25,5 % относительно значений до лечения и в 5,4 раза превзошел нормативные показатели, при ТНРМЖ – остался без изменений. TNF- α R1 и TNF- α R2 при люминальном В подтипе увеличились в 1,5 раза и 1,6 раза и стали в 1,8 раза и 2,8 раза соответственно выше нормы. При обоих изученных видах РМЖ увеличилось в крови этого контингента больных содержание MMP9: при люминальном В – в 1,3 раза, при ТНРМЖ – в 1,5 раза и в обоих случаях показатели стали выше нормы в среднем до 5 раз.

Также, представляло интерес рассмотреть изучаемые показатели до лечения в зависимости от биологического подтипа опухоли у больных с последующей ремиссией в течение не менее 3 лет. Результаты представлены в табл. 2. Найдено, что в крови больных практически все исследуемые показатели имели значимые отличия от нормативных значений в сторону увеличения. Исключение составил уровень TGF- β у больных люминальным А РМЖ, который достоверно не отличался от здоровых доноров. При люминальном В и ТНРМЖ этот показатель превосходил нормативные значения на 34,8 % и 73,4 % соответственно. Выше нормы был и уровень

Таблица 2. Факторы роста и прогрессирования в крови больных раком молочной железы с последующей ремиссией в течение 3 лет

Показатели	Доноры	Люминальный А		Люминальный В		ТНРМЖ	
		до лечения	после ХТ	до лечения	после ХТ	до лечения	после ХТ
TGF- β пг/мл	210,1 \pm 19,6	234,4 \pm 21,8	201,7 \pm 10,3 ²	283,3 \pm 29,2 ¹	210,3 \pm 18,5 ²	364,3 \pm 33,1 ¹	209,2 \pm 19,7 ²
TGF- β R2 пг/мл	99,7 \pm 8,2	441,5 \pm 32,9 ¹	191,1 \pm 17,5 ^{1,2}	435,6 \pm 38,3 ¹	200,8 \pm 19,4 ^{1,2}	628,5 \pm 64,6 ¹	207,1 \pm 22,4 ^{1,2}
TNF- α пг/мл	1,1 \pm 0,2	4,2 \pm 0,4 ¹	3,1 \pm 0,3 ^{1,2}	8,7 \pm 0,9 ¹	4,5 \pm 0,5 ^{1,2}	6,3 \pm 0,6 ¹	3,1 \pm 0,3 ^{1,2}
TNF- α R1 пг/мл	405,2 \pm 35,4	930,6 \pm 87,2 ¹	445,2 \pm 46,9 ²	979,4 \pm 95,3 ¹	595,2 \pm 51,6 ^{1,2}	1067,8 \pm 89,1 ¹	530,3 \pm 57,3 ^{1,2}
TNF- α R2 пг/мл	829,2 \pm 74,6	1557,7 \pm 132,9 ¹	1064,2 \pm 96,4 ^{1,2}	2404,4 \pm 156,3 ¹	1616,1 \pm 142,7 ^{1,2}	3508,8 \pm 253,1 ¹	2036,95 \pm 189,2 ^{1,2}
CD44 нг/мл	25,1 \pm 2,6	45,6 \pm 4,3 ¹	34,1 \pm 3,2 ^{1,2}	83,9 \pm 7,5 ¹	58,7 \pm 6,0 ^{1,2}	182,5 \pm 16,9 ¹	82,7 \pm 7,5 ^{1,2}
MMP9 нг/мл	48,3 \pm 4,6	136,9 \pm 11,3 ¹	88,6 \pm 7,9 ^{1,2}	181,9 \pm 14,2 ¹	122,5 \pm 11,5 ^{1,2}	196,5 \pm 17,3 ¹	111,5 \pm 9,6 ^{1,2}

Примечание: ¹ – достоверно по отношению к показателям доноров; ² – достоверно по отношению к этапу «до лечения» ($p \leq 0,05$)

рецептора TGF- β R2 при всех биологических подтипах РМЖ – в среднем в 4,4 раза при люминальном А и В, в 6,3 раза при ТНРМЖ. Это сопровождалось ростом показателя CD44 в 1,8 раза, 3,3 раза и 7,3 раза соответственно при люминальном А, люминальном В и ТНРМЖ. Оценивая уровни TNF- α и его рецепторов TNF- α R1, TNF- α R2 при каждом подтипе рака, было получено следующее при люминальном А – повышение в 3,8 раза, 2,3 раза и 1,9 раза соответственно; при люминальном В – в 7,9 раза, 2,4 раза и 2,9 раза соответственно; при ТНРМЖ – в 5,7 раза, 2,6 раза и 4,2 раза. Так же, достоверное повышение относительно доноров уровня MMP9 отмечалось при различных биологических подтипах рака молочной железы – в 2,8 раза при люминальном А, в 3,8 раза при люминальном В, в 4,1 раза при ТНРМЖ.

Динамика изменения показателей после химиотерапии в крови больных с последующей ремиссией в течение не менее 3 лет наглядно представлена в табл. 2. В этот срок уровень TGF- β и его рецептора TGF- β R2 снизился относительно предыдущего срока на 14 %, 25,8 %, 42,6 % и 56,7 %, 53,9 %, 67 % соответственно при люминальном А, люминальном В и ТНРМЖ соответственно.

Динамика снижения содержания в крови больных раком молочной железы отмечена и для других исследованных показателей после химиотерапии. Так уровень CD44 снизился на 25,2 %, 30 % и 54,7 % соответственно при люминальном А, люминальном В и ТНРМЖ; уровень TNF- α – на 26,2 %, 48,3 % и 50,8 % соответственно; TNF- α R1 – на 52,1 %, 39,2 % и 50,3 % соответственно; TNF- α R2 – на 31,7 %, 32,8 % и 41,9 % соответственно; MMP9-35,3 %, 32,6 % и 43,3 % соответственно.

Наши результаты подтверждаются данными литературных источников. Известно, что CD44 служит док-молекулой для матричных металлопротеаз (MMP), которые являются матрикс-модифицирующими ферментами, разрушающими базальную мембрану и способствующими миграции клеток [12]. MMP9, в свою очередь, расщепляет TGF- β для активации, которая способствует ангиогенезу и инвазии [13]. Согласно результатам исследования Куо Y. C., TGF- β индуцирует экспрессию MMP мембранного типа в клетках рака молочной железы, что вызывает расщепление CD44 [14]. Расщепленный CD44 затем способствовал миграции опухолевых клеток, что указывает на значительную роль оси CD44-MMP-TGF- β в инвазии рака и метастазировании. CD44 также способствует возникновению множественной лекарственной устойчивости [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлен комплекс факторов роста и прогрессии, определяющий чувствительность и резистентность к химиотерапии. Снижение уровня TGF- β , TNF- α , MMP9 и CD44 после неoadъювантной химиотерапии определяет в дальнейшем ремиссию. Напротив, стабилизация или увеличение этих показателей приводит в дальнейшем к раннему прогрессированию в сроки от 6 до 12 мес. злокачественного процесса. Оценка показателей факторов роста и прогрессирования может играть важную прогностическую роль при помощи, которой можно выделять группу пациентов с развитием резистентности к проводимой химиотерапии.

Участие авторов:

Франциянц Е.М. – концепция и дизайн исследования, научное редактирование, анализ и интерпретация данных.

Саманева Н.Ю. – сбор, анализ и интерпретация данных, написание текста, обработка материала, оформление библиографии, подготовка статьи.

Владимирова Л.Ю. – концепция и дизайн исследования, научное редактирование, анализ и интерпретация данных.

Сторожакова А.Э. – концепция и дизайн исследования, научное редактирование, анализ и интерпретация данных.

Калабанова Е.А. – техническое редактирование.

Кабанов С.Н. – оформление библиографии.

Тишина А.В. – оформление библиографии.

Список литературы

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin.* 2018 Jan;68(1):7–30. <https://doi.org/10.3322/caac.21442>
2. Bianchini G, Balko JM, Mayer IA, Sanders ME, Gianni L.

Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016 Nov;13(11):674–690.

<https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.66>

3. O'Connor CJ, Chen T, González I, Cao D, Peng Y. Cancer stem cells in triple-negative breast cancer: a potential target and prognostic marker. *Biomark Med.* 2018 Jul;12(7):813–820. <https://doi.org/10.2217/bmm-2017-0398>
4. Papageorgis P, Stylianopoulos T. Role of TGF- β in regulation of the tumor microenvironment and drug delivery (review). *Int J Oncol.* 2015 Mar;46(3):933–943. <https://doi.org/10.3892/ijo.2015.2816>
5. Katsuno Y, Meyer DS, Zhang Z, Shokat KM, Akhurst RJ, Miyazono K, et al. Chronic TGF- β exposure drives stabilized EMT, tumor stemness, and cancer drug resistance with vulnerability to bitopic mTOR inhibition. *Sci Signal.* 2019 Feb 26;12(570):eaau8544. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aau8544>
6. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003 Apr 1;100(7):3983–3988. <https://doi.org/10.1073/pnas.0530291100>
7. Weitzenfeld P, Meshel T, Ben-Baruch A. Microenvironmental networks promote tumor heterogeneity and enrich for metastatic cancer stem-like cells in Luminal-A breast tumor cells. *Oncotarget.* 2016 Dec 6;7(49):81123–81143. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13213>
8. Martínez-Reza I, Díaz L, García-Becerra R. Preclinical and clinical aspects of TNF- α and its receptors TNFR1 and TNFR2 in breast cancer. *J Biomed Sci.* 2017 Dec 4;24(1):90. <https://doi.org/10.1186/s12929-017-0398-9>
9. Кит О.И., Шатова Ю.С., Новикова И.А., Владимирович Вал.Ю., Ульянова Е.П., Комова Е.А. и др. Экспрессия P53 и BCL2 при различных подтипах рака молочной железы. *Фундаментальные исследования.* 2014;(10-1):85–88.
10. Huang H. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP9) as a Cancer Biomarker and MMP9 Biosensors: Recent Advances. *Sensors (Basel).* 2018 Sep 27;18(10):E3249. <https://doi.org/10.3390/s18103249>
11. Liang S, Chang L. Serum matrix metalloproteinase-9 level as a biomarker for colorectal cancer: a diagnostic meta-analysis. *Biomark Med.* 2018 Apr;12(4):393–402. <https://doi.org/10.2217/bmm-2017-0206>
12. Inoue K, Fry EA. Aberrant Splicing of Estrogen Receptor, HER2, and CD44 Genes in Breast Cancer. *Genet Epigenet.* 2015;7:19–32. <https://doi.org/10.4137/GEG.S35500>
13. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF- β and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev.* 2000 Jan 15;14(2):163–176.
14. Kuo Y-C, Su C-H, Liu C-Y, Chen T-H, Chen C-P, Wang H-S. Transforming growth factor- β induces CD44 cleavage that promotes migration of MDA-MB-435s cells through the up-regulation of membrane type 1-matrix metalloproteinase. *Int J Cancer.* 2009 Jun 1;124(11):2568–2576. <https://doi.org/10.1002/ijc.24263>
15. Zöller M. CD44: can a cancer-initiating cell profit from an abundantly expressed molecule? *Nat Rev Cancer.* 2011 Apr;11(4):254–267. <https://doi.org/10.1038/nrc3023>

Информация об авторах:

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по науке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, ResearcherID: Y-1491-2018, Scopus Author ID: 55890047700

Саманева Наталья Юрьевна* – к.м.н., младший научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей, врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0843-6012>, SPIN: 1181-0659, AuthorID: 734488 ResearcherID: AAN-7905-2019, Scopus Author ID: 57192874030

Владимирова Любовь Юрьевна – д.м.н., профессор, заведующая отделением противоопухолевой лекарственной терапии № 1, руководитель отдела лекарственного лечения опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-6476>, SPIN: 4857-6202, AuthorID: 289090, ResearcherID: U-8132-2019, Scopus Author ID: 7004401163

Сторожакова Анна Эдуардовна – к.м.н., заведующая отделением противоопухолевой лекарственной терапии №2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0965-0264>, SPIN: 2804-7474, AuthorID: 734057, ResearcherID: U-6202-2019, Scopus Author ID: 57045921800

Калабанова Елена Александровна – к.м.н., старший научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей, врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2 ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0158-3757>, SPIN: 9090-3007, AuthorID: 734992, ResearcherID: V-2943-2019, Scopus Author ID: 57046062200

Кабанов Сергей Николаевич – к.м.н., врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2 ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8628-4240>, SPIN: 6369-0824, AuthorID: 794858, ResearcherID: V-3023-2019, Scopus Author ID: 57045732600

Тишина Анна Викторовна – врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2 ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7990-8710>, SPIN: 7686-3707, AuthorID: 965165, ResearcherID: H-2460-2018

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ ПРОЦЕССЕ НА ФОНЕ КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е.М.Франциянц, И.В.Нескубина*, Н.Д.Черярина, Е.И.Сурикова, А.И.Шихлярова,
В.А.Бандовкина, Л.А.Немашкалова, И.В.Каплиева, Л.К.Трепитаки, П.С.Качесова, И.М.Котиева,
М.И.Морозова, Ю.А.Погорелова

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение показателей свободнорадикального окисления и дыхания митохондрий клеток сердца при злокачественном процессе на фоне сахарного диабета и хронической нейрогенной боли у экспериментальных животных.

Материалы и методы. Работа выполнена на нелинейных крысах-самках ($n=32$) и мышах-самках линии C57BL/6 ($n=84$). Экспериментальные группы крыс: интактная 1 ($n=8$), контрольная группа 1 ($n=8$) с сахарным диабетом (СД), группа сравнения 1 ($n=8$) – стандартная подкожная перевивка карциномы Герена, основная группа 1 ($n=8$) – через 1 неделю стойкой гипергликемии перевивали карциному Герена. Экспериментальные группы мышей: интактная 2 ($n=21$), контрольная 2 ($n=21$) – воспроизведение модели хронической нейрогенной боли (ХНБ), группа сравнения 2 ($n=21$) – стандартная подкожная перевивка меланомы (B16/F10), основная группа 2 ($n=21$) (ХНБ+B16/F10) – меланому перевивали через 3 недели после создания модели ХНБ. Митохондрии сердца получали методом дифференциального центрифугирования. В образцах митохондрий методом ИФА определяли концентрацию: цитохрома С (нг/мг белка), 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG) (нг/мг белка), малонового диальдегида (МДА) (мкмоль/г белка). Статистический анализ – Statistica 10.0.

Результаты. Наличие СД у крыс способствовало повышению 8-OHdG в 6,3 раза, МДА в 1,9 раза ($p=0,0000$) и снижению цитохрома С в 1,5 раза ($p=0,0053$) в митохондриях клеток сердца по сравнению с интактными значениями. СД+карцинома Герена у крыс вызывало повышение уровня 8-OHdG в 14,0 раз, МДА в 1,7 раза ($p=0,0000$) и снижение цитохрома С в 1,5 раза ($p=0,0093$) по сравнению с интактными значениями. Присутствие ХНБ у мышей не повлияло на уровень изучаемых показателей в митохондриях сердца. ХНБ+меланома B16/F10 у мышей приводило к повышению уровня 8-OHdG в 7,1 раза, МДА в 1,6 раза ($p=0,0000$) и снижению уровня цитохрома С в 1,6 раза ($p=0,0008$).

Заключение. Коморбидная патология (сахарный диабет, хроническая нейрогенная боль), сопряженная со злокачественным процессом, усугубляет дисфункцию митохондрий клеток сердца с дестабилизацией дыхательной цепи, опосредованной процессами свободнорадикального окисления.

Ключевые слова:

митохондрии, сердце, экспериментальные животные, карцинома Герена, меланома B16/F10, цитохром С, 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, малоновый диальдегид.

Для корреспонденции:

Нескубина Ирина Валерьевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, д. 63

E-mail: neslubina.irina@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Черярина Н.Д., Сурикова Е.И., Шихлярова А.И., Бандовкина В.А., Немашкалова Л.А., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Качесова П.С., Котиева И.М., Морозова М.И., Погорелова Ю.А. Функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов при злокачественном процессе на фоне коморбидной патологии в эксперименте. Южно-Российский онкологический журнал. 2021; 2(3): 13-22. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-2>

Получено 08.06.2021, Рецензия (1) 08.07.2021, Рецензия (2) 28.07.2021, Опубликовано 09.09.2021

FUNCTIONAL STATE OF CARDIOMYOCYTE MITOCHONDRIA IN MALIGNANT PROCESS IN PRESENCE OF COMORBID PATHOLOGY IN EXPERIMENT

E.M.Frantsiyants, I.V.Neskubina*, N.D.Cheryarina, E.I.Surikova, A.I.Shikhlyarova, V.A.Bandovkina, L.A.Nemashkalova, I.V.Kaplieva, L.K.Trepitaki, P.S.Kachesova, I.M.Kotieva, M.I.Morozova, Yu.A.Pogorelova

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose of the study. An analysis of indices of free radical oxidation and respiration of mitochondria of heart cells in a malignant process in presence of diabetes mellitus and chronic neurogenic pain in experimental animals.

Materials and methods. The study included outbred female rats ($n=32$) and C57BL/6 female mice ($n=84$). Experimental groups of rats were: intact group 1 ($n=8$), control group 1 ($n=8$) with diabetes mellitus (DM), comparison group 1 ($n=8$) with standard subcutaneous transplantation of Guerin's carcinoma, main group 1 ($n=8$) with Guerin's carcinoma transplanted after 1 week of persistent hyperglycemia. Experimental groups of mice were: intact group 2 ($n=21$), control group 2 ($n=21$) with a model of chronic neurogenic pain (CNP), comparison group 2 ($n=21$) with standard subcutaneous transplantation of melanoma (B16/F10), main group 2 ($n=21$) (CNP+B16/F10) with melanoma transplanted 3 weeks after the CNP model creation. Heart mitochondria were isolated by differential centrifugation. Levels of cytochrome C (ng/mg of protein), 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) (ng/mg of protein), and malondialdehyde (MDA) ($\mu\text{mol/g}$ of protein) were measured in mitochondrial samples by ELISA. Statistical analysis was performed using the Statistica 10.0 program.

Results. DM in rats upregulated 8-OHdG by 6.3 times and MDA by 1.9 times ($p=0.0000$) and downregulated cytochrome C by 1.5 times ($p=0.0053$) in heart cell mitochondria, compared to intact values. DM+Guerin's carcinoma in rats increased 8-OHdG by 14.0 times and MDA by 1.7 times ($p=0.0000$) and decreased cytochrome C by 1.5 times ($p=0.0000$), compared to intact values. CNP in mice did not affect the studied parameters in mitochondria of the heart. CNP+B16/F10 in mice increased 8-OHdG by 7.1 times and MDA by 1.6 times ($p=0.0000$) and decreased cytochrome C by 1.6 times ($p=0.0008$).

Conclusions. Comorbidity (diabetes mellitus, chronic neurogenic pain) together with malignant pathology aggravates mitochondrial dysfunction of heart cells with destabilization of the respiratory chain mediated by free radical oxidation processes.

Keywords:

mitochondria, heart, experimental animals, Guerin's carcinoma, B16/F10 melanoma, cytochrome C, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, malondialdehyde.

For correspondence:

Irina V. Neskubina – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher at the laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: neskubina.irina@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Frantsiyants E.M., Neskubina I.V., Cheryarina N.D., Surikova E.I., Shikhlyarova A.I., Bandovkina V.A., Nemashkalova L.A., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Kachesova P.S., Kotieva I.M., Morozova M.I., Pogorelova Yu.A. Functional state of cardiomyocyte mitochondria in malignant process in presence of comorbid pathology in experiment. South Russian Journal of Cancer. 2021; 2(3): 13-22. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-2>

Received 08.06.2021, Review (1) 08.07.2021, Review (2) 28.07.2021, Published 09.09.2021

АКТУАЛЬНОСТЬ

В настоящее время активно развивается новое мультидисциплинарное направление – кардиоонкология, основанное на комплексном персонализированном подходе к профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) у онкологических больных. Достижения в онкологии привели к увеличению выживаемости, что в свою очередь увеличило количество пациентов, доживающих до развития отдаленных кардиологических осложнений [1]. В целом, такие осложнения нередки и могут возникнуть практически у каждого онкологического больного [2]. Причинами являются не только кардиотоксические эффекты противоопухолевой терапии, но и то, что само онкологическое заболевание провоцирует появление сердечно-сосудистых проблем, особенно у пациентов, имеющих к этому предпосылки, а также ССЗ могут быть связаны с декомпенсацией хронической коморбидной патологии, существующей у онкологического больного. Присоединение кардиологического заболевания снижает качество жизни, а иногда делает невозможной продолжение специального лечения.

Помимо кардиологической патологии зачастую злокачественный процесс сопровождается другими коморбидными заболеваниями. Известна связь сахарного диабета со злокачественным процессом, нередко у больных со злокачественными опухолями присутствует диабет [3]. Боль достаточно часто является сопровождающим компонентом опухолевого процесса и присутствует у 30-50 % онкологических больных после проведения противоопухолевой терапии, у 65-90 % пациентов в связи с прогрессированием заболевания, 33 % пациентов страдают от боли после окончания противоопухолевого лечения [4]. Происхождение боли у онкологических больных, как правило многофакторное: сопутствующие заболевания, прямые и косвенные эффекты роста опухоли, побочное действие противоопухолевой терапии [4].

