

ISSN 0321–3005

DOI 10. 23683/0321-3005

ИЗВЕСТИЯ
ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЙ

*Северо-Кавказский
регион*

ЕСТЕСТВЕННЫЕ

НАУКИ

2017

4-2

Журнал основан в 1972 г. Ю.А. Ждановым

Главная редакция:

В.И. Колесников (главный редактор)
В.Е. Закруткин, В.С. Золотарев, А.В. Павленко (заместители главного редактора),
Е.А. Шинкаренко (отв. секретарь)

Редакционная коллегия:

В.И. Колесников – главный редактор, академик РАН, доктор техн. наук, профессор, Ростовский государственный университет путей сообщения, Россия
В.Е. Закруткин – председатель редколлегии, доктор геол.-мин. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
В.А. Бабешко – академик РАН, доктор физ.-мат. наук, профессор, Кубанский государственный университет, Россия
Б.С. Карамурзов – доктор техн. наук, профессор, Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, Россия
Ю.Ф. Коробейник – доктор физ.-мат. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
А.Г. Кусраев – доктор физ.-мат. наук, профессор, Южный математический институт ВНЦ РАН, Россия
В.Г. Лобанов – доктор техн. наук, профессор, Кубанский государственный технологический университет, Россия
Г.Г. Матишов – академик РАН, доктор геол.-мин. наук, профессор, Южный научный центр РАН, Россия
В.И. Минкин – академик РАН, доктор хим. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
М.Х. Рабаданов – доктор физ.-мат. наук, профессор, Дагестанский государственный университет, Россия
Э.З. Эмирбеков – доктор биол. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
В.Н. Труфанов – зам. председателя редколлегии, доктор геол.-мин. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
А.В. Абанин – доктор физ.-мат. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
О.С. Безуглова – доктор биол. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
Н.И. Бойко – доктор геол.-мин. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
А.В. Бочкарев – доктор геол.-мин. наук, профессор, Российский государственный университет нефти и газа им. И.М. Губкина, Россия
В.В. Внуков – доктор биол. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
Л.С. Ворович – кандидат физ.-мат. наук, доцент, Южный федеральный университет, Россия
О.Н. Демина – доктор биол. наук, профессор, Карачаево-Черкесский государственный университет им. У.Д. Алиева, Россия
А.Г. Захаров – доктор техн. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
Я.М. Ерусалимский – зам. председателя редколлегии, кандидат физ.-мат. наук, доктор техн. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
М.И. Карякин – доктор физ.-мат. наук, доцент, Южный федеральный университет, Россия
С.Б. Климентов – доктор физ.-мат. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
С.И. Колесников – кандидат геогр. наук, доктор с.-х. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
Г.В. Куповых – доктор физ.-мат. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
С.В. Курбатов – доктор хим. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
А.М. Лерер – доктор физ.-мат. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
В.А. Миноранский – доктор с.-х. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
В.В. Онищенко – доктор геогр. наук, профессор, Карачаево-Черкесский государственный университет им. У.Д. Алиева, Россия
О.В. Назаренко – кандидат геогр. наук, доцент, Южный федеральный университет, Россия
Г.В. Пироговская – доктор с.-х. наук, профессор, Институт почвоведения и агрохимии НАН РБ, Белоруссия
В.С. Рабинович – доктор физ.-мат. наук, профессор, Национальный политехнический институт, Мексика
А.К. Сагателян – доктор геол.-мин. наук, Центр эколого-ноосферных исследований НАН РА, Армения
Э.С. Сианисян – доктор геол.-мин. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
Ю.А. Устинов – доктор физ.-мат. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
П. Фаталь – доктор наук, профессор, Университет Нанта, Франция
Ю.А. Федоров – доктор геогр. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
А.Д. Хованский – кандидат геол.-мин. наук, доктор геогр. наук, профессор, Южный федеральный университет, Россия
С.П. Чернышева – кандидат физ.-мат. наук, доцент Южный федеральный университет, Россия

Учредители:

Министерство образования и науки Российской Федерации, Дагестанский государственный технический университет, Дагестанский государственный университет, Донской государственный технический университет, Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, Кубанский государственный технологический университет, Кубанский государственный университет, Пятигорский государственный университет, Ростовский государственный университет путей сообщения, Ростовский государственный экономический университет, Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова, Северо-Кавказский федеральный университет, Южно-Российский государственный политехнический университет им. М.И. Платова, Южно-Российский институт управления РАНХ и ГС при Президенте РФ, Южный федеральный университет

Над номером работали: Л.С. Ворович, В.И. Литвиненко, О.В. Назаренко, Н.Г. Шатравкина, М.С. Шипитко

Подписано в печать 14.12.2017. Выход в свет 21.12.2017. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная.

Шрифт Times. Усл. печ. л. 16,61. Уч.-изд. л. 19,32. Тираж 250 экз. Заказ № 6103

Адрес редакции и издателя (для переписки): 344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Большая Садовая, 105/42,
ЮФУ, журнал «Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион», e-mail: izvestiya@sfedu.ru
Адрес в Интернете: www.izvestiya.sfedu.ru

Адрес редколлегии серии «Естественные науки»: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 200/1, корп. 2, к. 110,
тел.: +7 (863) 218-40-00 доб. 11-093; доб. 11-094.

Отпечатано в отделе полиграфической, корпоративной и сувенирной продукции
Издательско-полиграфического комплекса КИБИ МЕДИА ЦЕНТРА ЮФУ
344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 200/1, корп. 1, к. 104, тел. +7 (863) 247-80-51.

Journal was founded in 1972 by Yu.A. Zhdanov

Main Edition:

V.I. Kolesnikov (Editor-in-Chief)
V.E. Zakrutkin, V.S. Zolotarev, A.V. Pavlenko (Deputy Editor-in-Chief),
E.A. Shinkarenko (Assistant Editor)

Editorial Board:

V.I. Kolesnikov - Editor-in-Chief, Academician, Russian Academy of Sciences, Doctor of Technical Sciences, Professor, Rostov State Transport University, Russia
V.E. Zakrutkin - Chair of the Editorial Board, Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Southern Federal University, Russia
V.A. Babeshko - Academician, Russian Academy of Sciences, Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Kuban State University, Russia
B.S. Karamurzov - Doctor of Technical Sciences, Professor, Berbekov Kabardino-Balkarian State University, Russia
Yu.F. Korobeinik - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Southern Federal University, Russia
A.G. Kusraev - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Southern Mathematical Institute, Vladikavkaz Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Russia
V.G. Lobanov - Doctor of Technical Sciences, Professor, Kuban State Technological University, Russia
G.G. Matishov - Academician, Russian Academy of Sciences, Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Southern Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Russia
V.I. Minkin - Academician, Russian Academy of Sciences, Doctor of Chemistry, Professor, Southern Federal University, Russia
M.H. Rabadanov - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Dagestan State University, Russia
E.Z. Emirbekov - Doctor of Biology, Professor, Southern Federal University, Russia
V.N. Trufanov - Deputy Chair of the Editorial Board, Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Southern Federal University, Russia
A.V. Abanin - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Southern Federal University, Russia
O.S. Bezuglova - Doctor of Biology, Professor, Southern Federal University, Russia
N.I. Boiko - Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Southern Federal University, Russia
A.V. Bochkarev - Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Gubkin Russian State University of Oil and Gas, Russia
V.V. Vnukov - Doctor of Biology, Professor, Southern Federal University, Russia
L.S. Vorovich - Candidate of Physics and Mathematics, Associate Professor, Southern Federal University, Russia
O.N. Dyomina - Doctor of Biology, Professor, Aliev Karachay-Cherkess State University, Russia
A.G. Zakharov - Doctor of Technical Sciences, Professor, Southern Federal University, Russia
Ya.M. Erusalimsky - Deputy Chair of the Editorial Board, Candidate of Physics and Mathematics, Doctor of Technical Sciences, Professor, Southern Federal University, Russia
M.I. Karjakin - Doctor of Physics and Mathematics, Associate Professor, Southern Federal University, Russia
S.B. Klimentov - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Southern Federal University, Russia
S.I. Kolesnikov - Candidate of Geography, Doctor of Agricultural Science, Professor, Southern Federal University, Russia
G.V. Kupovykh - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Southern Federal University, Russia
S.V. Kurbatov - Doctor of Chemistry, Professor, Southern Federal University, Russia
A.M. Lerer - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Southern Federal University, Russia
V.A. Minoranskiy - Doctor of Agricultural Science, Professor, Southern Federal University, Russia
V.V. Onishchenko - Doctor of Geography, Professor, Aliev Karachay-Cherkess State University, Russia
O.V. Nazarenko - Candidate of Geography, Associate Professor, Southern Federal University, Russia
G.V. Pirogovskaya - Doctor of Agricultural Science, Professor, Institute of Soil Science and Agrochemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Belarus
V.S. Rabinovich - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, National Polytechnic Institute, Mexico
A.K. Saghatelyan - Doctor of Geology and Mineralogy, Center for Ecological and Noospheric Studies, National Academy of Sciences of Armenia, Armenia
E.S. Sianisyan - Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Southern Federal University, Russia
Yu.A. Ustinov - Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Southern Federal University, Russia
P. Fattal - PhD, Professor, University of Nantes, France
Yu.A. Fedorov - Doctor of Geography, Professor, Southern Federal University, Russia
A.D. Khovanskiy - Candidate of Geology and Mineralogy, Doctor of Geography, Professor, Southern Federal University, Russia
S.P. Chernysheva - Candidate of Physics and Mathematics, Southern Federal University, Russia

The Founders

Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Dagestan State Technical University, Dagestan State University, Don State Technical University, Berbekov Kabardino-Balkarian State University, Kuban State University, Kuban State Technological University, Pyatigorsk State University, Rostov State Transport University, Rostov State University of Economics, Khetagurov North Ossetian State University, North Caucasus Federal University, Platov South Russian State Technical University, South Russian Institute of Management, Russian Academy of National Economy and Public Administration of the President of the Russian Federation, Southern Federal University

Magazine released T.A. Vatulyan, L.S. Vorovich, V.I. Litvinenko, O.V. Nazarenko, N.G. Shatravkina, M.S. Shipitko

Signed print 14.12.2017. The publication 21.12.2017. Format 60×84 1/8. Offset paper. Font Times.
Conv. print. sheets 16,61. Publ. sign. 19,32. Edition 250 copies. Order number 6103.

Address of Editorial Board and the publisher (for correspondence): 344006, Rostov-on-Don, Bolshaya Sadovaya St., 105/42, SFU, journal "Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Severo-Kavkazskii region", e-mail: izvestiya@sfedu.ru
Web Address: www.izvestiya.sfedu.ru

Address of Editorial Board of the series "Natural Science": 344090, Rostov-on-Don, Stachki Ave, 200/1, build. 2, room 110, phone +7 (863) 218-40-00 ext. 11-093; ext. 11-094.

Printed in the printing department, and corporate souvenirs,
Publishing and printing complex KIBI MEDIA CENTER, SFU,
344090, Rostov-on-Don, Stachki Ave, 200/1, build. 1, room 104, phone (863) 247-80-51

ИЗВЕСТИЯ ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЙ СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ РЕГИОН

IZVESTIYA VUZOV. SEVERO-KAVKAZSKII REGION

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2

Регистрационный номер 011019
Комитета Российской Федерации по печати
Научно-образовательный и прикладной журнал
Издается с 1973 г.
Периодичность серии 4 номера в год
№ 4-2 (196-2) 2017 г.

Reg. No. 011019
Of the Committee of the Press of the Russian Federation
Scientifically educational and applied magazine
Was founded in 1973.
Period is 4 numbers per a year
No. 4-2 (196-2) 2017.

ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

NATURAL SCIENCE

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

BIOLOGICAL SCIENCES

- Босенко Е.С., Кучкина Л.П., Луганская Р.Г., Сафoryан Н.С., Тодоров С.С., Босенко С.Ж.-П., Ващенко Л.Н., Шатова Ю.С., Солдаткина Н.В.* Прогностическое значение некоторых белков в генезе пролиферативных состояний и опухолевых заболеваний молочной железы 4
- Горошинская И.А., Сурикова Е.И., Шалашина Е.В., Неродо Г.А., Максимова Н.А., Меньшенина А.П., Сергеева М.М., Качесова П.С., Немашкалова Л.А., Чудилова А.В., Кит О.И.* Состояние свободнорадикальных процессов при раке яичников с разной распространенностью и течением заболевания 10
- Гуськова Н.К., Франциянц Е.М., Гуськова Е.А., Верескунова М.И., Шатова Ю.С., Моисеенко Т.И.* Экспериментальная модель как доказательство нарушений гормонально-продуцирующей функции яичников при хламидиозе..... 20
- Димитриади Т.А., Кит О.И., Бурцев Д.В.* Скрининг рака шейки матки. Мировой опыт. Ситуация в России 26
- Жукова Г.В., Шихлярова А.И., Зинкович М.С., Розенко Л.Я., Ширнина Е.А., Росторгуев Э.Е., Кузнецова Н.С., Протасова Т.П.* Стрессорная ареактивность как механизм психосоматической адаптации больных с метастатическим поражением головного мозга 33
- Златник Е.Ю., Непомнящая Е.М., Шульгина О.Г., Золотарева Е.И., Туркин И.Н., Светицкий П.В., Ушакова Н.Д.* Морфологические особенности тимуса и селезенки мышей-опухоленосителей при введении металлических наночастиц 41
- Кательницкая О.В., Кит О.И., Гуськова Н.К., Аванесова К.А., Кательницкий И.И., Солдаткина Н.В., Фоменко Ю.А., Петров Д.С.* Оценка функционального состояния свертывающей системы в послеоперационном периоде у больных со злокачественными новообразованиями органов желудочно-кишечного тракта..... 48
- Bosenko E.S., Kuchkina L.P., Luganskaya R.G., Saforyan N.S., Todorov S.S., Bosenko S.Zh.-P., Vashchenko L.N., Shatova Yu.S., Soldatkina N.V.* Prognostic Significance of Some Proteins in the Genesis of Proliferative and Tumor Diseases of the Breast4
- Goroshinskaya I.A., Surikova E.I., Shalashnaya E.V., Nerodo G.A., Maximova N.A., Menshenina A.P., Sergeeva M.M., Kachesova P.S., Nemashkalova L.A., Chudilova A.V., Kit O.I.* State of Free Radical Processes in Ovarian Cancer with Different Prevalence and Course of the Disease..... 10
- Guskova N.K., Frantsiyants E.M., Guskova E.A., Vereskunova M.I., Shatova Yu.S., Moiseenko T.I.* Experimental Model as Evidence of Impaired Ovarian Function of Hormone for Chlamydia..... 20
- Dmitriadi T.A., Kit O.I., Burtsev D.V.* Screening of Cervical Cancer. World Experience. Situation in Russia ..26
- Zhukova G.V., Shikhlyarova A.I., Zinkovich M.S., Rozenko L.Ya., Shirnina E.A., Rostorguev E.E., Kuznetsova N.S., Protasova T.P.* Stress Areactivity as a Mechanism of Psychosomatic Adaptation of Patients with Metastatic Brain Damage..... 33
- Zlatnik E.Yu., Nepomnyashchaya E.M., Shulgina O.G., Zolotareva E.I., Turkin I.N., Svetitskiy P.V., Ushakova N.D.* Morphologic Peculiarities of Thymus and Spleen in Tumor-Bearing Mice after Administration of Nanoparticles of Transition Metals..... 41
- Katelnitskaya O.V., Kit O.I., Guskova N.K., Avanesova K.A., Katelnitskiy I.I., Soldatkina N.V., Fomenko Yu.A., Petrov D.S.* Assessment of Functional Status of Blood Coagulation System in Postoperative Period in Patients with Gastrointestinal Cancer.....48

<i>Кит О.И., Водолажский Д.И., Татимов М.З., Васильченко Н.Г., Пушкин А.А., Куцын К.А., Колесников Е.Н., Маслов А.А., Геворкян Ю.А., Максимов А.Ю., Дурицкий М.Н., Фоменко Ю.А.</i> CNV генов в качестве биомаркера и терапевтической мишени при раке желудка.	58	<i>Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Tatimov M.Z., Vasil'chenko N.G., Pushkin A.A., Kutsyn K.A., Kolesnikov E.N., Maslov A.A., Gevorkyan Yu.A., Maksimov A.Yu., Duritskiy M.N., Fomenko Yu.A.</i> CNV Genes as a Biomarker and Therapeutic Target for Gastric Cancer.....	58
<i>Комарова Е.Ф., Шихлярова А.И., Коробейникова Е.П., Ванжа Л.В., Лихачев-Мищенко О.В., Кучкина Л.П., Дашков А.В., Позднякова В.В., Луганская Р.Г., Максимова Н.А., Ильченко М.Г., Шейко Е.А., Босенко Е.С., Туркин И.Н.</i> Попытка оптимизации режимов фотодинамической терапии на модели экспериментальной злокачественной опухоли легкого.....	68	<i>Komarova E.F., Shikhlyarova A.I., Korobeynikova E.P., Vanzha L.V., Likhachev-Mishchenko O.V., Kuchkina L.P., Dashkov A.V., Pozdnyakova V.V., Luganskaya R.G., Maksimova N.A., Ilchenko M.G., Sheiko E.A., Bosenko E.S., Turkin I.N.</i> Attempt of Optimization of Photodynamic Therapy Regimens on Experimental Lung Tumor Model	68
<i>Котиева И.М., Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д., Треницаки Л.К., Бликян М.В.</i> Содержание гормонов в ткани щитовидной железы в динамике роста перевивной меланомы B16/F10, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли у самок мышей	76	<i>Kotieva I.M., Kit O.I., Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Pogorelova Yu.A., Cheryarina N.D., Trepitaki L.K., Blikjan M.V.</i> Hormone Levels in Thyroid Tissues in the Dynamics of Growth of Transplantable B16/F10 Melanoma in Female Mice with Chronic Neurogenic Pain.....	76
<i>Кутилин Д.С., Кит О.И., Водолажский Д.И., Шапошников А.В., Николаева Н.В., Бурцев Д.В., Дженкова Е.А., Маслов А.А., Дурицкий М.Н., Фоменко Ю.А.</i> Особенности протеомного профиля в тканях больных колоректальным раком с метастазами и без метастазов.....	84	<i>Kutilin D.S., Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Shaposhnikov A.V., Nikolaeva N.V., Burtsev D.V., Dzhenkova E.A., Maslov A.A., Duritskiy M.N., Fomenko Yu.A.</i> Peculiarities of Proteom Profile in Tissues of Patients with Metastatic and Non-Metastatic Colorectal Cancer .	84
<i>Неродо Г.А., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Непомнящая Е.М., Дженкова Е.А., Иванова В.А., Вереникина Е.В., Ульянова Е.П., Таджибаева Ю.Т.</i> Прогностическая значимость некоторых иммуногистохимических маркеров у больных раком вульвы.....	96	<i>Nerodo G.A., Novikova I.A., Zlatnik E.Yu., Nepomnyashchaya E.M., Dzhenkova E.A., Ivanova V.A., Verenikina E.V., Ulianova E.P., Tadzhibaeva Yu.T.</i> Prognostic Significance of Some Immunohistochemical Markers in Patients with Vulvar Cancer	96
<i>Никитина В.П., Неродо Г.А., Тютюнова А.М., Шурьгина Э.А., Вереникина Е.В., Никитин И.С., Кравцова О.Е., Максимова Н.А., Шатова Ю.С.</i> Состояние гипофизарно-гонадной системы у больных раком тела матки репродуктивного и постменопаузального периода	104	<i>Nikitina V.P., Nerodo G.A., Tyutyunova A.M., Shurygina E.A., Verenikina E.V., Nikitin I.S., Kravtsova O.E., Maksimova N.A., Shatova Yu.S.</i> Pituitary-Gonadal System in Reproductive and Postmenopausal Patients with Uterine Cancer	104
<i>Розенко Л.Я., Зинькович М.С., Арапова Ю.Ю., Протасова Т.П., Шихлярова А.И., Попова Н.Н., Коробейникова Е.П., Ващенко Л.Н., Ушакова Н.Д.</i> Действие ксенона на пространственную организацию биоэлектрической активности мозга	111	<i>Rozenko L.Ya., Zinkovich M.S., Arapova Yu.Yu., Protasova T.P., Shikhlyarova A.I., Popova N.N., Korobeynikova E.P., Vashchenko L.N., Ushakova N.D.</i> Effect of Xenon on Spatial Organization of Bioelectric Activity of the Brain	111
<i>Сурикова И.А., Кит О.И., Горошинская Е.И., Франциянц Е.М., Маслов А.А., Медведева Д.Е., Шалашная Е.В., Качесова П.С., Немашкалова Л.А., Нескубина И.В., Чудилова А.В., Геворкян Ю.А., Петров Д.С.</i> Функционирование системы глутатионзависимых ферментов в тканях аденокарцином желудка.....	119	<i>Surikova E.I., Kit O.I., Goroshinskaya I.A., Frantsiyants E.M., Maslov A.A., Medvedeva D.E., Shalashnaya E.V., Kachesova P.S., Nemashkalova L.A., Neskubina I.V., Chudilova A.V., Gevorkyan Yu.A., Petrov D.S.</i> Function of Glutathione-Dependent Enzyme System in Tissues of Gastric Adenocarcinoma.....	119
<i>Шейко Е.А., Шихлярова А.И., Бартенева Т.А., Куркина Т.А., Бабиева С.М., Атмачиди Д.П., Айрапетова Т.Г., Николаева Н.В., Светицкий П.В.</i> Изменение жизнеспособности опухолевых клеток под влиянием оптических излучений: экспериментальные исследования in vitro.....	128	<i>Sheiko E.A., Shikhlyarova A.I., Barteneva T.A., Kurkina T.A., Babieva S.M., Atmachidi D.P., Airapetova T.G., Nikolaeva N.V., Svetitskiy P.V.</i> Changes of the Viability of Tumor Cells Under Influence of Optical Radiation: Experimental Studies in Vitro	128
<i>Шихлярова А.И., Жукова Г.В., Франциянц Е.М., Черярина Н.Д., Бартенева Т.А., Ширнина Е.А., Куркина Т.А., Брагина М.И., Светицкий П.В., Маслов А.А.</i> Системные механизмы реализации цАМФ-индуцированного противоопухолевого эффекта у крыс с карциномой Герена	134	<i>Shikhlyarova A.I., Zhukova G.V., Frantsiyants E.M., Cheryarina N.D., Barteneva T.A., Shirmina E.A., Kurkina T.A., Bragina M.I., Svetitskiy P.V., Maslov A.A.</i> Systemic Mechanisms of Realization of cAMP-Induced Antitumor Effect in Rats with Heren's Carcinoma	134

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

BIOLOGICAL SCIENCE

УДК 618.146-006.6-018:616.13/16:612.015.1

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-4-9

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ В ГЕНЕЗЕ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ СОСТОЯНИЙ И ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2017 г. Е.С. Босенко¹, Л.П. Кучкина¹, Р.Г. Луганская¹, Н.С. Сафорян¹, С.С. Тодоров¹,
С.Ж.-П. Босенко¹, Л.Н. Ващенко¹, Ю.С. Шатова¹, Н.В. Солдаткина¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SOME PROTEINS IN THE GENESIS OF PROLIFERATIVE AND TUMOR DISEASES OF THE BREAST

E.S. Bosenko¹, L.P. Kuchkina¹, R.G. Luganskaya¹, N.S. Saforyan¹, S.S. Todorov¹, S.Zh.-P. Bosenko¹,
L.N. Vashchenko¹, Yu.S. Shatova¹, N.V. Soldatkina¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Босенко Екатерина Сергеевна – кандидат медицинских наук, хирург-онколог, отделение опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: silverokate@gmail.com

Ekaterina S. Bosenko - Candidate of Medicine, Surgery-Oncologist, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: silverokate@gmail.com

Кучкина Людмила Петровна – кандидат медицинских наук, хирург-онколог, отделение опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: mila2162@mail.ru

Lyudmila P. Kuchkina - Candidate of Medicine, Surgery-Oncologist, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: mila2162@mail.ru

Луганская Роза Генриковна – кандидат медицинских наук, хирург-онколог, отделение опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: LRG75@mail.ru

Roza G. Luganskaya - Candidate of Medicine, Surgery-Oncologist, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: LRG75@mail.ru

Сафорян Наталья Сергеевна – кандидат медицинских наук, хирург-онколог, отделение опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: silverokate@gmail.com

Natalia S. Saforyan - Candidate of Medicine, Surgery-Oncologist, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: silverokate@gmail.com

Тодоров Сергей Сергеевич – доктор медицинских наук, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: setodorov@yandex.ru

Sergey S. Todorov - Doctor of Medicine, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: setodorov@yandex.ru

Босенко Сергей Жан-Польевич – врач патологоанатомического отделения, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: silverokate@gmail.com

Sergey Z.-P. Bosenko - Surgeon Physician at Pathoanatomical Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: silverokate@gmail.com

Ващенко Лариса Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением опухолей мягких тканей, костей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия.

Larisa N. Vashchenko - Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Soft Tissue, Bone and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia.

Шатова Юлиана Сергеевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, отделение опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: shat5@rambler.ru

Yuliana S. Shatova - Doctor of Medicine, Leading Researcher, Department of Soft Tissue, Bone and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: shat5@rambler.ru

Солдаткина Наталья Васильевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, отделение абдоминальной онкологии № 2, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: snv-rmtoi@yandex.ru

Natalia V. Soldatkina - Doctor of Medicine, Senior Researcher, Department of Abdominal Oncology No. 2, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: snv-rmtoi@yandex.ru

Изучение пролиферативных состояний молочных желез представляет собой важную диагностическую и прогностическую проблему, решение которой в полной мере позволит достоверно указать на возможность развития рака молочной железы (РМЖ), а значит, снизить вероятность появления метастазирования и осложнений.

В последнее время большое внимание уделяется изучению рецепторного статуса опухоли при РМЖ (рецепторы к эстрогену, прогестерон, HER-2/neu-статус, пролиферативная активность Ki-67). При этом нет достаточно убедительных данных о роли белков клеточного деления (cyclin D1, MDM2), апоптоза P53, пролиферативной активности Ki-67 при доброкачественной дисплазии молочных желез (фиброкистозная болезнь (ФКБ), внутрипротоковая папиллома).

На основе полученных данных произведен сравнительный анализ морфологических данных и иммуногистохимических показателей при узловой форме фиброно-кистозной болезни, внутрипротоковой папилломе и РМЖ.

Полученные материалы могут быть использованы при разработке диагностического алгоритма, направленного на выявление предопухолевой трансформации ткани железы в злокачественную опухоль, что позволит получить больше сведений о патогенезе злокачественного процесса, а также могут быть учтены при разработке практических рекомендаций по ведению больных с доброкачественными дисплазиями молочных желез.

Ключевые слова: рак молочной железы (РМЖ), пролиферативные состояния молочной железы, фиброкистозная болезнь (ФКБ), внутрипротоковая папиллома, иммуногистохимический анализ (ИГХ-анализ), апоптоз, белок MDM2, белок cyclin D1.

Proliferative breast diseases are an important diagnostic and prognostic problem, and the decision will allow determination of the risks of the breast cancer development and will decrease the risks of metastasis and complications.

Recently, much attention has been paid to the study of the breast cancer hormone receptor status (estrogen and progesterone receptors, HER-2/neu status, Ki-67 proliferative activity). At the same time, there are no sufficient data on the role of cell division proteins (cyclin D1, MDM2), apoptosis P53 and Ki-67 proliferative activity in the benign mammary dysplasia (fibrocystic disease, intraductal papilloma).

We conducted a comparative analysis of the morphologic and immunohistochemical parameters at the nodular type of fibrocystic disease, intraductal papilloma and breast cancer.

The findings can be used in the development of a diagnostic algorithm aimed at revealing precancerous transformations of the breast tissue into a malignant tumor which will provide more information about the pathogenesis of the malignant process; the results should be taken into account when developing practical recommendations for managing patients with benign mammary dysplasia.

Keywords: breast cancer, proliferative breast diseases, fibrocystic disease, intraductal papilloma, immunohistochemical analysis, apoptosis, MDM2, cyclin D1.

Среди пролиферативных состояний молочных желез выделяют фиброкистозную болезнь (ФКБ), фиброаденомы различного строения, кисты, внутрипротоковые папилломы. Наиболее частым патологическим процессом в молочной железе является ФКБ. Определение вероятности малигнизации в данных патологических процессах затруднительно, а порой невозможно без выполнения трепанобиопсии ткани молочной железы [1–4].

В последние годы большое внимание в отечественной и зарубежной печати уделяется разра-

батываемым морфоиммуногистохимическим, молекулярно-генетическим характеристикам при раке молочной железы (РМЖ), при этом особое значение придается таким факторам, как определение рецепторов к эстрогену, прогестерону, HER-2/neu-статусу, пролиферативной активности Ki-67. Выявление данных биологических маркеров РМЖ позволяет выявить молекулярно-генетические подтипы РМЖ, а значит, оценить перспективы и тактику химиотерапевтического лечения [5–10].

Однако в ряде случаев при выполнении ультразвукового, маммографического исследований молочной железы возникают проблемы, связанные с полноценной и грамотной прижизненной диагностикой предопухолевых и опухолевых процессов в ней. Морфологическое исследование операционного материала не всегда дает полное суждение о наличии или отсутствии злокачественности патологического процесса, в том числе при пролиферативных процессах протокового эпителия. Решение этих вопросов крайне важно в условиях ранней диагностики РМЖ, что может существенно снизить риск развития рецидивов и метастазирования.

Немногочисленные работы, посвященные роли предопухолевых состояний в генезе РМЖ, основаны на экспериментальном материале. Так, в некоторых публикациях есть указания на роль клеток миоэпителия протоков молочной железы в развитии онко-супрессивного воздействия на возникновение неопластических клеток в железах [2].

Отдельные авторы обсуждают вероятность развития стадийного возникновения РМЖ путем трансформации из нормального железистого эпителия протоков [3, 9].

Существует гистогенетическая модель возникновения рака, согласно которой его появлению предшествуют пролиферативно-гиперпластические и атрофически-дистрофические изменения в эпителии, сопровождающиеся поэтапным морфологическим превращением клеток, максимально выраженным при предраковых процессах, расцениваемым как тяжелая дисплазия. Дальнейшее нарастание диспластических изменений может привести к качественно новому этапу – злокачественной трансформации клеток [2, 3, 9].

В этих исследованиях не приводятся сведения о роли белков клеточного деления (cyclin D1, MDM2), апоптоза P53, пролиферативной активности Ki-67 в зонах неопластической трансформации клеток.

Несомненно, решение этих вопросов позволит выработать единый диагностический алгоритм, нацеленный на выявление ранних предопухолевых и опухолевых полей в молочной железе.

В этой связи целью нашего исследования было проведение сравнительного морфологического и иммуногистохимического (ИГХ) исследования при ФКБ и РМЖ.

Материалы исследования

Ткань молочной железы получена при трепанобиопсиях и секторальной резекции от 100 женщин репродуктивного возраста (средний возраст 45 лет), из которых больных РМЖ было 45 чел., доброкачественными дисплазиями – 55. Морфологическое

исследование проводилось по традиционной методике с использованием окраски гематоксилин-эозином. ИГХ этап исследования проводился на аппарате Bench Mark Ultra с использованием готовых наборов антител p63, cyclin D1, Ki-67, MDM2, p53, рецепторов к эстрогену, прогестерону.

Результаты исследования

ФКБ характеризовалась формированием кистозных расширений отдельных групп протоков с участками неравномерной пролиферации их эпителия. Кистозные структуры экспрессировали p63, cyclin D1 преимущественно в базальных отделах. Экспрессия рецепторов к эстрогену, прогестерону была хорошо выраженной. Мутантный белок p53 не выявлялся в протоковых структурах. Уровень пролиферации белка Ki-67 не превышал 10÷15 %.

Важно отметить, что отдельные протоковые структуры были выполнены железистым эпителием с выраженной пролиферацией, заполнением кластерами клеток просветов желез, при этом базальная мембрана протоков была сохранной. Это создавало ложное представление о наличии злокачественного роста в железистых структурах (рис. 1). В этой связи для дифференциальной диагностики предопухолевых состояний и РМЖ выполнялось ИГХ-исследование.

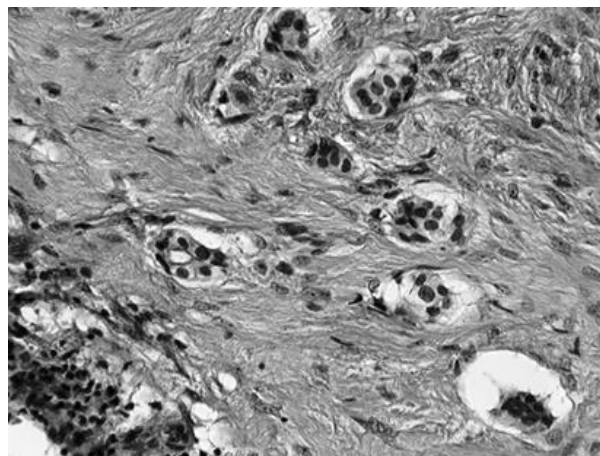


Рис. 1. Выраженная пролиферация клеток железистого эпителия со скоплением кластеров клеток. Окраска гематоксилин-эозином, × 200 / Fig. 1. Expressed proliferation of cells of glandular epithelium with accumulation of clusters of cells. Stained with haematoxylin-eosin, × 200

В некоторых наблюдениях нам встречались протоковые структуры, содержащие папиллярные образования, состоящие из гиперхромных клеток, при этом базальная мембрана была сохранена. Эти морфологические признаки указывали на наличие

внутрипротоковой папилломы с выраженной пролиферацией клеток железистого эпителия (рис. 2). Однако судить о вероятном потенциале злокачественного роста данной категории опухоли на основании только морфологического исследования представляется затруднительным.

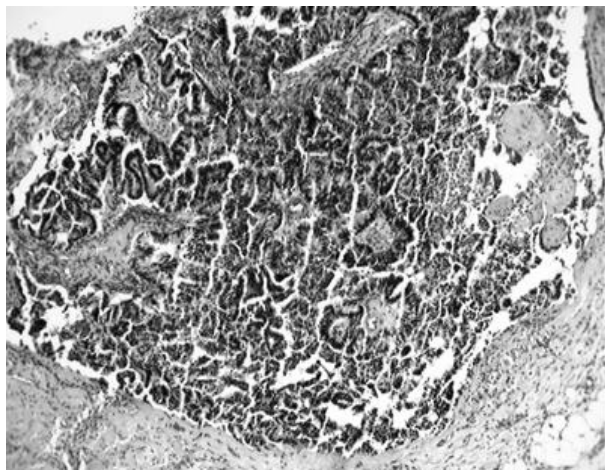


Рис. 2. Внутрипротоковая папиллома, состоящая из папиллярных структур с выраженной пролиферацией клеток железистого эпителия. Базальная мембрана сохранена. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 100$ / Fig. 2. Intra-flow papilloma, consisting of papillary structures with pronounced proliferation of cells of glandular epithelium. The basal membrane is preserved. Staining with haematoxylin-eosin, $\times 100$

При большем увеличении структура сосочковых образований была представлена двумя типами клеток – секреторным и базальным, разделенными между собой тонкими фиброваскулярными прослойками соединительной ткани.

Вокруг участков выраженной пролиферации клеток протоков и долек в 35 % наблюдений имелась картина инвазивной дольковой карциномы. Однако такая диагностика была не всегда простой, что связано с расположением солидных участков наряду с выраженной пролиферацией протоков и долек. Одним из критериев наличия инвазивной карциномы было расположение кластеров клеток, строящих солидные участки в гиалинизированной строме вокруг мелких тонкостенных сосудов (рис. 3).

Для оценки прогностического значения некоторых ИГХ-маркеров было проведено сравнительное исследование пролиферативных состояний и неопластических образований в молочной железе.

Уровень пролиферативной активности Ki-67 в протоковых папилломах был невысоким, не превышал 10÷15 % ядер клеток, с преимущественной

экспрессией ядерного белка в базальных отделах протоков желез (рис. 4).

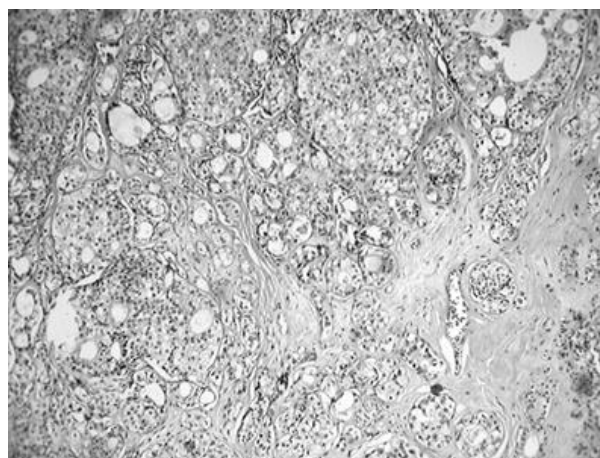


Рис. 3. На всем протяжении – выраженная пролиферация протоковых и дольковых структур. По краю справа – очаги инвазивной дольковой карциномы в гиалинизированной сосудистой строме опухоли, ИГХ-реакция, $\times 400$ / Fig. 3. Throughout - the pronounced proliferation of ductal and lobular structures. At the edge to the right - foci of invasive lobular carcinoma in the hyalineized vascular stroma of the tumor, IHC reaction, $\times 400$

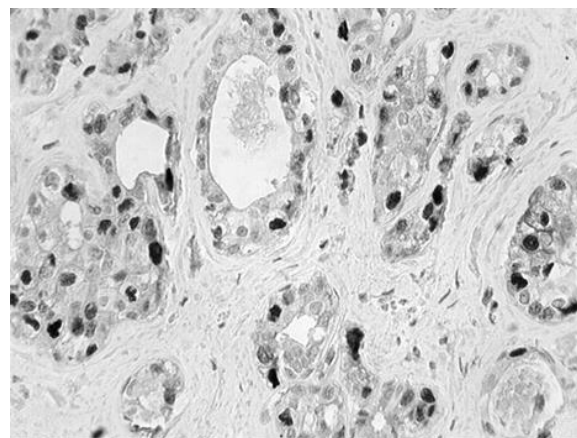


Рис. 4. Зональная ядерная экспрессия белка cyclin D1 в железистых структурах ФКБ. ИГХ-реакция, $\times 200$ / Fig. 4. Zonal nuclear expression of the cyclin D1 protein in ferrous FKB structures. IHC reaction, $\times 200$

В местах выраженной пролиферации железистого эпителия только единичные клетки экспрессировали белок Ki-67 (рис. 5). Это, на наш взгляд, указывало на преобладание секреторных изменений в клетках протокового эпителия в сравнении с его пролиферацией.

Примечательно, что локализация и уровень экспрессии белка p63 совпадали с таковыми показателями уровня пролиферативной активности Ki-67.

Мы полагаем, что этот факт указывает на наличие зон роста железистых структур при ФКБ за счет базальных клеток (миоэпителия).

Степень экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону при ФКБ, внутрипротоковых папилломах была диффузной и умеренно выраженной, что, на наш взгляд, указывает на наличие рецепторов в клетках железистого эпителия и может утрачиваться при РМЖ.

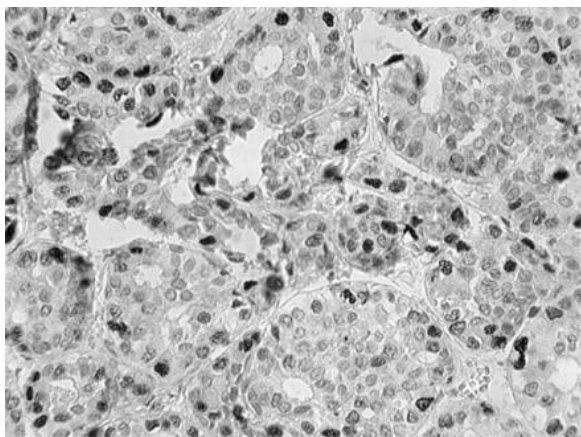


Рис. 5. Диффузная ядерная экспрессия белка cyclin D1 в участках дольчатого рака. ИГХ-реакция, $\times 400$ /
Fig. 5. Diffuse nuclear expression of cyclin D1 protein in sites of lobular cancer. IHC reaction, $\times 400$

Сравнительный ИГХ-анализ белка MDM2, апоптоза p53 при ФКБ и неоплазиях молочной железы не выявил его экспрессии, что, вероятнее всего, указывает на отсутствие нарушений апоптоза в данных патологических процессах.

Несомненно важным прогностическим маркером в развитии РМЖ оказался ядерный белок cyclin D1, который, как известно, является регулятором митотического цикла клетки. Так, в участках повышенной пролиферации железистого эпителия наблюдалась зональная ядерная экспрессия cyclin D1 (рис. 4).

В местах опухолевой трансформации клеток и появления очагов дольчатого рака выявлялась диффузная ядерная экспрессия белка cyclin D1 не только в базальных отделах, но и ближе к люминальным отделам структур (рис. 5).

Кроме того, в участках РМЖ отмечалась выраженная ядерная экспрессия белка пролиферации Ki-67 (65÷75 %), а экспрессия белка p63 была негативной. Рецепторы гормонов эстрогена, прогестерона при РМЖ в 25 % наблюдений были негативными.

Таким образом, проведенное исследование показало наличие очагов повышенной пролиферации клеток в ФКБ с нестабильным потенциалом роста,

сохранением рецепторов к эстрогену и прогестерону. Мы считаем, что роль белков p63, cyclin D1 крайне важна для возникновения опухолевой трансформации протоковых и дольчатых структур ФКБ, внутрипротоковых папиллом в РМЖ. Несомненно, выявление прогностических белков p63, cyclin D1 в зонах пролиферации протокового и дольчатого эпителия молочной железы на материале трепанобиопсий позволит существенно облегчить дифференциальную диагностику ФКБ и РМЖ, а значит, определить дальнейшую тактику лечения.

Литература

1. Иммуногистохимические методы: руководство. / под ред. Г.А. Франка и П.Г. Малькова. М., 2011. С. 91–97.
2. Barsky S.H., Karlin N.J. Mechanisms of disease: breast tumor pathogenesis and the role of the myoepithelial cell // *Nat. Clin. Pract. Oncol.* 2006. Vol. 3. P. 138–140.
3. Cardiff R.D., Borowsky A.D. Precancer: sequentially acquired or predetermined // *Toxicol. Pathol.* 2010. Vol. 38. P. 171–179.
4. Yerushlmi R., Gelmon K. Breast carcinoma – rare types: review of the literature // *Annals of Oncology.* 2009. Vol. 20. P. 1763–1770.
5. Kum O.I., Шатова Ю.С., Тодоров С.С. [и др.]. Гетерогенность люминального рака молочной железы у женщин с различным репродуктивным статусом // *Рос. онкол. журн.* 2014. Т. 19, № 6. С. 14–17.
6. Kum O.I., Шатова Ю.С., Тодоров С.С. [и др.]. Частота встречаемости различных молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы в зависимости от репродуктивного статуса // *Рос. онкол. журн.* 2014. Т. 19, № 5. С. 24–27.
7. Тодоров С.С., Kum O.I., Босенко Е.С. [и др.]. Морфоиммуногистохимическая характеристика синхронного билатерального рака молочных желез // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 2014. Т. 15, № 5. С. 663–666.
8. Тодоров С.С., Босенко С.Ж.-П., Босенко Е.С. [и др.]. Морфобиологические особенности метапластической карциномы молочной железы // *Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований.* 2014. Ч. 4, № 11. С. 680–684.
9. Damonte P., Hodgson J.G., Chen J.Q. [et al.]. Mammary carcinoma behavior is programmed in the precancer stem cell // *Breast Cancer Res.* 2008. Vol. 10. P. 50.
10. Nandy A., Gangopadhyay S., Mukhopadhyay A. Individualizing breast cancer treatment – the dawn of personalized medicine // *Exp. Cell Res.* 2014. Vol. 320. P. 1–11.

References

1. *Immunogistokhimicheskie metody* [Immunohistochemical methods]. Guidance. Ed. G.A. Frank and P.G. Malkov. Moscow, 2011, pp. 91–97.
2. Barsky S.H., Karlin N.J. Mechanisms of disease: breast tumor pathogenesis and the role of the myoepithelial cell. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* 2006, vol. 3, pp. 138–140.
3. Cardiff R.D., Borowsky A.D. Precancer: sequentially acquired or predetermined. *Toxicol. Pathol.* 2010, vol. 38, pp. 171–179.

4. Yerushlmi R., Gelmon K. Brest carcinoma - rare types: review of the literature. *Annals of Oncology*. 2009, vol. 20, pp. 1763-1770.

5. Kit O.I., Shatova Yu.S., Todorov S.S. [et al.]. Geterogenost' lyuminal'nogo raka molochnoi zhelezy u zhenshchin s razlichnym reproduktivnym statusom [Luminal breast cancer heterogeneity among women of different reproductive state]. *Ros. onkol. zhurn.* 2014, vol. 19, No. 6, pp. 14-17.

6. Kit O.I., Shatova Yu.S., Todorov S.S. [et al.]. Chastota vstrechaemosti razlichnykh molekulyarno-biologicheskikh podtipov raka molochnoi zhelezy v zavisimosti ot reproduktivnogo statusa [The correlation between different biomolecular breast cancer subtypes frequency and the menstrual state]. *Ros. onkol. zhurn.* 2014, vol. 19, No. 5, pp. 24-27.