Сердце – орган, потребляющий много энергии, и его функция в значительной степени зависит от АТФ (аденозинтрифосфорная кислота), вырабатываемого митохондриями. Хорошо известно, что митохондрии обеспечивают функционирование различных органов в условиях нормы и патологии [5-7]. Дисфункция митохондрий является одной из основных причин различных сердечных заболеваний, требующая пристального изучения и понимания механизмов ремоделирования мито-

хондрий в сердце [5, 8, 9]. Наиболее известная роль митохондрий – производство энергии, что имеет первостепенное значение для органов с высоким уровнем метаболизма, таких как сердце. Более того, митохондрии опосредуют судьбу клеток, включая пролиферацию, дифференцировку и жизнеспособность, а также могут изменять нормальное развитие организма [10]. Доказано, что митохондрии кардиомиоцитов являются крупнейшими продуцентами активных форм кислорода (АФК), а гидроксильные радикалы повреждают митохондриальные белки, митохондриальную ДНК (мтДНК) и липиды мембран. Последнее, называемое перекисным окислением липидов, способно нарушать функции митохондрий, включая окисление жирных кислот (ЖК) [11] и продукцию АТФ, что в свою очередь может потенциально вызвать систолическую дисфункцию [12, 13]. Значительное окислительное повреждение, обнаруженное в митохондриях, может, таким образом, способствовать их функциональному дефициту в сердце [5].

Сахарный диабет возникает при нарушении толерантности к глюкозе из-за инсулинорезистентности. В патогенезе и прогрессировании сахарного диабета взаимодействуют разные факторы [14]. Диабетическая кардиомиопатия – основная причина сердечной недостаточности и смерти пациентов с диабетом [15].

Хроническая нейропатическая боль определяется как «боль, возникающая вследствие прямого поражения или заболевания периферических или центральных нейронов, которое влияет на соматосенсорную систему» [16] и связана с нарушением структурных и функциональных связей мозга [17, 18]. На данный момент вопрос влияния болевого синдрома на сердечно-сосудистую систему изучен недостаточно полно, поэтому является областью науки, требующей более пристального исследования.

В связи с вышесказанным, весьма актуальным представляется изучение влияния коморбидных заболеваний, сопровождающих злокачественный процесс и выявление дисфункциональных параметров на субклеточном уровне в органах, не затронутых злокачественным процессом.

Цель исследования: изучение показателей свободнорадикального окисления и дыхания митохондрий клеток сердца при злокачественном процессе на фоне сахарного диабета и хронической нейрогенной боли у экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на нелинейных крысах-самках ($n=32$) 180-220 г и мышах-самках линии C57BL/6 ($n=84$) 8 недельного возраста с начальной массой 21-22 г. Животные были получены из ФГБУ МНИЦ Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА (Московская область). В работе использовали клеточную линию мышины меланомы B16/F10 и штамм карциномы Герена. Опухолевые штаммы получены из ФГБУ «МНИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Комиссией по биоэтике ФГБУ «МНИЦ онкологии» Минздрава России от 31.05.2018 г., был одобрен протокол исследования (протокол этического комитета № 2) по работе с мышами линии C57BL/6 и по работе с нелинейными крысами от 01.09.2020 г., протокол этического комитета № 21/99. Манипуляции с животными производили в боксе с соблюдением общепринятых правил асептики и антисептики.

Крысы-самки ($n=32$) были распределены методом случайной выборки на следующие экспериментальные группы: интактная группа 1 ($n=8$), контрольная группа 1 с диабетом ($n=8$), группа сравнения 1 ($n=8$) – крысы со стандартной подкожной трансплантацией карциномы Герена, основная группа 1 ($n=8$) – крысы, которым сначала воспроизводили сахарный диабет (СД) (однократно, внутривенно вводили аллоксан в дозе 150 мг/кг веса) и через 1 неделю стойкой гипергликемии трансплантировали карциному Герена по 0,5 мл взвеси клеток опухоли в физиологическом растворе в разведении 1:5. На момент трансплантации карциномы Герена у животных основной группы 1 ($n=8$) средние показатели глюкозы в крови составили $25,4 \pm 1,2$ ммоль/л, тогда как в группе интактных животных 1 ($n=8$) – $5,2 \pm 0,3$ ммоль/л. Декапитацию животных производили на гильотине через 14 дней после трансплантации карциномы Герена и через 21 день воспроизведения экспериментального СД.

Мышей-самок линии C57BL/6 ($n=84$) распределяли методом случайной выборки на следующие экспериментальные группы: интактная группа 2 ($n=21$), контрольная группа 2 ($n=21$) – воспроизведение модели хронической нейрогенной боли (ХНБ) [19]. Группа сравнения 2 ($n=21$) – мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы (B16/F10), основная группа 2 ($n=21$) (ХНБ+B16/F10) – мыши, которым меланому перевивали через 3 недели после создания модели ХНБ.

Мышам-самкам основной группы 2 (ХНБ+B16/F10) осуществляли перевязку седалищных нервов с 2-х сторон под ксила-золетилловым наркозом: ксилазин (препарат Ксила) внутримышечно, в дозе 0,05 мл/кг (по инструкции), через 10 мин. вводили Золетил-50 в дозе 10 мг/100 г. Через 3 недели после заживления операционной раны подкожно под правую лопатку вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Животным из группы сравнения трансплантировали меланому B16/F10 подкожно в той же дозе и объёме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли. Декапитировали мышей на гильотине. Животных из основной группы 2 и группы сравнения 2 декапитировали через 14 дней после трансплантации экспериментальной меланомы B16/F10.

После декапитации у животных с использованием хладагентов быстро извлекали сердце и выделяли митохондрии по методу Егоровой М. В., Афанасьева С. А. (2011) [20] с применением дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге Avanti J-E, BECMAN COULTER, USA. Ткани промывали ледяным 0,9 % раствором KCl. Для разрушения межклеточных связей, клеточной стенки и плазматических мембран применяли механическую обработку тканей с измельчением ножницами и гомогенизацией в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком (гомогенизатор Поттера-Эльвегейма). На каждый грамм ткани добавляли по 10 мл среды выделения (0,22 М маннитол, 0,3 М сахароза, 1 мМ ЭДТА, 2 мМ TRIS-HCL, 10 мМ HEPES, pH 7,4). Ткани гомогенизировали и центрифугировали первый раз 10 мин. при скорости 1000 g, температура 0-2 °С, второе и третье центрифугирование осуществляется при 20000 g, 20 мин., температура 0-2 °С. Между центрифугированием проводили процедуру ресуспендирования осадка митохондрий в среде выделения. Фракцию митохондрий дополнительно очищали от лизосом,

пероксисом, меланосом и т.п., центрифугируя в 23 % градиенте Перколла. Суспензию субклеточных структур наслаивали на градиент Перколла, центрифугировали 15 мин. при 21000 g, после этого наблюдалось разделение на 3 фазы, оставляли нижний слой митохондрий и ресуспендировали средой выделения. Следующую промывку митохондрий осуществляли путем центрифугирования в течение 10 мин при 15000 g, температура 0-2 °С. Полученные митохондриальные образцы (концентрация белка 4-6 г/л) до анализа хранили при -80°C в среде выделения. В митохондриальных образцах всех групп с помощью тест-систем на ИФА-анализаторе (Infinite F50 Tecan, Austria) определяли концентрацию: цитохрома С (нг/мг белка) (Bioscience, Austria), 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG) (нг/мг белка) (Enzo Life Sciences, Switzerland), малонового диальдегида (МДА) (мкмоль/г белка) (BlueGene Biotech, China); биохимическим методом – количество белка (мг/мл) – биуретовый метод (Ольвекс Диагностикум, Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell (Awareness Technology INC, USA).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Полученные данные подвергали анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка (для малых выборок). Сравнение количественных данных в группах (независимые выборки) проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса (множественные сравнения). Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего, за уровень статистической значи-

мости принимали $p < 0,05$. Полученные результаты статистически обрабатывали с соблюдением общих рекомендаций для медицинских исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе экспериментальных данных, полученных при использовании модели сахарного диабета и росте карциномы Герена необходимо было установить влияние сахарного диабета (контрольная группа 1) на митохондрии клеток сердца крыс-самок. Так, по сравнению с значениями в интактной группе 1 обнаружили повышение 8-OHdG в 6,3 раза, МДА в 1,9 раза ($p < 0,05$) и снижение цитохрома С в 1,5 раза ($p < 0,05$) (табл. 1).

В группе сравнения 1 значимых изменений не обнаружено. Сочетание двух патологических процессов в организме животного – сахарного диабета и злокачественной опухоли – вызывало следующие изменения изучаемых показателей: уровень 8-OHdG увеличился в 14,0 раз, МДА в 1,7 раза ($p < 0,05$), а цитохрома С снизился в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с значениями в интактной группе 1. Статистически значимые различия между группами животных определялись только в уровне 8-OHdG, данный показатель при сравнении между контрольной 1 и основной 1 группами был в 2,2 раза выше в основной, а при сопоставлении со значениями в группе сравнения оказался выше в 17,4 раза в основной 1. Уровень МДА в основной группе 1 превышал значения в группе сравнения 1 в 1,5 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, наиболее выраженные изменения в уровне изучаемых показателей (8-OHdG,

Таблица 1. Изменение показателей свободнорадикального окисления и дыхания митохондрий клеток сердца крыс-самок при сахарном диабете и карциноме Герена

	8-OHdG нг/мг белка	МДА мкмоль/г белка	Цитохром С нг/мг белка
Интактная группа 1 (n=8)	0,927±0,048	14,912±1,110	1,382±0,137
Контрольная группа 1 – сахарный диабет (n=8)	5,890±0,529 ¹ $p^1=0,0000$	27,866±0,813 ¹ $p^1=0,0000$	0,900±0,048 ¹ $p^1=0,0053$
Группа сравнения 1 – карцинома Герена (n=8)	0,748±0,058	16,992±0,599	1,215±0,101
Основная группа 1 – сахарный диабет + карцинома Герена (n=8)	13,050±0,942 ^{1,2,3} $p^1=0,0000$ $p^2=0,0000$ $p^3=0,0000$	26,092±0,642 ^{1,3} $p^1=0,0000$ $p^3=0,0000$	0,949±0,041 ¹ $p^1=0,0093$

Примечание: p^1 – статистически значимые различия по сравнению со значениями в интактной группе; p^2 – статистически значимые различия по сравнению со значениями в контрольной группе; p^3 – статистически значимые различия по отношению к значениям в группе сравнения.

МДА, цитохром С) в митохондриях клеток сердца крыс-самок были определены в группе животных, где злокачественный процесс развивался на фоне коморбидной патологии – сахарного диабета.

Следующий раздел работы был посвящен изучению влияния другой коморбидной патологии – хронической нейрогенной боли, сопровождающей рост меланомы В16/Ф10 у мышей-самок в митохондриях клеток сердца. Прежде всего, необходимо было оценить состояние свободнорадикальных процессов и дыхания митохондрий клеток сердца самок мышей, при влиянии ХНБ, в результате было определено, что значимых различий всех изучаемых показателей (8-ОНдГ, МДА, цитохром С) со значениями в интактной группе 2 не было (табл. 2).

При самостоятельном росте меланомы В16/Ф10 у мышей-самок, как и в случае с самостоятельным ростом карциномы Герена у крыс, не обнаружено значимых изменений по сравнению с уровнем в интактной группе 2.

Сопряжение двух патологических процессов (ХНБ+меланома В16/Ф10) в организме животного привело к изменению всех изучаемых биохимических показателей в митохондриях сердца мышей-самок. Так при росте меланомы на фоне хронической нейрогенной боли по сравнению со значениями в интактной группе 2 зафиксировано повышение уровня 8-ОНдГ в 7,1 раза, МДА – в 1,6 раза ($p < 0,05$) и снижение уровня цитохрома С – в 1,6 раза ($p < 0,05$). По сравнению со значениями в контрольной группе 2 было определено повышение уровня 8-ОНдГ в 6,6 раза, уровня МДА – в 2,0 раза, а уровень цитохрома С, напротив, снижался в 2,1 раза. При сравнении полученных результатов между основной группой

2 (ХНБ+меланома В16/Ф10) и группой сравнения 2 (меланома В16/Ф10) было определено, что уровень продуктов перекисного окисления – 8-ОНдГ и МДА превышали соответствующие показатели по группе сравнения 2 в 7,7 раза и 1,8 раза ($p < 0,05$), а цитохром С был снижен в 1,3 раза ($p < 0,05$).

Совокупность представленных изменений показателей 8-ОНдГ, МДА и цитохрома С в случае стандартного роста меланомы и при сопутствующей ХНБ у мышей-самок характеризует разную дисфункцию митохондрий в зависимости от присутствия коморбидной патологии – ХНБ. При этом более выраженные дисфункциональные изменения митохондрий клеток сердца мышей-самок отмечались при наложении на коморбидную патологию – ХНБ злокачественного процесса.

Среди наиболее важных биологических маркеров окислительного стресса можно выделить пурины: 8-ОНдГ или его окисленную форму – 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин (8-oxodG). Хотя все живые клетки развивают широкий спектр механизмов репарации ДНК, их ферментативная система репарации не всегда приводит к полному удалению всех модификаций ДНК. Следовательно, неправильно восстановленная ДНК представляет собой серьезную проблему для клеток, в основном из-за изменений генетической информации, а также связанных с ними мутагенеза и апоптоза клеток [21]. Модификации 8-ОНдГ и 8-oxodG возникают в результате взаимодействия гидроксильного или супероксидного радикалов и гуанина G в цепи ДНК. Свободные радикалы атакуют G цепи ДНК или свободный 2'-дезоксигуанозин, в результате чего образуются радикальные аддукты. Отрыв электро-

Таблица 2. Показатели свободнорадикальных процессов и дыхания митохондрий клеток сердца самок мышей при хронической нейрогенной боли и росте меланомы В16/Ф10

	8-ОНдГ нг/мг белка	МДА мкмоль/г белка	Цитохром С нг/мг белка
Интактная группа 2 (n=21)	1,525±0,078	3,728±0,189	4,611±0,57
Контрольная группа 2 – ХНБ (n=21)	1,63±0,082	2,909±0,254	6,18±0,59
Группа сравнения 2 – меланома В16/Ф10 (n=21)	1,399±0,101	3,254±0,227	3,81±0,47
Основная группа 2 – ХНБ+меланома В16/Ф10 (n=21)	10,785±0,387 ^{1,2,3} $p^1=0,0000$ $p^2=0,0000$ $p^3=0,0000$	6,003±0,216 ^{1,2,3} $p^1=0,0000$ $p^2=0,0000$ $p^3=0,0000$	2,934±0,47 ^{1,2,3} $p^1=0,0008$ $p^2=0,0010$ $p^3=0,0024$

Примечание: p^1 – статистически значимые различия по сравнению со значениями в интактной группе; p^2 – статистически значимые различия по сравнению со значениями в контрольной группе; p^3 – статистически значимые различия по отношению к значениям в группе сравнения.

нов образует 8-OHdG, который в результате реакции, известной как кето-енольная таутомерия, превращается в основной окисленный продукт 8-oxodG [21].

Многочисленные экспериментальные данные подчеркивают прямую связь между окислительным стрессом и диабетом посредством измерения биомаркеров окислительного стресса как у пациентов с диабетом, так и у экспериментальных животных с воспроизведенным сахарным диабетом [15, 22, 23]. Гипергликемическое состояние может привести к увеличению уровней маркеров повреждения ДНК, вызванных окислительным стрессом, таких как 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) и 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин; продукты перекисного окисления липидов, измеряемые как вещества, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (TBARS); продукты окисления белков, такие как уровень нитротирозина и карбонила, а также снижают активность антиоксидантных ферментов [15].

В представленном исследовании на экспериментальных животных было подтверждено усиление процессов перекисного окисления липидов по нарастанию продуктов окисления 8-OHdG, МДА и снижению компонента дыхательной цепи – цитохрома С при сахарном диабете в митохондриях клеток сердца.

Один из конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – МДА. Образование МДА происходит в результате свободно-радикального окисления полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов клеточных мембран активными формами кислорода [24]. В местах присоединения перекисных радикалов жирные кислоты разрываются на фрагменты, на краях которых расположены альдегидные группы, обладающие высокой реакционной способностью. Если разрыв произошел с двух сторон, образуется МДА. Реагируя с SH- и SN3-группами белков, МДА подавляет активность ферментов: цитохромоксидазы, гидроксилазы и т.д. МДА – высокотоксическое соединение, вызывающее полимеризацию белков, разрушение ДНК, сульфгидрильных антиоксидантов, модификацию липидного слоя клеточных мембран. Как следствие, происходит подавление генерации высокоэнергетических соединений митохондриями, в частности, аденозинтрифосфата, необходимого для обеспечения жизнедеятельности клеток, темпов роста, развития целостного организма. МДА считается наиболее мутагенным продуктом перекисного окисления липидов [24].

Полагаем, что выявленные изменения МДА и 8-OHdG в эксперименте на грызунах при использовании модели сахарного диабета и хронической нейрогенной боли сочетанными с двумя штаммами злокачественной опухоли (карцинома Герена, меланома В16/F10) могут указывать на способность МДА повреждать ДНК, через повышение биомаркера окислительного стресса – 8-OHdG.

Цитохром С «чрезвычайно многофункциональный» белок [25]. Он опосредует перенос электронов в дыхательной цепи и действует как детоксицирующий агент для избавления от АФК. Кроме того, цитохром С, участвует в апоптозе клеток как предшественник внутреннего апоптоза, опосредованного митохондриями [25, 26]. Как белок периферической мембраны митохондрий, цитохром С действует между внутренней и внешней митохондриальной мембраной здоровых клеток, где он опосредует перенос электронов между комплексами III и IV дыхательной цепи [25].

В рамках данного эксперимента показано, что уровень цитохрома С в митохондриях сердца при стандартном росте карциномы Герена и меланомы В16/F10 не имел статистически значимых изменений, тогда как при карциноме Герена и росте меланомы на фоне коморбидной патологии – сахарный диабет и ХНБ отмечено его падение.

В данной работе, используя две модели коморбидной патологии (сахарный диабет, хроническая нейрогенная боль) и два штамма злокачественной опухоли (карцинома Герена, меланома В16/F10) на разных экспериментальных животных (крысы, мыши) были продемонстрированы как общие дисфункциональные изменения митохондрий клеток сердца, так и принципиальные отличия. В результате были выявлены отличия между двумя коморбидными патологиями, так при сахарном диабете было выявлено нарастание свободно-радикального окисления с подавлением митохондриального дыхания, а при хронической нейрогенной боли митохондрии клеток сердца были стабильны. Стоит отметить, что самостоятельное развитие опухолевого процесса – карциномы Герена и меланомы В16/F10 – в организме крыс-самок и мышей-самок не повлияло на функциональное состояние митохондрий клеток сердца. Общие дисфункциональные нарушения в митохондриях клеток сердца фиксировали при сочетании коморбидных патологий и злокачественного процесса, что выразилось в нарастании всех продуктов перекисного окисления липидов и пода-

влении цитохрома С.

В последнее время митохондрии привлекли значительное внимание, как академических кругов, так и фармакологических концернов, поскольку митохондриальная дисфункция является признаком многих заболеваний, включая сердечную недостаточность. В целом, многие исследования подтверждают ведущую роль нарушения активности митохондриальной цепи транспорта электронов, окислительного стресса и т.д. в дисфункции кардиомиоцитов и, как следствие, в установлении или прогрессировании сердечной недостаточности [23, 27]. Почему же митохондрии играют такую центральную роль в сердечной недостаточности? Прежде всего, митохондрии – это электростанция клетки. Митохондрии составляют ~ 35 % объема кардиомиоцитов и образуют длинную, динамичную и хорошо организованную сеть, которая облегчает как физические, так и химические взаимодействия между митохондриями и другими внутриклеточными структурами. Недавние исследования, посвященные клеточным и молекулярным механизмам, участвующим в патофизиологии сердечной недостаточности и в области кардиоонкологии, указывают на митохондрии как на стратегические и динамические узлы, которые фактически влияют на каждый биохимический процесс в клетках серд-

ца [23]. Дисфункциональная митохондриальная сеть кардиомиоцитов может быстро распространять повреждение внутри кардиомиоцитов при сердечной недостаточности [23]. Следовательно, выявление точек или маркеров дисфункционального состояния митохондрий можно рассматривать, как перспективное научное направление, результаты которого могут быть использованы для разработки различных новых терапевтических стратегий, включая малые молекулы и пептиды, нацеленные на различные митохондриальные аномалии способные улучшить функцию сердца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая полученные результаты по всем использованным моделям коморбидной патологии (сахарный диабет, хроническая нейрогенная боль) и злокачественного процесса (карцинома Герена, меланома B16/F10) на грызунах, можно утверждать, что коморбидная патология, сопряженная со злокачественным процессом, усугубляет дисфункцию митохондрий клеток сердца с дестабилизацией дыхательной цепи, опосредованной процессами свободнорадикального окисления.