7. Todorov S.S., Kit O.I., Bosenko E.S. [et al.]. Morfoimmunogistokhimicheskaya kharakteristika sinkhronnogo

bilateral'nogo raka molochnykh zhelez [Morphoimmunohistochemical characteristics of synchronous bilateral breast cancer]. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny*. 2014, vol. 157, No. 5, pp. 641-644.

8. Todorov S.S., Bosenko S.Zh.-P., Bosenko E.S. [et al.]. Morfobiologicheskie osobennosti metaplasticheskoi kartsinomy molochnoi zhelezy [Morphobiological features of metaplastic breast carcinoma]. *Mezhdunar. zhurn. prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2014, part 4, No. 11, pp. 680-684.

9. Damonte P., Hodgson J.G., Chen J.Q. [et al.]. Mammary carcinoma behavior is programmed in the precancer stem cell. *Breast Cancer Res.* 2008, vol. 10, p. 50.

10. Nandy A., Gangopadhyay S., Mukhopadhyay A. Individualizing breast cancer treatment – the dawn of personalized medicine. *Exp. Cell Res.* 2014, vol. 320, pp. 1-11.

Поступила в редакцию / Received

6 сентября 2017 г. / September 6, 2017

УДК 618.11-006.6:612.1:612.015.11

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-10-19

СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ С РАЗНОЙ РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ И ТЕЧЕНИЕМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2017 г. И.А. Горошинская¹, Е.И. Сурикова¹, Е.В. Шалашина¹, Г.А. Неродо¹, Н.А. Максимова¹, А.П. Меньшенина¹, М.М. Сергеева¹, П.С. Качесова¹, Л.А. Немашкалова¹, А.В. Чудилова¹, О.И. Кит¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

STATE OF FREE RADICAL PROCESSES IN OVARIAN CANCER WITH DIFFERENT PREVALENCE AND COURSE OF THE DISEASE

I.A. Goroshinskaya¹, E.I. Surikova¹, E.V. Shalashnaya¹, G.A. Nerodo¹, N.A. Maximova¹, A.P. Menshenina¹, M.M. Sergeeva¹, P.S. Kachesova¹, L.A. Nemashkalova¹, A.V. Chudilova¹, O.I. Kit¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Горошинская Ирина Александровна – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: iagor17@mail.ru

Irina A. Goroshinskaya - Doctor of Biological Science, Professor, Main Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: iagor17@mail.ru

Сурикова Екатерина Игоревна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: sunsur2000@mail.ru

Ekaterina I. Surikova - Candidate of Biological Science, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: sunsur2000@mail.ru

Шалашина Елена Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnoi.biochem@gmail.com

Elena V. Shalashnaya - Candidate of Biological Science, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnoi.biochem@gmail.com

Неродо Галина Андреевна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnoi@list.ru

Galina A. Nerodo - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, Main Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnoi@list.ru

Максимова Наталья Александровна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель радиоизотопной лаборатории с группой УЗИ-диагностики, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: zhenilo_mihail@mail.ru

Nataliya A. Maximova - Doctor of Medicine, Professor, Head of Radioisotope Laboratory with Ultrasonic Diagnostics Group, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: zhenilo_mihail@mail.ru

Меньшенина Анна Петровна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, отделение опухолей репродуктивной системы, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: anna.menshenina.00@mail.ru

Anna P. Menshenina - Candidate of Medicine, Leading Researcher, Department of Reproductive System Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: anna.menshenina.00@mail.ru

Сергеева Марина Михайловна – кандидат медицинских наук, врач радиоизотопной лаборатории с группой УЗИ-диагностики, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Marina M. Sergeeva - Candidate of Medicine, Doctor, Radioisotope Laboratory with Ultrasonic Diagnostics Group, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Качесова Полина Сергеевна – научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: vnp61@yandex.ru

Polina S. Kachesova - Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: vnp61@yandex.ru

Немашкалова Людмила Анатольевна – научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi.biochem@gmail.com

Ljudmila A. Nemashkalova - Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi.biochem@gmail.com

Чудилова Анастасия Викторовна – младший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: nasta706@mail.ru

Anastasija V. Chudilova - Junior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: nasta706@mail.ru

Кит Олег Иванович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор Ростовского научно-исследовательского онкологического института, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Oleg I. Kit - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, General Director, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Проведен сравнительный анализ интенсивности окислительных процессов и активности антиоксидантных ферментов в крови 114 больных раком яичников (РЯ) в зависимости от распространенности процесса и при рецидивировании. Исследованы интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), состояние ферментативного звена антиоксидантной системы эритроцитов по активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионовой системы, а также в плазме крови активность и содержание основного антиоксидантного белка – церулоплазмينا, содержание белков острой фазы воспаления – С-реактивного белка (СРБ) и гаптоглобина. Выявлена зависимость интенсивности ПОЛ в плазме крови больных от стадии процесса. Для асцитной формы РЯ были характерны большая интенсивность свободнорадикальных звеньев ПОЛ, максимальное увеличение уровня СРБ и гаптоглобина. Интенсивность хемилюминесценции, отражающая образование свободных радикалов, при асцитной форме была выше по сравнению со значениями у больных без асцита, а содержание молекулярного продукта – малонового диальдегида в плазме крови, хотя и было повышено у всех больных распространенным РЯ, было выше в группе без асцита. При рецидивах основная роль в утилизации перекиси водорода переходит от каталазы к глутатионпероксидазе (ГПО), о чем свидетельствует увеличение коэффициента ГПО/каталаза в 2,6–2,8 раза, в то время как у больных с первичным РЯ такие изменения отсутствовали. Наблюдалась зависимость активности каталазы в плазме крови от динамики развития рецидивной опухоли. Выявленные особенности интенсивности окислительных процессов и баланса активности антиоксидантных ферментов у больных РЯ могут способствовать пониманию условий прогрессирования заболевания и механизмов, опосредующих эффективность противоопухолевого лечения.

Ключевые слова: рак яичников, свободнорадикальное окисление, антиоксидантные ферменты, белки острой фазы.

A comparative analysis of the intensity of oxidative processes and the activity of antioxidant enzymes in the blood of 114 patients with ovarian cancer (OC) was carried out, depending on the prevalence of process and the presence of recurrence. The intensity of lipid peroxidation (LPO), the state of the enzymatic link of the antioxidant system of erythrocytes according to the activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione system were investigated, as well as the activity and content of the main antioxidant protein ceruloplasmin and the content of C-reactive protein (CRP) and haptoglobin in the blood plasma. The dependence of LPO intensity in the blood plasma of patients from the stage of the process was revealed. The ascitic form of OC was characterized by a high intensity of free radical LPO links, a maximum increase in the level of CRP and haptoglobin. The intensity of chemiluminescence, reflecting the formation of free radicals, was higher in ascitic form than in patients without ascites, but the content of the molecular product - malonic dialdehyde in blood plasma, although it was increased in all patients with advanced ovarian cancer, was higher in the group without ascites. In case of relapses, the main role in the utilization of hydrogen peroxide is transferred from catalase to glutathione peroxidase (GPO), as evidenced by an increase in the GPO / catalase coefficient of 2.6-2.8 times, while in patients with primary ovarian cancer, such changes were absent. The dependence of catalase activity in the blood plasma on the dynamics of recurrent tumor development was observed. The revealed features of the intensity of oxidative processes and balance of activity of antioxidant enzymes in patients with ovarian cancer can contribute to the understanding of disease progression conditions and mechanisms that mediate the effectiveness of antitumor treatment.

Keywords: ovarian cancer, free radical oxidation, antioxidant enzymes, acute phase proteins.

Лечение злокачественных опухолей женских половых органов, в первую очередь рака яичников (РЯ), является одной из актуальных проблем в клинической онкологии. РЯ занимает стабильно 3-е место в структуре онкогенитальной патологии, уступая по частоте раку эндометрия и шейки матки. При этом по выявляемости в поздних стадиях и смертности от этого заболевания РЯ лидирует среди онкозаболеваний женской половой сферы, а смертность от РЯ превышает смертность от рака шейки матки и тела матки, вместе взятых. Ежегодно в мире регистрируется около 225 тыс. больных РЯ. В России в 2014 г. выявлено 13,6 тыс. женщин, заболевших РЯ, рост заболеваемости за 5 лет составил 6,16 %. Несмотря на достигнутые успехи в диагностике и лечении, смертность при РЯ во всем мире составляет 55÷65 %. Летальность у данных больных после установления диагноза на первом году варьирует от 35 до 40 %. Высокая смертность женщин со злокачественными опухолями яичников зависит от бессимптомного течения заболевания на ранних стадиях, приводящего к позднему обращению к врачу, а следовательно, и к выявляемости уже с распространенными стадиями онкологического процесса (до 70 %). Запущенность онкологического процесса при РЯ, естественно, ведет к низкой эффективности лечения, так как больные с 3-й, 4-й ст. заболевания в большинстве своем неоперабельны. Настораживает тенденция увеличения количества заболевших женщин в молодом, репродуктивном возрасте. Доля РЯ максимальна в возрастном периоде 15–39 лет – 7,4 %, в 40–54 года – 7, в 55–69 лет она снижается до 4,7 % [1–3].

Инициация злокачественной трансформации и прогрессирование неоплазии тесно связаны с нарушением баланса окислительно-восстановительных процессов и развитием окислительного стресса [4, 5]. Важнейшими биохимическими системами, противостоящими этому, являются ферментативные и неферментативные антиоксидантные системы. В последние годы их функционированию придают большое значение в регуляции процессов, поддерживающих прогрессию опухоли и развитие ее резистентности к проводимому лечению [6, 7]. При этом особая роль отводится глутатиону и сопряженной с ним ферментативной системе, участвующим не только в регуляции редокс-баланса, но и во многих внутриклеточных процессах (синтез белка, экспрессия и регуляция генов клеточного цикла, детоксикация ксенобиотиков, злокачественный рост) [8–10]. Показано, что изменения биохимических показателей в крови коррелируют с клиническими стадиями РЯ, разделяя ранние и распространенные

формы [11]. При злокачественном росте установлены патогенетически значимые изменения в ряде важных систем, функционирование которых непосредственно связано со свободнорадикальными процессами [12]. В этой связи изучение состояния антиоксидантной системы и интенсивности свободнорадикального окисления у больных РЯ может быть полезным как для понимания условий развития и прогрессирования заболевания, так и для выяснения механизмов, опосредующих эффекты противоопухолевого лечения.

Цель данной работы – сравнительный анализ интенсивности окислительных процессов и активности антиоксидантных ферментов в крови больных РЯ в зависимости от распространенности процесса и при рецидивировании.

Материалы и методы

Показатели, характеризующие интенсивность окислительных процессов и активность антиоксидантных ферментов, исследованы в крови 114 больных РЯ 1–4-й стадии (ст.). Возраст больных колебался от 32 до 76 лет. Все проходили лечение и мониторинг в стационаре ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России с 2012 по 2016 г. Одновременно было обследовано 30 относительно здоровых женщин без онкопатологии, аутоиммунных, тяжелых хронических или психических заболеваний, сопоставимых по возрасту с обследованными больными (группа доноров). У всех больных и доноров было получено добровольное информированное согласие на использование биологического материала для научных исследований.

При анализе результатов исследования показателей, характеризующих окислительный статус, были сформированы сравниваемые группы больных РЯ: 1–2-й ст. – 10 чел., 3–4-й ст. – 52 (из которых больных асцитной формой РЯ – 44, без асцита – 8 чел.), больные с рецидивом РЯ 3–4-й ст. – 40 чел., больные с 3-й ст. в состоянии ремиссии – 12.

Исследовали интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) по уровню H_2O_2 -индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) и накоплению молекулярного продукта – малонового диальдегида (МДА) в плазме и эритроцитах; состояние ферментативного звена антиоксидантной системы эритроцитов – по активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ), уровню восстановленного глутатиона (ВГ), а также в плазме крови активность и содержание церулоплазмина (ЦП) – основного антиоксиданта плазмы крови, активность каталазы и содер-

жание белков острой фазы (БОФ) воспаления – С-реактивного белка (СРБ) и гаптоглобина. Полученные данные сопоставляли со значениями в группе женщин без онкопатологии.

Показатели определяли в плазме и 1%-м гемолизате венозной крови, взятой утром натощак. Интенсивность липопероксидации оценивали спектрофотометрическим методом по накоплению продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных соединений) при 540 нм в пересчете на концентрацию МДА как наиболее изученного продукта ПОЛ [13]. Интенсивность радикалообразования в плазме крови (в основном $O_2\bullet$ - и $HO\bullet$ -радикалов) оценивали по интенсивности H_2O_2 -индуцированной люминолзависимой ХЛ [14]. Светосумму ХЛ регистрировали в течение 6 с и выражали в импульсах (имп.) за 6 с. Активность СОД (КФ 1.15.1.1) определяли по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразолия в присутствии супероксидного радикала, генерируемого в реакции восстановления молекулярного кислорода адреналином в щелочной среде при 545 нм [15]. За единицу активности (ед. ак.) принимали количество фермента, вызывавшего 50%-е торможение реакции. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) определяли методом с использованием молибдата аммония [16], содержание ВГ – по реакции с 5,5-дитиобис (2-нитробензойной кислотой) при 412 нм, активность ГР (КФ 1.6.4.2) – по скорости окисления NADPH в присутствии окисленного глутатиона при 340 нм, активность ГПО (КФ 1.11.1.9) – в реакции расщепления гидроперекиси третичного бутила, используя в качестве субстрата ВГ, при 412 нм, активность глутатионтрансферазы (КФ 2.1.5.18) – по скорости образования конъюгатов с 1-хлор-2,4-динитробензолом в присутствии ВГ при 340 нм [15], оксидазную активность ЦП – общепринятым колориметрическим методом, основанным на окислении п-фенилендиамина [17], концентрацию гемоглобина в гемолизатах – гемоглобинцианидным методом с использованием коммерческого набора реагентов («ЭКОлаб-Гемоглобин», Россия). Содержание СБР, гаптоглобина и ЦП определяли в сыворотке крови онкологических больных на биохимическом анализаторе COBAS INTEGRA 400 (Roche) унифицированными методами.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ STATISTICA 6.0, критерия Стьюдента и Манна – Уитни для оценки достоверности различий двух независимых выборок. Отклонения между рядами оценивали как значимые при вероятности различий, превышающих 95 % ($0,001 < p < 0,05$), а при $0,1 > p > 0,05$ считали, что различия обнаружены на уровне статистической тенденции.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены показатели, отражающие интенсивность окислительных процессов, активность антиоксидантных ферментов и содержание некоторых БОФ воспаления в плазме крови больных. Интенсивность ХЛ, активность каталазы и ЦП при 3-й, 4-й ст. РЯ были изучены в плазме крови 52 больных, остальные показатели – в крови 27 пациенток.

Интенсивность H_2O_2 -индуцированной люминолзависимой ХЛ, по которой можно судить об образовании в плазме крови свободных радикалов кислорода ($R\bullet$, $OH\bullet$, $RO\bullet$, $O_2\bullet$, $RO_2\bullet$), инициирующих свободнорадикальное окисление, была увеличена у большинства обследованных больных РЯ. Статистически значимое увеличение на 87,7 % относительно группы женщин без онкопатологии было выявлено при анализе в целом группы больных РЯ 3-й, 4-й ст. заболевания. При этом более выраженное – двукратное – увеличение данного показателя было характерно для пациенток с асцитной формой, в то время как у больных без асцита значимого повышения интенсивности ХЛ не выявлено. У больных РЯ 1-й, 2-й ст. интенсивность ХЛ оставалась в пределах нормы.

Отдельно был проведен анализ показателей окислительного статуса у 52 больных РЯ, находившихся на мониторинге после проведенного оперативного и химиотерапевтического лечения. При возникновении рецидива заболевания имело место резкое увеличение интенсивности ХЛ – в среднем в 3 раза (на 197 %) относительно женщин без онкопатологии. У больных, находившихся в состоянии ремиссии, интенсивность ХЛ была существенно ниже – проявлялась тенденция к снижению на 37,8 % относительно больных с рецидивом и повышению относительно уровня у здоровых женщин на 84,5 % (табл. 1). Содержание МДА (вторичного молекулярного продукта ПОЛ) было исследовано как в плазме крови, так и в эритроцитах, где функционируют основные ферменты, участвующие в антиоксидантной защите. В эритроцитах крови (табл. 2) не было выявлено увеличения уровня МДА и его зависимости от стадии и формы заболевания у больных первичным РЯ. Однако при мониторинге больных РЯ после проведения комплексного лечения наблюдали повышенное на 43,2 % содержание МДА в эритроцитах при возникновении рецидива, а у больных, находившихся в состоянии ремиссии, увеличение на 34,6 % не было статистически значимым. При этом уровень МДА зависел от состояния рецидивной опухоли: при положительной динамике (снижение размеров рецидивной опухоли и улучшение сонографических характеристик при ультразвуковом исследовании) значимые различия с нормой отсут-

ствовавали, а при отрицательной динамике содержание МДА в эритроцитах превышало уровень у здоровых женщин на 67,9 %. Различие в содержании МДА между больными с отрицательной и положительной динамикой достигало 32,9 % ($p=0,05$). В плазме крови (табл. 1) содержание МДА было повышено только при первичном РЯ, а при рецидивах не отличилось от уровня у здоровых женщин. У

больных РЯ 1-й, 2-й ст. увеличение МДА в плазме составляло 55 %, а при 3-й, 4-й ст. достигало 99,8 %. При этом наибольшее увеличение данного показателя наблюдали у всех больных с безасцитной формой заболевания – в среднем в 3 раза выше, чем у женщин без онкопатологии. Различие в содержании МДА в плазме крови у больных без асцита и с асцитной формой РЯ достигало 89,1 % ($p=0,017$).

Таблица 1

Интенсивность окислительных процессов, активность антиоксидантных ферментов и содержание некоторых БОФ воспаления в плазме крови больных РЯ / The intensity of oxidative processes, the activity of antioxidant enzymes and the content of certain proteins of the acute phase of inflammation in the blood plasma of patients with ovarian cancer

Группа	ХЛ, имп./6 с	МДА, нмоль/мл плазмы	Каталаза, мкмоль H_2O_2 /мин·л	Активность ЦП, мкмоль/л	Содержание ЦП, г/л	СРБ, мг/л	Гаптоглобин, г/л
Без онкопатологии (n=25)	3276±175	2,737±0,334	34,18±1,76	1,326±0,067	0,295±0,023	1,744±0,198 норма<5	1,207±0,088
РЯ							
1-я, 2-я ст. (n=10)	3571±698	4,243±0,637 $p<0,05$	37,94±2,54 $p>0,1$	1,879±0,156 $p<0,01$	0,398±0,013 $p<0,05$	5,45±0,54 $p<0,0001$	1,985±0,225 $p<0,01$
3-я, 4-я ст. (n=52)	6148±616 $p<0,0001$ $p_1<0,01$	5,468±0,759 $p<0,01$	45,71±2,48 $p<0,001$ $p_1<0,05$	2,14±0,113 $p<0,0001$	0,423±0,017 $p<0,0001$	69,51±16,62 $p<0,001$ $p_1<0,001$	4,127±0,237 $p<0,0001$ $p_1<0,00001$
Асцитная форма (n=44)	6583±712 $p<0,0001$	4,326±0,861 $0,05<p<0,1$	45,76±2,64 $p<0,001$	2,145±0,108 $p<0,0001$	0,405±0,020 $p<0,01$	95,60±27,53 $p<0,01$	4,331±0,310 $p<0,0001$
Без асцита (n=8)	3896±659 $p_2<0,02$	8,181±1,098 $p<0,0001$ $p_2<0,02$	45,41±8,32 $p<0,05$	2,1±0,237 $p<0,01$	0,462±0,027 $p<0,001$	40,75±11,74 $p<0,01$ $0,05<p_2<0,1$	3,719±0,322 $p<0,0001$
Ремиссия (n=12)	6050±821 $p<0,01$	–	43,15±5,35 $p<0,05$	1,325±0,092	–	–	1,78±0,22 $p<0,05$
Рецидив (n=40)	9729±999 $p<0,0001$ $0,05<p_3<0,1$	2,949±0,306 $p>0,1$	51,18±3,28 $p<0,001$	1,64±0,081 $p<0,01$ $p_3<0,02$	0,384±0,012 $p<0,05$	1,95±0,23	2,63±0,25 $p<0,0001$ $p_3<0,02$
Положительная динамика (n=13)	11513±1877 $p<0,001$	–	52,16±5,91 $p<0,01$	1,62±0,081 $p<0,01$	–	–	1,76±0,17 $p<0,01$
Отрицательная динамика (n=14)	8962±1408 $p<0,001$	–	42,78±5,75 $p>0,1$	1,553±0,145 (14) $p>0,1$	–	–	2,93±0,34 $p<0,0001$ $p_4<0,01$

Примечание. Статистическая значимость различий: p – относительно женщин без онкопатологии; p_1 – между больными с 1-й, 2-й и 3-й, 4-й ст.; p_2 – относительно асцитной формы РЯ; p_3 – относительно группы больных в состоянии ремиссии; p_4 – относительно группы с положительной динамикой. Во всех таблицах представлены p только для значимых различий.

Активность каталазы в плазме крови изменялась в зависимости от распространенности процесса. У больных с 1-й, 2-й ст. РЯ значимых изменений не выявлено, а у больных с 3-й, 4-й ст. наблюдалось увеличение активности каталазы на 33,7 % независимо от наличия или отсутствия асцита. Наибольшее увеличение данного показателя было обнаружено при рецидивах РЯ – на 49,7 % относительно

женщин без онкопатологии. При динамическом наблюдении было установлено, что значимое увеличение активности каталазы было характерно только для больных с положительной динамикой рецидивной опухоли – на 52,6 %, при отрицательной динамике значимые изменения отсутствовали, а у больных с ремиссией (отсутствие рецидивов) увеличение составляло лишь 23,5 %.