Участие авторов:

Франциянц Е.М. – концепция и дизайн исследования, написание текста, анализ и интерпретация данных.

Нескубина И.В. – сбор, анализ и интерпретация данных, техническое редактирование, оформление библиографии.

Черярина Н.Д. – техническое редактирование.

Сурикова Е.И. – техническое редактирование, обработка материала.

Шихлярова А.И. – научное редактирование.

Бандовкина В.А. – ассистенция на операциях, подготовка статьи.

Немашкалова Л.А. – техническое редактирование.

Каплиева И.В. – научное редактирование.

Трепитки Л.К. – ассистенция на операциях.

Качесова П.С. – оформление библиографии.

Котиева И.М. – научное редактирование.

Морозова М.И. – анализ и интерпретация результатов.

Погорелова Ю.А. – ассистенция на операциях.

Список литературы

1. Coughlin SS, Ayyala D, Majeed B, Cortes L, Kapuku G. Cardiovascular Disease among Breast Cancer Survivors. *Cardiovasc Disord Med.* 2020;2(1).

<https://doi.org/10.31487/j.cdm.2020.01.01>

2. Каприн А.Д., Мацкеплишвили С.Т., Потиевская В.И., Поповкина О.Е., Болотина Л.В., Шкляева А.В., Полу-

ктова М.В. Сердечно-сосудистые заболевания у онкологических больных. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2019;8(2):139–147.

<https://doi.org/10.17116/onkolog20198021139>

3. Cignarelli A, Genchi VA, Caruso I, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, et al. Diabetes and cancer: Pathophysiological fun-

- damentals of a "dangerous affair." *Diabetes Res Clin Pract.* 2018 Sep;143:378–388.
<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.04.002>
4. Leppert W, Zajackowska R, Wordliczek J, Dobrogowski J, Woron J, Krzakowski M. Pathophysiology and clinical characteristics of pain in most common locations in cancer patients. *J Physiol Pharmacol.* 2016 Dec;67(6):787–799.
 5. Louwagie EJ, Larsen TD, Wachal AL, Gandy TCT, Baack ML. Mitochondrial Transfer Improves Cardiomyocyte Bioenergetics and Viability in Male Rats Exposed to Pregestational Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 27;22(5):2382.
<https://doi.org/10.3390/ijms22052382>
 6. Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Сурикова Е.И., Шихлярова А.И., Каплиева И.В., Немашкалова Л.А. и др. Состояние системы факторов апоптоза в митохондриях клеток кожи и опухоли при стандартном и стимулированном росте меланомы B16/F10 у самок мышей C57BL/6. *Исследования и практика в медицине.* 2021;8(1):8–19.
<https://doi.org/10.17709/2409-2231-2021-8-1-1>
 7. Кит О.И., Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Бандовкина В.А. Влияние варианта развития меланомы B16/F10 на содержание кальция в митохондриях различных органов самок мышей. *Исследования и практика в медицине.* 2021;8(1):20–29.
<https://doi.org/10.17709/2409-2231-2021-8-1-2>
 8. Murphy E, Ardehali H, Balaban RS, DiLisa F, Dorn GW, Kitsis RN, et al. Mitochondrial Function, Biology, and Role in Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circ Res.* 2016 Jun 10;118(12):1960–1991.
<https://doi.org/10.1161/RES.000000000000104>
 9. Sabri A, Hughie HH, Lucchesi PA. Regulation of hypertrophic and apoptotic signaling pathways by reactive oxygen species in cardiac myocytes. *Antioxid Redox Signal.* 2003 Dec;5(6):731–740. <https://doi.org/10.1089/152308603770380034>
 10. Sun X, Alford J, Qiu H. Structural and Functional Remodeling of Mitochondria in Cardiac Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 17;22(8):4167.
<https://doi.org/10.3390/ijms22084167>
 11. Murphy E, Ardehali H, Balaban RS, DiLisa F, Dorn GW, Kitsis RN, et al. Mitochondrial Function, Biology, and Role in Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circ Res.* 2016 Jun 10;118(12):1960–1991.
<https://doi.org/10.1161/RES.000000000000104>
 12. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J.* 2009 Jan 1;417(1):1–13.
<https://doi.org/10.1042/BJ20081386>
 13. Mdaki KS, Larsen TD, Wachal AL, Schimelpfenig MD, Weaver LJ, Dooyema SDR, et al. Maternal high-fat diet impairs cardiac function in offspring of diabetic pregnancy through metabolic stress and mitochondrial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016 Mar 15;310(6):H681–H692.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00795.2015>
 14. Münzel T, Gori T, Keaney JF, Maack C, Daiber A. Pathophysiological role of oxidative stress in systolic and diastolic heart failure and its therapeutic implications. *Eur Heart J.* 2015 Oct 7;36(38):2555–2564.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv305>
 15. Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2019;11(3):45–63.
 16. Patti M-E, Corvera S. The role of mitochondria in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2010 Jun;31(3):364–395. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0027>
 17. Treede R-D, Jensen TS, Campbell JN, Cruccu G, Dostrovsky JO, Griffin JW, et al. Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology.* 2008 Apr 29;70(18):1630–1635.
<https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000282763.29778.59>
 18. Kuhner R, Flor H. Structural plasticity and reorganisation in chronic pain. *Nat Rev Neurosci.* 2016 Dec 15;18(1):20–30.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2016.162>
 19. Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А. и др. Влияние хронической нейропатической боли на течение злокачественного процесса меланомы B16/F10 у самок мышей. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки.* 2019;(1(201)):106–111.
 20. Егорова М.В., Афанасьев С.А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: Современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал.* 2011;26(1-1):22–28.
 21. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009 Apr;27(2):120–139.
<https://doi.org/10.1080/10590500902885684>
 22. Frantsiyants EM, Neskubina IV, Shikhlyarova AI, Cheryarina ND, Kaplieva IV, Bandovkina VA, et al. The effect of diabetes mellitus under tumor growth on respiratory function and free radical processes in heart cell mitochondria in rats. *Cardiometry.* 2021;18:50–55.
<https://doi.org/10.18137/cardiometry.2021.18.5055>
 23. Kiyuna LA, Albuquerque RPE, Chen C-H, Mochly-Rosen D, Ferreira JCB. Targeting mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart failure: Challenges and opportunities. *Free Radic Biol Med.* 2018 Dec;129:155–168.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.019>
 24. Voulgaridou G-P, Anastopoulos I, Franco R, Panayiotidis MI, Pappa A. DNA damage induced by endogenous aldehydes: cur-

rent state of knowledge. *Mutat Res.* 2011 Jun 3;711(1–2):13–27. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.03.006>

25. Santucci R, Sinibaldi F, Cozza P, Polticelli F, Fiorucci L. Cytochrome c: An extreme multifunctional protein with a key role in cell fate. *Int J Biol Macromol.* 2019 Sep 1;136:1237–1246. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.180>

26. Kim-Campbell N., Gomez H., Bayir H. Chapter 20—Cell death pathways: Apoptosis and regulated necrosis. In: Ronco C., Bellomo R., Kellum J.A., Ricci Z., editors. *Critical Care Nephrology.*

3rd ed. Elsevier; Philadelphia, PA, USA. 2019:113–121.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-44942-7.00020-0>

27. Frantsiyants EM, Neskubina IV, Shikhlyarova AI, Yengibaryan MA, Vashenko LN, Surikova EI, et al. Content of apoptosis factors and self-organization processes in the mitochondria of heart cells in female mice C57BL/6 under growth of melanoma B16/F10 linked with comorbid pathology. *Cardiometry.* 2021;18:121–130.

<https://doi.org/10.18137/cardiometry.2021.18.121130>

Информация об авторах:

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по науке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, ResearcherID: Y-1491-2018, Scopus Author ID: 55890047700

Нескубина Ирина Валерьевна* – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>, SPIN: 2189-3404, AuthorID: 558243

Сурикова Екатерина Игоревна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>, SPIN: 2401-4115, AuthorID: 301537

Шихлярова Алла Ивановна – д.б.н., профессор, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>, SPIN: 6271-0717, AuthorID: 482103

Бандовкина Валерия Ахтямовна – д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989

Немашкалова Людмила Анатольевна – научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2713-8598>, SPIN: 1355-8652, AuthorID: 734146

Каплиева Ирина Викторовна – д.м.н., заведующая лабораторией изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541, AuthorID: 734116

Трепитакки Лидия Константиновна – младший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>, SPIN: 2052-1248, AuthorID: 734359

Качесова Полина Сергеевна – научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6928-5014>, SPIN: 5784-0475, AuthorID: 571595

Котиева Инга Мовлиевна – д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0252-4708>, SPIN: 3478-5811, AuthorID: 637665

Морозова Мария Игоревна – врач-педиатр ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7640-6021>, SPIN: 6030-8108, AuthorID: 1116725

Погорелова Юлия Александровна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>, SPIN: 2168-8737, AuthorID: 558241

ВЛИЯНИЕ ОНКОЛИТИЧЕСКИХ ШТАММОВ НОВОЙ НЕКЛАССИФИЦИРОВАННОЙ ГРУППЫ РОТАВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА НА ЛИМФОЦИТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

О.И. Кит¹, С.Ю. Филиппова^{1*}, С.В. Тимофеева¹, А.О. Ситковская¹, Е.Ю. Златник¹, С.А. Колпаков², Е.П. Колпакова², Е.С. Бондаренко¹, И.А. Новикова¹

1. ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
2. ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, 344000, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Газетный, д. 119

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценка цитотоксического действия штаммов RVK100 и RVK228 новой неклассифицированной группы ротавирусов человека на мононуклеарные клетки периферической крови человека *in vitro*.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования использовали мононуклеарные клетки периферической крови здорового донора. На клетки воздействовали двумя штаммами RVK100 и RVK228 в течение 24 и 48 часов. Цитотоксичность тестируемых вирусов оценивали с помощью теста Colorimetric Cell Viability Kit I (WST-8) (PromoCell, Германия). Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов оценивали на проточном цитофлуориметре FACSCantoII (BD, США) с использованием панели моноклональных антител к человеческим антигенам: CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19, CD45, CD38, HLA-DR.

Результаты. По данным теста на жизнеспособность не было обнаружено достоверного значимого снижения количества живых клеток в образцах с добавлением вирусов по сравнению с контролем. Напротив, после 48 часов культивирования в образцах с добавлением RVK228 количества живых клеток было достоверно больше, чем в контроле. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов показало относительное увеличение количества маркеров ранней активации на Т-клетках в образцах с вирусами, которое также было более выражено в образцах с добавлением RVK228.

Заключение. Исследуемые штаммы ротавирусов не оказывают цитотоксического действия на мононуклеарные клетки периферической крови человека. При этом штамм RVK228, вероятно, обладает способностью к активации лимфоцитов.

Ключевые слова:

онколитические вирусы, ротавирусы, мононуклеарные клетки периферической крови, цитотоксический тест, проточная цитофлуориметрия.

Для корреспонденции:

Филиппова Светлана Юрьевна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: filsv@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>

SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784

Scopus Author ID: 57189618843

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Кит О.И., Филиппова С.Ю., Тимофеева С.В., Ситковская А.О., Златник Е.Ю., Колпаков С.А., Колпакова Е.П., Бондаренко Е.С., Новикова И.А. Влияние онколитических штаммов новой неклассифицированной группы ротавирусов человека на лимфоциты периферической крови. Южно-Российский онкологический журнал. 2021; 2(3): 23-30. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-3>

Получено 25.06.2021, Рецензия (1) 13.07.2021, Рецензия (2) 29.07.2021, Опубликовано 09.09.2021

INFLUENCE OF ONCOLYTIC STRAINS OF A NEW UNCLASSIFIED GROUP OF HUMAN ROTAVIRUSES ON PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

O.I.Kit¹, S.Yu.Filippova^{1*}, S.V.Timofeeva¹, A.O.Sitkovskaya¹, E.Yu.Zlatnik¹, S.A.Kolpakov²,
E.P.Kolpakova², E.S.Bondarenko¹, I.A.Novikova¹

1. National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

2. Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rospotrebnadzor, 119 Gazetny Lane, Rostov-on-Don, 344000, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose of the study. Evaluation of the cytotoxic effect of strains RVK100 and RVK228 of a new unclassified group of human rotaviruses on human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*.

Materials and methods. As a material for the study, we used peripheral blood mononuclear cells of a healthy donor. The cells were exposed to two strains of rotaviruses RVK100 and RVK228 for 24 and 48 hours. The cytotoxicity of the tested viruses was assessed using the Colorimetric Cell Viability Kit I (WST-8) (PromoCell, Germany). Analysis of lymphocytes subpopulation composition was assessed on a FACSCantoll flow cytometer (BD, USA) using monoclonal antibodies to human antigens: CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19, CD45, CD38, HLA-DR.

Results. According to the cell viability test, there was no significant decrease in the number of living cells in the samples with the addition of viruses in comparison with the control. On the contrary, after 48 hours of cultivation in the samples with the addition of RVK228, the number of living cells was significantly higher than in the control. The study of lymphocytes subpopulation composition showed a relative increase in the number of early activation markers on T cells in samples with viruses, which was also more pronounced in samples with the addition of RVK228.

Conclusion. The investigated strains of rotaviruses have no cytotoxic effect on human peripheral blood mononuclear cells. Moreover, the RVK228 strain is likely to have the ability to activate lymphocytes.

Keywords:

oncolytic viruses, rotaviruses, peripheral blood mononuclear cells, cytotoxicity assay, flow cytometry.

For correspondence:

Svetlana Yu. Filippova – researcher at the Laboratory of Cellular Technologies National Medical Research Centre of Oncology of the Russian Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: filsv@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>

SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784

Scopus Author ID: 57189618843

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Kit O.I., Filippova S.Yu., Timofeeva S.V., Sitkovskaya A.O., Zlatnik E.Yu., Kolpakov S.A., Kolpakova E.P., Bondarenko E.S., Novikova I.A. Influence of oncolytic strains of a new unclassified group of human rotaviruses on peripheral blood lymphocytes. South Russian Journal of Cancer. 2021; 2(3): 23-30. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-3>

Received 25.06.2021, Review (1) 13.07.2021, Review (2) 29.07.2021, Published 09.09.2021

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на успехи современной онкологии, злокачественные опухоли – вторая по частоте причина смерти во всем мире [1]. Онколитическая виротерапия является одной из противоопухолевых стратегий, разработка которой сохраняет актуальность на протяжении ряда десятилетий. Потенциал онколитических вирусов (ОВ) был окончательно реализован, когда первый препарат для терапии на основе ОВ – Онкорин (H101) – был одобрен Государственным управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Китая (SFDA) для клинического использования в лечении карциномы носоглотки в 2005 г. [2]. Позже, в 2015 г., Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) одобрило препарат T-Vec на основе модифицированного вируса простого герпеса (HSV) для лечения метастатической меланомы [3]. Во всем мире исследуются как природные аттенуированные, так и сконструированные вирусы, апатогенные для человека. Выявление наиболее активных и безопасных из них позволило бы предложить новые методы лечения злокачественных опухолей.

Безопасность применения ОВ зависит от их способности заражать и реплицироваться только в опухолевых клетках. Известно, в частности, что избирательная репликация вирусов в клетках рака обусловлена, в основном, нарушенными механизмами противовирусного ответа в трансформированных клетках (например, сигнальный путь интерферона I типа) [4]. Также, в качестве возможных причин тропности ОВ к опухолевым клеткам рассматривают нарушения клеточного метаболизма [5] и сигнальных путей, регулирующих клеточное деление [6]. Поскольку только на основании данных о взаимодействии ОВ с опухолевыми клетками нельзя сделать заключение о его безопасности, то необходимым этапом в исследованиях по поиску новых ОВ является тестирование их цитотоксической активности по отношению к нормальным клеткам организма.

В ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора в ходе работы по адаптации ротавирусов человека группы А к росту на перевиваемых культурах клеток для применения их в качестве вакцины для детей были обнаружены и выделены штаммы, которые не относились ни к одной из известных групп ротавирусов человека [7]. Новая группа получила название ротавиру-

сы группы К (RVK), её представители имеют общие черты как с ротавирусами группы А, которые являются наиболее часто встречающимися возбудителями гастроэнтерита у детей, так и с реовирусами. В дальнейших совместных исследованиях ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России г. Ростова-на-Дону и ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора была показана онколитическая активность и иммуномодулирующие свойства этой группы вирусов *in vivo* и *in vitro* [8-10]. Дальнейшая перспектива применения новых штаммов ротавирусов в онколитической виротерапии будет определяться их безопасностью по отношению к нормальным клеткам человека.

Цель исследования: оценить цитотоксическое действие вирусов RVK100 и RVK228 новой неклассифицированной группы ротавирусов человека семейства Reoviridae на моноклеарные клетки периферической крови здоровых доноров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Онколитические штаммы ротавирусов

В исследовании были использованы два живых аттенуированных, апатогенных штамма ротавирусов ранее выделенные в Ростовском институте микробиологии и паразитологии, с рабочим названием ротавирусы группы К – RVK100 и RVK228 [7].

Культивирование моноклеарных клеток периферической крови

Моноклеарные клетки периферической крови (МНК) были получены от здорового донора – мужчины 25 лет. Донор подписывал информированное согласие на участие в исследовании. Моноклеарные клетки выделяли методом центрифугирования с применением пробирок Vacutainer® СРТ™ (BD, США) согласно инструкциям производителя. Полученные клетки подсчитывали с добавлением 0,4 % трипанового синего на автоматическом счётчике Eve (NanoEnTek Inc, Корея).

Определение цитотоксической активности вирусов

МНК вносили в 96-луночный планшет (Eppendorf, Германия) в равной посевной дозе по 10^4 клеток на лунку в 100 мкл питательной среды RPMI 1640 (Gibco, США) без добавления сыворотки и антибиотиков. Далее клетки культивировали 24 часа при 37°C во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO_2 . Через 24 часа в лунки с МНК вносили вирусы до конечной концентрации 10^7 частиц/мл, для чего

в каждую лунку 96-луночного планшета добавляли по 1 мкл суспензии вирусов с концентрацией 10^9 частиц/мл в питательной среде RPMI 1640 без сыворотки. В контрольные лунки вносили равное количество среды без вируса. Далее МНК культивировали 24 или 48 часов при 37°C в атмосфере $5\% \text{CO}_2$. WST-8-тест, с помощью которого определяли цитотоксичность, представляет собой аналог популярного МТТ-теста. Количество живых клеток оценивали с помощью колориметрического измерения концентрации формазана, полученного в ходе восстановления WST-8 клеточными редуктазами. В исследовании использовали набор Colorimetric Cell Viability Kit I (WST-8) (PromoCell, Германия) согласно инструкциям производителя. Измерение оптической плотности (ОП) производили на ИФА-ридере Stat Fax2100 (Awareness Technology, США) при длине волны 492 нм. Каждый вариант опыта ставили в 16 повторах, включавших 2 инкубации и 2 штамма.

Определение популяционного состава лимфоцитов

Для цитофлуориметрического анализа клетки вносили по 5×10^5 клеток на лунку 6-луночного планшета (Eppendorf, Германия) в 1,5 мл питательной среды RPMI 1640 без добавления сыворотки и антибиотиков. Культивирование клеток с вирусами проводили как описано выше. Исследование популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов проводили на 6-цветном проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США)

с использованием панели моноклональных антител к человеческим антигенам: CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19, CD45, CD38, HLA-DR (Becton Dickinson, США).

Статистический анализ

Данные колориметрического теста представлены, как среднее значение $\pm 95\%$ доверительный интервал. Достоверность разницы между средними значениями определялась с применением t-критерия Стьюдента. Принятый в исследовании уровень значимости с учётом поправки Бонферрони на множественное сравнение составил $\alpha' = \alpha/6 = 0,005/6 = 0,008$. Критическое значение t-критерия Стьюдента для скорректированного $\alpha' = 0,008$ и $df = 2n - 2 = 30$ составило $t_{\text{крит}} = 2,84$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Добавление вирусов в среду культивирования не оказало цитотоксического действия на МНК. По результатам колориметрического теста уровень живых клеток как в образцах с добавлением вирусов, так и в контрольных образцах существенно не различался через 24 часа культивирования ($OP_{\text{контр}} = 0,21 \pm 0,007$, $OP_{\text{RVK100}} = 0,22 \pm 0,007$, $OP_{\text{RVK228}} = 0,21 \pm 0,01$). Спустя 48 часов культивирования произошло значительное уменьшение доли живых клеток во всех образцах, однако в образце с добавлением штамма RVK228 снижение оказалось менее выраженным ($OP_{\text{контр}} = 0,14 \pm 0,003$,

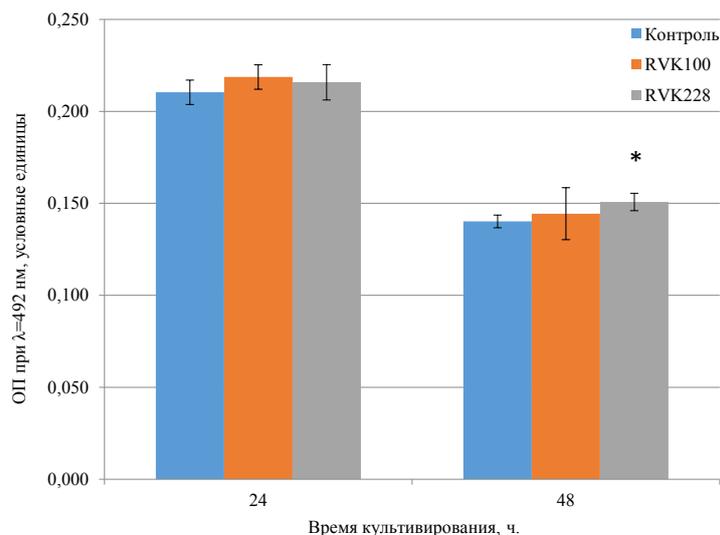


Рис. 1. Результаты WST-8-теста при действии онколитических штаммов ротавирусов RVK100 и RVK228 на МНК в условиях *in vitro* (среднее значение $\pm 95\%$ доверительный интервал). * – разница средних значений по сравнению с контролем статистически достоверна на уровне значимости $\alpha' \leq 0,008$.

ОП_{RVK100}=0,14±0,01, ОП_{RVK228}=0,15±0,005) (рис. 1). Проверка гипотезы о равенстве средних значений с применением t-критерия Стьюдента показала, что разница в доле живых клеток между контролем и вариантом с добавлением RVK228 является достоверной на уровне значимости $\alpha' \leq 0,008$ ($t_{\text{эксп}} = 3,53$, $df=30$), различия же между другими вариантами не достигли принятого уровня значимости.

Сокращение доли живых МНК спустя короткий промежуток времени после пассажа свидетельствует о гибели части клеток, вероятно, вызванной отсутствием в бессывороточной среде специфических сигналов, поддерживающих активацию и пролиферацию лимфоцитов [11]. Тот факт, что уменьшение уровня живых клеток через 48 часов культивирования в образце с RVK228 оказалось не таким выраженным, как в контрольном образце и в образце с RVK100, возможно, связано с тем, что данный штамм обладает большей по сравнению с RVK100 способностью к активации клеток иммунной системы. Данное предположение поддерживается и результатами цитофлуориметрического исследования, приведёнными в таблицах 1, 2.

Следует отметить, что инкубация донорской про-

Таблица 1. Влияние штаммов RVK100 и RVK228 на популяционный состав лимфоцитов в условиях *in vitro*

Пробы	Популяции лимфоцитов, % от CD45+ (среднее значение ± стандартное отклонение)			
	CD3+	CD19+	CD16/56+	CD3/16/56+
До инкубации	80,4±7,4	1,7±0,2	14,3±2,1	2,6±0,9
24 часа				
Контроль	67,4±6,2	0,7±0,05	25,6±3,0	5,3±1,1
RVK100	72,1±8,0	0,9±0,1	24,4±2,8	4,1±1,0
RVK228	67,2±7,8	0,7±0,08	27,3±3,1	4,1±0,7
48 часов				
Контроль	68,8±5,8	0,9±0,15	23,9±2,3	3,6±0,5
RVK100	68,3±7,1	0,4±0,03	25,6±3,05	2,5±0,5
RVK228	69,1±6,5	0,5±0,03	25,6±2,8	3,1±0,8

Таблица 2. Влияние штаммов RVK100 и RVK228 на субпопуляционный состав Т-лимфоцитов в условиях *in vitro*

Пробы	Субпопуляции Т-лимфоцитов (среднее значение ± стандартное отклонение)					
	CD4+, % от CD3+	CD8+, % от CD3+	CD4+HLA-DR+, % от CD4+	CD4+CD38+, % от CD4+	CD8+HLA-DR+, % от CD8+	CD8+CD38+, % от CD8+
До инкубации	38,1±4,8	38,0±5,1	6,4±0,9	33,8±3,8	10,4±1,8	10,7±2,1
24 часа						
Контроль	15,8±2,1	39,6±3,5	17,0±1,3	12,8±1,7	4,3±3,1	3,8±0,45
RVK100	13,8±1,05	48,0±5,6	23,5±1,9	7,8±0,9	2,7±1,9	6,0±0,8
RVK228	13,2±1,4	39,5±4,2	19,6±2,1	13,7±1,2	6,0±0,7	8,8±0,74
48 часов						
Контроль	14,0±1,7	40,8±4,02	20,5±2,5	9,5±1,05	2,3±0,4	4,5±0,6
RVK100	12,9±1,07	39,0±4,5	18,9±2,1	8,7±0,9	2,7±0,3	4,6±0,8
RVK228	11,2±1,5	39,9±3,8	21,3±2,8	14,7±1,9	3,5±0,7	3,5±0,4

бы МНК в течение 24 часов при указанных условиях без вирусов привела к существенным изменениям их состава: произошло снижение процента клеток, экспрессирующих CD3⁺ и CD4⁺, при сохранности процента CD8⁺, отмечено повышение процента НК-клеток, которые, по-видимому, оказались более устойчивыми к такому варианту культивирования; изменения коснулись также субпопуляций активированных Т-клеток.

Через 24 часа в обеих пробах с добавлением вирусов по сравнению с контролем культивирования отмечалось относительное увеличение доли Т-киллеров, экспрессирующих маркер ранней активации (CD8⁺CD38⁺), при этом реакция на RVK228 была более выраженной (RVK228 – 8,8 % ± 0,74 %, RVK100 – 6,0 % ± 0,8 %, контроль – 3,8 % ± 0,45 %). 24-часовая инкубация МНК с RVK сопровождалась также повышением процента CD4⁺ клеток и снижением CD8⁺ клеток, экспрессирующих HLA-DR⁺, при действии RVK100. Через 48 часов культивирования экспрессия маркера ранней активации на Т-хелперах (CD4⁺CD38⁺) превышала контрольные значения только в образцах с добавлением RVK228 (RVK228 – 14,7 ± 1,9 %, RVK100 – 8,7 ± 0,9 %, контроль – 9,5 ± 1,05 %).

Не наблюдалось значительных изменений относительного количества Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-киллеров (CD8⁺), Т-хелперов (CD4⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺), а также натуральных киллеров (НК) и натуральных киллеров Т-клеток (НКТ) в опытных образцах по сравнению с контрольными (табл. 1, 2).

Активация лимфоцитов в ответ на взаимодействие с чужеродным агентом, в том числе вирусом, является известным фактом. Однако на данном этапе без дополнительных исследований нельзя точно установить механизмы, лежащие в основе способности штамма RVK228 к поддержанию пролиферации лимфоцитов. Однако существует ряд работ, в которых приводятся результаты, сходные с нашими и исследуются возможные клетки-посредники митогенной активности ротавирусов *in vitro*. Так, в работе Yasukawa с соавт. [12], было выдвинуто предположение о том, что источником митогенного влияния на лимфоциты штамма Wa человеческого ротавируса и штамма NCDC ротавируса коров, являются Т-клетки памяти, ранее контактировавшие с этой группой вирусов, так как данный эффект не наблюдался в опытах с пуповинной кровью, лимфоциты которой были наивными в отношении патогенов. Повторная встреча с вирусом, по мнению авторов, спровоцировала активную пролиферацию Т-клеток памяти и продукцию ими

таких факторов, как интерлейкин-2 (ИЛ-2) и интерферон-γ (ИФН-γ), стимулирующих пролиферацию лимфоцитов [12]. Однако в более поздних исследованиях других авторов было показано, что первичным источником активации лимфоцитов, в том числе Т-клеток, ротавирусами являются плазмацитоидные дендритные клетки (пДК) [13, 14], которые в небольшом количестве присутствуют во всех препаратах МНК. Так, в работе Mesa с соавт. [13] было показано, что пДК при заражении штаммом Wa выделяют в среду провоспалительные цитокины ИЛ-6, фактор некроза опухоли-α (ФНО-α) и ИФН-α, что, в свою очередь, приводит к активации Т-хелперов и продукции ими регуляторных цитокинов ИФН-γ, ИЛ-2 и ИЛ-10. В этом же исследовании было показано, что помимо пДК, восприимчивыми к заражению ротавирусом являются моноциты и В-клетки, при почти полной устойчивости к нему Т-клеток, что связывают с α4-интегрином и другими неизученными факторами [13]. При этом подчёркивается, что инфекция носит кратковременный характер и не влияет на жизнеспособность этих клеток, что согласуется и с результатами нашего эксперимента.

Несмотря на то, что в нашем исследовании не наблюдалось относительного увеличения количества Т-хелперов, о котором говорится в исследовании Yasukawa с соавт. [12], мы можем предположить, что происходит активация данной субпопуляции, о чем свидетельствует увеличение доли CD4⁺CD38⁺ клеток. Является ли активация Т-хелперов прямой или опосредованной антигенпрезентирующими клетками, а также насколько Т-хелперы вовлечены в поддержание пролиферативной активности МНК, ещё предстоит установить. Учитывая, что в нашем исследовании мы изучаем свойства ранее не исследованной группы ротавирусов, механизм их взаимодействия с клетками крови может отличаться от механизмов, приведённых в работах, процитированных выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследуемые штаммы ротавирусов человека, относящиеся к группе К, впервые описанной в Ростовском институте микробиологии и паразитологии, не обладают цитотоксической активностью в отношении лимфоцитов человека в условиях *in vitro*. Более того, штамм RVK228, вероятно, обладает способностью к активации Т-клеток, однако для проверки данной гипотезы требуются дальнейшие исследования.

Участие авторов:

Кит О.И. – научное редактирование.

Филиппова С.Ю. – анализ и интерпретация данных, подготовка иллюстраций, написание текста статьи.

Тимофеева С.В. – проведение экспериментов с выделением и культивированием лимфоцитов, постановка колориметрического исследования, первичная обработка результатов.

Ситковская А.О. – дизайн исследования, техническое редактирование.

Златник Е.Ю. – концепция исследования и научное редактирование.

Колпаков С.А. – выделение и наращивание штаммов RVK.

Колпакова Е.П. – выделение и наращивание штаммов RVK.

Бондаренко Е.С. – цитофлуориметрический анализ.

Новикова И.А. – научное редактирование.

Список литературы

- Naghavi M, Abajobir AA, Abbafati C, Abbas KM, Abd-Allah F, Abera SF, et al. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017 Sep 16;390(10100):1151–1210. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32152-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32152-9)
- Liang M. Oncorine, the World First Oncolytic Virus Medicine and its Update in China. *Curr Cancer Drug Targets*. 2018;18(2):171–176. <https://doi.org/10.2174/1568009618666171129221503>
- Conry RM, Westbrook B, McKee S, Norwood TG. Talimogene laherparepvec: First in class oncolytic virotherapy. *Hum Vaccin Immunother*. 2018 Apr 3;14(4):839–846. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1412896>
- Mesev EV, LeDesma RA, Ploss A. Decoding type I and III interferon signalling during viral infection. *Nat Microbiol*. 2019 Jun;4(6):914–924. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0421-x>
- Dyer A, Schoeps B, Frost S, Jakeman P, Scott EM, Freedman J, et al. Antagonism of Glycolysis and Reductive Carboxylation of Glutamine Potentiates Activity of Oncolytic Adenoviruses in Cancer Cells. *Cancer Res*. 2019 Jan 15;79(2):331–345. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1326>
- Russell SJ, Peng K-W, Bell JC. Oncolytic virotherapy. *Nat Biotechnol*. 2012 Jul 10;30(7):658–70. <https://doi.org/10.1038/nbt.2287>
- Колпаков С.А., Колпакова Е.П. Новая группа ротавирусов человека семейства Reoviridae. Живые и биокосные системы. 2014;(10):6.
- Колпаков С.А., Колпакова Е.П., Златник Е.Ю. Штаммовой группы ротавирусов семейства Reoviridae препятствует перевиваемости и росту опухоли яичника крыс в эксперименте. Злокачественные опухоли. 2019;9(3S1):135.
- Златник Е.Ю., Колпаков С.А., Колпакова Е.П., Ситковская А.О., Шульгина О.Г., Непомнящая Е.М. Исследование онколитического действия новой неклассифицированной группы ротавирусов человека семейства Reoviridae на эпидермоидную карциному in vivo. Белые ночи 2020: тезисы VI Петербургского международного онкологического форума, Санкт-Петербург, 25–28 июня 2020 г. Санкт-Петербург: Вопросы онкологии, 2020, 138 с.
- Ситковская А.О., Филиппова С.Ю., Златник Е.Ю., Колпаков С.А., Колпакова Е.П., Межевова И.В. и др. Цитотоксическое действие неклассифицированных ротавирусов группы К на культуры клеток T98G и U87MG in vitro. *Цитология*. 2020;62(3):189–200. <https://doi.org/10.31857/S0041377120030062>
- Ситковская А.О., Златник Е.Ю., Филиппова С.Ю., Бондаренко Е.С., Ващенко Л.Н., Кечеджиева Э.Э. и др. Влияние интерлейкинов 2, 7, 15 на пролиферацию натуральных киллеров in vitro. *Российский биотерапевтический журнал*. 2021;20(1):56–66. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-1-56-66>
- Yasukawa M, Nakagomi O, Kobayashi Y. Rotavirus induces proliferative response and augments non-specific cytotoxic activity of lymphocytes in humans. *Clin Exp Immunol*. 1990 Apr;80(1):49–55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1990.tb06440.x>
- Mesa MC, Rodríguez L-S, Franco MA, Angel J. Interaction of rotavirus with human peripheral blood mononuclear cells: plasmacytoid dendritic cells play a role in stimulating memory rotavirus specific T cells in vitro. *Virology*. 2007 Sep 15;366(1):174–184. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.04.007>
- Pane JA, Webster NL, Coulson BS. Rotavirus activates lymphocytes from non-obese diabetic mice by triggering toll-like receptor 7 signaling and interferon production in plasmacytoid dendritic cells. *PLoS Pathog*. 2014 Mar;10(3):e1003998. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003998>

Информация об авторах:

Кит Олег Иванович – член-корр. РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>, SPIN: 1728-0329, AuthorID: 343182, ResearcherID: U-2241-2017, Scopus Author ID: 55994103100

Филиппова Светлана Юрьевна* – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>, SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784, Scopus Author ID: 57189618843

Тимощева Софья Владимировна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5945-5961>, SPIN: 5362-1915, AuthorID: 1064599

Ситковская Анастасия Олеговна – заведующая лабораторией клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6035-1756>, SPIN: 1659-6976, AuthorID: 791081, ResearcherID: E-7496-2018, Scopus Author ID: 56381527400

Златник Елена Юрьевна – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, SPIN: 4137-7410, AuthorID: 327457, Scopus Author ID: 6603160432

Колпаков Сергей Анатольевич – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследования ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 5569-4171, AuthorID: 348236

Колпакова Елена Павловна – научный сотрудник лаборатории вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследования ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 3942-7583, AuthorID: 981877

Бондаренко Елена Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 3117-4040, AuthorID: 865798

Новикова Инна Арнольдовна – к.м.н., заместитель генерального директора по науке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6496-9641>, SPIN: 4810-2424, AuthorID: 726229

БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ ИММУНОТЕРАПИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Д.А.Харегезов, Ю.Н.Лазутин, Е.Ю.Златник, А.Б.Сагакянц, Э.А.Мирзоян*, А.Г.Милакин, О.Н.Статешный, А.В.Чубарян, И.А.Лейман

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Открытие ингибирования иммунных контрольных точек произвело революцию в лечении многих солидных злокачественных новообразований, включая немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). Ингибиторы иммунных контрольных точек (ИИКТ) обладают способностью восстанавливать противоопухолевый иммунный ответ, блокируя торможение активации Т-лимфоцитов. Anti-programmed death-ligand 1, трансмембранный белок, лиганд к рецептору PD-1(PD-L1) в настоящее время является основным биомаркером эффективности анти-PD-1/ PD-L1 препаратов лечения НМРЛ без драйверных мутаций. Высокая мутационная нагрузка опухоли, предполагающая повышенную продукцию неоантигенов, также ассоциируется с эффективностью иммунотерапии. Микросателлитная нестабильность – другой биомаркер, одобренный для иммунотерапии при солидных опухолях, – редко наблюдается при НМРЛ. Первичная резистентность к ИИКТ характерна для онкодрайверного НМРЛ, приобретенная связана с иммуноредактированием в результате истощения потенциально иммуногенных неоантигенов. В обзоре обсуждаются последние достижения и будущие направления прогнозирования результатов иммунотерапии у больных НМРЛ.

Ключевые слова:

немелкоклеточный рак легкого, иммунотерапия, биомаркеры, ингибиторы иммунных контрольных точек, anti-programmed death-ligand, опухолевая мутационная нагрузка.

Для корреспонденции:

Мирзоян Эллада Арменовна – аспирант ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-9714>

SPIN: 2506-8605, AuthorID: 1002948

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Харегезов Д.А., Лазутин Ю.Н., Златник Е.Ю., Сагакянц А.Б., Мирзоян Э.А., Милакин А.Г., Статешный О.Н., Чубарян А.В., Лейман И.А.

Биомаркеры для иммунотерапии немелкоклеточного рака легкого. Южно-Российский онкологический журнал. 2021; 2(3): 31-41.

<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-4>

Получено 01.06.2021, Рецензия (1) 05.07.2021, Рецензия (2) 09.07.2021, Опубликовано 09.09.2021

BIOMARKERS FOR NON-SMALL CELL LUNG CANCER IMMUNOTHERAPY

D.A.Kharagezov, Yu.N.Lazutin, E.Yu. Zlatnik, A.B.Sagakyants, E.A.Mirzoyan*, A.G.Milakin, O.N.Stateshny,
A.V.Chubaryan, I.A.Leyman

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

The discovery of immune checkpoint inhibition has revolutionized the treatment of many solid malignancies, including non-small cell lung cancer (NSCLC). Immune checkpoint inhibitors (ICI) can restore the antitumor immune response by blocking the inhibition of T-cell activation. Anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) is currently the main biomarker of the effectiveness of anti-PD-1 / PD-L1 blockade in the treatment of NSCLC without driver mutations. High tumor mutational burden suggests an increased neoantigens load and has been associated with the effectiveness of ICI therapy. Microsatellite instability, a biomarker approved for immunotherapy across solid tumors, but it is uncommon in NSCLC. Primary resistance to ICIs is characteristic of NSCLC with driver mutations, acquired is associated with immunoeediting resulting in the depletion of potentially immunogenic neoantigens. The review discusses recent advances and future directions for predicting the results of immunotherapy in patients with NSCLC.

Keywords:

non-small cell lung cancer, immunotherapy, biomarkers, checkpoint inhibitor, anti-programmed death-ligand 1, tumor mutation burden.

For correspondence:

Ellada A. Mirzoyan – PhD student National Medical Research Centre of Oncology of the Russian Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-9714>

SPIN: 2506-8605, AuthorID: 1002948

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Kharagezov D.A., Lazutin Yu.N., Zlatnik E.Yu., Sagakyants A.B., Mirzoyan E.A., Milakin A.G., Stateshny O.N., Chubaryan A.V., Leyman I.A. Biomarkers for non-small cell lung cancer immunotherapy. South Russian Journal of Cancer. 2021; 2(3): 31-41. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-4>

Received 01.06.2021, Review (1) 05.07.2021, Review (2) 09.07.2021, Published 09.09.2021

ВВЕДЕНИЕ

Открытие ингибирования иммунных контрольных точек произвело революцию в лечении многих солидных злокачественных новообразований, включая немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). Anti-programmed death-ligand 1, трансмембранный белок, лиганд к рецептору PD-1 (PD-L1) в настоящее время является основным биомаркером эффективности анти-PD-1/ PD-L1 блокады препаратов в лечении НМРЛ без драйверных мутаций.

На сегодняшний день одобренными Food and Drug Administration (FDA) (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов) биомаркерами для определения показаний к иммунотерапии прогрессирующего НМРЛ являются показатель доли опухоли (TPS – tumor proportion score) экспрессирующей PD-L1 на опухолевых клетках и микросателлитная нестабильность. Другими изучаемыми перспективными маркерами для иммунотерапии являются мутационная нагрузка опухоли (ТМВ – tumor mutation burden), опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (TILs – tumour infiltrating lymphocytes) и плотность CD8+Т-клеток в микроокружении опухоли. Геномный ландшафт опухоли влияет на её иммуногенность и ответ на иммунотерапию. В обзоре обсуждаются последние достижения и будущие направления прогнозирования результатов иммунотерапии ИИКТ у больных НМРЛ.