Таблица 2

**Содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови больных распространенным РЯ /
The MDA content and the activity of antioxidant enzymes in blood erythrocytes in patients with advanced ovarian cancer**

Группа	МДА, нмоль/ мл 1%-го гемолизата	СОД, ед. актив./мг Hb	Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /мин·мг Hb	Глутатион, мкмоль/мг Hb	ГПО, МЕ/мг Hb	ГТ, МЕ/мг Hb	ГР, МЕ/мг Hb
Без онкопатологии (n=30)	1,495±0,079	500,8±16,44	135,5±4,1	31,49±1,06	251,2±22,7	62,00±1,81	7,56±0,31
РЯ							
1-я, 2-я ст. (n=10)	1,496±0,16	422,3±21,0 p<0,02	120,9±7,75 0,05<p<0,1	29,94±2,49	229,2±27,7	59,67±1,55	7,94±0,55
3-я, 4-я ст. (n=27)	1,575±0,157	452,9±24,7	137,9±5,9	36,44±1,2 p<0,01 p ₁ <0,05	304,1±26,6 0,05<p ₁ <0,1	58,93±1,81	5,12±0,56 p<0,001 p ₁ <0,001
Асцитная форма (n=19)	1,574±0,209	427±31,8 p<0,05	134,8±7,5	36,59±1,65 p<0,02	319,6±34,1 p ₁ <0,05	58,58±2,32	5,49±0,63 p<0,02
Без асцита (n=8)	1,577±0,206	514,4±25,6 p ₂ <0,05	145,6±8,8	36,09±1,18 p<0,01	300,4±28,3 0,05<p ₁ <0,1	59,7±2,92	4,96±1,13 p<0,05
Ремиссия (n=12)	2,012±0,300 p>0,1	380,5±24,9 p<0,001	110,1±9,15 p<0,01	34,30±1,79	452,8±25,6 p<0,0001	65,35±1,62	7,09±0,98
Рецидив (n=40)	2,141±0,167 p<0,01	470,3±21,7 p ₃ <0,01	95,33±4,00 p=0,000000	32,38±1,03	458,0±17,8 p<0,00001	65,19±1,48	6,62±0,30 p<0,05
Положительная динамика (n=12)	1,891±0,22 p>0,1	573,05±72,3	87,04±7,44	32,68±3,7	420,9±45,9 p<0,01	58,49±4,55	6,199±1,17
Отрицательная динамика (n=12)	2,514±0,202 p<0,0001 p ₄ <0,05	545,5±65,2	91,89±8,52	34,20±1,22	468,8±37,05 p<0,0001	67,85±2,49 0,05<p<0,1	6,70±0,38 0,05<p<0,1

Примечание. Статистическая значимость различий: p – относительно женщин без онкопатологии; p₁ – между больными с 1-й, 2-й и 3-й, 4-й ст.; p₂ – относительно асцитной формы РЯ; p₃ – относительно группы больных в состоянии ремиссии; p₄ – относительно группы с положительной динамикой.

В плазме крови основной супероксид устраняющей активностью обладает ЦП. Наибольшее увеличение как оксидазной активности, так и содержания этого белка было выявлено при 3-й, 4-й ст. РЯ – на 61,4 и 43,4 %, а при 1-й, 2-й ст. – 41,7 и 34,9 % относительно нормативных значений. При рецидивах концентрация ЦП была повышена на 30,2 %, а его активность – на 23,7 %, и значимо только у больных с положительной динамикой.

Поскольку ЦП приписывают ключевые антиоксидантные функции в плазме крови, можно предположить, что наиболее выраженное увеличение интенсивности ХЛ у больных с рецидивами обусловлено значительно меньшей активацией антиоксидантных защитных механизмов плазмы при рецидивах по сравнению с первичным РЯ. ЦП относят также к БОФ, в связи с чем представляло интерес исследовать при РЯ содержание и других БОФ. Нами было установлено увеличение концентрации СРБ и гаптоглобина, наиболее выраженное при асцитной форме распространенного РЯ, – в 54,8 и в 3,6 раза, у больных с 3-й, 4-й ст. без асцита – 23,4 и 3,1 раза, а при 1-й, 2-й ст. – 3,1 и 1,6 раза. При рецидивах РЯ значимых изменений СРБ не выявлено, а концентрация гаптоглобина была увеличена в среднем в 2,2 раза. Более выраженное увеличение

концентрации гаптоглобина было характерно для больных с отрицательной динамикой при лечении рецидива – в 2,4 раза, тогда как у больных с положительной динамикой, как и при ремиссии, – лишь на 46÷47 % (табл. 1).

Выявленные различия в динамике антиоксидантной способности ЦП и в изменении содержания типичных БОФ на разных стадиях РЯ подтверждают роль данного белка преимущественно в качестве антиоксиданта плазмы крови.

Полученные нами результаты свидетельствуют об интенсификации процессов ПОЛ в плазме крови больных распространенным РЯ. Активация свободнорадикального окисления происходила на фоне повышенной антиоксидантной активности, что, очевидно, носило компенсаторный характер. Как известно, каталаза не имеет собственной внеклеточной формы, и ее высокая активность в плазме крови обусловлена выходом из клеток крови в результате повреждения [18]. В отличие от каталазы, ЦП является основным антиоксидантом плазмы крови. При изучении его содержания в крови женщин с онкогинекологическими заболеваниями наиболее высокий уровень этого белка установлен именно при РЯ [19]. Оценивая активность ЦП у больных РЯ, следует иметь в виду, что его роль при

злокачественной патологии обусловлена не только антиоксидантными свойствами, но и участием в транспорте меди и обмене железа. Данный фермент рассматривается в последнее время как один из факторов нейроэндокринной регуляции и естественной защиты организма при стрессовых ситуациях, воспалительных процессах, токсических повреждениях органов и тканей и как БОФ воспаления [20, 21]. Повышение содержания ЦП и резкое увеличение содержания других реактантов воспаления – СРБ и гаптоглобина свидетельствуют о формировании патологической реакции воспаления у больных РЯ, особенно при его асцитной форме.

Ранее нами были изучены в плазме крови состояние некоторых звеньев антиоксидантной системы, интенсивность ХЛ и уровень окислительной модификации белков у больных с рецидивом РЯ в зависимости от интенсивности кровотока в рецидивной опухоли. Показаны усиление ХЛ плазмы крови и увеличение степени окисленности белковых молекул по мере усиления васкуляризации и увеличения скорости кровотока в рецидивной опухоли [22].

В эритроцитах крови была исследована и проанализирована активность основных антиоксидантных ферментов в зависимости от стадии и формы РЯ (табл. 2).

Активность СОД была статистически значимо снижена как у больных с 1-й, 2-й ст. РЯ, так и у больных распространенным РЯ с асцитной формой заболевания – на 15,7 и 14,7 % соответственно по сравнению с активностью данного фермента

в группе без онкопатологии. В то же время у больных с 3-й, 4-й ст. без асцита активность СОД превышала значение в группе больных с асцитом на 20,5 % и значимо не отличалась от нормы. В группе больных, находившихся в состоянии ремиссии при мониторинге после проведения комплексного лечения, активность СОД была снижена на 24 % относительно здоровых женщин, а у больных с рецидивом заболевания повышалась на 23,6 % по сравнению с больными в ремиссии до уровня у здоровых. При последующем мониторинге больных с рецидивом РЯ был отмечен дальнейший рост активности фермента, который не зависел от динамики изменения размеров и других ультразвуковых характеристик рецидивной опухоли.

Активность каталазы проявляла тенденцию к снижению у больных с начальными стадиями РЯ на 10,8 %, однако скоординированное соотношение между сопряженными ферментами первой линии антиоксидантной защиты (СОД и каталаза) сохранялось на уровне, характерном для женщин без онкологической патологии. В отличие от этого при асцитной форме распространенного РЯ наблюдалось нарушение скоординированной работы данного ключевого звена антиоксидантной системы крови, о чем свидетельствовала тенденция к снижению коэффициента соотношения СОД/каталаза до 3,3 по сравнению с 3,7 у здоровых женщин. При этом у больных без асцита и при 1-й, 2-й ст. РЯ коэффициент СОД/каталаза оставался на уровне 3,5–3,6 (табл. 3).

Таблица 3

**Коэффициенты соотношения активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови больных РЯ /
Coefficients of the ratio of the activity of antioxidant enzymes in erythrocytes of blood of patients with ovarian cancer**

Группа	СОД/каталаза	СОД/ГПО	ГПО/каталаза
Без онкопатологии (n=30)	3,696±0,12	1,994±0,215	1,854±0,199
Рак яичников			
1-я, 2-я ст. (n=10)	3,559±0,204	1,842±0,247	1,896±0,251
3-я, 4-я ст. (n=27)	3,395±0,211	1,489±0,159 0,05<p<0,1	2,20±0,235
Асцитная форма (n=19)	3,327±0,299	1,336±0,148 p<0,02	2,371±0,254
Без асцита(n=8)	3,557±0,081	1,712±0,163	2,063±0,219
Ремиссия (n=12)	3,69±0,339	0,840±0,091 p<0,0001	4,113±0,457 p<0,0001
Рецидив (n=40)	5,39±0,34 p=0,0001	1,027±0,089 p<0,0001	4,804±0,352 p=0,000000
Положительная динамика (n=12)	6,584±0,829 p<0,01	1,361±0,211 p<0,05	4,836±0,597 p<0,0001
Отрицательная динамика (n=12)	5,936±0,831 p<0,02	1,164±0,152 p<0,01	5,102±0,621 p<0,0001

Примечание. Статистическая значимость различий: p – относительно женщин без онкопатологии.

После проведения лечения активность каталазы была значимо снижена у всех больных, находившихся на мониторинге: на 18,7 % при ремиссии и на 29,6 % – при рецидиве РЯ. Однако если при ремиссии коэффициент СОД/каталаза не отличался от значения у здоровых женщин (3,69), то при рецидивировании наблюдалось его резкое увеличение до 5,4 с дальнейшим повышением до 5,9÷6,6 в процессе мониторинга больных, что свидетельствовало о недостаточной способности каталазы элиминировать пероксид, образование которого катализирует СОД.

Содержание ВГ было повышено у больных распространенным РЯ в среднем на 15,7 % относительно здоровых и на 21,7 % относительно больных с 1-й, 2-й ст. РЯ. При увеличении распространенности РЯ наблюдалось увеличение активности ГПО – в среднем на 31,1 % относительно 1-й, 2-й ст. Во всех группах больных, находившихся на мониторинге после проведения комплексного лечения РЯ, выявлена высокая активность ГПО, превосходящая ее значение в группе без онкопатологии в среднем на 81,8 %. Наибольшее увеличение наблюдалось у больных с отрицательной динамикой ультразвуковых параметров рецидивной опухоли (на 86,6 %), наименьшее – у больных с положительной динамикой (на 67,5 %). Активность ГР была статистически значимо снижена при распространенном РЯ (на 32,3 %) и рецидивах РЯ (на 12,4 %), а у больных с 1-й, 2-й ст. заболевания и у находящихся в состоянии ремиссии не отличалась от уровня у здоровых. Различия между значениями активности ГР в группах больных с 1-й, 2-й ст. и 3-й, 4-й ст. достигало 55,1 % (табл. 2).

Коэффициенты СОД/каталаза и СОД/ГПО, характеризующие сбалансированность работы каскадов антиоксидантных ферментов, имели разнонаправленную динамику, особенно выраженную у больных, находившихся на мониторинге после проведения комплексной терапии. Коэффициент СОД/каталаза возрастал при появлении рецидива и продолжал повышаться в процессе наблюдения до значений, превышающих уровень здоровых на 60,6–78,1 %. Коэффициент СОД/ГПО во всех группах больных был снижен. Наиболее существенное снижение имело место у больных, наблюдавшихся после завершения комплексного лечения, – на 31,7–57,9 % по сравнению с группой без онкопатологии. Снижение коэффициента СОД/ГПО на 33 % отмечено и у больных с асцитной формой РЯ (табл. 3).

В условиях снижения активности каталазы, приводящего к накоплению перекиси водорода, СОД может взаимодействовать с H_2O_2 и выступать в качестве прооксиданта, инициируя образование супероксидного анион-радикала и гидроксильного

радикала. Кроме того, высокая активность СОД при сниженной активности каталазы способствует усилению цитотоксического действия H_2O_2 [23]. Следовательно, наблюдаемое при рецидивировании снижение активности каталазы на фоне относительно высокой активности СОД может способствовать интенсификации свободнорадикальных процессов.

Увеличение величины коэффициента ГПО/каталаза, наряду со снижением коэффициента СОД/ГПО, указывает на возрастание роли ГПО в деградации перекиси водорода у больных РЯ, что было наиболее выражено у больных, наблюдавшихся после окончания комплексного лечения. Лишь у больных с 1-й, 2-й ст. РЯ все коэффициенты, отражающие соотношение активности антиоксидантных ферментов, не отличались от их значений у здоровых женщин.

Повышенный уровень глутатиона и активацию ГТ рассматривают в качестве одного из компонентов формирования множественной лекарственной устойчивости [24–27]. Согласно полученным нами данным, тенденция к значимому повышению активности ГТ наблюдается только в одной из групп больных – с отрицательной динамикой рецидивной опухоли. Это в совокупности с выявленным в этой группе относительно высоким уровнем глутатиона позволяет предполагать развитие у данных больных резистентности к лечению, что и способствует наблюдаемому у них течению заболевания, несмотря на проводимое лечение.

Заключение

Согласно полученным данным, интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови больных РЯ зависит от стадии процесса и значимо выше у больных с 3-й, 4-й ст. заболевания. Для асцитной формы РЯ были характерны большая интенсивность свободнорадикальных звеньев ПОЛ, максимальное увеличение уровня СРБ и гаптоглобина. Направленность изменений у больных с асцитом отличалась для свободнорадикальных и молекулярных продуктов ПОЛ. Интенсивность ХЛ, отражающая образование свободных радикалов, при асцитной форме была выше на 69 % по сравнению с больными без асцита, а содержание молекулярного продукта МДА в плазме крови, хотя и было повышено у всех больных распространенным РЯ, в группе без асцита было выше на 89,1 %, чем при асцитной форме.

При рецидивах основная роль в утилизации перекиси водорода переходит от каталазы к ГПО. Подтверждением является увеличение коэффициента ГПО/каталаза в 2,6÷2,8 раза (при рецидивах он

равен $4,8 \div 5,1$, без онкопатологии – 1,85), в то время как у больных с первичным РЯ таких изменений не наблюдалось (при 1-й, 2-й ст. – 1,9, при 3-й, 4-й – 2,2). Выявлена зависимость активности каталазы в плазме крови от динамики развития рецидивной опухоли. Отсутствие увеличения содержания МДА в плазме крови при рецидивах РЯ, в отличие от первичного РЯ, может быть связано с более высокой активностью каталазы плазмы именно у больных с рецидивами.

Таким образом, нарушение скоординированной работы антиоксидантных ферментов, приводящее к усилению свободнорадикальных процессов, может являться одним из факторов, способствующих прогрессированию заболевания при РЯ.

Литература

1. Урманчеева А.Ф., Кутушева Г.Ф., Ульрих Е.А. Опухоли яичника (клиника, диагностика и лечение). СПб. : Н-Л, 2012. 68 с.
2. Doubeni C.A., Doubeni A.R.B., Myers A.E. Diagnosis and Management of Ovarian Cancer // American Family Physician. 2016. Vol. 93 (11). P. 937–944.
3. Исакова Ф.С. Значение некоторых клинико-биологических показателей в патогенезе, диагностике и мониторинге больных со злокачественными и доброкачественными опухолями яичников : дис. ... канд. мед. наук. Ростов н/Д., 2016.
4. Grek C.L., Tew K.D. Redox metabolism and malignancy // Curr. Opin. Pharmacol. 2010. Vol. 10 (4). P. 362–368. DOI 10.1016/j.coph.2010.05.003.
5. Dawane J.S., Pandit V.A. Understanding Redox Homeostasis and its Role in Cancer // J. Clin. Diagnos. Res. 2012. Vol. 6 (10). P. 1796–1802.
6. Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer // Chem. Biol. Interact. 2006. Vol. 160 (1). P. 1–40.
7. Nogueira V., Hay N. Molecular pathways: reactive oxygen species homeostasis in cancer cells and implications for cancer therapy // Clin. Cancer Res. 2013. Vol. 19 (16). P. 4309–4314. DOI 10.1158/1078-0432.CCR-12-1424.
8. Gamcsik M.P., Kasibhatla M.S., Teeter S.D., Colvin O.M. Glutathione Levels in Human Tumors // Biomarkers. 2012. Vol. 17 (8). P. 671–691.
9. Traverso N., Ricciarelli R., Nitti M., Marengo B., Furfaro A.L., Pronzato M.A., Marinari U.M., Domenicotti C. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2013. Article ID 972913. DOI 10.1155/2013/972913.
10. Сурикова Е.И., Горошинская И.А., Неродо Г.А., Франциянц Е.М., Малейко М.Л., Шалашина Е.В., Качесова П.С., Немайкалова Л.А., Леонова А.В. Активность редокс-регулирующих систем в опухоли и окружающих ее тканях при различных гистологических вариантах // Биомед. химия. 2016. № 62 (2). С. 187–192.
11. Кит О.И., Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Вереникина Е.В., Черярина Н.Д., Козлова Л.С., Погорелова Ю.А. Факторы роста семейства VEGF и FGF 21 в сыворотке крови в динамике развития рака яичников // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25898> (дата обращения: 16.03.2017).
12. Кит О.И., Франциянц Е.М., Никителова Е.А., Комарова Е.Ф., Козлова Л.С., Таварян И.С., Аверкин М.А., Черярина Н.Д. Изменения маркеров пролиферации, неоангиогенеза и системы активации плазминогена в ткани рака прямой кишки // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. 2015. № 2 (114). С. 40–45.
13. Стальная И.Д., Горешвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / ред. В.Н. Орехович. М. : Медицина, 1977. С. 66–68.
14. Шестаков В.А., Бойчевская Н.О., Шерстнев М.П. Хемиллюминесценция плазмы крови в присутствии перекиси водорода // Вопросы мед. химии. 1979. № 25 (2). С. 132–137.
15. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рекомендации. СПб. : Фолиант, 2000. 104 с.
16. Корольюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.
17. Камышников В.С. Методы клинических лабораторных исследований. 6-е изд. М. : МЕДпресс-информ, 2013. 736 с.
18. Герасименко М.Н., Зуков Р.А., Титова Н.М., Дыхно Ю.А., Модестов А.А., Попов Д.В. Антиоксидантная система и маркеры окислительного стресса при раке почки // Сиб. онкол. журн. 2012. № 25 (5). С. 39–43.
19. Гусарова Ю.Н., Степанова Е.В., Ландесан Е.О., Королева О.В., Вавилова Т.П., Макаров О.В., Косецкий В.Н. Регуляция активности церулоплазмينا при онкогинекологических заболеваниях // Вопросы мед. химии. 2002. № 48 (4). С. 388–393.
20. Жуков В.И., Васильев И.М., Винник Ю.А., Белевцов Ю.П. Состояние антирадикальной и антиперекисной защиты у больных гастроканцерогенезом // Вестн. проблем биол. медицины. 2013. № 1 (4). С. 126–131.
21. Ващенко В.И., Ващенко Т.Н. Церулоплазмин – от метаболита до лекарственного средства // Психофармакология и биол. наркология. 2006. № 6 (3). С. 1254–1269.
22. Горошинская И.А., Неродо Г.А., Сурикова Е.И., Качесова П.С., Внуков В.В., Шалашина Е.В., Нескубина И.В., Немайкалова Л.А., Максимова Н.А., Сергеева М.М. Интенсивность хемиллюминесценции, состояние антиоксидантной системы и окислительная модификация белков плазмы крови при развитии рецидива рака яичников // Сиб. онкол. журн. 2013. № 26 (4). С. 45–49.
23. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М. : Слово, 2006. 556 с.
24. Свирновский А.И., Пасюков В.В. Молекулярные основы феномена химио- и радиорезистентности при опухолевых процессах // Мед. новости. 2007. № 11. С. 7–19.
25. Волкова Т.О., Багина У.С. Множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам. Экологические аспекты // Принципы экологии. 2012. № 2 (1). С. 4–20.
26. McConkey D.J., Zhu K. Mechanisms of proteasome inhibitor action and resistance in cancer // Drug Resistance Updates. 2008. Vol. 11. P. 164–179.
27. Maher Y.A. Glutathione as potential target for cancer therapy; more or less is good? (Mini-review) // Jordan J. of Biological Sciences. 2011. Vol. 3 (4). P. 119–124.

References

1. Urmancheeva A.F., Kutusheva G.F., Ul'rikh E.A. *Opukholi yaichnika (klinika, diagnostika i lechenie)* [Tumors of the ovary (clinic, diagnosis and treatment)]. Saint Petersburg: N-L, 2012, 68 p.
2. Doubeni C.A., Doubeni A.R.B., Myers A.E. Diagnosis and Management of Ovarian Cancer. *American Family Physician*. 2016, vol. 93 (11), pp. 937-944.
3. Isakova F.S. *Znachenie nekotorykh kliniko-biologicheskikh pokazatelei v patogeneze, diagnostike i monitoringe bol'nykh so zlokachestvennymi i dobrokachestvennymi opukhol'yami yaichnikov* : dis. ... kand. med. nauk [The significance of some clinical and biological indicators in the pathogenesis, diagnosis and monitoring of patients with malignant and benign ovarian tumors]. Rostov-on-Don, 2016.
4. Grek C.L., Tew K.D. Redox metabolism and malignancy. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2010, vol. 10 (4), pp. 362-368. DOI 10.1016/j.coph.2010.05.003.
5. Dawane J.S., Pandit V.A. Understanding Redox Homeostasis and its Role in Cancer. *J. Clin. Diagnos. Res.* 2012, vol. 6 (10), pp. 1796-1802.
6. Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 2006, vol. 160 (1), pp. 1-40.
7. Nogueira V., Hay N. Molecular pathways: reactive oxygen species homeostasis in cancer cells and implications for cancer therapy. *Clin. Cancer Res.* 2013, vol. 19 (16), pp. 4309-4314. DOI 10.1158/1078-0432.CCR-12-1424.
8. Gamcsik M.P., Kasibhatla M.S., Teeter S.D., Colvin O.M. Glutathione Levels in Human Tumors. *Biomarkers*. 2012, vol. 17 (8), pp. 671-691.
9. Traverso N., Ricciarelli R., Nitti M., Marengo B., Furfaro A.L., Pronzato M.A., Marinari U.M., Domenicotti C. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013. Article ID 972913. DOI 10.1155/2013/972913.
10. Surikova E.I., Goroshinskaya I.A., Nerodo G.A., Frantsiyants E.M., Maleiko M.L., Shalashnaya E.V., Kachesova P.S., Nemashkalova L.A., Leonova A.V. Aktivnost' redoks-reguliruyushchikh sistem v opukholi i okruzhayushchikh ee tkanyakh pri razlichnykh gistologicheskikh variantakh [Activity of redox-regulating systems in a tumor and surrounding tissues at various histological variants]. *Biomed. khimiya*. 2016, No. 62 (2), pp. 187-192.
11. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Moiseenko T.I., Verenikina E.V., Cheryarina N.D., Kozlova L.S., Pogorelova Yu.A. Faktory rosta semeystva VEGF i FGF 21 v syvorotke krovi v dinamike razvitiya raka yaichnikov [Factors of growth of the VEGF family and FGF 21 in the serum in the dynamics of ovarian cancer development]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017, No. 1. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25898> (accessed 16.03.2017).
12. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Nikipelova E.A., Komarova E.F., Kozlova L.S., Tavaryan I.S., Averkin M.A., Cheryarina N.D. Izmeneniya markerov proliferatsii, neoangiogeneza i sistemy aktivatsii plazminogena v tkani raka pryamoi kishki [Changes in markers of proliferation, neoangiogenesis, and the system of plasminogen activation in rectal cancer tissue]. *Eksp. i klin. gastroenterologiya*. 2015, No. 2 (114), pp. 40-45.
13. Stal'naya I.D., Goreshevili T.G. [Method for the determination of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid]. *Sovremennye metody v biokhimi* [Modern methods in biochemistry]. Ed. V.N. Orekhovich. Moscow: Meditsina, 1977, pp. 66-68.
14. Shestakov V.A., Boichevskaya N.O., Sherstnev M.P. Khemilyuminesentsiya plazmy krovi v prisutstvii perekisi vodoroda [Chemiluminescence of blood plasma in the presence of hydrogen peroxide]. *Voprosy med. khimii*. 1979, No. 25 (2), pp. 132-137.
15. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybina N.N. *Metody otsenki svobodnoradikal'nogo okisleniya i antioksidantnoi sistemy organizma* [Methods for assessing free radical oxidation and the body's antioxidant system]. Method. recommendations. Saint Petersburg: Foliant, 2000, 104 p.
16. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Maiorova I.G., Tokarev V.E. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method for determination of catalase activity]. *Lab. delo*. 1988, No. 1, pp. 16-19.
17. Kamyshnikov V.S. *Metody klinicheskikh laboratornykh issledovaniy* [Methods of clinical laboratory research]. 6th ed. Moscow: MEDpress-inform, 2013, 736 p.
18. Gerasimenko M.N., Zukov R.A., Titova N.M., Dykhno Yu.A., Modestov A.A., Popov D.V. Antioksidantnaya sistema i markery okislitel'nogo stressa pri rake pochki [Antioxidant system and markers of oxidative stress in kidney cancer]. *Sib. onkol. zhurn.* 2012, No. 25 (5), pp. 39-43.
19. Gusarova Yu.N., Stepanova E.V., Landesana E.O., Koroleva O.V., Vavilova T.P., Makarov O.V., Kosetskii V.N. Regulyatsiya aktivnosti tseruloplazmina pri onkoginekologicheskikh zabelevaniyakh [Regulation of the activity of ceruloplasmin in oncogynecologic diseases]. *Voprosy med. khimii*. 2002, No. 48 (4), pp. 388-393.
20. Zhukov V.I., Vasil'ev I.M., Vinnik Yu.A., Belevtsov Yu.P. Sostoyanie antiradikal'noi i antiperekisnoi zashchity u bol'nykh gastrokantserogenezom [The state of antiradical and antiperoxide protection in patients with gastro-carcinogenesis]. *Vestn. problem biol. meditsiny*. 2013, No. 1 (4), pp. 126-131.
21. Vashchenko V.I., Vashchenko T.N. Tseruloplazmin – ot metabolita do lekarstvennogo sredstva [Ceruloplasmin - from the metabolite to the drug]. *Psikhofarmakologiya i biol. narkologiya*. 2006, No. 6 (3), pp. 1254-1269.
22. Goroshinskaya I.A., Nerodo G.A., Surikova E.I., Kachesova P.S., Vnukov V.V., Shalashnaya E.V., Neskubina I.V., Nemashkalova L.A., Maksimova N.A., Sergeeva M.M. Intensivnost' khemilyuminesentsii, sostoyanie antioksidantnoi sistemy i okislitel'naya modifikatsiya belkov plazmy krovi pri razvitiy retsidiva raka yaichnikov [Intensity of chemiluminescence, the state of the antioxidant system and oxidative modification of plasma proteins in the development of recurrent ovarian cancer]. *Sib. onkol. zhurn.* 2013, No. 26 (4), pp. 45-49.
23. Men'shchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K., Bondar' I.A., Krugovykh N.F., Trufakin V.A. *Okislitel'nyi stress. Prooksidanty i antioksidanty* [Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants]. Moscow: Slovo, 2006, 556 p.
24. Svirnovskii A.I., Pasyukov V.V. Molekulyarnye osnovy fenomena khimio- i radiorezistentnosti pri opukholevykh protsessakh [Molecular basis of the phenomenon of chemo- and radioresistance in tumor processes]. *Med. novosti*. 2007, No. 11, pp. 7-19.
25. Volkova T.O., Bagina U.S. Mnozhestvennaya lekarstvennaya ustoichivost' opukholevykh kletok k khimioterapevticheskim preparatam. Ekologicheskie aspekty [Multiple drug resistance of tumor cells to chemotherapeutic drugs. Ecological aspects]. *Printsipy ekologii*. 2012, No. 2 (1), pp. 4-20.
26. McConkey D.J., Zhu K. Mechanisms of proteasome inhibitor action and resistance in cancer. *Drug Resistance Updates*. 2008, vol. 11, pp. 164-179.
27. Maher Y.A. Glutathione as potential target for cancer therapy; more or less is good? (Mini-review). *Jordan J. of Biological Sciences*. 2011, vol. 3 (4), pp. 119-124.

УДК 618.11:616.98-092.4

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-20-25

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ КАК ДОКАЗАТЕЛЬСТВО НАРУШЕНИЙ ГОРМОНОПРОДУЦИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ЯИЧНИКОВ ПРИ ХЛАМИДИОЗЕ

© 2017 г. Н.К. Гуськова¹, Е.М. Франциянц¹, Е.А. Гуськова², М.И. Верескунова¹, Ю.С. Шатова¹,
Т.И. Моисеенко¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия,

²Клинико-диагностический центр «Здоровье», Ростов-на-Дону, Россия

EXPERIMENTAL MODEL AS EVIDENCE OF IMPAIRED OVARIAN FUNCTION OF HORMONE FOR CHLAMYDIA

N.K. Guskova¹, E.M. Frantsiyants¹, E.A. Guskova², M.I. Vereskunova¹, Yu.S. Shatova¹, T.I. Moiseenko¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia,

²Clinical and Diagnostic Center "Zdorovie", Rostov-on-Don, Russia

Гуськова Наиля Катифовна – кандидат биологических наук, заведующая клинико-диагностической лабораторией, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: guskova.nailya@mail.ru

Nailya K. Guskova - Candidate of Biological Sciences, Head of Clinical and Diagnostic Laboratory, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: guskova.nailya@mail.ru

Франциянц Елена Михайловна – доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Elena M. Frantsiyants - Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy General Director for Science, Head of Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Гуськова Екатерина Александровна – кандидат медицинских наук, врач акушер-гинеколог, Клинико-диагностический центр «Здоровье», ул. 21-я линия, 8, г. Ростов-на-Дону, 344019, Россия, e-mail: ket_rin1981@inbox.ru

Ekaterina A. Guskova - Candidate of Medicine, Obstetrician-Gynecologist, Clinical and Diagnostic Center "Zdorovie", 21-ya Liniya St., 8, Rostov-on-Don, 344019, Russia, e-mail: ket_rin1981@inbox.ru

Верескунова Мария Ильинична – кандидат медицинских наук, врач-онколог, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: Mivereskunova@mail.ru

Maria I. Vereskunova - Candidate of Medicine, Oncologist, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: Mivereskunova@mail.ru

Шатова Юлиана Сергеевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: guskova.nailya@mail.ru

Yuliana S. Shatova - Doctor of Medicine, Leading Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: guskova.nailya@mail.ru

Моисеенко Татьяна Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: guskova.nailya@mail.ru

Tatiana I. Moiseenko - Doctor of Medicine, Professor, Main Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: guskova.nailya@mail.ru

Представлены результаты экспериментального исследования по репродукции штамма *E Chlamydia trachomatis* (Ch. tr.) в первично культивируемых клетках желтого тела с целью моделирования патологического процесса и изучения механизма влияния Ch. tr. на органы репродуктивной системы. Клеточную культуру вырастили из клеток желтого тела, выделенного из биопсийного материала в пролиферативную фазу менструального цикла в ростовых средах. Формирование монослоя

клеток проводилось в атмосфере 5%-го CO₂ при 37 °C в CO₂-инкубаторе. Полученный монослой клеток желтого тела инфицировали штаммом E Ch. tr. с титром 10⁶IFU/мл в клеточной линии McCoу с применением центробежной силы. Результаты оценивали через 48 и 72 ч. Данные свидетельствуют о способности клеток желтого тела к активному росту и размножению в ростовой среде. Показаны способность Ch. tr. инфицировать и продуктивно размножаться в клетках желтого тела и способность клеток желтого тела поддерживать рост хламидий в системе *in vitro* и *in vivo*.

Ключевые слова: клеточная культура, клетки желтого тела, функция яичников, эстрогения, *Chlamydia trachomatis*.

*The results of an experimental study on the reproduction of strain E Chlamydia trachomatis (Ch. tr.) in primary cultured cells of the yellow body are presented to model the pathological process and to study the mechanism of Ch. tr. on the organs of the reproductive system. The cell culture was grown from the cells of the yellow body extracted from the biopsy material into the proliferative phase of the menstrual cycle, in growth media. The formation of a monolayer of cells was carried out in an atmosphere of 5% CO₂ at 37 °C in a CO₂ incubator. The resulting monolayer of the cells of the yellow body was infected with strain E Ch. Tr. with a titer of 10⁶IFU / ml in a McCoу cell line using centrifugal force. The results were evaluated after 48 and 72 hours. The data indicate the ability of the cells of the yellow body to actively grow and multiply in growth medium. The ability of Ch. tr. is shown infection and productive reproduction in the cells of the yellow body and the ability of the cells of the yellow body to support the growth of chlamydia in the system *in vitro* and *in vivo*.*

Keywords: cell culture, yellow body cells, ovarian function, estrogenia, *Chlamydia trachomatis*.

Вопрос о влиянии хламидийной инфекции на гормональную функцию яичников активно обсуждается в научном мире [1, 2]. Антиген *Chlamydia trachomatis* (Ch. tr.) идентифицирован в образцах эндометрия и фаллопиевых труб бесплодных женщин [3, 4]. С инфицированием Ch. tr. связывают бесплодие [5], преждевременное угасание функции яичников, развитие вторичной аменореи [6]. Отмечены изменения гормонального статуса интактной ткани яичников и эпителия шейки матки у больных раком шейки матки (РШМ) с сопутствующей HPV/Ch. tr. коинфекцией [7], а также нарушение экспрессии женских половых гормонов у женщин с диспластическими процессами и РШМ, протекающими на фоне урогенитального хламидиоза и коррелирующими с титром сывороточных IgG и IgM антител к Ch. tr. [8].

Тем не менее имеющиеся данные не дают четкого представления о механизме повреждения репродуктивной системы женщин в процессе длительной персистенции в половых путях возбудителя хламидиоза, не установлены причины, приводящие к гормональным нарушениям. Полагаем, что доказательством взаимосвязи между нарушениями деятельности органов репродуктивной системы и инфицированием Ch. tr. могло бы явиться инфицирование культуры клеток желтого тела в эксперименте *in vitro*. Предположение основано на способности хламидий расти и размножаться в различных клеточных линиях: McCoу, Нер-2, HeLa-229 и других [9, 3], а также на преимущественной локализации возбудителя хламидиоза в верхнем отделе полового аппарата – эндометрии, капсуле яичников, фимбриях маточных труб у 53,6 % женщин, перенесших хламидиоз нижнего отдела полового тракта. Возбудитель впервые выявлен в верхнем отделе полового аппарата и у 34,9 % пациенток,

не имевших в анамнезе урогенитального хламидиоза [10].

Цель исследования – разработка модельной системы, содержащей клетки желтого тела, выделенные из ткани яичников, и культуру *Chlamydia trachomatis*, для выявления признаков инфицирования и воспаления.

Материалы и методы исследования

Использована ткань желтого тела, выделенного из биопсийного материала в пролиферативную фазу менструального цикла. В качестве агента инфицирования выбран штамм E Ch. tr. с титром 10⁶ IFU/мл, полученный роллерным культивированием в клеточных линиях McCoу [11, 12]. Ткань желтого тела тщательно гомогенизировали при комнатной температуре в культуральной среде RPMI-1640 (Seromed). Полученную клеточную смесь центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин на Т-34. Супернатант удаляли, а осадок клеток отмывали в среде RPMI. После оценки выделенных клеток в инвертированном микроскопе (Micro Star Reichert) клеточную взвесь переносили в ростовую среду, содержащую RPMI-1640 с 15%-й эмбриональной телячьей сывороткой (Seromed), 2 ммоль/л глутамина и 150 γ/мл гентамицина. Для выращивания клеток использовали матрасы из нейтрального стекла объемом 100 мл. Ростовую среду вносили в количестве 15 мл. На 3-и сут заменяли 1/3 объема среды культивирования. На 6-й день образовавшийся монослой клеток снимали со стекла 0,02%-м раствором Версена с хемотрипсином, центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин. После удаления надосадочной жидкости клеточный осадок ресуспендировали в той же среде до дозы 2,0·10⁵ клеток в 1 мл и переносили по 1 мл

во флаконы с размещенными на дне покровными стеклами размером 7×7 мм. Через 36 ч ростовую среду из флаконов удаляли, сформировавшийся монослой клеток еще раз промывали той же средой, после чего во флаконы вносили по 40 мл культуры *Ch. tr.*, центрифугировали при 2500 об/мин в течение 1 ч с использованием центрифуги с горизонтальным ротором. Применение центробежной силы необходимо для усиления адсорбции инокулята (инфицирования *Ch. tr.*) на полученный монослой клеток желтого тела [13]. Далее образцы инкубировали при температуре 37 °С в течение 72 ч. Результат взаимодействия инфекционного агента с клеточной линией оценивали по истечении 48 и 72 ч. В указанные сроки покровные стекла извлекали из флаконов, подсушивали на воздухе и фиксировали охлажденным ацетоном в течение 10 мин. Одно из стекол окрашивали по Май-Грюнвальду – Гимзе, другое – методом прямой иммунофлюоресценции.

Результаты исследования и их обсуждение

При микроскопии препаратов установлено, что через 48 ч после инфицирования клетки желтого тела располагались разрозненно и небольшими группами. Обращало на себя внимание наличие значительного количества инфекционных частиц *Ch. tr.* как внутри клеток (ретикулярные тельца), так и во внеклеточном пространстве (элементарные тельца) (рис. 1, 2).

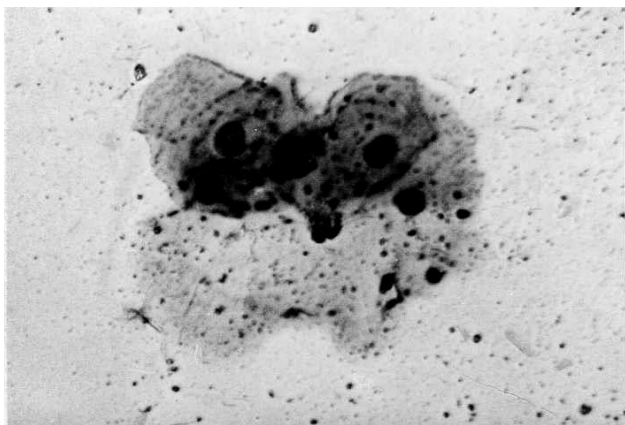


Рис. 1. 48 ч после инфицирования: микроколонии *Ch. tr.* в культуре клеток жёлтого тела. Окраска по Май-Грюнвальду–Гимзе (40×10) / Fig. 1. 48 hours after infection of the microcolony *Ch. tr.* in the culture of cells of the yellow body. Coloring for May-Grunwald-Giemsa (40×10)

Через 72 ч в препаратах, полученных после более длительного контакта клеточной линии желтого тела с культурой *Ch. tr.*, отмечено, что значительная часть монослоя разрушена. Обращали на себя внимание клетки эксплантата с выраженными

признаками деструкции, наспигованные ретикулярными тельцами и переходными формами возбудителя, экзоцитоз хламидий, лизис инфицированных клеток (рис. 3, 4) на фоне клеточного детрита и голых ядер. Особо привлекали внимание клетки, весь объем которых заполняли зрелые бочонкообразные включения *Ch. tr.* с заметным уплотнением поверхностных структур, увеличением периплазматического пространства (рис. 5).

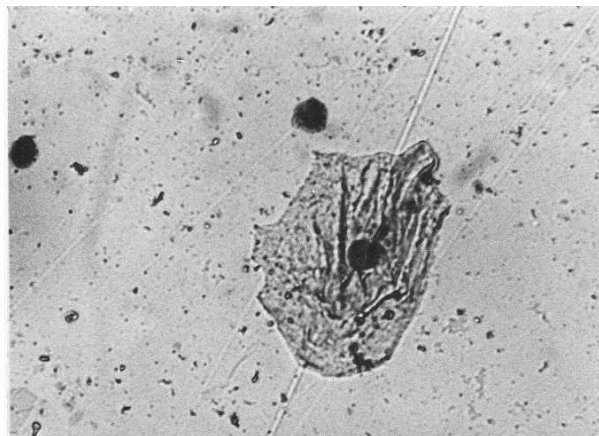


Рис. 2. 48 ч после инфицирования: микроколонии *Ch. tr.* в культуре клеток жёлтого тела. Окраска по Май-Грюнвальду–Гимзе (40×7) / Fig. 2. 48 h after infection: *Ch. Tr.* microcolonies in the culture of the cells of the yellow body. Coloring for May-Grunwald-Giemsa (40×7)

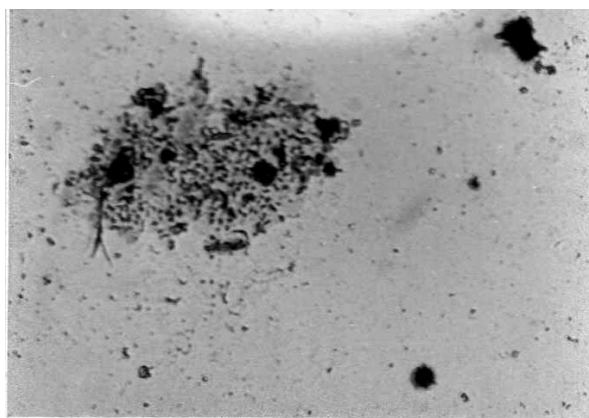


Рис. 3. 72 ч после инфицирования: микроколонии *Ch. tr.* в культуре клеток жёлтого тела. Лизис клеток. Окраска по Май-Грюнвальду – Гимзе (40×7) / Fig. 3. 72 hours after infection: microcolonies *Ch. tr.* in the culture of cells of the yellow body. Lysis of cells. Coloring for May-Grunwald-Giemsa (40×7)

Итак, уже через 72 ч после инфицирования определялись явные признаки лизиса инфицированных клеток желтого тела. Процесс сопровождался освобождением значительного количества инфекционных частиц хламидий, каждая из которых способна инициировать новый раунд инфек-

ции. При отсутствии доказательств о различиях между циклом развития инфекционного процесса *in vivo* от такового *in vitro* можно предположить, что при естественном инфицировании развитие хламидий происходит аналогичным образом, с продукцией инфекционного потомства. С целью подтверждения вирулентности культуры клеток желтого тела, инфицированных штаммом E Ch. tr., было выполнено по описанной выше методике несколько повторных заражений монослоя клеток желтых тел. Получен аналогичный первому эксперименту результат.

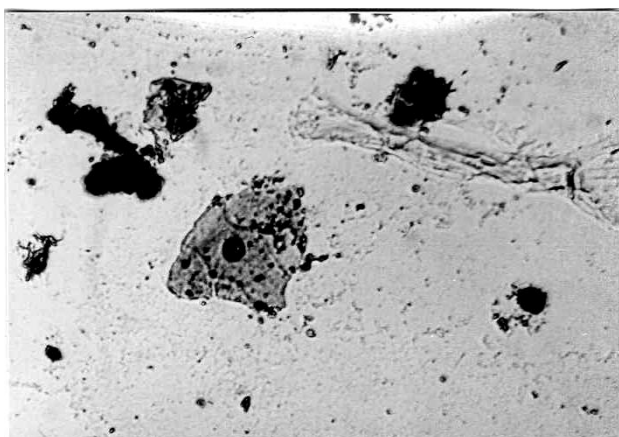


Рис. 4. 72 ч после инфицирования: микроколонии Ch. tr. в культуре клеток жёлтого тела через. Экзоцитоз хламидийных телец, клеточный детрит. Окраска по Май-Грюнвальду – Гимзе (40×7). / Fig. 4. 72 hours after infection of the microcolonies Ch. tr. in the culture of the cells of the yellow body through. Exocytosis of chlamydial bodies, cellular detritus. Coloring for May-Grunwald-Giemsa (40×7)

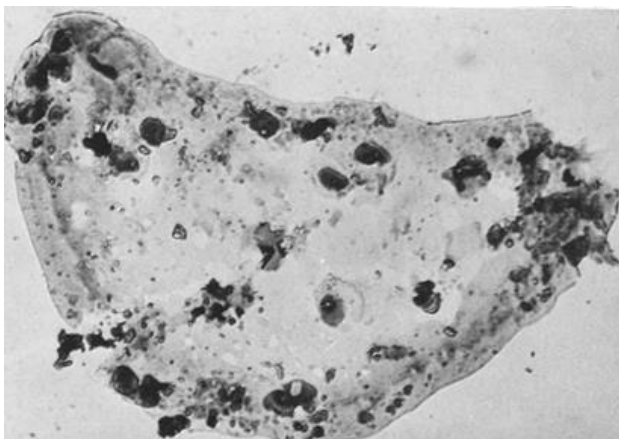


Рис. 5. 72 ч после инфицирования: разрушенная клетка жёлтого тела. Тельца включений Ch. tr. бочонкообразной формы. Окраска по Май-Грюнвальду – Гимзе (10×1000) / Fig. 5. 72 hours after infection: the destroyed cell of the yellow body. Taurus inclusions Ch. tr. keg-like shape. Coloring for May-Grunwald-Giemsa

Для изучения патологического воздействия Ch. tr. на органы репродуктивной системы женщин мы инъецировали суспензию клеток желтого тела, инфицированных Ch. tr., интравагинально половозрелым самкам белых беспородных крыс в возрасте 6–7 мес. с исходной массой тела 180–200 г, распределенным на 2 группы. В 1-й – 14 крыс в лютеиновой фазе, во 2-й – 12 беременных крыс. Контролем служила группа из 10 крыс аналогичного возраста без инфекционного компонента. Все исследования проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в Международных рекомендациях по проведению биомедицинских исследований с использованием животных, положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных для экспериментальных и других научных целей и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Ежедневно анализировались мазки из влагалища животных (влагалищные смывы). Через 6–10 дней в материале из половых путей инфицированных крыс 1-й группы получены признаки диссеминации хламидий, а также изменение клеточного состава влагалищных мазков, свидетельствующие о нарушении длительности фаз эстрального цикла, в отличие от крыс контрольной группы, характеризующейся в целом последовательностью, ритмичностью всех фаз эстрального цикла и схожей длительностью циклов – в пределах 4–6 дней. Полагаем, что указанные изменения могут быть следствием нарушения ритмичности функционирования яичников. Во 2-й группе в результате экспериментального воздействия у 7 крыс (58,3 %) отмечены выкидыши, у остальных крыс этой группы в дальнейшем получено ослабленное потомство.