Опухолевая экспрессия PD-L1

PD-L1 – трансмембранный белок, кодируемый геном PD-L1, обнаруженным в 9 хромосоме у человека. Конститутивная экспрессия PD-L1 низкого уровня, свойственная покоящимся лимфоцитам, антигенпрезентирующим клетками и другим тканям, необходима для поддержания гомеостаза при провоспалительных состояниях [1]. Ингибирующая молекула PD-1, присутствующая на В-лимфоцитах, активированных Т-лимфоцитами в естественных клетках-киллерах связывается с лигандами PD-L1 (B7-H1 или CD271+) и PD-L2 (B7-DC или CD273+) [2]. Взаимодействие молекулы PD-1 с лигандом PD-L1 ингибирует пролиферацию, выживаемость и активность цитотоксических Т-лимфоцитов, индуцирует апоптоз TILs и накопление в микроокружении опухоли иммуносупрессивных регуляторных Т-клеток (T-reg.) [3]. При распространенном НМРЛ примерно от 40 до 58 % больных имеют PD-L1-негативные опухоли, от 28 до 31 % – опухоли с низкой (1-49 %) экспрессией

PD-L1 и только от 10 до 32 % имеют опухоли с высокой (50 % и более) экспрессией PD-L1 [4, 5]. Блокада антителами иммунных контрольных точек оси PD-1/ PD-L1 произвела революцию в терапии распространенного и метастатического НМРЛ, став стандартом первой линии лечения больных как изолированно, так и в комбинации с химиотерапией [6].

Экспрессия PD-L1 определяется иммуногистохимическим методом. Для тестирования в клинических исследованиях используются 5 различных анти-PD-L1 иммуноглобулинов класса IgG1: 22C3, 28-8, SP142, SP263 и 73-10. Процент экспрессии чаще всего измеряется с помощью показателя TPS, который оценивается количественным определением жизнеспособных опухолевых клеток с частичным или полным окрашиванием клеточных мембран [7].

Многочисленные клинические исследования [8] применения анти-PD-1 и анти-PD-L1 антител показали ценность изучения экспрессии PD-L1 как предиктивного биомаркера. Рандомизированное клиническое исследование KEYNOTE-010, в котором сравнивали эффективность пембролизумаба в двух различных дозах 2 или 10 мг/кг каждые 3 недели с химиотерапией доцетакселом у ранее леченых больных прогрессирующим НМРЛ с показателем TPS PD-L1 ≥ 1 %. Основными конечными точками исследования были определены общая выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (PFS – progression-free survival). Пациенты, получавшие пембролизумаб, имели значительно более длительную медиану ОВ: 10,4 мес. при назначении пембролизумаба в дозе 2 мг/кг (HR 0,71, $p=0,008$) и 12,7 мес. в дозе 10 мг/кг (HR 0,61 $p<0,00001$) по сравнению с больными, получавшими только доцетаксел – 8,5 мес. Через 1 год большая часть пациентов, получавших пембролизумаб, были живы: в группе пембролизумаба в дозе 10 мг/кг ОВ составила 52,3 %, а в дозе 2 мг/кг – 43,2 %, сравнительно с теми, кто получал доцетаксел – 34,6 %. Подгрупповой анализ выявил, что более высокий TPS PD-L1 является предиктором более длительной выживаемости. Медиана ОВ больных с TPS PD-L1 ≥ 50 % составила 14,9 мес. в группе больных, получавших пембролизумаб в дозе 2 мг/кг против 8,2 мес. В группе доцетаксела (HR 0,54; 95 % [CI] 0,38-0,77; $p=0,0002$) – 17,3 мес. В группе пациентов, получавших пембролизумаб в дозе 10 мг/кг против 8,2 мес. в группе доцетаксела (HR 0,50; 95 % [CI] 0,36-0,70; $p<0,0001$) [8].

В исследовании Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. 3 фазы KEYNOTE-024 изучалась

эффективность иммунотерапии пембролизумабом по сравнению со стандартной двухкомпонентной платиносодержащей химиотерапией в первой линии для EGFR- и ALK- негативного распространенного НМРЛ с экспрессией PD-L1 TPS \geq 50 %. В итоге исследование продемонстрировало явные преимущества у больных, получавших иммунотерапию по показателям медианы PFS, ОБ и частоте объективных ответов на лечение. Медиана продолжительности ответа в группе пембролизумаба не достигнута [5].

Недавно опубликованы результаты последующего наблюдения исследования KEYNOTE-024 [9]. Медиана ОБ в группе больных, получавших пембролизумаб в первой линии, составила 30,0 мес. против 14,2 мес. в группе химиотерапии [9]. Представленные результаты в конечном счете привели к одобрению монотерапии пембролизумабом у пациентов с метастатическим НМРЛ без активирующих мутаций с высокой экспрессией PD-L1 (табл. 1).

Клиническое исследование 3 фазы KEYNOTE-042 привело к одобрению пембролизумаба для PD-L1-позитивного прогрессирующего НМРЛ с любым уровнем экспрессии PD-L1. Протокол KEYNOTE-042 представляет собой рандомизированное открытое международное двойное слепое исследование иммунотерапии пембролизумабом по сравнению со стандартной химиотерапией у пациентов с нелеченым метастатическим PD-L1-позитивным (TPS \geq 1 %) НМРЛ. Больные начавшие лечение показали существенно более длительную ОБ в группе получавших пембролизумаб по сравнению с химиотерапией в первой линии во всех PD-L1 положительных группах: PD-L1 TPS \geq 50 % – HR 0,69, 95 % [CI] 0,56-0,85, $p=0,0003$; PD-L1 TPS \geq 20 % – HR 0,77, 95 % [CI] 0,6-0,92, $p=0,002$ и PD-L1 TPS \geq 1 % – HR 0,81, 95 % [CI] 0,71-0,93, $p=0,0018$ [10]. Медиана ОБ составила 17,7 мес. в группе пембролизумаба против 12,2 мес. в группе

химиотерапии; среди больных с PD-L1 TPS \geq 50 % медиана ОБ достигла 17,7 мес. против 16,7 мес. в группе с PD-L1 TPS \geq 20 % и против 12,1 мес. в группе с PD-L1 TPS \geq 1 %, соответственно [10].

Показано, что курящие или бросившие курить пациенты с прогрессирующим не плоскоклеточным НМРЛ, получавшие ниволумаб, имели лучшие показатели ОБ по сравнению с некурящими больными [12]. Два исследования связали анамнез курения с повышением TPS PD-L1 [11, 12]. Группа пациентов с геном никотиновой зависимости имела более высокий уровень объективного ответа – 56 % по сравнению с группой больных без такового – 17 % ($p=0,03$) [12]. Кроме того, клиническое исследование KEYNOTE-024 продемонстрировало увеличение выживаемости при отказе от курения во время иммунотерапии [5].

В большинстве клинических исследований иммунотерапии ИИТ при EGFR- и ALK-негативном прогрессирующем НМРЛ, высокие уровни экспрессии PD-L1 коррелировали с лучшими показателями ОБ, PFS и частотой объективных ответов на лечение по сравнению с химиотерапией в первой линии [9, 13]. Тем не менее, для пациентов с метастатическим НМРЛ, заболевание у которых прогрессировало на платиносодержащей двухкомпонентной химиотерапии, как ниволумаб, так и атезолизумаб, одобрены во второй линии независимо от экспрессии PD-L1 [14-17].

Микросателлитная нестабильность и MMR-дефицитные злокачественные опухоли

Дефектный процесс репарации ДНК, как известно, приводит к гипермутационному геномному статусу, иначе называемому высокой нестабильностью микросателлитов (MSI-H). Белки репарации ДНК (mismatch repair, MMR) представлены mutL homolog 1 (MLH1), MutS homolog 2 (MSH2), mutS homolog 6

Таблица 1. Одобренные биомаркеры для иммунотерапии ИИТ при НМРЛ

Биомаркеры, одобренные FDA	Лекарственный препарат	Результаты лечения	Доказательные клинические исследования
PD-L1 \geq 50 %	Пембролизумаб в первой линии против химиотерапии	Лучшие показатели ОБ и PFS в группе пембролизумаба	KEYNOTE-024 [9]
PD-L1 \geq 50 %	Пембролизумаб в первой линии	Лучшие показатели ОБ в группе пембролизумаба	KEYNOTE-042 [10]
MSI-H	Пембролизумаб при любом морфологическом подтипе	Улучшение показателей ответа на лечение, ОБ и PFS	D.T.Le et al, 2015 [22]

Примечание: MSI-H – microsatellite instability high.

(MSH6) и PMS1 Homolog 2 (PMS2). Инактивация любого из кодирующих данные белки генов в 80 % случаев происходит в результате соматических мутаций, а в 20 % является вторичной по отношению к герминальным мутациям, за которыми следует второе инактивирующее соматическое повреждение в оставшейся аллели дикого типа [18]. MMR-дефицитный колоректальный рак несет в 100 раз больше соматических мутаций, чем MMR-профицитные аденокарциномы. MMR-дефицитные раки и среди них НМРЛ имеют выраженные лимфоцитарные инфильтраты, которые коррелируют с иммунным ответом [19].

MSI-H опухоли обнаруживают повышенную регуляцию контрольных точек в микроокружении опухоли, включая PD1, PD-L1, lymphocyte activation gene 3 (LAG3) и indolamine 2,3-dioxygenase (IDO). Перечисленные контрольные точки, подавляющие активность CD8+цитотоксических Т-лимфоцитов, инфильтрирующих опухолевое микроокружение, обнаруживаются и при MMR-дефицитных злокачественных новообразованиях [20]. В клиническом исследовании 2 фазы проведено сравнение результатов терапии больных MMR-дефицитными и MMR-профицитными солидными опухолями, включая НМРЛ, получавшими пембролизумаб. Полноэкзомное секвенирование (WES – whole-exome sequencing) обнаружило приблизительно 1782 соматических мутации на опухоль у пациентов с MMR-дефицитным раком и в среднем 73 мутации на опухоль у пациентов с MMR-профицитным раком ($p=0,007$). Наблюдаемый уровень объективного ответа составил 39,6 % в когорте из 149 пациентов с 15 различными солидными опухолями, в том числе и НМРЛ, из которых 7 % имели полный ответ. Четверо из 10 больных с MMR-дефицитным колоректальным раком ответили на иммунотерапию пембролизумабом (табл. 1) [21].

На основании обсуждаемого исследования пембролизумаб одобрен FDA для лечения взрослых и детей больных нерезектабельными или метастатическими, MSI-H- позитивными или MMR-дефицитными солидными опухолями, которые не имеют альтернативных вариантов лечения после прогрессирования [19].

Мутационная нагрузка опухоли

TMB представляет собой совокупность соматических несинонимичных мутаций: инсерций, делеций и замен белок-кодирующих оснований в кодирующей области опухолевого генома. Повышенная мутационная нагрузка является результатом воздействия курения, радиации, ультрафиолетовых лучей и других экологических и пищевых факторов, которые приводят к воспалению. Выдвинуто предположение о том, что высокая TMB усиливает иммуногенность за счет увеличения количества неоантигенов, экспрессируемых раковыми клетками, которые распознаются Т-лимфоцитами как чужеродные, вызывая более сильный иммунный ответ в присутствии ИИТ (табл. 2) [22, 23].

TMB измеряется различными методами, включая полноэкзомное секвенирование (WES – whole-exome sequencing) и таргетные панели next-generation sequencing (NGS). Использование WES для определения TMB у больных НМРЛ выявило связь между более высокой нагрузкой соматическими несинонимичными мутациями и клинической эффективностью пембролизумаба в 2 различных группах пациентов [24]. В группе с высокой TMB, состоящей из 16 больных с преимущественной продолжительностью клинического ответа более 6 мес., среднее число несинонимичных мутаций, составило 302 против 148 для группы с коротким ответом ($p=0,02$). У больных с высокой нагрузкой опухолей несинонимичными мутациями наблюдали увеличение уровня объективного

Таблица 2. Потенциальные биомаркеры для иммунотерапии ИИТ при НМРЛ

Исследуемые биомаркеры	Лекарственный препарат	Результаты лечения	Доказательные клинические исследования
Высокая TMB	Ниволумаб Ипилимумаб	Улучшение показателей ORR, PFS	CheckMate-227 [25] CheckMate-026 [23]
Мутация STK11/LKB1	Анти-PD-1 или анти-PD-L1 антитела или комбинация анти-PD-L1 с анти-CTLA-4 антителами	Более короткая PFS	SU2C и CheckMate-057 [28]
HLA class I allele C03:04	ИИТ	Более короткая PFS	M.V.Negrão et al, 2019 [32]
Приобретенная потеря бета-2-микроглобулина	Комбинация анти-PD-L1 с анти-CTLA-4 антителами	Резистентность к ИИТ	S.Gettinger et al, 2017 [31]

ответа до 63 % против его полного отсутствия ($p=0,03$) и показателей выживаемости до прогрессирования с медианой 14,5 против 3,7 мес. (HR 0,19, 95 % CI 0,05-0,70; $p=0,01$) [24]. Независимая совокупность из 18 образцов НМРЛ от пациентов, получавших пембролизумаб, образовала валидационную группу. Средняя нагрузка несинонимичными мутациями составила 244 в опухолях пациентов с длительным клиническим ответом по сравнению со 125 в опухолях без такового ($p=0,04$). Достоверно более продолжительная PFS наблюдалась у больных с несинонимичной мутационной нагрузкой выше 200: у них медиана PFS не достигнута против 3,4 мес. в группе с низкой ТМВ (HR 0,15, 95 % CI 0,04-0,59; $p=0,006$) [24].

Впоследствии в рамках исследования CheckMate-026, ТМВ рассчитывалась с помощью WES опухоли и сопоставлялась с ДНК крови у 312 пациентов. Больные были распределены на три группы в соответствии со значениями ТМВ. ТМВ от 0 до менее 100 мутаций считалась низкой нагрузкой, от 100 до 242 мутаций – средней нагрузкой и от 243 или более мутаций – высокой нагрузкой. Пациенты с высокой ТМВ, получавшие ниволумаб, имели более высокие показатели объективного ответа – 47 % против 28 % и более длительную PFS с медианой 9,7 мес. против 5,8 мес. по сравнению с больными, получавшими химиотерапию [23].

CheckMate-227 – открытое клиническое исследование 3 фазы сравнивало результаты иммунотерапии ниволумабом, ниволумабом в сочетании с ипилимумабом – anti-cytotoxic T lymphocyte-associated protein (CTLA-4-4, анти-CTLA-4 антителом) и ниволумабом в комбинации с платиносодержащей двухкомпонентной химиотерапией больных НМРЛ IV стадии. ТМВ рассчитывали с помощью таргетной панели NGS после применения различных фильтров и, в итоге, делили на подсчитанную область (0,8 Mb) для вычисления количества мутаций на мегабазу. Среди пациентов, отобранных по ТМВ, заранее заданная точка отсчета ТМВ из 10 мутаций на мега базу выбрана для предварительного изучения эффективности в группе комбинированной иммунотерапии ниволумабом и ипилимумабом в сравнении с химиотерапией. Больные, получавшие комбинированную иммунотерапию анти-PD-1 и анти-CTLA-4 антителами имели более высокий уровень объективного ответа – 45,3 % против 26,9 % у тех, кто лечился химиотерапией. Медиана PFS составила 7,2 мес. при применении ниволумаба и ипилимумаба против 5,5 мес. при химиотерапии (HR – 0,58; 97,5 % [CI] 0,41-0,81; $p<0,001$), а 1-летняя PFS:

42,6 % против 13,2 %, соответственно [25].

Установлено, что ТМВ, рассчитанная с помощью Memorial Sloan Kettering-Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets (MSK-IMPACT) клинической диагностической платформы для молекулярной онкологии солидных опухолей на основе NGS, предсказывает выживаемость после иммунотерапии при нескольких видах рака. В исследование включены и 350 больных НМРЛ, получивших терапию ИИТ. Точка отсчета, определенная 30 % нормализованной мутационной нагрузкой MSK-IMPACT для НМРЛ, составила 10,8 мутации на мегабазу. Пациенты данной группы имели лучшую ОВ (HR 0,75; $p<0,032$) [26].

Таким образом, ТМВ является новым биомаркером, который, как показано в нескольких клинических исследованиях, предсказывает ответ на иммунотерапию ИИТ. Более высокая ТМВ опухоли, по всей видимости, увеличивает вероятность того, что иммуногенные неоантигены вызывают выраженный противоопухолевый ответ. В настоящее время необходима гармонизация методов измерения ТМВ для применения биомаркера в клинической практике с целью оптимального подбора больных, которые получают пользу от назначения иммунотерапии.

Опухоль инфильтрирующие лимфоциты

Инфильтрация опухоли лимфоцитами коррелирует с лучшей выживаемостью больных, перенесших хирургическое лечение. В исследовании Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation Biomarker (LACE Bio), включавшем пациентов с локализованным НМРЛ изучалась степень инфильтрации опухоли лимфоцитами исходя из критерия «интенсивная или неинтенсивная», причем первичной конечной точкой выбрана ОВ, а вторичной конечной точкой – безрецидивная выживаемость. Интенсивная лимфоцитарная инфильтрация определялась как более чем 50 % лимфоцитов в объеме опухолевой ткани сравнительно с эпителиальными опухолевыми клетками. Исследование установило лимфоцитарную инфильтрацию опухоли как независимый прогностический фактор, предсказывающий более длительную ОВ больных, удаленные опухоли которых имели интенсивную лимфоцитарную инфильтрацию [27].

Вышеупомянутая эффективность ИИТ при MMR-дефицитных и MSI-H опухолях не в последнюю очередь связана с их высокой лимфоцитарной инфильтрацией. Однако, важно не только общее

количество лимфоцитов, но и их субпопуляционный состав и функциональная активность. Так, инфильтрация CD8+ лимфоцитами ассоциирована с положительным эффектом иммунотерапии, а накопление в опухоли Tregs клеток является неблагоприятным предикторным признаком. Как показано на экспериментальных моделях, их удаление с помощью антител к CD25 перед применением анти-PD-1 антител приводит к усилению противоопухолевого ответа и в дальнейшем, может быть, одной из терапевтических стратегий [28].

Ген STK11/LKB1

Ген STK11/LKB1 (Serine/threonine-protein kinase/liver kinase B1) является опухолевым геном-супрессором, инактивированным, приблизительно в одной трети KRAS-мутантного НМРЛ, играющим ключевую роль в первичной резистентности НМРЛ к ИИТ. Ген STK11/LKB1 кодирует серин-треонин киназу, которая при инактивации мутационными или немутационными механизмами влияет на иммунное микроокружение опухоли, приводя к снижению количества опухоль-инфильтрирующих цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов как в опухолях человека, так и в генно-инженерных мышиных моделях [29]. На мышях с нокаутированным геном STK11/LKB1 показано повышенное накопление маркеров истощения Т-клеток и усиление продукции интерлейкина-6 опухолевыми клетками, приводящая к рекрутированию миелоидных клеток и нейтрофилов с супрессивными свойствами в отношении Т-лимфоцитов. Истощение нейтрофилов и нейтрализация интерлейкина-6 в мышиных моделях с потерей STK11/LKB1 усиливала функцию и увеличивала количество Т-лимфоцитов в опухоли [30]. STK11/LKB1 является восходящим активатором аденозин трифосфат-активированной протеин киназы (АМРК) сигнального пути, который, будучи неактивным, не может блокировать сигнальный путь mTOR (mammalian target of rapamycin) или индуцировать митохондриальную аутофагию. Активированный сигнальный путь mTOR в конечном счете приводит к росту опухолевых клеток. Повторная индукция LKB1 восстанавливала уровень экспрессии PD-L1 на поверхности опухолевых клеток, стимулируя хемотаксис Т-лимфоцитов [31].

Ретроспективные клинические исследования SU2C и CheckMate-057 двух различных групп больных показали, что альтерация гена STK11/LKB1 в аденокарциномах легкого делает их менее чув-

ствительными к иммунотерапии ИИТ с достоверным снижением уровня объективного ответа, PFS ($p < 0,001$) и ОВ ($p = 0,0015$) по сравнению с аденокарциномами легкого с мутациями KRAS при STK11/LKB1 дикого типа [29].

HLA I класса

HLA (human leukocyte antigen) I класса играет важную роль в противоопухолевом иммунном ответе, и, как считается, приводит к увеличению шансов презентации иммуногенного антигена и вероятности ответа на ИИТ. Главный комплекс гистосовместимости I (МНС-I) у человека представлен классическими молекулами HLA-A, HLA-B и HLA-C. Снижение экспрессии бета-2-микроглобулина, который является компонентом МНС-I, описано как механизм приобретенной резистентности к иммунотерапии ИИТ [32]. Однако недавнее исследование, проведенное в MD Anderson Cancer Center, в котором сравнивались 3 различных группы пациентов с прогрессирующим НМРЛ, получавших анти PD-1/PD-L1 иммунотерапию, не выявило различий в результатах в зависимости от HLA статуса. В исследовании оценивалась экспрессия PD-L1, TMB, HLA генотип, мутационный статус и наличие мутаций STK11; все перечисленные биомаркеры соотносились с результатами лечения. После проведения HLA-типирования определены 2 группы: HLA-гетерозиготные, при гетерозиготности больных по всем классам HLA и гомозиготные, при гомозиготности по крайней мере 1 локуса HLA I класса. HLA-A и HLA-B были сгруппированы в супертипы. Статистически значимой разницы в PFS между гетерозиготными и гомозиготными HLA пациентами не обнаружено [33].

В последние годы рассматривается роль неклассических молекул главного комплекса гистосовместимости, среди которых особое внимание привлекает HLA-G. Он экспрессируется на ряде клеток, в том числе, на опухолевых и проявляет иммуносупрессивное действие, взаимодействуя с ингибирующими рецепторами ILT2 и ILT4, экспрессированными на многих клетках иммунной системы (NK, Т, В, DC). Эти рецепторы связываются с HLA-G в 3-4 раза сильнее, чем с классическими МНС I, что указывает на ведущую роль такого взаимодействия в регуляции активности Т-клеток и антиген-презентирующих клеток. Кроме того, ILT2 и ILT4 рецепторы конкурируют с CD8+ лимфоцитами за связывание с МНС I, следствием чего является угнетение их цитотоксичности [34]. Такие особенности микроокружения опухоли могут отразиться на эффекте ИИТ.

Прогностическая мультиомическая модель

Учитывая сложность взаимодействия иммунной системы и опухоли, вполне вероятно, что одного биомаркера будет недостаточно для определения тактики лечения, поэтому может потребоваться использование сочетания биомаркеров. Обнаружено, что тривариантная мультиомическая модель, состоящая из TMB, eCD8T (estimated CD8+T-cell abundance) и fPD1 (fraction of high PD-1 messenger RNA) улучшает возможности прогнозирования ответа на иммунотерапию ИИТ при различных типах злокачественных опухолей [35]. TMB и уровень объективного ответа на анти-PD-1/PD-L1 терапию имеют высокую и статистически значимую корреляцию, eCD8T также характеризуется сильной положительной корреляцией с уровнем объективного ответа. Большинство типов злокачественных опухолей с более высокой частотой объективного ответа, чем предсказанная регрессионной моделью TMB, имеют более высокие уровни eCD8T и наоборот. Интеграция TMB и eCD8T моделей заметно улучшила предсказание ответа, демонстрируя существенно улучшенную функцию правдоподобия по сравнению с одномерными моделями ($p < 0,001$) [35]. Добавление fPD1 к двумерной модели TMB – eCD8T показало, что полученная трехмерная регрессионная модель обладает значительно лучшей точностью прогнозирования ($p < 0,02$). Подтипы злокачественных опухолей с более высоким уровнем ответов, чем предсказанный бивариантной прогностической моделью, имеют и более высокие уровни fPD1, а те, у которых регистрируются низкие уровни ответа, характеризуются и более низкими уровнями fPD1 [35].

Мутационный статус НМРЛ

Опухоли больных драйверным НМРЛ дают разные ответы на иммунотерапию ИИТ. Например, известно, что опухоли, несущие мутацию гена EGFR, характеризуются обратной связью с экспрессией PD-L1, низкой TMB, отсутствием Т-лимфоцитарной инфильтрации и сниженным соотношением PD-L1+/CD8+опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов ($p = 0,034$) [36]. В перспективном исследовании 2 фазы эффективности пембролизумаба у пациентов с EGFR-мутантным НМРЛ объективных ответов на терапию ИИТ при активирующих мутациях EGFR не наблюдалось [37].

Международное ретроспективное исследование IMMUNOTARGET изучило данные 551 больного с драйверными мутациями, включая KRAS, EGFR, ALK, ROS1, BRAF, RET, амплификацию MET и активиру-

ющую мутацию HER2. Анти-PD-1 антитела получали 94 % больных и анти-PD-L1 антитела 6 %. Только 5 % пациентов получали ИИТ в первой линии терапии и 40 % во второй линии; остальным иммунотерапия проведена в качестве третьей линии и последующих линий. В процентном отношении экспрессия PD-L1 при драйверных мутациях выглядит следующим образом: HER2-0, EGFR – 3,5 %, ALK – 7,5 %, KRAS – 12,5 %, RET – 26 %, MET – 30 %, BRAF – 50 % и ROS1-90 %. Общий объективный ответ в зависимости от драйверной альтерации составил: KRAS – 26 %, BRAF – 24 %, ROS1 – 17 %, MET – 16 %, EGFR – 12 %, HER2 – 7 %, RET – 6 % и ALK – 0 %. Для больных KRAS-мутантным НМРЛ не установлено никакой разницы в PFS между подтипами мутации KRAS. Однако PD-L1 позитивность статистически достоверно коррелировала с более длительной медианой PFS: 7,2 мес. против 3,9 мес. ($p = 0,01$). Больные BRAF мутантным и HER2-мутантным НМРЛ курильщики имели более длительную PFS по сравнению с никогда не курившими: 4,1 мес. против 1,9 мес. ($p = 0,03$) и 3,4 мес. против 2,0 мес. ($p = 0,04$), соответственно. PD-L1-позитивный драйверный НМРЛ со слиянием и реаранжировками ALK, ROS1 и RET не дал никакого ответа на иммунотерапию ИИТ, а медиана PFS у никогда не куривших равная 2,6 мес. оказалась немного продолжительнее по сравнению с курящими – 1,8 мес. ($p = 0,03$) [38].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время рассмотренные биомаркеры изучаются для определения взаимосвязи иммунотерапии с отдаленными результатами. Так высокая экспрессия PD-L1, высокая TMB и интенсивная инфильтрация опухоли CD8+Т-лимфоцитами ассоциируются с клинической эффективностью блокады иммунных контрольных точек. Экспрессия PD-L1 в свою очередь коррелирует с выраженностью инфильтрации Т-лимфоцитами и ОВ. Изучение композиции 3 биомаркеров предполагает высокий потенциал мультиомической модели для прогнозирования отдаленных результатов лечения больных, получающих иммунотерапию. Растворимые PD-L1 и TMB в крови тестируются в качестве биомаркеров для отбора кандидатов, которым показана иммунотерапия. Ещё более необходима идентификация биомаркеров приобретенной резистентности НМРЛ к блокаде ИИТ с целью выявления больных, нуждающихся в коррекции лечения для достижения наилучших результатов.

Участие авторов:

Харгаезов Д.А., Лазутин Ю.Н., Златник Е.Ю., Сагакянц А.Б. – научное редактирование.

Лазутин Ю.Н. – написание текста, обработка материала.

Мирзоян Э.А., Милакин А.Г., Статешный О.Н., Чубарян А.В., Лейман И.А. – сбор, анализ данных, техническое редактирование, оформление библиографии.

Список литературы

1. Kythreotou A, Siddique A, Mauri FA, Bower M, Pinato DJ. PD-L1. *J Clin Pathol*. 2018 Mar;71(3):189–194. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2017-204853>
2. Bustamante Alvarez JG, González-Cao M, Karachaliou N, Santarpia M, Viteri S, Teixidó C, et al. Advances in immunotherapy for treatment of lung cancer. *Cancer Biol Med*. 2015 Sep;12(3):209–222. <https://doi.org/10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0032>
3. Karwacz K, Bricogne C, MacDonald D, Arce F, Bennett CL, Collins M, et al. PD-L1 co-stimulation contributes to ligand-induced T cell receptor down-modulation on CD8+ T cells. *EMBO Mol Med*. 2011 Oct;3(10):581–592. <https://doi.org/10.1002/emmm.201100165>
4. Velcheti V, Patwardhan PD, Liu FX, Chen X, Cao X, Burke T. Real-world PD-L1 testing and distribution of PD-L1 tumor expression by immunohistochemistry assay type among patients with metastatic non-small cell lung cancer in the United States. *PLoS One*. 2018;13(11):e0206370. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206370>
5. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2016 Nov 10;375(19):1823–1833. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606774>
6. Ettinger DS, Aisner DL, Wood DE, Akerley W, Bauman J, Chang JY, et al. NCCN Guidelines Insights: Non-Small Cell Lung Cancer, Version 5.2018. *J Natl Compr Canc Netw*. 2018 Jul;16(7):807–821. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2018.0062>
7. Teixidó C, Vilariño N, Reyes R, Reguart N. PD-L1 expression testing in non-small cell lung cancer. *Ther Adv Med Oncol*. 2018;10:1–17. <https://doi.org/10.1177/1758835918763493>
8. Herbst RS, Baas P, Kim D-W, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han J-Y, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016 Apr 9;387(10027):1540–1550. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01281-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01281-7)
9. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Updated Analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer With PD-L1 Tumor Proportion Score of 50 % or Greater. *J Clin Oncol*. 2019 Mar 1;37(7):537–546. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00149>
10. Mok TSK, Wu Y-L, Kudaba I, Kowalski DM, Cho BC, Turna HZ, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2019 May 4;393(10183):1819–1830. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32409-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32409-7)
11. Pan Y, Zheng D, Li Y, Cai X, Zheng Z, Jin Y, et al. Unique distribution of programmed death ligand 1 (PD-L1) expression in East Asian non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis*. 2017 Aug;9(8):2579–2586. <https://doi.org/10.21037/jtd.2017.08.61>
12. Rangachari D, VanderLaan PA, Shea M, Le X, Huberman MS, Kobayashi SS, et al. Correlation between Classic Driver Oncogene Mutations in EGFR, ALK, or ROS1 and 22C3-PD-L1 ≥ 50 % Expression in Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2017 May;12(5):878–883. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.12.026>
13. Leighl NB, Hellmann MD, Hui R, Carcereny E, Felip E, Ahn M-J, et al. Pembrolizumab in patients with advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-001): 3-year results from an open-label, phase 1 study. *Lancet Respir Med*. 2019 Apr;7(4):347–357. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30500-9](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30500-9)
14. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Oct 22;373(17):1627–1639. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1507643>
15. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Jul 9;373(2):123–135. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1504627>
16. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*. 2016 Apr 30;387(10030):1837–1846. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00587-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00587-0)
17. Peters S, Gettinger S, Johnson ML, Jänne PA, Garassino MC, Christoph D, et al. Phase II Trial of Atezolizumab

As First-Line or Subsequent Therapy for Patients With Programmed Death-Ligand 1-Selected Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (BIRCH). *J Clin Oncol.* 2017 Aug 20;35(24):2781–2789. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.9476>

18. Subbiah V, Kurzrock R. The Marriage Between Genomics and Immunotherapy: Mismatch Meets Its Match. *Oncologist.* 2019 Jan;24(1):1–3.

<https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0519>

19. Marcus L, Lemery SJ, Keegan P, Pazdur R. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Microsatellite Instability-High Solid Tumors. *Clin Cancer Res.* 2019 Jul 1;25(13):3753–3758.

<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-4070>

20. Llosa NJ, Cruise M, Tam A, Wicks EC, Hechenbleikner EM, Taube JM, et al. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints. *Cancer Discov.* 2015 Jan;5(1):43–51.

<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-0863>

21. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med.* 2015 Jun 25;372(26):2509–2520.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500596>

22. Melendez B, Van Campenhout C, Rorive S, Rimmelink M, Salmon I, D'Haene N. Methods of measurement for tumor mutational burden in tumor tissue. *Transl Lung Cancer Res.* 2018 Dec;7(6):661–667. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2018.08.02>

23. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2017 Jun 22;376(25):2415–2426.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1613493>

24. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science.* 2015 Apr 3;348(6230):124–128.

<https://doi.org/10.1126/science.aaa1348>

25. Hellmann MD, Ciuleanu T-E, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N Engl J Med.* 2018 May 31;378(22):2093–2104.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801946>

26. Samstein RM, Lee C-H, Shoushtari AN, Hellmann MD, Shen R, Janjigian YY, et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. *Nat Genet.* 2019 Feb;51(2):202–206.

<https://doi.org/10.1038/s41588-018-0312-8>

27. Brambilla E, Le Teuff G, Marguet S, Lantuejoul S, Dunant A, Graziano S, et al. Prognostic Effect of Tumor Lymphocytic Infiltration in Resectable Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin*

Oncol. 2016 Apr 10;34(11):1223–1230.

<https://doi.org/10.1200/JCO.2015.63.0970>

28. Arce Vargas F, Furness AJS, Solomon I, Joshi K, Mekkaoui L, Lesko MH, et al. Fc-Optimized Anti-CD25 Depletes Tumor-Infiltrating Regulatory T Cells and Synergizes with PD-1 Blockade to Eradicate Established Tumors. *Immunity.* 2017 Apr 18;46(4):577–586.

<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.03.013>

29. Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawalt DM, Hellmann MD, Awad MM, Gainor JF, et al. STK11/LKB1 Mutations and PD-1 Inhibitor Resistance in KRAS-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discov.* 2018 Jul;8(7):822–835.

<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0099>

30. Koyama S, Akbay EA, Li YY, Aref AR, Skoulidis F, Herten-Sprue GS, et al. STK11/LKB1 Deficiency Promotes Neutrophil Recruitment and Proinflammatory Cytokine Production to Suppress T-cell Activity in the Lung Tumor Microenvironment. *Cancer Res.* 2016 Mar 1;76(5):999–1008.

<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1439>

31. Kitajima S, Ivanova E, Guo S, Yoshida R, Campisi M, Sundararaman SK, et al. Suppression of STING Associated with LKB1 Loss in KRAS-Driven Lung Cancer. *Cancer Discov.* 2019 Jan;9(1):34–45. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0689>

32. Gettinger S, Choi J, Hastings K, Truini A, Datar I, Sowell R, et al. Impaired HLA Class I Antigen Processing and Presentation as a Mechanism of Acquired Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Lung Cancer. *Cancer Discov.* 2017 Dec;7(12):1420–1435. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-0593>

33. Negrao MV, Lam VK, Reuben A, Rubin ML, Landry LL, Roarty EB, et al. PD-L1 Expression, Tumor Mutational Burden, and Cancer Gene Mutations Are Stronger Predictors of Benefit from Immune Checkpoint Blockade than HLA Class I Genotype in Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2019 Jun;14(6):1021–1031.

<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.02.008>

34. Lu L, Wang L, Zhao L, He C, Wang G. The Role of HLA-G in Tumor Escape: Manipulating the Phenotype and Function of Immune Cells. *Front Oncol.* 2020;10:597468.

<https://doi.org/10.3389/fonc.2020.597468>

35. Lee JS, Ruppin E. Multiomics Prediction of Response Rates to Therapies to Inhibit Programmed Cell Death 1 and Programmed Cell Death 1 Ligand 1. *JAMA Oncol.* 2019 Nov 1;5(11):1614–1618.

<https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.2311>

36. Dong Z-Y, Zhang J-T, Liu S-Y, Su J, Zhang C, Xie Z, et al. EGFR mutation correlates with uninflamed phenotype and weak immunogenicity, causing impaired response to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Oncoimmunology.* 2017;6(11):e1356145.

<https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1356145>

37. Lisberg A, Cummings A, Goldman JW, Bornazyan K, Reese N, Wang T, et al. A Phase II Study of Pembrolizumab in EGFR-Mutant, PD-L1+, Tyrosine Kinase Inhibitor Naïve Patients With Advanced NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2018 Aug;13(8):1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.03.035>
38. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, Mhanna L, Cortot AB, Mezquita L, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol.* 2019 Aug 1;30(8):1321–1328. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz167>

Информация об авторах:

Харагезов Дмитрий Акимович – к.м.н., хирург, заведующий отделением торакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0640-2994>, SPIN: 5120-0561, AuthorID: 733789

Лазутин Юрий Николаевич – к.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела торакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6655-7632>, SPIN: 5098-7887, AuthorID: 364457

Златник Елена Юрьевна – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, SPIN: 4137-7410, AuthorID: 327457, Scopus Author ID: 6603160432

Сагакянц Александр Борисович – к.б.н., доцент, заведующий лабораторией иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>, SPIN: 7272-1408, AuthorID: 426904, ResearcherID: M-8378-2019, Scopus Author ID: 24329773900

Мирзоян Эллада Арменовна* – аспирант ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-9714>, SPIN: 2506-8605, AuthorID: 1002948

Милакин Антон Григорьевич – онколог отделения торакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2589-7606>, SPIN: 7737-4737, AuthorID: 794734

Статешный Олег Николаевич – онколог отделения торакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4513-7548>, SPIN: 9917-1975, AuthorID: 1067071

Чубарян Анна Васильевна – к.м.н., старший научный сотрудник, врач-онколог отделения торакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 7307-0670, AuthorID: 842662

Лейман Игорь Александрович – к.м.н., врач-онколог отделения торакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 2551-0999, AuthorID: 735699

ЗНАЧЕНИЕ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ МАННАНОВЫХ ТЕСТОВ В ДИАГНОСТИКЕ ИНВАЗИВНОГО КАНДИДОЗА У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

О.Ю.Куцевалова^{1*}, Ю.Ю.Козель¹, Н.Э.Нифантьев², А.В.Антонец^{2,3}, В.Б.Крылов²

1. ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
2. ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН, 119334, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский проспект, д. 47
3. ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, д. 29

РЕЗЮМЕ

За последние годы были интенсифицированы режимы противоопухолевой терапии и внедрены методы высокодозной химиотерапии (ВДХТ), что позволило достичь значимого прогресса в результатах лечения опухолевых процессов. Интенсификация режимов химиотерапии у онкологических больных приводит к возникновению факторов рисков развития инвазивного кандидоза (ИК): агранулоцитозу, нарушению целостности слизистых оболочек, длительному применению центральных венозных катетеров (ЦВК), повторной антибактериальной терапии, длительному парентеральному питанию. Таким образом, усиление противоопухолевой терапии может сопровождаться повышением инфекционно-опосредованной летальности.

Инвазивный кандидоз – самый распространенный микоз в России. Ежегодно в нашей стране возникает более 11 тысяч случаев ИК. Согласно данным многоцентровых исследований, частота ИК в России составляет 8,29 на 100 тысяч населения. В странах Европы, данный показатель варьируется от 2,2 до 11 на 100 тысяч населения. Не существует клинических признаков или симптомов, специфичных для инвазивного кандидоза который, как правило, развивается у пациентов на фоне сопутствующих заболеваний, что существенно затрудняет диагностику. В связи с этим актуальной задачей является улучшить диагностику кандидозных инфекционных осложнений у больных онкологического профиля для оптимизации лечения за счет исследования серологических маркеров, имеющих наибольшую диагностическую значимость в возникновении инфекционных осложнений у онкологических больных.

Ключевые слова:

инвазивный, кандидоз, кандидемия, онкология, *Candida spp.*, маннан.

Для корреспонденции:

Куцевалова Ольга Юрьевна – к.б.н., заведующая лабораторией клинической микробиологии, врач-бактериолог ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: Olga_kutsevalova@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7452-6994>

SPIN: 6271-1942, AuthorID: 363005

ResearcherID: AAM-9837-2020

Информация о финансировании: работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №19-73-30017).

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: автор выражает благодарность д.м.н., профессору, главному научному сотруднику лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Златник Е.Ю. за рецензирование статьи.

Для цитирования:

Куцевалова О.Ю., Козель Ю.Ю., Нифантьев Н.Э., Антонец А.В., Крылов В.Б. Значение разработки новых маннанных тестов в диагностике инвазивного кандидоза у онкологических больных. Южно-Российский онкологический журнал. 2021; 2(3): 42-47.

<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-5>

Получено 25.06.2021, Рецензия (1) 14.07.2021, Рецензия (2) 15.07.2021, Опубликовано 09.09.2021

THE IMPORTANCE OF DEVELOPING NEW MANNAN TESTS IN THE DIAGNOSIS OF INVASIVE CANDIDIASIS IN ONCOLOGY PATIENTS

O.Yu.Kutsevalova^{1*}, Yu.Yu.Kozel¹, N.E.Nifantiev², A.V.Antonets^{2,3}, V.B.Krylov²

1. National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation
2. N.D.Zelinsky Institute of Organic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 47 Leninsky Prospekt, Moscow 119334, Russian Federation
3. Rostov State Medical University, 29 Nakhichevsky lane, Rostov-on-don, 344022, Russian Federation

ABSTRACT

The regimens of anticancer therapy have been intensified and methods of high-dose chemotherapy (HDCT) have been introduced for recent years which made it possible to achieve significant progress in the results of tumor treatments. Intensification of chemotherapy regimens in cancer patients leads to the emergence of risk factors of invasive candidiasis (IC) development: agranulocytosis, disruption of the integrity of the mucous membranes, prolonged use of CVC, repeated antibiotic therapy, long-term parenteral nutrition. Thus, intensification of anticancer therapy may be accompanied by an increase in infection-mediated mortality.

IC is the most common invasive mycosis in Russia. More than 11 thousand cases of IC occur in our country every year. The frequency IC in Russia is 8.29 per 100 thousand of the population, which corresponds to the results of the LIFE study in European countries where this indicator varies from 2.2 to 11 per 100 thousand of the population. There are no clinical signs or symptoms specific for IC. It develops in patients with concomitant diseases, which significantly complicates the diagnosis. In this regard, an urgent issue is to improve the diagnosis of candidal infectious complications in cancer patients in order to optimize treatment by studying serological markers that have the greatest value in the diagnosis of infectious complications in cancer patients.