По нашему мнению, клетки желтого тела яичника могут служить своеобразной экологической нишей для хламидийной инфекции, являться реальными клетками-хозяевами для них, функционируя в организме как естественный резервуар инфекции. Вместе с тем инфекция Ch. tr. может являться независимым фактором риска, ассоциированным с нарушением гормональной функции яичников. Полученная экспериментальная модель культуры клеток желтого тела, которую сокультивировали с Ch. tr., представляет собой прямое доказательство взаимосвязи урогенитальной хламидийной инфекции и нарушений функции репродуктивной системы женщин и позволяет оценить роль Ch. tr. в развитии гиперэстрогений. Что же касается механизма инфицирования ткани яичника и, в частности, желтого тела, то последний может заключаться в следующем. В момент овуляции маточная труба, воспринимая импульсы фолликула,

рефлекторно сокращается, фимбриями охватывая бугорок фолликула. Именно в этот момент труба может забросить свое содержимое в зону овуляции. В это время возможно изолированное поражение яичника инфицированными сперматозоидами в момент разрыва овулировавшей яйцеклетки. Вместе с тем на фоне сальпингита возможно развитие острого и хронического оофорита (вторично). Как правило, этот процесс осложняется формированием одно- или двустороннего tuboовариального образования. Тогда на фоне снижения общего и местного иммунитета в воспалительный процесс могут быть вовлечены фолликулы и желтое тело, несмотря на то что они имеют свои особенности кровоснабжения и обладают значительной анатомо-функциональной автономностью. Как следствие, желтое тело, являясь железистой структурой, в дальнейшем служит средой обитания для хламидий. Так может нарушиться продукция прогестерона желтым телом: инфицированное желтое тело не обеспечит полноценного уровня прогестерона. Это повлечет за собой нарушение принципа двойной обратной связи в центральной регуляции функций яичников гипоталамо-гипофизарной областью и нарушит процесс созревания фолликулов в последующих циклах. Наряду с этим факт инфицирования желтого тела объясняет наблюдаемые часто у инфицированных хламидиями женщин кистозные трансформации яичников, кисты желтого тела, нарушения функции яичников по типу недостаточности 2-й фазы вплоть до ановуляции [13]. Организм испытывает дефицит прогестерона. Развивается относительная, а порой и абсолютная гиперэстрогения. Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что инфицирование желтого тела может явиться пусковым механизмом гиперэстрогений как серьезного осложнения при хламидиозе, поскольку длительно существующая гиперэстрогения является источником гиперпластических процессов гормоночувствительных тканей [14, 15].

Заключение

Таким образом, в эксперименте *in vitro* получены данные, подтверждающие способность клеток желтого тела, выделенного из биопсийного материала в пролиферативную ФМЦ, к активному росту и размножению на поверхности покровных стекол. Показаны способность штамма *E. Ch. tr.* инфицировать и продуктивно размножаться в первично культивируемых клетках желтого тела, а также чувствительность культуры клеток желтого тела к *Ch. tr.* Более того, инфицированные штаммом *E. Ch. tr.* клетки желтого тела способны поддерживать рост хламидий в системе *in vitro* и *in vivo*.

Литература

1. Akande V., Turner C., Horner P., Horne A., Pacey A. Impact of Chlamydia trachomatis in the reproductive setting: British fertility society guidelines for investigation for practice // Human Fertility. 2010. Vol. 13, № 3. P. 115–125.
2. Amanda J., Stephens A.J., Aubuchon M., Schust D.J. Antichlamydial Antibodies, Human Fertility, and PregnancyWastage // Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology. 2011. P. 9. DOI 10.1155/2011/525182.
3. Jerchel S., Knebel G., König P., Bohlmann M.K., Rupp J. A human fallopian tube model for investigation of C. trachomatis infections // J. Vis. Exp. 2012. Vol. 11, № 66. P. e4036. DOI 10.3791/4036.
4. Zardawi I.M. Primary Fallopian Tube Carcinoma Arising in the Setting of Chronic Pelvic Inflammatory Disease // Case Rep. Med. 2014. Vol. 3. P. 7. DOI 10.1155/2014/645045.
5. Price M.J., Ades A.E., Soldan K., Welton N.J., Macleod J., Simms I., DeAngelis D., Turner K.M., Horner P.J. The natural history of Chlamydia trachomatis infection in women: a multi-parameter evidence synthesis // Health Technol. Assess. 2016. Vol. 20, № 22. P. 1–250. DOI 10.3310/hta20220.
6. Haggerty C.L., Gottlieb S.L., Taylor B.D., Low N., Xu F., Ness R.B. Risk of sequelae after Chlamydia trachomatis genital infection in women // J. Infect. Dis. 2010. Vol. 201, № 15, suppl. 2. P. 134–155.
7. Франциянц Е.М., Гуськова Н.К., Бандовкина В.А., Моисеенко Т.И., Вовкочина М.А., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А. Влияние коинфицирования HPV/Chlamydia trachomatis на локальный гормональный фон при раке шейки матки // Мед. вестн. Сев. Кавказа. 2017. № 1. С. 52–57. DOI 10.14300/mnnc.2017.12014.
8. Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Гуськова Н.К., Комарова Е.Ф. Влияние восходящей хламидийной инфекции на уровень половых гормонов в крови у женщин с воспалительными и пролиферативными процессами гениталий // Фундаментальные исследования. 2013. № 7, ч. 2. С. 419–422. URL: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=31852> (дата обращения: 17.04.2017).
9. Mei B., Du K., Huo Z., Zou Y., Yu P. Discrepant effects of Chlamydia trachomatis infection on MICA expression of HeLa and U373 cells // Infection, Genetics and Evolution. 2010. Vol. 10, № 6. P. 740–745.
10. Патент RU № 2136240. Способ лечения хламидиоза у женщин с бесплодием трубно-перитонеального и трубно-эндокринного генеза / Б.И. Медведев, Т.В. Астахова, Т.В. Узлова, Е.Ю. Канаева. Опубл. 10.09.1999 г.
11. Бартењева Н.С., Фуэнтос И., Деева Ф.В., Лефевр Ж.Ф. [и др.]. Индукция тумор-некротического фактора хламидиями // Актуальные микробиологические и клинические проблемы хламидийных инфекций. М., 1990. С. 30–32.
12. Патент RU № 2509031. Способ моделирования воспалительного процесса в тканях репродуктивных органов женщин / Е.М. Франциянц, Н.К. Гуськова, Е.Ф. Комарова, Е.А. Гуськова. Опубл. 10.01.2015 г. Бюл. № 1.
13. Morin-Papunen L., Rantala A.S., Unkila-Kallio L. [et al.]. Metformin improves pregnancy and live-birth rates in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): a multicenter, double-blind, placebo-controlled randomized trial // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2012. Vol. 97. P. 1492–1500. DOI 10.1210/jc.2011-3061.
14. Rinaldi S., Plummer M., Biessy C., Castellsague X., Overvad K., Kruger K.S. [et al.]. Endogenous sex steroids and

risk of cervical carcinoma: results from the EPIC study // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2011. Vol. 20. P. 2532–2540. PMID 21994406.

15. Roura E., Travier N., Waterboer T., de Sanjosé S., Bosch F.X., Pawlita M. The Influence of Hormonal Factors on the Risk of Developing Cervical Cancer and Pre-Cancer: Results from the EPIC Cohort // *PLoS ONE.* 2016. Vol. 11, № 1. P. e0147029. DOI 10.1371/journal.pone.0147029.

References

1. Akande V., Turner C., Horner P., Horne A., Pacey A. Impact of Chlamydia trachomatis in the reproductive setting: British fertility society guidelines for practice. *Human Fertility.* 2010, vol. 13, No. 3, pp. 115-125.

2. Amanda J., Stephens A.J., Aubuchon M., Schust D.J. Antichlamydial antibodies, human fertility, and pregnancy wastage. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology.* 2011, p. 9. DOI 10.1155/2011/525182.

3. Jerchel S., Knebel G., König P., Bohlmann M.K., Rupp J. A human fallopian tube model for investigation of C. trachomatis infections. *J. Vis. Exp.* 2012, vol. 11, No. 66, p. e4036. DOI 10.3791/4036.

4. Zardawi I.M. Primary fallopian tube carcinoma arising in the setting of chronic pelvic inflammatory disease. *Case Rep. Med.* 2014, vol. 3, p. 7. DOI 10.1155/2014/645045.

5. Price M.J., Ades A.E., Soldan K., Welton N.J., Macleod J., Simms I., DeAngelis D., Turner K.M., Horner P.J. The natural history of Chlamydia trachomatis infection in women: a multi-parameter evidence synthesis. *Health Technol. Assess.* 2016, vol. 20, No. 22, pp. 1-250. DOI 10.3310/hta20220.

6. Haggerty C.L., Gottlieb S.L., Taylor B.D., Low N., Xu F., Ness R.B. Risk of sequelae after Chlamydia trachomatis genital infection in women. *J. Infect. Dis.* 2010, vol. 201, No. 15, suppl. 2, pp. 134-155.

7. Frantsiyants E.M., Guskova N.K., Bandovkina V.A., Moiseenko T.I., Vovkochina M.A., Cheryarina N.D., Pogorelova Yu.A. Vliyanie koinfitsirovaniya HPV/Chlamydia trachomatis na lokal'nyi gormonal'nyi fon pri rake sheiki matki [Effect of co-infection with HPV/Chlamydia trachomatis on local hormonal profile in cervical cancer]. *Med. vestn. Sev. Kavkaza.* 2017, No. 1, pp. 52-57. DOI 10.14300/mnnc.2017.12014.

8. Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Guskova N.K., Komarova E.F. Vliyanie voskhodyashchei khlamidiinoi infektsii na uroven' polovykh gormonov v krovi u zhenshchin s vospalitel'nymi i proliferativnymi protsessami genitalii [Effect of ascending chlamydial infection on level of sex hormones in the blood of women with inflammatory and proliferative processes of genitals]. *Fundamental'nye issledovaniya. Meditsinskie nauki.* 2013, No. 7, part 2, pp. 419-422. Available at: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=31852> (accessed 17.04.2017).

9. Mei B., Du K., Huo Z., Zou Y., Yu P. Discrepant effects of Chlamydia trachomatis infection on MICA expression of HeLa and U373 cells. *Infection, Genetics and Evolution.* 2010, vol. 10, No. 6, pp. 740-745.

10. Medvedev B.I., Astakhova T.V., Uzlova T.V., Kanaeva E.Yu. Sposob lecheniya khlamidioza u zhenshchin s besplodiem trubno-peritoneal'nogo i trubno-endokrinnogo geneza [Method of treatment of chlamydia in women with infertility of tubal-peritoneal and tubal-endocrine origin]. Certificate, No. 2136240, 10.09.1999.

11. Barten'eva N.S., Fuentes I., Deeva F.V., Lefebvre Zh.F. [et al.]. [Induction of tumor necrotic factor by chlamydia]. *Aktual'nye mikrobiologicheskie i klinicheskie problemy khlamidinykh infektsii* [Current microbiological and clinical problems of chlamydia infections]. Moscow, 1990, pp. 30-32.

12. Frantsiyants E.M., Guskova N.K., Komarova E.F., Guskova E.A. Sposob modelirovaniya vospalitel'nogo protsessa v tkanyakh reproduktivnykh organov zhenshchin [Method of modelling inflammatory process in tissues of reproductive organs in women]. Certificate, No. 2509031, 10.01.2015.

13. Morin-Papunen L., Rantala A.S., Unkila-Kallio L. [et al.]. Metformin improves pregnancy and live-birth rates in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): a multicenter, double-blind, placebo-controlled randomized trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012, vol. 97, pp. 1492-1500. DOI 10.1210/jc.2011-3061.

14. Rinaldi S., Plummer M., Biessy C., Castellsague X., Overvad K., Kruger K.S. [et al.]. Endogenous sex steroids and risk of cervical carcinoma: results from the EPIC study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011, vol. 20, pp. 2532-2540.

15. Roura E., Travier N., Waterboer T., de Sanjosé S., Bosch F.X., Pawlita M. The influence of hormonal factors on the risk of developing cervical cancer and pre-cancer: Results from the EPIC Cohort. *PLoS ONE.* 2016, vol. 11, No. 1, p. e0147029. DOI 10.1371/journal.pone.0147029.

УДК 618.14-006

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-26-32

СКРИНИНГ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ. МИРОВОЙ ОПЫТ. СИТУАЦИЯ В РОССИИ

© 2017 г. Т.А. Дмитриади^{1,2}, О.И. Кит³, Д.В. Бурцев¹

¹Областной консультативно-диагностический центр, Ростов-на-Дону, Россия,

²Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия,

³Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону, Россия

SCREENING OF CERVICAL CANCER. WORLD EXPERIENCE. SITUATION IN RUSSIA

T.A. Dmitriadi^{1,2}, O.I. Kit³, D.V. Burtsev¹

¹Regional Consultative and Diagnostic Center, Rostov-on-Don, Russia,

²Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia,

³Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Дмитриади Татьяна Александровна – кандидат медицинских наук, врач консультативного отдела, Областной консультативно-диагностический центр, ул. Пушкинская, 127, г. Ростов-на-Дону, 344000, Россия; ассистент, кафедра акушерства и гинекологии № 3 ФПК и ППС, Ростовский государственный медицинский университет, пер. Нахичеванский, 29, г. Ростов-на-Дону, 344022, Россия, e-mail: tdimitriadi@yandex.ru

Tatjana A. Dmitriadi - Candidate of Medicine, Doctor of Consultative Department, Regional Consultative and Diagnostic Center, Pushkinskaya St., 127, Rostov-on-Don, 344000, Russia; Assistant, Department of Obstetrics and Gynecology No. 3, Rostov State Medical University, Nakhichevanskiy Lane, 29, Rostov-on-Don, 344022, Russia, e-mail: tdimitriadi@yandex.ru

Кит Олег Иванович – доктор медицинских наук, профессор, член корреспондент РАН, генеральный директор Ростовского научно-исследовательского онкологического института, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rmi oi@list.ru

Oleg I. Kit - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, General Director, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rmi oi@list.ru

Бурцев Дмитрий Владимирович – доктор медицинских наук, главный врач, Областной консультативно-диагностический центр, ул. Пушкинская, 127, г. Ростов-на-Дону, 344000, Россия, e-mail: dr-burtsev@mail.ru

Dmitry V. Burtsev - Doctor of Medicine, Chief Phesician, Regional Consultative and Diagnostic Center, Pushkinskaya St., 127, Rostov-on-Don, 344000, Russia, e-mail: dr-burtsev@mail.ru

Представлены последние данные Американского онкологического общества (АОО), касающиеся разработки рекомендаций для скрининга патологических изменений и рака шейки матки (РШМ) с целью ранней диагностики. В новых рекомендациях рассматриваются стратегии обследования, приемлемые для разных возрастных групп. Эти стратегии включают цитологические исследования, тестирование на наличие вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого онкогенного риска, последующее медицинское наблюдение за женщинами, прошедшими скрининг. АОО рекомендует проводить скрининг на РШМ у женщин в возрасте от 21 до 65 лет с цитологией каждые 3 года, для женщин в возрасте от 30 до 65 лет, которые хотят продлить интервал, – скрининг с сочетанием цитологии и ВПЧ-тестирования каждые 5 лет. Американское общество клинической патологии скрининга в руководстве по профилактике и раннему выявлению РШМ не рекомендует проводить скрининг на РШМ у женщин моложе 21 года; у женщин старше 65 лет, которые имели адекватный предварительный скрининг и не находятся в группе высокого риска РШМ.

Ключевые слова: ВПЧ-тестирование, рак шейки матки, скрининг на рак шейки матки.

Force recommendation statement on screening for cervical cancer. New evidence on the comparative test performance of liquid-based cytology and the benefits and harms of human papillomavirus (HPV) testing as a stand-alone test or in combination with cytology. In addition to the systematic evidence review commissioned a decision analysis to help clarify the age at which to begin and end screening, the optimal interval for screening, and the relative benefits and harms of different strategies for screening (such as cytology and co-testing). American Cancer Society recommends screening for cervical cancer in women aged 21 to 65 years with cytology every 3 years or, for women aged 30 to 65 years who want to lengthen the screening interval, screening with a combination of cytology and HPV testing every 5 years. See the Clinical Considerations for discussion of cytology method, HPV testing, and screening interval. American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer recommends against

screening for cervical cancer in women younger than age 21 years against screening for cervical cancer in women older than age 65 years who have had adequate prior screening and are not otherwise at high risk for cervical cancer.

Keywords: HPV testing, cervical cancer, screening for cervical cancer.

Рак шейки матки (РШМ) многие годы занимает 2-е место по частоте среди злокачественных новообразований органов репродуктивной системы, уступая лишь раку молочной железы, и первое по частоте злокачественных опухолей у женщин 15–39 лет [1]. Заболеваемость и смертность от РШМ в России достаточно высоки – 17,35 и 6,6 на 100 тыс. населения соответственно (данные WHO за 2016 г.). К сожалению, чаще всего опухоль выявляется на поздних стадиях (более 30 % пациентов), при которых шансы на успешное выздоровление крайне малы. Но стоит отметить, что современная медицина располагает средствами для ранней диагностики заболевания, поэтому последнее время показатели выживаемости значительно выросли.

Злокачественные опухоли женской репродуктивной системы оказывают влияние на качество и продолжительность жизни пациентки и на ее репродуктивную функцию, так как в 20–40 % случаев выявляются у женщин фертильного возраста. Специалисты отмечают негативную тенденцию в отношении заболеваемости РШМ, так как случаи его возникновения в молодом возрасте участились. Ежегодно в мире выявляют примерно 500 000 новых случаев заболевания, из них 15 000 – в России. На долю этой болезни в среднем приходится 4,4 % в развитых странах, 5,2 – в РФ и до 15 % – в развивающихся государствах [2].

Одним из путей снижения смертности от злокачественных новообразований является скрининг – выявление бессимптомного рака путем массовых профилактических осмотров. Обследования, направленные на выявление РШМ, в значительной степени снизили процент заболевания цервикальным раком и количество смертельных исходов. Впервые ДНК-тестирование на предмет обнаружения вирусов папилломы человека (ВПЧ) было включено в рекомендации для ранней диагностики РШМ, составленные Американским онкологическим обществом (АОО) в 2002 г. С тех пор опубликованы многочисленные исследования в поддержку предлагаемого типа скрининга, учитывающего принадлежность к определенной возрастной группе, а также лечения патологий, диагностированных в результате скрининга [3].

Согласно руководству «Комплексная борьба с РШМ: руководство по основам практики» ВОЗ 2014 г., рекомендуется [4]:

1. Вакцинировать девочек в возрасте 9–13 лет двумя дозами вакцины против ВПЧ для профилактики инфицирования ВПЧ, который вызывает большинство случаев РШМ. Сокращенная двухдозовая схема вакцинации продемонстрировала такую же эффективность, как и используемая в настоящее время трехдозовая схема. Переход на двухдозовую схему упростит вакцинацию и снизит ее стоимость.

2. Использовать тесты на ВПЧ для скрининга женщин в целях профилактики РШМ. При тестировании на ВПЧ частота скрининга снизится. При негативных результатах скрининга женщине можно не проходить повторный скрининг по меньшей мере на протяжении 5 лет, но она должна пройти его в течение 10 лет. По сравнению с другими типами тестов это означает значительную экономию средств для систем здравоохранения.

3. Информировать более широкую аудиторию. В руководстве предлагается сместить акцент с рекомендаций скрининга для женщин в возрасте старше 29 лет на информирование более широкой аудитории (подростков, родителей, педагогов, руководителей и людей, работающих на всех уровнях системы здравоохранения) для обеспечения охвата женщин на протяжении их жизни.

В настоящее время неоспоримым является тот факт, что персистенция папиллома-вирусной инфекции (ПВИ) высокого онкогенного типа приводит к развитию цервикального рака, которому предшествует предраковое патологическое изменение, интраэпителиальная цервикальная неоплазия 3-й степени (CIN 3). После проведения серии эпидемиологических исследований было установлено, что практически в 100 % случаев заболевания РШМ ВПЧ-тест является положительным. ВПЧ 16-го типа представляет собой папиллома-вирус с наиболее высоким онкогенным риском и обнаруживается примерно в 55–60 % случаев заболевания цервикальным раком. ВПЧ 18-го типа – второй наиболее онкогенный папиллома-вирус, который обнаруживается примерно в 10–15 % случаев заболевания РШМ. Приблизительно 10 других генотипов ВПЧ становятся причиной возникновения оставшихся 25–35 % случаев заболевания цервикальным раком. ВПЧ 18-го типа приводит к подавляющему большинству железистых видов рака, аденокарциномы и аденосквамозной карциномы (32 %), в то время как сквамозная карцинома вызы-

вается данным генотипом вируса значительно реже (8 %). Установление причинно-следственной связи между ВПЧ и РШМ, а также привлечение данных эпидемиологии, касающихся ВПЧ-инфекций, привело к возникновению новой модели цервикального канцерогенеза: инфицирование ВПЧ, персистирующая инфекция, продвижение к предраковой стадии и, наконец, инвазия. Эта модель позволяет разработать в соответствии с принадлежностью к определенной возрастной группе серию мер по предотвращению РШМ [5].

ВПЧ передается половым путем, а также через соприкосновение гениталий во время полового контакта. Среди населения во многих странах число случаев инфицирования достигает своего пика в течение первых нескольких лет после начала половой жизни. Большинство случаев заражения ВПЧ (90 %) – транзиторные и не имеют клинических проявлений в первые 1–2 года. Женщины, у которых инфекция приобретает персистентный характер, подвергаются высокому риску развития предраковых заболеваний шейки матки (СИН). Если персистенция ПВИ насчитывает от 1 до 2 лет (особенно если речь идет о ВПЧ 16), то возникает высокий риск развития СИН3 или даже более серьезных патологий, таких как СИН3+ в последующие годы. Например, риск развития СИН3+ в последующие 5 лет при наличии 2-летней персистенции HPV16 составляет 20–30 %. СИН3, не подвергающаяся лечению, имеет 30%-ю вероятность перехода в инвазивный рак в течение 30-летнего периода, в то время как лишь 1 % СИН3 переходит в инвазивную стадию при условии, что проводится надлежащее лечение [2].

Основной целью скрининга цервикального рака является предотвращение случаев заболевания данным видом рака, а также смертельных исходов вследствие него. Оптимальные методы скрининга должны быть направлены на определение той предраковой цервикальной патологии, которая имеет высокую вероятность прогрессирования в инвазивный рак, но не должны быть нацелены на обнаружение и нецелесообразное лечение транзиторной ПВИ и связанных с ней доброкачественных изменений. Цитологическое исследование (мазок по Папаниколау) доказало свою эффективность в снижении количества случаев заболевания РШМ и летальных исходов в странах, где доступен высококачественный скрининг. Однако ложноположительные результаты встречаются весьма часто, так как большинство атипичных клеток (атипичные клетки плоского эпителия неясного значения (ASC-US)) и другие патологически измененные клетки не ассоциируются с сопутствующей СИН3 или раком. Прямая связь между нали-

чием ПВИ и РШМ привела к разработке молекулярных тестов на ВПЧ (речь идет о ВПЧ высокого онкогенного риска). Другие типы ВПЧ, которые не приводят к онкологической цервикальной патологии, не должны быть рассмотрены при проведении скрининга РШМ.

Тестирование на предмет обнаружения типов ВПЧ с низким онкогенным риском не имеет клинической значимости при скрининге цервикального рака, а также при обследовании женщин, результаты цитологических исследований которых выявляют наличие атипичных клеток. Вышеупомянутые молекулярные тесты являются более точными, но менее специфичными в сравнении с цитологическими исследованиями. ВПЧ-тесты с большей долей вероятности, нежели цитологические исследования, могут предсказать развитие СИН3+ в последующие 5–15 лет. Включение ВПЧ-тестирования в методы скрининга РШМ выявляет возросший риск развития болезни (что позволяет выбрать правильную стратегию наблюдения или лечения), а также увеличивает интервалы между проведением скрининга, тем самым снижая вред психосоциального характера, который наносится пациентке в случае получения положительных результатов, дополнительных клинических посещений и процедур, лечения патологических изменений, не имеющих онкологического риска.

Посредством организованного скрининга в США и странах Европы стало возможным сокращение общего уровня смертности от РШМ, так как увеличение выявления инвазивного рака на ранних стадиях повышает коэффициент 5-летней выживаемости до 92 %; выявление и лечение преинвазивных патологических изменений снижают общее количество случаев заболеваний инвазивным раком [6].

Преимущества и недостатки скрининга

В идеальном варианте скрининг-тесты должны эффективно и точно выявлять женщин с предраковыми заболеваниями, имеющими высокий риск перехода в инвазивную форму рака, что можно избежать своевременным лечением. По мнению АОО, критерий, подтверждающий точность скрининг-теста, – обнаружение СИН3, что указывает на наличие предраковых изменений, так как у подавляющего большинства женщин с подобной патологией, не подвергавшейся лечению, был диагностирован инвазивный РШМ. Принимая во внимание особенности цервикального карциногенеза и относительную редкость случаев РШМ среди женщин, регулярно проходящих обследование, можно рассчитывать на положительный исход лечения и наблюдения в кон-

тролируемых клинических условиях. В то же время CIN2 не свидетельствует об обязательном переходе в злокачественную форму, так как включает некоторые предраковые изменения, характерные для CIN3, и некоторые изменения, характерные для CIN1 (последние регрессируют самостоятельно). Хотя CIN2 указывает на необходимость начала лечения, однако, согласно рекомендациям Американского общества кольпоскопии и цервикальной патологии, выявление CIN2 не должно являться главной целью скрининга цервикального рака.

В идеале интервалы между скринингом, проводимым посредством различных методов, необходимо рассчитывать таким образом, чтобы инвазивный рак не смог развиваться до следующего обследования. В силу того, что существует мало исследований, содержащих достаточное количество данных о заболеваниях раком, которые могли бы напрямую установить риск его развития, CIN3 необходимо рассматривать как показатель, свидетельствующий об очень высоком риске развития цервикальной онкологической патологии.

Большинство случаев заражения ПВИ и многие случаи развития CIN1 и CIN2 являются транзиторными и не переходят в CIN3 и РШМ. Потенциальный вред, ассоциируемый с обнаружением данных транзиторных патологий, включает тревожность, вызванную получением положительного результата после прохождения скрининга онкологических заболеваний, психологическое давление, связанное с выявлением болезни, передающейся половым путем, дискомфорт от дополнительных диагностических и лечебных процедур, появление кровотечений в ходе лечения и в перспективе высокую вероятность возникновения осложнений, касающихся беременности (например, преждевременные роды, спровоцированные лечением). Положительный результат на скрининг-тест в любом возрасте может ассоциироваться с возросшим риском развития рака и приводит к желанию проходить большее количество обследований, что зачастую сопряжено с опасением повторного получения положительного результата.

Скрининг-стратегии, основанные на оценке рисков

1. Невозможно предотвратить все случаи развития цервикального рака. Ни один скрининг-тест не обладает совершенной чувствительностью. Таким образом, после каждого обследования сохраняется остаточный риск. Наиболее быстро прогрессирующие случаи РШМ (например, те, которые встречаются у девушек в подростковом возрасте и у жен-

щин от 20 до 24 лет) невозможно предотвратить посредством имеющихся на сегодняшний день скрининговых стратегий.

2. Цитологические исследования, проводимые без ВПЧ-тестирования с 2-3-летними интервалами, входят во все существующие рекомендации для скрининга крупнейших профессиональных сообществ и признаются стандартом оказания медицинской помощи в США и странах Европы.

3. Для женщин, входящих в группу риска, должны быть применены схожие стратегии наблюдения и лечения вне зависимости от того, при помощи какого скрининг-метода риск был определен.

Методы скрининга.

Особенности цитологических исследований

Опираясь на данные, демонстрирующие схожую чувствительность и специфичность традиционных и жидкостных тонкослойных цитологических анализов, в определении CIN2+ оба метода рекомендованы к использованию в рамках цервикального скрининга.

Особенности ВПЧ-тестирования

Отличительные черты ВПЧ-тестирования – более высокая чувствительность, но меньшая специфичность для выявления CIN3+ и CIN2+ по сравнению с цитологическими исследованиями. Чувствительность ВПЧ-тестирования, направленного на обнаружение CIN3+ и CIN2+, должна составлять 90 % и выше. Несколько ВПЧ-тестов, одобренных Управлением по контролю пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA), имеются на рынке, но ни один из них еще не был утвержден как основной и единственный метод для проведения скрининга.

При использовании ВПЧ-тестов необходимо обращать внимание на показания к применению. Профессиональные медицинские организации, являющиеся клиническими экспертами в области гинекологической онкологии, рекомендуют использование ВПЧ-тестов для контроля во время наблюдения после проведенного лечения.

В сравнении с женщинами, имеющими отрицательные результаты цитологического скрининга, женщины с отрицательными результатами ВПЧ-тестирования имеют более низкий риск последующего развития CIN3+ и рака [7].

Женщины, принадлежащие к группам высокого риска развития цервикального рака, должны проходить более тщательное обследование, а также обследование посредством альтернативных методов. Подобные особые группы населения включают

женщин, имеющих в анамнезе РШМ; подвергшихся воздействию диэтилстильбэстрола; имеющих нарушенную иммунологическую реакцию (например, ВИЧ-инфицированные).

Рекомендации Американского общества скрининга клинической патологии шейки матки [8]

РШМ, встречающийся у девочек-подростков и женщин молодого возраста, не может быть предотвращен посредством скрининга цервикального рака, начатого с 21 года, поскольку женщины моложе 21 года не проходят скрининг. Однако при этом не учитываются возраст начала половой жизни и другие факторы риска.

Частота скрининговых исследований на предмет обнаружения цервикального рака в данной возрастной группе не изменялась в течение 4 десятилетий, несмотря на увеличение общей роли скрининга в диагностировании и предотвращении онкологических заболеваний. Проведение скрининга среди подростков ведет к получению данных, не являющихся клинически значимыми, а также к потенциально необоснованному лечению предраковых изменений, которые имеют высокую вероятность спонтанной регрессии и, как правило, не представляют риск развития инвазивных форм рака.

Программы по профилактике РШМ среди подростков должны включать всеобщую вакцинацию от ВПЧ, которая является безопасной и эффективной, особенно если была произведена в пубертатный период, до начала половой активности.

Мировой опыт модернизации скрининговых программ демонстрирует отказ от ежегодного обследования. Ежегодный скрининг ведет к незначительному увеличению случаев предотвращения рака, что достигается главным образом за счет проведения большого количества терапевтических процедур, направленных на лечение транзиторных, доброкачественных ВПЧ-ассоциированных изменений, имеющих высокую вероятность спонтанной регрессии в период от 1 до 2 лет, и не приводит к развитию рака в течение длительного времени.

Для женщин в возрасте от 21 до 29 лет рекомендуется цитологический скрининг каждые 3 года. Для женщин в возрасте от 21 до 29, имеющих два последовательных отрицательных результата цитологических исследований, не обнаружено подтверждающих данных, которые бы позволили проходить скрининг через более длительные интервалы (например, более чем через 3 года).

При обнаружении РШМ на ранней стадии уровень выживаемости в последующие 5 лет составляет 92 %. Прогнозируемые пожизненные риски летального исхода от рака цервикального канала при

прохождении скрининга каждые 3, 2, 1 год являются очень низкими: 0,05; 0,05 и 0,03 случая на 1000 женщин соответственно.

Женщины в возрасте от 30 до 65 лет должны проходить скрининг посредством совместного проведения цитологических исследований и ВПЧ-тестирования каждые 5 лет (предпочтительно) и посредством только цитологических исследований каждые 3 года (допустимо). Наличие в анамнезе отрицательных результатов скрининга не предоставляет достаточных оснований, которые бы позволили изменить интервалы обследований для пациенток данной возрастной группы.

Основываясь на доступных подтверждающих данных, для женщин в возрасте от 30 до 65, даже при условии наличия в анамнезе отрицательных результатов скрининга, не рекомендуется проводить скрининг через интервал, больший, чем 3 года. Изучение оптимальных интервалов скрининга для женщин, имеющих в анамнезе отрицательные результаты обследований, позволило установить возрастающий риск развития рака, возникающий через 3 года после прохождения наблюдения при отрицательных результатах предшествующих цитологических тестов. Таким образом, трехлетний интервал для цитологического скрининга обеспечивает надлежащий баланс положительных и негативных сторон скрининга.

В большинстве проанализированных исследований совместное проведение ВПЧ-тестирования и цитологических тестов привело к более частому обнаружению CIN3, сокращению диагностирования CIN3+ и рака в ходе последующих этапов скрининга.

Совместное применение ВПЧ-тестирования и цитологических исследований может способствовать выявлению аденокарциномы и патологий, ей предшествующих. Однако, в отличие от успешного диагностирования плоскоклеточного рака посредством цитологических исследований, диагностирование инвазивной аденокарциномы шейки матки при их помощи оказалось относительно неэффективным. Стратегия совместного использования ВПЧ-тестирования и цитологических тестов может приобрести большую значимость, так как количество случаев развития аденокарциномы возросло в США и во многих странах Европы, где основным или даже единственным методом скрининга являются цитологические исследования.

Оценка эффективности скрининговых программ

Исследования на моделях предсказывают пожизненный риск развития рака, определяемый по-

средством трехлетнего скрининга, в ходе которого диагностируются 5–8 случаев из 1000. При условии проведения скрининга каждые 2 года. РШМ выявлен у 4–6 женщин из 1000. При ежегодном скрининге пациенток РШМ будет диагностирован у 3 пациенток из 1000. При обнаружении РШМ на ранней стадии уровень выживаемости в последующие 5 лет составляет 92 %. Прогнозируемые пожизненные риски летального исхода от рака цервикального канала при прохождении скрининга каждые 3, 2, 1 год являются очень низкими: 0,05; 0,05 и 0,03 случая на 1000 женщин соответственно.

Проведение ВПЧ-тестирования и цитологических исследований чаще, чем раз в 3 года, особенно ежегодно, приводит к значительному увеличению количества кольпоскопии и хирургического лечения цервикальной патологии. В связи с этим Американское общество по разработке рекомендаций для скрининга клинической патологии рекомендует проводить скрининг с применением и ВПЧ-тестирования, и цитологических исследований с 5-летним интервалом. Однако испытание, организованное с целью улучшения результатов цитологических исследований методом случайной выборки, не показало значительных преимуществ совместного тестирования по сравнению с цитологическими исследованиями, применяемыми самостоятельно при скрининге.

Скрининг рака шейки матки в России и Ростовской области

Цитологический скрининг цервикального рака был организован в СССР, регламентирован Приказом МЗ СССР № 1253 от 30.12.1976 и сопровождался созданием в стране централизованных цитологических лабораторий. Предусматривались проведение ежегодных профилактических осмотров на предприятиях, взятие мазков для цитологического исследования у женщин с 18 лет, посещающих женские консультации и смотровые кабинеты при поликлиниках. Благодаря этим мерам заболеваемость за 25 лет (с 1965 по 1989 г.) снизилась на 53,1 % [9].

За последние 2 десятилетия система организованного скрининга во многих регионах была практически разрушена. На смену ему пришел так называемый оппортунистический скрининг. Работа по скринингу преимущественно выполняется в клинико-диагностических лабораториях поликлиник и других подразделений. Установлен низкий процент охвата женского населения скринингом; в настоящее время скрининг никем не планируется и не контролируется. Низкая эффективность скрининговых исследований обусловлена отсутствием

национальной программы скрининга РШМ. Ростовская область – один из немногих регионов, где для исполнения рекомендаций Комитета Государственной думы по охране здоровья в рамках скрининговых исследований в целях раннего выявления онкологических заболеваний (приказ МЗ РО № 1375 от 13.09.2012) внедрена самая первая программа скрининга РШМ методом жидкостной цитологии. Программа введена с 2012 г., определена география скрининга. Цитологическое исследование всем женщинам проводилось методом жидкостной цитологии. ГАУ РО ОКДЦ участвует в скрининге с 2013 г.

Литература

1. Аксель Е.М. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований органов женской репродуктивно системы в России // Онкогинекология. 2015. № 1. С. 6–15.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 году // Вестн. РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2011. Т. 22, № 3, прил. 1.
3. Воробьев А.В., Протасова А.Э. Общие вопросы скрининга // Практическая онкология. 2010. Т. 11, № 2. С. 53–59.
4. Comprehensive cervical cancer control. A guide to essential practice. Second edition. Geneva, 2014. 408 p.
5. Короленкова Л.И. Инвазивный рак шейки матки – упущенные возможности диагностики CIN // Онкогинекология. 2012. № 2. С. 19–23.
6. Screening for Cervical Cancer: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement // Ann. Intern. Med. 2012. Vol. 156 (12). P. 880–891.
7. Updated Consensus Guidelines for the Management of Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors // CA Cancer J. Clin. 2012. Vol. 62 (3). P. 147–172.
8. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer // CA Cancer J. Clin. 2012. Vol. 62. P. 147–172.
9. Цитологический скрининг рака шейки матки. Клинические рекомендации : материалы X юбилейного съезда Ассоциации клинических цитологов России. 19–22 сентября. Смоленск, 2013.

References

1. Aksel' E.M. Zaboolevaemost' i smertnost' ot zlokachestvennykh novoobrazovaniy organov zhenskoi reproduktivno sistemy v Rossii [Morbidity and mortality from malignant neoplasms of the female reproductive system in Russia]. *Onkoginekologiya*. 2015, No. 1, pp. 6-15.
2. Davydov M.I., Aksel' E.M. Statistika zlokachestvennykh novoobrazovaniy v Rossii i stranakh SNG v 2009 godu [Statistics of malignant neoplasms in Russia and CIS countries in 2009]. *Vestn. RONTs im. N.N. Blokhina RAMN*. 2011, vol. 22, No. 3, suppl. 1.

3. Vorob'ev A.V., Protasova A.E. Obshchie voprosy skrin-inga [General screening questions]. *Prakticheskaya onkologiya*. 2010, vol. 11, No. 2, pp. 53-59.

4. *Comprehensive cervical cancer control. A guide to es-sential practice*. Second edition. Geneva, 2014, 408 p.

5. Korolenkova L.I. Invazivnyi rak sheiki matki – upush-chennye vozmozhnosti diagnostiki CIN [Invasive cervical can-cer - missed CIN diagnostic capabilities]. *Onkoginekologiya*. 2012, No. 2, pp. 19-23.

6. Screening for Cervical Cancer: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann. Intern. Med.* 2012, vol. 156 (12), pp. 880-891.

7. Updated Consensus Guidelines for the Management of Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. *CA Cancer J. Clin.* 2012, vol. 62 (3), pp. 147-172.

8. American Cancer Society, American Society for Col-poscopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer. *CA Cancer J. Clin.* 2012, vol. 62, pp. 147-172.

9. *Tsitologicheskii skringing raka sheiki matki. Klinicheskie rekomendatsii* [Cytological screening of cervical cancer. Clinical recommendations]. Materials of the 10th Jubilee Congress of the Association of Clinical Cytologists of Russia. September 19-22. Smolensk, 2013.

Поступила в редакцию / Received

6 сентября 2017 г. / September 6, 2017

УДК 001.5:616-006/616.8:616-05:616-08:57.05

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-33-40

СТРЕССОРНАЯ АРЕАКТИВНОСТЬ КАК МЕХАНИЗМ ПСИХОСОМАТИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ БОЛЬНЫХ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

© 2017 г. Г.В. Жукова¹, А.И. Шихлярова¹, М.С. Зинькович¹, Л.Я. Розенко¹, Е.А. Ширнина¹,
Э.Е. Росторгуев¹, Н.С. Кузнецова¹, Т.П. Протасова¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

STRESS AREACTIVITY AS A MECHANISM OF PSYCHOSOMATIC ADAPTATION OF PATIENTS WITH METASTATIC BRAIN DAMAGE

G. V. Zhukova¹, A. I. Shikhlyarova¹, M. S. Zinkovich¹, L. Ya. Rozenko¹, E. A. Shirnina¹,
E. E. Rostorguev¹, N. S. Kuznetsova¹, T. P. Protasova¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Жукова Галина Витальевна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: galya_57@mail.ru

Galina V. Zhukova - Doctor of Biological Science, Main Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: galya_57@mail.ru

Шихлярова Алла Ивановна – доктор биологических наук, профессор, руководитель испытательного лабораторного центра, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Alla I. Shikhlyarova - Doctor of Biological Science, Professor, Head of Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Зинькович Михаил Сергеевич – врач-радиотерапевт, отделение лучевых методов лечения, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: zinkovich.m@mail.ru

Michail S. Zinkovich - Radiotherapist, Radiology Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: zinkovich.m@mail.ru

Розенко Людмила Яковлевна – доктор медицинских наук, профессор, врач-радиотерапевт, отделение лучевых методов лечения, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: lusiroz@yandex.ru

Ludmila Ya. Rozenko - Doctor of Medicine, Professor, Radiotherapist, Radiology Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: lusiroz@yandex.ru;

Ширнина Елена Алексеевна – научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: schelalex@yandex.ru

Elena A. Shirnina - Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: schelalex@yandex.ru

Росторгуев Эдуард Евгеньевич – кандидат медицинских наук, заведующий отделением нейроонкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: ed.rost@mail.ru

Eduard E. Rostorguev - Candidate of Medicine, Head of Neurooncology Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: ed.rost@mail.ru

Кузнецова Наталья Сергеевна – врач-онколог, отделение нейроонкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: cuznetsowa.natas@yandex.ru

Natalia S. Kuznetsova - Oncologist, Neurooncology Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: cuznetsowa.natas@yandex.ru

Протасова Татьяна Пантелеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: protasovatp@yandex.ru

Tat'yana P. Protasova - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: protasovatp@yandex.ru

У пациентов с удаленными метастазами в мозг, проходивших курс лучевого лечения, изучали динамику характера и напряженности общих неспецифических адаптационных реакций, уровень личностной и ситуативной тревожности, выраженность депрессии. Анализ полученных результатов выявил связь изученных показателей с продолжительностью жизни больных после окончания курса лечения. У пациентов, проживших затем менее года, до начала радиотерапии выраженность тревожности и депрессии была несколько выше, чем у больных, проживших год и более. При этом среди пациентов с наиболее значительной продолжительностью жизни были отмечены больные, у которых показатели адаптационного и психического статуса могли свидетельствовать о формировании состояния стрессорной ареактивности. Указанное состояние рассматривается авторами как механизм адекватной психосоматической адаптации онкологических больных при выраженных структурно-функциональных нарушениях, связанных с развитием первичного и вторичного злокачественного процесса.

Ключевые слова: метастатические опухоли мозга, общее воздействие на головной мозг, буст, стресс, антистрессорные адаптационные реакции, уровни реактивности, продолжительность жизни.

In patients with distant metastases to the brain who underwent a course of radiation treatment, the dynamics of the type (character) and tension (level of body reactivity) of general nonspecific adaptive reactions, the level of personal and situational anxiety, as well as level of depression were studied. The analysis of the obtained results revealed the correlation of the studied indices with the lifespan of the patients after the finishing of the course of treatment. In patients who lived less than a year after treatment, before the start of radiotherapy the level of anxiety and depression was higher than in patients who lived a year or more. At the same time, among patients with the most significant lifespan, patients were noted whose adaptive and mental status indicators could reflect the formation of the state of stress areactivity. The forming of this state is considered by the authors as a mechanism of adequate psychosomatic adaptation of cancer patients with pronounced structural and functional disorders associated with the development of primary and secondary malignant process.

Keywords: metastatic brain tumors, whole brain irradiation, boost, stress, antistress adaptational reactions, levels of body reactivity, anxiety, depression, lifespan.

В настоящее время развитие злокачественных опухолей рассматривается как полиэтиологический процесс, затрагивающий все системные уровни – от ультраструктурного до психического [1–3]. Было показано, что повреждение системных механизмов неспецифической резистентности во многом связано с изменением спектра общих неспецифических адаптационных реакций организма (АР), характерных для здоровых людей, и развитием стойкой АР-стресс и напряженных антистрессорных АР низких уровней реактивности [4–6] под влиянием неблагоприятных факторов различной природы. При этом воздействия, направленные на развитие антистрессорных АР, способствуют повышению эффективности противоопухолевого лечения [5, 7].

Личностные особенности пациентов и факторы, на них влияющие, также могут иметь большое значение как для возникновения злокачественного процесса, так и для эффективности лечения [8, 9]. Хорошо известно, что психоэмоциональный стресс может вызвать угнетение активности иммунной системы и вследствие этого способствовать росту злокачественных опухолей [10, 11]. В свою очередь, опухолевый процесс и обусловленные лечением ятрогении углубляют неблагоприятные изменения адаптационного и психического статуса [12,

13], замыкая тем самым «порочный круг» взаимных негативных влияний психоэмоциональных реакций и нарушений нейро-эндокринно-иммунной регуляции. Большой интерес представляют сведения о выраженном влиянии личностных характеристик на уровень неспецифической резистентности организма [5, 14], а также об иммунокорректирующем действии психотерапии у онкологических больных [15].