Keywords:

invasive, candidiasis, candidemia, oncology, *Candida spp*, mannan.

For correspondence:

Olga Yu. Kutsevalova – Cand. Sci. (Biol.), head of the laboratory of clinical Microbiology, bacteriologist National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: Olga_kutsevalova@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7452-6994>

SPIN: 6271-1942, AuthorID: 363005

ResearcherID: AAM-9837-2020

Information about funding: the study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (grant No. 19-73-30017).

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

Gratitude: the author expresses his gratitude to the Doctor of Medical Sciences, Professor, chief researcher of the Laboratory of Tumor Immunophenotyping National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Zlatnik E. Yu., for reviewing the article.

For citation:

Kutsevalova O.Yu., Kozel Yu.Yu., Nifantiev N.E., Antonets A.V., Krylov V.B. The importance of developing new mannan tests in the diagnosis of invasive candidiasis in oncology patients. South Russian Journal of Cancer. 2021; 2(3): 42-47. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-5>

АКТУАЛЬНОСТЬ

За последние годы были интенсифицированы режимы противоопухолевой терапии и внедрены методы высокодозной химиотерапии (ВДХТ), что позволило достичь значимого прогресса в результатах лечения опухолевых процессов [1]. Интенсификация режимов химиотерапии у онкологических больных приводит к возникновению факторов риска развития инвазивного кандидоза: агранулоцитозу, нарушению целостности слизистых оболочек, длительному применению центральных венозных катетеров (ЦВК), повторной антибактериальной терапии, длительному парентеральному питанию. Таким образом, усиление противоопухолевой терапии может сопровождаться повышением инфекционно-опосредованной летальности [1-2].

Инвазивный кандидоз – самый распространенный микоз в России. Ежегодно в нашей стране возникает более 11 тысяч случаев ИК [3]. Согласно данным многоцентровых исследований, частота ИК в России составляет 8,29 на 100 тысяч населения. В странах Европы, данный показатель варьируется от 2,2 до 11 на 100 тысяч населения [4]. Наиболее распространенными вариантами инвазивного кандидоза являются кандидемия, острый диссеминированный кандидоз и кандидозный перитонит; другие формы встречаются несколько реже [5].

По данным экспертной группы Российской ассоциации специалистов перинатальной медицины (РАСПМ), частота ИК у новорожденных в структуре инфекционно-воспалительных заболеваний составляет от 15 до 30 %. Частота возникновения ИК у новорожденных обратно пропорциональна сроку гестации и массе тела при рождении и составляет от 2,6 до 3,1 % у новорожденных с очень низкой массой тела ОНМТ и от 10 до 16 % у новорожденных с экстремально низкой массой тела [6].

Candida spp. являются возбудителями в 9-22 % случаев всех внутрибольничных инфекций. Частота инвазивного кандидоза у больных в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) варьируется от 0,3 до 10 % в зависимости от профиля отделений. Летальность при инвазивном кандидозе у больных в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) составляет 10-47 % [7-9].

В 2020 г. в связи распространением новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 стали появляться и систематизироваться сообщения о случаях ассоциированного с COVID-19 инвазивного

кандидоза (COVID-19 associated candidiasis – CAC). На сегодняшний день развитие острого респираторного дистресс-синдрома с сопутствующим риском развития суперинфекции и пребывание в ОРИТ выделяют в качестве главных факторов риска развития CAC [10].

ИК как правило развивается у пациентов на фоне сопутствующих заболеваний, что существенно затрудняет диагностику. Основными факторами риска развития ИК являются:

- хирургические абдоминальные вмешательства, в особенности, сопровождающиеся несостоятельностью анастомозов и повторными лапаротомиями;
- перфорация желудочно-кишечного тракта;
- пребывание в ОРИТ;
- химио- и радиотерапия у больных онкологического профиля;
- онкогематологические заболевания;
- множественная и длительная колонизация *Candida spp* (индекс колонизации >0,5 или скорректированный индекс колонизации >0,4);
- наличие центрального венозного катетера;
- полное парентеральное питание;
- применение антибактериальных средств широкого спектра действия;
- искусственная вентиляция легких;
- инфицированный панкреонекроз;
- гемо- и перитонеальный диализ;
- трансплантация органов и тканей;
- состояние недоношенности детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела;
- пребывание в ожоговых отделениях;
- сахарный диабет;
- ВИЧ-инфекция;
- иммунодефицитные состояния, в том числе обусловленные иммуносупрессивной терапией [6, 7, 11].

Не существует клинических признаков или симптомов, специфичных для инвазивного кандидоза. Следует заподозрить инвазивный кандидоз у пациентов с известными факторами риска: с лихорадкой неясного происхождения, не поддающейся терапии антибактериальными средствами [12].

Таким образом, большой контингент пациентов, подвергающихся риску ИК, изменение структуры возбудителей внутрибольничных инфекций, сопровождающейся со все возрастающей ролью грибковых патогенов, ростом резистентности к антимикотическим препаратам выводят проблему ди-

агностики инвазивных микозов на новый уровень. Своевременная диагностика ИК является ключом к обеспечению благоприятного исхода. Фактически, 1-2 дня задержки начала эффективной противогрибковой терапии удваивает риск смерти от ИК [13, 14].

Микробиологические методы и культуральное исследование крови остаются золотым стандартом диагностики инвазивного кандидоза, однако сложности культивирования *Candida spp.* при исследовании гемокультуры, а также длительное время роста делают этот метод недостаточно надежным [12]. Так, положительный результат гемокультуры наблюдается только у 21-71 % пациентов с подтвержденным на аутопсии инвазивным кандидозом в зависимости от частоты отбора проб и объема взятой крови [15].

Развитие дополнительных молекулярных и серологических методов для своевременной и точной диагностики ИК приобретает все большую актуальность.

Одними из первых были разработаны коммерческие ИФА-тест-системы, которые позволяют выявлять антиген маннан – основной компонент клеточной стенки *Candida spp.* и антитела к маннану, PLATELIA™ *Candida* Ag PLUS и PLATELIA™ *Candida* Ab PLUS (Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, Франция). Под эгидой Третьей Европейской конференции по Инфекционным заболеваниям при Лейкемии, проведен анализ характеристик данных тест-систем по результатам опубликованных исследований [16, 17]. Диагноз ИК в данном исследовании устанавливали в соответствии с рекомендациями 2008 года Европейской организации по исследованию и лечению рака и группы по изучению Микозов (European Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group) [18]. Были рассчитаны чувствительность и специфичность для отдельного определения маннанового антигена, маннанных антител и при сочетанном тестировании. Проанализированы данные 14 исследований (все исследования, за исключением одного, были ретроспективными). Общая численность составила 453 пациента и 767 контрольных случаев. В исследованиях выборка была представлена пациентами онкологических и онкогематологических отделений, отделений хирургии и реанимации. Чувствительность определения маннанового антигена составила 58 % (95 % доверительный интервал [ДИ], 53-62); специфичность – 93 % (95 % ДИ, 91-94). При определении маннанных антител чувствительность составила 59 % (95 % ДИ, 54-65); специфичность – 83 % (95 %

ДИ, 79-97). При сочетанном определении маннана и антител к нему, чувствительность составила 83 % (95 % ДИ, 79-87), специфичность – 86 % (95 % ДИ, 82-90). Отмечена значительная гетерогенность чувствительности при определении как маннана, так и маннанных антител для разных видов *Candida*. Самая высокая оказалась для *C. albicans*, а затем *C. glabrata* и *C. tropicalis* [18].

Однако в исследовании 2016 г. в том числе среди пациентов в ОРИТ с тяжелой абдоминальной патологией, комбинированное определение маннанового антигена и антител к маннановому антигену *Candida spp.* оказалось неэффективным (чувствительность 55 % и специфичность 60 %). Антитела часто присутствовали у иммунокомпрометированных пациентов с предшествующей кандидемией или колонизацией [19].

Таким образом, остается низкой прогностическая ценность обнаружения антител при однократном тестировании и отсутствии последующей детекции их нарастающей концентрации. Это наблюдение и необъяснимая вариабельность тестов в различных исследованиях являются важным предостережением для врачей, так как недостоверность результатов лабораторной диагностики может привести к необоснованному назначению противогрибковых препаратов пациентам, кандидоз у которых маловероятен [20, 21].

Согласно обновленному в 2016 г. Руководству по клинической практике ведения ИК Американского общества инфекционных болезней (Infectious Diseases Society of America) роль существующих тестов для определения маннана *Candida spp.* и антител к маннану остается неясной. Эти тесты не одобрены FDA США и доступны главным образом в Европе, где разрешено их применение [22]. В то же время, ряд отечественных клинических рекомендаций говорит о возможности использования тестов для определения маннана и антител к маннану [6, 7, 23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие дополнительных молекулярных и серологических методов для своевременной и точной диагностики приобретает все большую актуальность. В сложившейся ситуации требуется поиск биомаркеров, которые бы явились объективной и надежной возможностью быстрого реагирования клинициста на возможное развитие тяжелого инфекционного осложнения [24-25]. Изучение струк-

туры углеводных антигенов грибковых патогенов является ключевым звеном в успешной разработке более валидных диагностических тестов. Применение тестов для определения маннана *Candida spp.*

и антител к маннану поможет ускорить диагностику и уточнить этиологический фактор жизнеугрожающих инфекционных осложнений.

Участие авторов:

Куцевалова О.Ю. – концепция и дизайн исследования, написание текста, обработка материала.

Козель Ю.Ю. – научное редактирование.

Нифантьев Н.Э. – научное редактирование.

Антонец А.В. – сбор, анализ и интерпретация данных.

Крылов В.Б. – сбор, анализ и интерпретация данных.

Список литературы

1. Диникина Ю.В., Шадринова О.В., Белогурова М.Б., Игнатьева С.М., Богомолова Т.С., Клишко Н.Н. Инвазивный кандидоз на фоне антифунгальной профилактики у ребенка с саркомой Юинга: описание клинического случая и обзор литературы. Онкогематология 2019;14(4):59–66. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2019-14-4-59-66>
2. Михалкина Е.В., Скачкова Л.С., Кит О.И., Фоменко Ю.А. Социально-экономические предикторы злокачественных новообразований. Журнал институциональных исследований. 2020;12(3):122–141. <https://doi.org/10.17835/2076-6297.2020.12.3.122-141>
3. Клишко Н.Н., Козлова Я.И., Хостелиди С.Н., Шадринова О.В., Борзова Ю.В., Васильева Н.В. Распространенность тяжелых и хронических микотических заболеваний в Российской Федерации по модели LIFE Program. Проблемы медицинской микологии. 2014;16(1):3–8. Доступно по: https://mycology.szgm.ru/files/MAPO_1_2014.pdf. Дата обращения: 16.05.2021
4. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. J Fungi (Basel). 2017 Oct 18;3(4):E57. <https://doi.org/10.3390/jof3040057>
5. Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden killers: human fungal infections. Sci Transl Med. 2012 Dec 19;4(165):165rv13. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004404>
6. Инвазивный кандидоз у новорожденных. Клинические рекомендации МЗ РФ. Москва, 2017, 34 с. Доступно по: https://dzhmao.ru/spez/klin_recom/neonatologiya/invaz-Kandidoz.pdf. Дата обращения: 16.05.2021
7. Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии: Российские рекомендации. Отв. ред. Н.Н. Клишко. 2-е изд. доп. и перераб. М.: Фармтек, 2015, 96 с. Доступно по: <http://nasci.ru/?id=2269&download=1>. Дата обращения: 16.05.2021
8. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis. 2004 Aug 1;39(3):309–17. <https://doi.org/10.1086/421946>
9. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumayati G, Kainer MA, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. N Engl J Med. 2014 Mar 27;370(13):1198–1208. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1306801>
10. Arastehfar A, Carvalho A, Nguyen MH, Hedayati MT, Netea MG, Perlin DS, et al. COVID-19-Associated Candidiasis (CAC): An Underestimated Complication in the Absence of Immunological Predispositions? J Fungi (Basel). 2020 Oct 8;6(4):E211. <https://doi.org/10.3390/jof6040211>
11. Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. N Engl J Med. 2015 Oct 8;373(15):1445–1456. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1315399>
12. Kutsevalova O, Antonets A, Kit O, Panova N, Lysenko I, Dmitrieva V, Pak E, Kozyuk O, Marykov E, Klyasova G. New approaches to the verification of bacterial and candidal bloodstream infection. J. Fungi. 2019 Dec;5(4):208–210. <https://doi.org/10.3390/jof5040095>
13. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. Antimicrob Agents Chemother. 2005 Sep;49(9):3640–3645. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.9.3640-3645.2005>
14. Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. Clin Infect Dis. 2006 Jul 1;43(1):25–31. <https://doi.org/10.1086/504810>
15. Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the “missing 50%” of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient

care. Clin Infect Dis. 2013 May;56(9):1284–1292.

<https://doi.org/10.1093/cid/cit006>

16. Колупаев В.Е., Соколинская И.Ю. Роль определения маннанового антигена и антител к маннану в диагностике инвазивного кандидоза. Ремедиум Приволжье. 2015;4(134):34–35. https://www.remedium.ru/upload/iblock/023/Remedium_4.15%20SMALL.pdf

17. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C, Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. Crit Care. 2010;14(6):R222.

<https://doi.org/10.1186/cc9365>

18. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin Infect Dis. 2008 Jun 15;46(12):1813–1821. <https://doi.org/10.1086/588660>

19. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Castro C, Loza A, Zakariya I, et al. Contribution of Candida biomarkers and DNA detection for the diagnosis of invasive candidiasis in ICU patients with severe abdominal conditions. Crit Care. 2016 May 16;20(1):149. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1324-3>

20. Verduyn Lunel FM, Donnelly JP, van der Lee H. L, Blijlevens NMA, Verweij PE. Circulating Candida-specific anti-mannan antibodies precede invasive candidiasis in patients undergoing myelo-ablative chemotherapy. Clin Mi-

crobiol Infect. 2009 Apr;15(4):380–386.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02654.x>

21. Duettmann W, Koidl C, Krause R, Lackner G, Woelfler A, Hoenigl M. Specificity of mannan antigen and anti-mannan antibody screening in patients with haematological malignancies at risk for fungal infection. Mycoses. 2016 Jun;59(6):374–378. <https://doi.org/10.1111/myc.12482>

22. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2016 Feb 15;62(4):e1-50. <https://doi.org/10.1093/cid/civ933>

23. Чарушина И.П., Фельдблюм И.В., Воробьева Н.Н., Баландина С.Ю., Кузнецова М.В., Варецкая Т.А. Инвазивный кандидоз у ВИЧ-инфицированных пациентов. Федеральные клинические рекомендации. М., 2017, 46 с. <http://nasci.ru/?id=2883>

24. Носкова О.А., Агапова Е.Д., Батурина Е.А., Гвак Г.В. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями в детском многопрофильном стационаре. Acta Biomedica Scientifica. 2019;4(5):122–126. <https://doi.org/10.29413/ABS.2019-4.5.19>

25. Гусаров В.Г., Лашенкова Н.Н., Петрова Н.В., Деметтиенко М.В., Шилкин Д.Н., Нестерова Е.Е. и др. Протоколы эмпирической антимикробной терапии как инструмент улучшения качества неотложной медицинской помощи пациентам с инфекцией в многопрофильном хирургическом стационаре. Медицинский алфавит. 2016;4(33(296)):24–28.

Информация об авторах:

Кучевалова Ольга Юрьевна* – к.б.н., заведующая лабораторией клинической микробиологии, врач-бактериолог ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7452-6994>, SPIN: 6271-1942, AuthorID: 363005, ResearcherID: AAM-9837-2020

Козель Юлия Юрьевна – д.м.н., профессор, заведующая отделением детской онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6681-3253>, SPIN: 6923-7360, AuthorID: 732882

Нифантьев Николай Эдуардович – член-корр. РАН, д.х.н., заведующий лабораторией химии гликоконъюгатов ФГБУН институт органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН, г. Москва, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0727-4050>, SPIN: 5160-0379, AuthorID: 49545, ResearcherID: O-6579-2015

Антонец Анна Валерьевна – к.м.н., врач-генетик ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация, научный сотрудник лаборатории химии гликоконъюгатов ФГБУН институт органической химии им. Н.Д.Зелинского, г. Москва, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8074-1890>, SPIN: 9450-9127, AuthorID: 917704

Крылов Вадим Борисович – к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории химии гликоконъюгатов ФГБУН института органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН, г. Москва, Российская Федерация. SPIN: 9750-0292, AuthorID: 153059

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ КАРДИОМАРКЕРОВ ПРИ РАЗВИТИИ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА НА ФОНЕ ХИМИОТЕРАПИИ БОЛЬНОГО РАКОМ ЯЗЫКА

Н.К.Гуськова*, Л.Ю.Владими́рова, Е.А.Сычева, А.А.Морозова, Д.А.Розенко, А.К.Донская, О.Н.Селютина, А.М.Скопинцев, Н.В.Голомеева

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности и инвалидизации во всем мире. Своевременная диагностика и внедрение новых эффективных методов лечения, включающих интенсивные схемы химиотерапии, значительно улучшили прогнозы выживаемости. Вместе с тем, применение химиотерапии увеличивает риск осложнений, к одним из которых относят химиотоксические кардиопатии. В этой связи актуально своевременное выявление и лечение осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы у пациентов, получающих курсы химиотерапии в комплексе с хирургическими методами лечения. В данной работе представлена оценка информативности изменений уровня отдельных кардиомамаркеров при развитии острого инфаркта миокарда на фоне химиотерапии больного раком языка с осложненным кардиологическим анамнезом. Пациент М., 45 лет поступил на оперативное лечение по поводу рака языка St. IVA, T4aN1M0, кл. гр.2. Выполнены плановые лабораторные и инструментальные исследования. Противопоказаний для проведения хирургического лечения не выявлено. Проведен предоперационный курс химиотерапии, на фоне которого у пациента отмечено ухудшение состояния с симптомами развития острой кардиопатии. В срочном порядке выполнены повторная ЭКГ, в результате которой установлен подъем сегмента ST в III, aVF, а также исследование концентрации кардиомамаркеров: высокочувствительного тропонина I, N-концевого пропептида натрийуретического гормона, креатинфосфокиназы MB, миоглобина, динамика изменения уровня которых указывала на развитие острого коронарного синдрома. Комплексное применение диагностических процедур, в числе которых немаловажное значение имело определение уровня кардиомамаркеров, позволило своевременно диагностировать развитие острого инфаркта миокарда 1 типа на фоне проведения предоперационного курса химиотерапии у больного раком языка. При анализе всего массива клинико-лабораторных данных ведущим инициирующим фактором, сыгравшим решающую роль в развитии инфаркта миокарда в данном случае, явился, на наш взгляд, предоперационный курс полихимиотерапии паклитакселом и карбоплатином, обладающими кардиотоксичностью. Таким образом, категория больных с исходным неблагоприятным фоном, обусловленным распространенным злокачественным процессом и наличием в анамнезе кардиодисфункции, требует более тщательной подготовки к проведению предоперационных курсов полихимиотерапии, включающей кардиотропную терапию с обязательным мониторингом уровня основных кардиомамаркеров. Наиболее показательными были изменения уровня тропонина I, креатинфосфокиназы MB, и миоглобина, которые регистрировались в первые часы развития инфаркта миокарда.

Ключевые слова:

инфаркт миокарда, кардиомамаркеры, тропонин I, креатинфосфокиназа MB, миоглобин, натрийуретический пропептид.

Для корреспонденции:

Гуськова Наиля Катифовна – к.б.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: guskova.nailya@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>

SPIN: 5407-6285, Author ID: 306979

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Гуськова Н.К., Владимиро́ва Л.Ю., Сычева Е.А., Морозова А.А., Розенко Д.А., Донская А.К., Селютина О.Н., Скопинцев А.М., Голомеева Н.В. Изменение уровня кардиомамаркеров при развитии острого инфаркта миокарда на фоне химиотерапии больного раком языка. Южно-Российский онкологический журнал. 2021; 2(3): 48-54. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-6>

Получено 08.06.2021, Рецензия (1) 17.07.2021, Рецензия (2) 28.07.2021, Опубликовано 09.09.2021

CHANGES IN THE LEVEL OF CARDIOMARKERS IN THE DEVELOPMENT OF ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION ON THE BACKGROUND OF CHEMOTHERAPY OF A PATIENT WITH TONGUE CANCER

N.K.Guskova*, L.Yu.Vladimirova, E.A.Sycheva, A.A.Morozova, D.A.Rosenko, A.K.Donskaya, O.N.Selyutina, A.M.Skopintsev, N.V.Golomeeva

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Cancer is one of the leading causes of death and disability worldwide. Timely diagnosis and the introduction of new effective treatments, including intensive radiation and chemotherapy regimens, have significantly improved survival forecasts in recent years. At the same time, the use of these types of treatment increases the risk of complications, one of which includes chemotoxic cardiopathies. In this regard, timely detection and treatment of complications from the cardiovascular system in patients receiving chemotherapy courses in combination with surgical methods of treatment is important. This paper presents an assessment of the significance of the use of cardiomarkers in the early diagnosis of acute myocardial infarction that developed during chemotherapy in a patient with tongue cancer with a complicated cardiac history. Patient M., 45 years old, was admitted for surgical treatment for cancer of the tongue St. IVA, T4aN1M0, cl. gr. 2. Planned laboratory and instrumental studies were performed. Contraindications for surgical treatment were not identified. A preoperative course of chemotherapy was performed, against the background of which the patient's condition worsened with symptoms of acute cardiopathy. A second ECG was urgently performed, as a result of which an increase in the ST segment in III, aVF was established, as well as a study of the concentration of cardiomarkers: highly sensitive troponin I, N-terminal propeptide of natriuretic hormone, creatine phosphokinase MB, myoglobin, the dynamics of changes in the level of which indicated the development of acute coronary syndrome. The complex application of diagnostic procedures, including the determination of the level of cardiomarkers, made it possible to timely diagnose the development of acute type 1 myocardial infarction in a patient with tongue cancer on the background of chemotherapy. When analyzing the entire array of clinical and laboratory data, the leading initiating factor that played a decisive role in the development of myocardial infarction in this case was, in our opinion, a preoperative course of polychemotherapy with paclitaxel and carboplatin, which have cardiotoxicity. Thus, the category of patients with an initial unfavorable background, due to a common malignant process and the presence of a history of cardiodysfunction, requires more careful preparation for preoperative courses of polychemotherapy, including cardiotropic therapy with mandatory monitoring of the level of the main cardiomarkers. The most significant changes were in the levels of creatine phosphokinase MB, troponin I, and myoglobin, which were recorded in the first hours of myocardial infarction. An association was found between an increase in troponin I concentration and an increase in the ST segment of the electrocardiogram.

Keywords:

myocardial infarction, cardiomarkers, creatine phosphokinase MB, myoglobin, troponin I, natriuretic propeptide.

For correspondence:

Nailya K. Guskova – Cand. Sci. (Biol.), head of clinical diagnostic laboratory, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line, Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: guskova.nailya@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>

SPIN: 5407-6285, Author ID: 306979

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Guskova N.K., Vladimirova L.Yu., Sycheva E.A., Morozova A.A., Rosenko D.A., Donskaya A.K., Selyutina O.N., Skopintsev A.M., Golomeeva N.V. Changes in the level of cardiomarkers in the development of acute myocardial infarction on the background of chemotherapy of a patient with tongue cancer. South Russian Journal of Cancer. 2021; 2(3): 48-54. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-3-6>

Received 08.06.2021, Review (1) 17.07.2021, Review (2) 28.07.2021, Published 09.09.2021

АКТУАЛЬНОСТЬ

Онкологические заболевания (ОЗ) являются одной из основных причин смертности и инвалидизации во всем мире [1, 2]. Однако в последние годы статистика смертности стала улучшаться за счет своевременной диагностики и внедрения новых эффективных методов лечения, которые значительно улучшили прогнозы выживаемости. Сюда относятся интенсивные схемы лучевой и химиотерапии. Однако применение данных видов лечения увеличивает риск осложнений, к которым относят и химиотоксические кардиопатии, включающие в себя дисфункцию миокарда, сердечную недостаточность, гипертонию, вазоспастическую и тромбоэмболическую ишемию, аритмии разного вида и внезапную сердечную смерть [3, 4]. В этой связи актуально своевременное выявление и лечение осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы (ССС) у больных, получающих курсы химиотерапии в комплексе с хирургическими методами лечения. В настоящее время диагностика нарушений деятельности ССС включает целый ряд исследований: инструментальные – электрокардиографический (ЭКГ), ультразвуковой (ЭхоКГ), кардиометрический (КМ), рентгенологический, магнитно-резонансная томография, позитронно-эмиссионная томография, катетеризация сердца и лабораторные – гематологические, биохимические, коагулологические, иммунохимические методы [5]. Особое место для раннего выявления нарушений деятельности ССС в условиях онкологических стационаров и отделений реанимации занимает определение уровня сердечных биомаркеров, таких как высокочувствительный тропонин I, N-концевой пропептид натрийуретического гормона, креатинфосфокиназа МВ, миоглобин [6].

Целью исследования явилась оценка информативности изменений уровня отдельных кардиомаркеров при развитии острого инфаркта миокарда на фоне химиотерапии больного раком языка с осложненным кардиологическим анамнезом.

Описание клинического случая

Пациент М. в возрасте 45 лет поступил в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в отделение опухолей головы и шеи 17.02.2021 г. для проведения оперативного лечения по поводу рака языка, St. IVA, T4aN1M0, кл. гр. 2. Из анамнеза: страдает ишемической болезнью сердца (стенокардия напряжения, II ФК), гипертонической болезнью II ст. Лечение не получал. Проведены плановые лабораторные и инструментальные исследования. Противопоказаний для проведения хирургического лечения и химиотерапии не выявлено.

18.02.2021 г. больной проконсультирован химиотерапевтом: рекомендован предоперационный курс полихимиотерапии (ПХТ) по схеме: карбоплатин АUC5 655 мг, паклитаксел 350 мг в/в капельно на фоне пре- и постмедикации дексаметазоном – 8 мг в/м, проведенный с 18.02.2021 г. по 24.02.2021 г. Введение препаратов перенес удовлетворительно, жалоб не предъявлял.

24.02.2021 г. в 9:15 выполнена плановая ЭКГ при подготовке к оперативному лечению: ритм синусовый, нормасистолия с ЧСС 61 уд/мин, нарушений ритма нет, гипертрофия миокарда левого желудочка с признаками перегрузки по систолическому типу.

В 16:00 отмечено ухудшение состояния, пациентом предъявлены жалобы на давящую боль за грудиной, слабость, липкий пот. Пациенту выполнена повторная ЭКГ. Установлен подъем сегмента ST в III, aVF. В связи с ухудшением состояния па-

Таблица 1. Результаты измерения уровня кардиомаркеров больного М. в динамике

Исследуемые показатели/ единицы измерения	Этапы проведения исследований		Референтные значения
	I	II	
Тропонин I, нг/мл	0,0	0,01	<0,03
N-концевой пропептид натрийуретического гормона, пг/мл	42,3	43,1	15–128,3
Миоглобин, нг/мл	30,5	47,4	8,95–48,8
Креатинфосфокиназа МВ, нг/мл	9,77	11,2	2,0–4,99

циент экстренно переведен в отделение анестезиологии и реанимации. В срочном порядке выполнены исследования уровня кардиомаркеров: высокочувствительного тропонина I (анализатор критических состояний Abbott i-STAT, США), N-концевого пропептида натрийуретического гормона, креатинфосфокиназы МВ, миоглобина (иммунохемилюминесцентный анализатор PATHFAST, Япония). Исследования проводились двукратно с интервалом в 40 мин. Результаты исследования уровня кардиомаркеров представлены в таблице 1.

При I-м исследовании, через 2 часа от момента предъявления пациентом жалоб, обратило на себя внимание повышение уровня креатинфосфокиназы МВ в 2 раза в сравнении с верхней границей референтного интервала. Однако изменений уровня остальных кардиомаркеров – тропонина I, N-концевого пропептида натрийуретического гормона и миоглобина – на этом этапе не отмечено.

Результаты II-го исследования продемонстрировали тенденцию к увеличению значений анализируемой группы показателей, за исключением N-концевого пропептида натрийуретического гормона. Так, отмечено повышение уровня тропонина I в пределах референтного интервала, концентрации креатинфосфокиназы МВ в 2,2 раза в сравнении с верхней границей референтного интервала и в 1,2 раза с ре-

зультатом I-ого исследования. Уровень миоглобина увеличился в пределах референтных значений, аналогично тропонину I, и в 1,6 раз был выше данных первого исследования. Повышение концентрации миоглобина на этом этапе наблюдения за пациентом может быть обусловлено расширением площади ишемических поражений миокарда. В целом динамика изменения уровней исследуемых маркеров указывала на развитие острого коронарного синдрома.

Полученные лабораторные данные соответствовали клиническому состоянию пациента, показаниям ЭКГ, выполненной после предъявления пациентом жалоб, и результатам кардиологического мониторинга, проводимого в условиях реанимации.

При ЭКГ выявлена отрицательная динамика в сравнении с исходным исследованием: синусовая брадикардия с ЧСС – 55 уд/мин. Подъем сегмента ST в отведениях II, III ст и aVF, выраженная депрессия сегмента ST I, aVL, V1 – V6 – (дискордантные изменения миокарда). Заключение: острое повреждение миокарда задне-нижних отделов левого желудочка (рис. 1).

По результатам кардиологического мониторинга, осуществляемого в отделении анестезиологии и реанимации, отмечалось сохранение подъемов ST зубцов в отведениях II, III ст и aVF, синусовая брадикардия с ЧСС – 54 уд/мин., что свидетель-

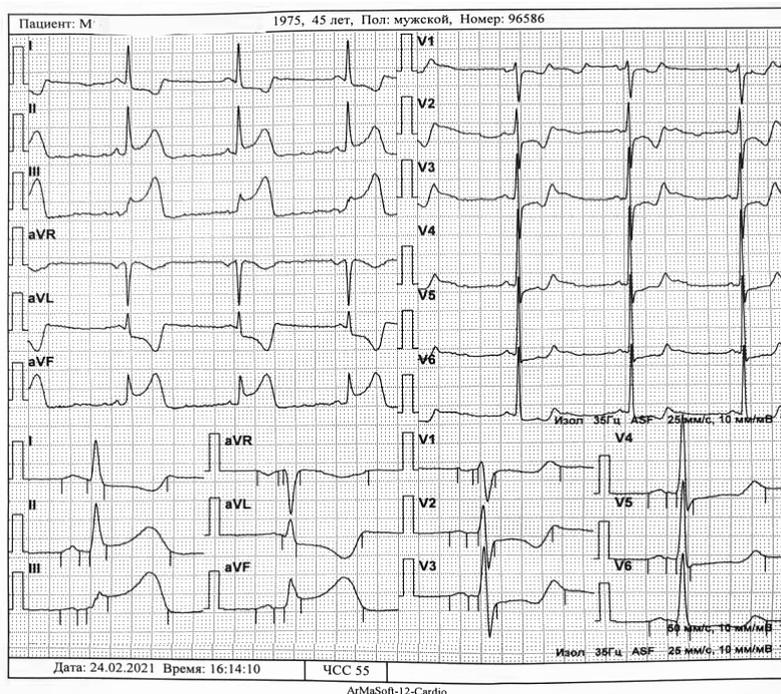


Рис. 1. ЭКГ больного М. с ярко выраженным подъемом сегмента ST в отведениях II, III ст и aVF.

ствовало о нарастании ишемических повреждений. Подъемы сегмента ST зубцов ассоциировались с изменениями уровня анализируемых кардиомаркеров, главным образом, креатинфосфокиназы МВ, тропонина I и миоглобина, что позволило в кратчайшие сроки установить диагноз острый инфаркт миокарда 1 типа. Выполнен комплекс лечебных мероприятий, приведших к улучшению состояния пациента: купированию болевого синдрома, стабилизации показателей гемодинамики, что дало возможность перевести больного для дальнейшего лечения и проведения чрезкожного хирургического вмешательства в кардиологическое отделение больницы скорой медицинской помощи. После проведенного лечения и реабилитации пациент продолжил лечение основного заболевания в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

ОБСУЖДЕНИЕ

В соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению острого инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы (МЗ РФ 2020 г.) первичная лечебная стратегия строится на основании клинической картины и ЭКГ. Для окончательного подтверждения диагноза необходимо определение кардиомаркеров. Описаны случаи наличия связи между изменениями сегмента ST электрокардиограммы и повышением концентрации тропонина I у больных с острым инфарктом миокарда и возможности оценивать объем некроза миокарда по степени изменения уровня тропонина I [7]. Тем не менее, несмотря на высокую специфичность, тропонина являются «поздними» маркерами некроза миокарда, пик роста регистрируется через 6-8 часов от начала заболевания, достигая максимума к 24 часам [8]. Известно также, что измерить в крови концентрацию тропонина крайне сложно, поскольку в норме она исключительно низка [9]. Поэтому регистрируемое в динамике повышение уровня тропонина I у пациента, не выходящее за пределы референтных границ, на наш взгляд, значимо, поскольку согласно имеющимся данным, даже самое незначительное повышение их уровня в крови опасно и может свидетельствовать об инфаркте миокарда [10].

Согласно международным рекомендациям для пациентов, поступивших в течение 6 часов с начала болевого синдрома, в дополнение к тропонину I, выполняют исследования раннего кардиомарке-

ра – креатинфосфокиназы МВ. Повышение уровня креатинфосфокиназы МВ в крови специфично для поражения миокарда [11]. В нашем наблюдении рост уровня показателя в крови пациента отмечен практически с момента предъявления жалоб.

Показана информативность применения миоглобина для исключения диагноза острого инфаркта миокарда [12]. Повышение миоглобина отмечается в течение первых 3,5 часов от начала приступа с максимумом значений к 6-12 часам и возвращением к исходному уровню в течение 24-36 часов [13], что объясняет отсутствие изменений уровня миоглобина у пациента при I-м исследовании. Однако уже через 40 мин. отмечен рост показателя в сравнении с исходным значением, что подтверждает целесообразность применения миоглобина в данном случае.

Таким образом, данные ЭКГ наряду с исследованием уровня креатинкиназы МВ, миоглобина, тропонина I позволили в кратчайший срок установить у пациента развитие острого инфаркта миокарда 1 типа. Вместе с тем, имеются данные, свидетельствующие о том, что N-концевой пропептид натрийуретического гормона, не являясь прямым показателем некроза, характеризует функциональные возможности миокарда [14], а также эффективен в оценке развития хронической сердечной недостаточности у онкологических больных на фоне химиотерапии [15] и в качестве фактора прогноза неблагоприятных исходов [16]. Отсутствие же изменений показателя в представленном случае не противоречит этим данным, но требует дополнительных наблюдений.

При анализе всего массива клинико-лабораторных данных ставился также вопрос о факторах, сыгравших решающую роль в развитии инфаркта миокарда. К одной из причин можно отнести исходный неблагоприятный фон, обусловленный распространенным злокачественным процессом и сопровождающийся раковой интоксикацией. Однако это имеет место у большинства онкологических больных. Ведущим иницирующим фактором явился, на наш взгляд, предоперационный курс полихимиотерапии паклитакселом и карбоплатином, обладающими кардиотоксичностью, основным механизмом которой является острый вазоспазм, ведущий к ишемическим осложнениям [17]. При этом отягощающим моментом, безусловно, могло служить наличие у пациента исходной кардиодисфункции, а именно ишемической болезни сердца, стабильной стенокардии напряжения, артериальной гипертензии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексное применение диагностических процедур, в числе которых немаловажное значение имело определение уровня кардиомаркеров, позволило своевременно диагностировать развитие острого инфаркта миокарда 1 типа у больного раком языка на фоне химиотерапии. Информативными, наряду с тропонином I, были изменения уровня креатинфосфокиназы МВ и миоглобина, ко-

торые регистрировались в первые часы развития инфаркта миокарда. Высокая чувствительность сердечно-сосудистой системы к лекарственной терапии, обусловленная опухолевой прогрессией, требует более тщательной подготовки пациентов к проведению предоперационных курсов полихимиотерапии, включающей кардиотропную терапию с обязательным мониторингом уровня основных кардиомаркеров, особенно у лиц с отягощенным кардиологическим анамнезом.

Участие авторов:

Гуськова Н.К. – концепция и дизайн исследования, систематизация и анализ полученных данных, написание текста рукописи, научное редактирование.

Владимирова Л.Ю. – анализ полученных данных, научное редактирование.

Сычева Е.А. – анализ полученных данных, консультация, написание текста рукописи.

Морозова А.А. – сбор клинического материала, систематизация и анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи.

Розенко Д.А. – анализ полученных данных, консультация.

Донская А.К. – анализ полученных данных, написание текста рукописи, консультация.

Селютина О.Н. – обработка материала, обзор публикаций по теме статьи, написание текста, техническое редактирование, оформление библиографии.

Скопинцев А.М. – сбор клинического материала, консультация.

Голомеева Н.В. – сбор клинического материала.

Список литературы

1. Информационные бюллетени порак за 2020 г. Международное агентство по изучению рака (МАИР). Доступно по: <http://www.iarc.fr>. Дата обращения: 20.04.2021
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А.Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2020, 239 с.
3. Каприн А.Д., Мацкеплишвили С.Т., Потиевская В.И., Поповкина В.И., Болотина Л.В., Шкляева А.В. и др. Сердечно-сосудистые заболевания у онкологических пациентов. Онкология. Журнал им. П.А.Герцена. 2019;8(2):139–147. <https://doi.org/10.17116/onkolog20198021139>
4. Кит О.И., Франциянц Е.М., Дженкова Е.А., Кательницкая О.В., Шихлярова А.И., Сагакянц А.Б. и др. Кардиотоксичность: вызов современной онкологии. *Cardiometry*. 2018;(13):8–14. <https://doi.org/10.12710/cardiometry.2018.13.814>
5. Прус Ю.А, Сергиенко И.В., Кухарчук В.В., Фомин Д.К. Кардиотоксичность, индуцированная химиотерапией и лучевой терапией. *Атеросклероз и дислипидемии*. 2017;(3(28)):56–72.
6. Кардиология. Национальное руководство. Под ред. Е.В. Шляхто. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2021, 800 с.
7. Стручко Г.Ю., Стоменская И.С., Кострова О.Ю., Василье-

8. Collet J, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, и др. Рекомендации ESC по ведению пациентов со стрым коронарным синдромом без стойкого подъема сегмента ST 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(3):4418. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4418>
9. Apple FS, Quist HE, Doyle PJ, Otto AP, Murakami MM. Plasma 99th percentile reference limits for cardiac troponin and creatine kinase MB mass for use with European Society of Cardiology/American College of Cardiology consensus recommendations. *Clin Chem*. 2003 Aug;49(8):1331–1336. <https://doi.org/10.1373/49.8.1331>
10. Clerico A, Vittorini S, Passino C, Emdin M. New and emerging biomarkers of heart failure. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2009;46(3):107–128. <https://doi.org/10.1080/10408360902722342>
11. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Clin Chem*. 2007 Apr;53(4):552–574. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.084194>

12. Залевская Н.Г. Современные методы лабораторного подтверждения инфаркта миокарда. Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2011;14(10(105)):260–267.
13. Vittorini S, Clerico A. Cardiovascular biomarkers: increasing impact of laboratory medicine in cardiology practice. Clin Chem Lab Med. 2008;46(6):748–763. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2008.188>
14. Куриляк М.М., Ожгибесова М.А., Ганеева Е.Р. Лабораторные маркеры повреждения миокарда в современной кардиологии. Научное обозрение. Педагогические науки. 2019;(5-3):85–89.
15. Гуськова Н.К., Владимиров Л.Ю., Тихановская Н.М., Сычева Е.А., Абрамова Н.А., Сторожакова А.Э. и др. Оценка кардиотоксичности антрациклинов в комплексном лечении больных раком молочной железы. Злокачественные опухоли. 2017;(3s1):73–178.
16. Федотова И.Н., Белопольский А.А., Стуров Н.В. Диагностическая значимость NT-proBNP у кардиологических больных. Трудный пациент. 2013;7(11):32–35.
17. Гендлин Г.Е., Емелина Е.И., Никитин И.Г., Васюк Ю.А. Современный взгляд на кардиотоксичность химиотерапии онкологических заболеваний, включающей антрациклиновые антибиотики. Российский кардиологический журнал. 2017;(3):145–154. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2017-3-145-154>

Информация об авторах:

Гуськова Наиля Катифовна* – к.б.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>, SPIN: 5407-6285, Author ID: 306979

Владимирова Любовь Юрьевна – д.м.н., профессор, руководитель отдела лекарственного лечения опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-6476>, SPIN: 4857-6202, AuthorID: 289090, ResearcherID: U-8132-2019, Scopus Author ID: 7004401163

Сычева Елена Александровна – к.м.н., врач-терапевт клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 7733-1591, AuthorID: 736653

Морозова Антонина Александровна – биолог клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3443-4694>

Розенко Дмитрий Александрович – к.м.н., заведующий отделения анестезиологии реанимации ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5563-484X>, SPIN: 4658-5058, Author ID: 917988

Донская Алия Катифовна – врач-радиотерапевт отделения радиотерапии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 9764-9563, AuthorID: 734505

Селютин Олеся Николаевна – биолог клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6762-0835>, SPIN: 4347-0302, Author ID: 759134

Скопинцев Александр Михайлович – врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии реанимации ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8834-4817>, SPIN: 3635-3780, AuthorID: 1096021

Голомеева Надежда Вячеславовна – биолог клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5009-5560>



Федеральное государственное бюджетное учреждение
**НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ОНКОЛОГИИ**
Министерства здравоохранения Российской Федерации

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
**Южно-Российский
онкологический журнал**

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL
South Russian Journal of Cancer

www.cancersp.com