В то же время вопрос об особенностях психического статуса больных с различной локализацией опухолевого процесса и влиянии личностных характеристик на эффективность лечения и продолжительность жизни пациентов остается недостаточно изученным. В отличие от результатов исследований ряда других патологий [16], сведения о связи личностных особенностей с динамикой злокачественного процесса и состоянием пациентов отличаются противоречивостью [17]. В частности, при злокачественных опухолях головного мозга значительно больше известно о психиатрических нарушениях, сопровождающих процесс [18, 19], чем о личностных особенностях пациентов с выраженными различиями в динамике состояния и продолжительности жизни. Отмечается отсутствие заметной разницы в течении психоэмоционального

стресса, тревоги и депрессии у больных с метастазами в мозг и пациентами, имеющими опухоли некоторых других локализаций без метастазов в структуры ЦНС [20]. При этом о динамике тех или иных личностных характеристик у больных с удаленными метастазами в головной мозг в процессе адьювантного лечения в настоящее время практически ничего не известно.

Таким образом, изучение изменений адаптационного статуса больных с метастатическим поражением мозга с учетом их личностных особенностей является актуальным для выяснения механизмов психосоматической адаптации, оптимизации комплексного противоопухолевого лечения, повышения продолжительности и качества жизни.

Материалы и методы исследования

Исследования проводили у 27 больных с удаленными метастазами в головной мозг, проходивших курс дистанционной гамма-терапии в двух различных вариантах. Одиннадцать пациентов получали общее воздействие на головной мозг (группа ОВМГ). У остальных 16 больных общее воздействие было дополнено локальным воздействием (буст) на ложе удаленной опухоли (группа ОВМГ+буст). Курс лечения включал 15 процедур, которые проводили в течение 3 недель. Наряду с традиционными лабораторно-клиническими показателями у пациентов исследованных групп перед началом лечения и по его окончании определяли характеристики адаптационного и психического статуса.

Для изучения адаптационного статуса использовали гематологические показатели характера и напряженности АР, включающие параметры лейкоцитарной формулы периферической крови и общее содержание лейкоцитов в крови. Подсчет лейкоцитарной формулы крови проводили на 200 клетках. Сигнальным показателем характера АР служило относительное число лимфоцитов в крови [4, 5, 7].

Для идентификации АР также использовали экспертную компьютерную программу «Антистресс», позволяющую по гематологическим показателям не только определить характер (тип) АР, но и оценить уровень реактивности, на котором развивается данная АР, а также получить количественную характеристику АР в баллах [21]. При этом рассматривали 4 диапазона уровней реактивности организма, включающие высокие (ВУР), средние (СУР), низкие (НУР) и очень низкие уровни реактивности (ОНУР). Согласно использованному алгоритму, самые низкие значения балльной оценки

(1÷40 баллов) соответствуют наиболее неблагоприятной реакции – АР-стресс ОНУР. АР-стресс НУР попадает в диапазон более высоких оценок (40÷100 баллов). Диапазон 300÷1600 баллов включает количественные оценки антистрессорных АР НУР (в порядке повышения баллов – АР тренировки, спокойной активации (СА) и повышенной активации (ПА)). Максимальная оценка (6400 баллов) соответствует наиболее благоприятной интегральной реакции – АР повышенной активации ВУР.

В качестве показателей психического статуса пациентов исследованных групп использовали уровень личностной (ЛТ) и ситуативной тревожности (СТ), определяемый с помощью теста Спилбергера – Ханина [22], а также уровень депрессии, оцениваемый по методу Зунга в адаптации Т.И. Балашовой.

При статистическом анализе полученных результатов использовали параметрические и непараметрические критерии – t-критерий Стьюдента (для определения достоверности различия долей) и критерий Вилкоксона – Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение

Перед началом лечения адаптационный статус пациентов с удаленными метастатическими опухолями головного мозга не имел заметных межгрупповых различий и характеризовался развитием напряженных антистрессорных АР и АР-стресс (80÷100 % случаев). При этом наиболее часто наблюдали развитие антистрессорных АР НУР и ОНУР (60÷100 %). Это указывало на значительное снижение адаптационного статуса исследованных пациентов по сравнению с физиологической нормой.

Наблюдение за пациентами исследованных групп после выписки из стационара позволило получить сведения об их продолжительности жизни по окончании лечения. В результате в каждой из групп были выделены подгруппы больных, отличавшихся по данному показателю. Пациенты с продолжительностью жизни год и более вошли в подгруппу 1, а больные, прожившие менее года после окончания курса радиотерапии, составили подгруппу 2. В группе ОВМГ подгруппа 1 включала 5 пациентов (45 %), в группе ОВМГ+буст в подгруппу 1 вошли 9 больных (56 %).

В табл. 1 представлены сведения о характеристиках АР в соответствии с гематологическими показателями и их балльной оценкой у пациентов исследованных групп, принадлежащих разным подгруппам, после завершения лучевого лечения. При сравнении показателей АР у пациентов подгрупп 2 разных групп обращает на себя внимание

увеличение относительного числа случаев развития АР-стресс НУР и ОНУР в группах с дополнительным использованием буста по сравнению с тем, что наблюдалось в группе с общим облучени-

ем головного мозга ($p < 0,05$, табл. 1). Это может отражать более выраженное токсическое влияние воздействия с двойной локализацией по сравнению с ОБМГ.

Таблица 1

Адаптационный статус пациентов с разной продолжительностью жизни по окончании курса лечения в соответствии с гематологическими показателями, % случаев / Adaptation status of patients with different lifespan at the end of the treatment according to hematological parameters, % of cases

Группа, подгруппа	НУР и ОНУР		АР переактивации	Антистресс АР СУР
	АР-стресс	Антистресс АР		
ОБМГ	1 (5)	100	0	0
	2 (6)	0	67	33
ОБМГ+буст	1 (9)	44	56	0
	2 (7)	86	0	14

Более сложный и даже на первый взгляд парадоксальный результат был получен у пациентов всех исследованных групп, проживших год и более после курса радиотерапии (подгруппа 1). Развитие интегральных реакций, идентифицируемых по гематологическим показателям и соответствующим им балльным оценкам как АР-стресс НУР и ОНУР, было отмечено у значительной доли таких больных во всех группах (табл. 1).

Этот результат нуждался в адекватной интерпретации, поскольку противоречил широко известным сведениям о выраженных нарушениях в работе систем организма и истощении функциональных, энергетических и пластических резервов при развитии глубокого хронического стресса в ответ на длительное действие повреждающих факторов [5, 7]. Было сделано предположение о том, что у тех пациентов подгрупп 1 в обеих исследованных группах, которые имели стрессорные характеристики по показателям крови, на самом деле к концу лечения развивалось так называемое состояние стрессорной ареактивности. Как известно, это со-

стояние имеет сходство с АР-стресс по гематологическим показателям, но является более благоприятным по сравнению с указанной АР. Согласно положениям теории общих неспецифических АР, состояния ареактивности (стрессорная, тренировочная, активационная) отличаются большей сбалансированностью метаболических и регуляторных процессов, снижением интенсивности энергетического обмена по сравнению с АР, имеющими аналогичные гематологические показатели [5, 23]. Более совершенная регуляция многоуровневых процессов и снижение расхода энергии при формировании состояний ареактивности обуславливают устойчивость таких состояний и оптимизацию активности механизмов неспецифической резистентности организма по сравнению с изменениями, вызываемыми развитием одноименных АР. Такое допущение позволяло уточнить групповые характеристики адаптационного статуса исследованных больных (табл. 2) и предложить рациональное объяснение различий в динамике их состояния по окончании лечения.

Таблица 2

Уточненный адаптационный статус пациентов исследованных групп с разной продолжительностью жизни по окончании курса лучевого лечения, % случаев / Refined adaptation status of patients in examined groups with different lifespan after the treatment, % of cases

Группа, подгруппа	АР-стресс НУР и ОНУР	Антистресс АР НУР и ОНУР	АР переактивации	Антистресс АР СУР	Стрессорная ареактивность
ОБМГ	1(5)	0	0	0	100●
	2(6)	0	67	0	33
ОБМГ+ +буст	1(9)	0●	56●	0	44●
	2(7)	86	0	14	0

Примечание. ● – отличается от показателя в подгруппе 2 той же группы, $p < 0,05$.

Согласно нашему предположению, формирование стрессорной ареактивности могло обусловить стабилизацию состояния весьма значительной ча-

сти пациентов исследованных групп и способствовать существенному увеличению продолжительности их жизни. В группе с облучением всего голов-

ного мозга таких больных было 40 % (100 % состава первой подгруппы), в группе с дополнительным использованием буста – 27 (44 % состава первой подгруппы). Формирование состояния стрессорной ареактивности, очевидно, также препятствовало быстрому развитию опухолевого процесса у паци-

ентов с неудаленной первичной опухолью (единичные случаи в подгруппах 1).

В табл. 3 представлены сведения о динамике личностных характеристик у больных подгрупп 1 и 2 в каждой группе. При этом сдвиги уровня СТ рассматривались отдельно для пациентов с разным уровнем ЛТ.

Таблица 3

Варианты динамики личностных характеристик в процессе лечения у пациентов исследованных групп с разной продолжительностью жизни, % случаев / Variants of the dynamics of personal characteristics during the treatment in patients of the examined groups with different lifespan, % of cases

Группа, подгруппа		Δ уровни депрессии				ΔСТ при ЛТ В			ΔСТ при ЛТ Ум, Н		
		БД	МД, ЛД	МД, ЛД	БД	В	Ум	В	В	Ум, Н	В
		↓ БД	↓ БД	↓ МД, ЛД	↓ МД, ЛД	↓ Ум, Н	↓ Ум, Н	↓ В	↓ Ум, Н	↓ Ум, Н	↓ В
ОВМГ	1(5)	100●	–	–	–	–	50●	–	–	50	–
	2(6)	–	33	67	–	–	–	67	–	33	–
ОВМГ+ +буст	1(9)	78●	–	22	–	22	11	22Т	–	33	11
	2(7)	28	43	28	–	14(Н)	–	57	–	14 14(Н)	–

Примечание. Δ – изменение; МД, ЛД, БД – маскировочная, легкая депрессия и без депрессии; Н, Ум, В – низкий, умеренный и высокий уровень тревожности. Переход из одного состояния в другое обозначен стрелкой. Н – случаи перехода в низкую СТ при АР-стресс НУР и ОНУР у пациентов с ранее наблюдавшимся рецидивом метастаза в головной мозг или с множественным метастазированием. Отличается от значения показателя в подгруппе 2, Т – $p < 0,1$; ● – $p < 0,05$.

Следует отметить, что исходно группы заметно не отличались друг от друга по показателям тревожности и депрессии. Ни в одной из них не было отмечено случаев истинной депрессии (ИД). Пациенты с ЛД и МД, обусловленными главным образом реакцией на соматическое состояние, встречались в 44÷60 % случаев. При этом преобладали больные с высоким уровнем ЛТ (60÷70 %), пациенты с низким уровнем ЛТ были единичны. Сходная картина наблюдалась и в отношении уровня СТ.

Анализ личностных характеристик пациентов с учетом выделенных подгрупп позволил выявить исходные различия в психическом статусе больных, проживших после лечения разное время, в группах с общим облучением головного мозга и сочетанным лучевым воздействием. Это могло соответствовать известному положению о влиянии личностных особенностей на эффективность противоопухолевого лечения и динамику состояния онкологических больных [11, 14]. Как видно из табл. 3, в рассматриваемых группах у всех (группа ОВМГ) или у большинства (78 %, группа ОВМГ+буст) пациентов подгруппы 1 перед началом лечения отсутствовали признаки даже легких форм депрессии. В то же время все (группа ОВМГ) или большинство (71 %, группа ОВМГ+буст) больных подгруппы 2 находились в состоянии ЛД или МД. В обеих рассматриваемых группах доля пациентов с высоким уровнем ЛТ и СТ в подгруппе 2

была несколько выше, чем в подгруппе 1, однако разница по этим показателям была гораздо менее выражена, чем по показателям легких форм депрессии (табл. 3).

В группе с общим облучением головного мозга к концу лечения у некоторых пациентов подгруппы 2 был отмечен выход из состояния ЛД, что могло быть обусловлено проведением лечения и развитием антистрессорных АР. В то же время остальные 2/3 больных этой подгруппы по-прежнему оставались в состоянии ЛД и МД. Кроме того, все эти пациенты сохранили до конца лечения высокий уровень СТ (табл. 3). Личностный профиль больных подгруппы 1, помимо отсутствия даже легких форм депрессии, отличался также умеренным уровнем СТ, независимо от уровня ЛТ, который мог быть и высоким. Таким образом, психоэмоциональное состояние больных подгруппы 1, находившихся в предполагаемом состоянии стрессорной ареактивности, можно было охарактеризовать как спокойное, устойчивое и сбалансированное, в отличие от состояния большинства пациентов подгруппы 2.

К концу лечения в группе с использованием буста, аналогично отмеченному в группе с общим облучением мозга, наблюдался выход части больных подгруппы 2 из состояния ЛД. При этом число пациентов с высоким уровнем СТ изменилось незначительно. Более половины больных подгруппы

по-прежнему демонстрировали высокие значения данного показателя (табл. 3). Особенностью рассматриваемой подгруппы явились отдельные случаи перехода высокой и умеренной СТ в низкую (табл. 3). По нашему мнению, они могли быть обусловлены развитием состояния апатии вследствие истощения регуляторных, функциональных резервов у некоторых пациентов, находившихся в АР-стресс НУР и ОНУР. Дополнительным основанием для такого предположения явились признаки глубокого угнетения механизмов противоопухолевой резистентности у этих больных, проявившиеся в рецидиве метастаза в головной мозг или множественном метастазировании.

В отличие от подгруппы 2, в подгруппе 1 случаи низкой СТ в конце лечения были отмечены только у пациентов с низкой ЛТ или у тех больных с умеренной ЛТ, у которых перед лечением СТ также была низкой.

Следует отметить, что в группе с использованием буста не наблюдалось заметного преобладания подгруппы 2 над подгруппой 1 по относительному числу высокотревожных пациентов в конце лечения, выраженного в группе с общим облучением головного мозга. Среди больных, проживших год и более, нередко встречались пациенты с высоким уровнем ЛТ и СТ (табл. 3). Представлялось целесообразным провести сопо-

ставление адаптационного статуса и личностных характеристик пациентов подгрупп 1 исследованных групп, поскольку ранее были отмечены особенности динамики показателей адаптационного статуса у пациентов этих подгрупп, получавших буст, по сравнению с тем, что наблюдалось при общем облучении мозга (табл. 2).

В табл. 4 представлены сведения о личностных характеристиках и их динамике у пациентов с продолжительностью жизни год и более при исследованных вариантах радиотерапии в связи с особенностями их адаптационного статуса. Как уже отмечалось выше, в группе с общим облучением мозга в случаях формирования предполагаемого состояния стрессорной ареактивности наблюдалась умеренная СТ в начале и конце лечения, тогда как уровень ЛТ мог быть как умеренным, так и высоким. В группе с использованием буста все пациенты, переходившие в состояние стрессорной ареактивности, отличались высокой ЛТ. Кроме того, у всех таких больных, за исключением одного пациента, СТ перед лечением также была высокой. Таким образом, сходство между пациентами сравниваемых групп, у которых могло формироваться состояние стрессорной ареактивности, заключалось в достижении умеренного уровня СТ в конце лечения при различных вариантах личностных характеристик перед его началом (табл. 4).

Таблица 4

Особенности характеристик психического и адаптационного статуса и их динамики у пациентов с продолжительностью жизни год и более при исследованных вариантах радиотерапии / Features of the characteristics of the mental and adaptive status and their dynamics in patients with lifespan of one year or more (subgroup 1) in the examined groups

Группа АР в подгруппе 1		ЛТ	СТ исходно	СТ в конце лечения	Δ СТ
ОВМГ	Стрессорная ареактивность	В, Ум	Ум	Ум	Ум→Ум
ОВМГ+ + буст	Стрессорная ареактивность	В	В, Ум	Ум	В→Ум
	АР ПА и СА НУР	Ум, Н	В, Ум, Н	В, Ум, Н	В→В, Ум→Ум, Н,

В группе с использованием буста у пациентов подгруппы 1, находившихся в антистрессорных АР СА и ПА НУР, наблюдались иные особенности личностных характеристик и их динамики (табл. 4). Если больные той же подгруппы, переходившие в состояние стрессорной ареактивности, отличались высоким уровнем ЛТ, то у пациентов, находившихся в конце лечения в напряженных антистрессорных АР, был отмечен только умеренный и низкий уровень ЛТ. При этом СТ могла быть и высокой, и умеренной, и низкой как перед лечением, так и по его завершении. В то же время при широком диапазоне уровней СТ динамика этого показателя была ограничена всего тремя вариантами (табл. 4).

У пациентов, демонстрировавших перед началом лечения высокий или, напротив, низкий уровень СТ, этот уровень оставался неизменным и после курса радиотерапии. Если исходно была отмечена умеренная СТ, то к концу лечения её уровень либо оставался неизменным, либо опускался до низких значений. Таким образом, не наблюдалось перехода СТ к концу лечения на уровень, более высокий по сравнению с исходным.

На данном этапе исследований не представляется возможным дать исчерпывающее объяснение всем выявленным вариантам соотношений показателей психического и адаптационного статуса у пациентов, получивших сочетанное ионизирующее

воздействие на мозг и проживших затем не менее года. В то же время у двух отличающихся характеристиками АР категорий пациентов рассматриваемой подгруппы можно предположить существование двух способов стабилизации психосоматического состояния. Один из них связан с формированием состояния стрессорной ареактивности, которое на уровне исследованных показателей психического статуса проявляется в обеспечении СТ не выше умеренного уровня. Другой способ направлен на профилактику функционального и энергетического перенапряжения при активизации структур нейроэндокринной системы, необходимой для развития АР СА и ПА, и может быть реализован при умеренном и низком уровне ЛТ, а также при отсутствии повышения уровня СТ по сравнению с его исходным значением.

Заключение

Предположение о формировании состояния стрессорной ареактивности у части пациентов исследованных групп позволяет дать рациональное объяснение неоднородности характеристик АР в подгруппах больных с наиболее высокой продолжительностью жизни, а также динамике их состояния по окончании лечения. При этом изучение личностных особенностей пациентов с метастатическим поражением мозга в сопоставлении с динамикой показателей их адаптационного статуса и продолжительностью жизни после лечения позволило получить представление о возможной взаимосвязи психических и физиологических механизмов, обеспечивших стабилизацию психосоматического состояния больных при исследованных вариантах радиотерапии. По нашему мнению, формирование состояния стрессорной ареактивности у рассматриваемой категории онкологических больных является механизмом, обеспечивающим оптимальные регуляторные связи и характеристики энергетического обмена при выраженных структурно-функциональных нарушениях, связанных с развитием первичного и вторичного злокачественного процесса.

Литература

1. Дильман В.М. Эндокринологическая онкология. Изд. 2, перераб. и доп. Л.: Медицина, 1983. 405 с.
2. Anisimov V.N. Biology of aging and cancer // *Cancer Control*. 2007. Vol. 14. P. 23–31.
3. Vineis P., Schatzkin A., Potter J.D. Models of carcinogenesis: an overview // *Carcinogenesis*. 2010. Vol. 31, № 10. P. 1703–1709. DOI 10.1093/carcin/bgq087/.
4. Selye H. Correlation stress and cancer // *Am. J. Proctol*. 1979. Vol. 30, № 4. P. 18–28.

5. Гаркави Л.Х. Активационная терапия. Ростов н/Д.: Изд-во Рост. гос. ун-та, 2006. 256 с.

6. Кут О.И., Жукова Г.В., Газиев У.М., Шихлярова А.И., Ширнина Е.А., Торлуджан И.С., Снежко А.В. Особенности адаптационного статуса больных раком билиопанкреатодуоденальной зоны, отличающихся распространенностью процесса и объемом оперативного вмешательства // *Эксперим. и клин. гастроэнтерология*. 2016. № 10 (134). С. 91–93.

7. Kit O.I., Shikhlyarova A.I., Zhukova G.V., Maryanovskaya G.Y., Barsukova L.P., Korobeinikova E.P., Sheiko E.A., Protasova T.P., Evstratova O.F., Barteneva T.A., Salatov R.N., Sergostants G.Z., Atmachidi D.P. Activation therapy: theoretical and applied aspects // *Cardiometry*. 2015. № 7. С. 22–29. DOI 10.12710/cardiometry.2015.7.2229.

8. Сидоров П.И., Новикова И.А. Психосоматические заболевания: концепции, распространенность, качество жизни, медико-социальная помощь больным // *Медицинская психология в России*. 2010. № 1. URL: <http://medpsy.ru> (дата обращения: 03.05.2016).

9. Lantz P.M., House J.S., Mero R.P., Williams D.R. Stress, life events, and socioeconomic disparities in health: results from the Americans' Changing Lives Study // *J. Health Soc. Behav.* 2005. Vol. 46, № 3. P. 274–288.

10. Reiche E.M.V., Nunes S.O.V., Morimoto H.K. Stress, depression, the immune system, and cancer // *THE LANCET oncology*. 2004. Vol. 5, № 10. P. 617–625.

11. Bukhtoyarov O.V., Samarin D.M. Psychogenic carcinogenesis: carcinogenesis without exogenic carcinogens // *Medical Hypotheses*. 2009. Vol. 73, № 4. P. 531–536.

12. Бобкова Г.Г., Важенни А.В. Место нейтронной терапии в паллиативном лечении при метастазах в лимфатические узлы шеи без первичного очага, в головной мозг, головы и шеи // *Успехи соврем. естествознания*. 2012. № 8. С. 8–5.

13. Monje M., Wen P.Y. Neurological complications of oncological therapy // *Handbook of Neuro-Oncology Neuroimaging*. London: Academic Press, 2008. P. 102–118.

14. Солдатова О.Г., Шилов С.Н., Потылицина В.Ю. Взаимосвязь особенностей темперамента с неспецифической резистентностью организма и уровнем здоровья // *Неврол. вестн.* 2008. Т. XL, вып. 1. С. 10–13.

15. Бухтояров О.В., Колжееников В.С., Самарин Д.М., Соловьева И.Г., Пронкина Н.В., Шишкова И.В., Козлов В.А. Гипносуггестивная коррекция иммунного статуса больных злокачественными новообразованиями // *Вопросы онкологии*. 2007. Т. 53, № 6. С. 699–703.

16. Perimutter J.B., Frishman W.H., Feinstein R.E. Major depression as risk factor for cardiovascular disease: therapeutic implications // *Heart Dis.* 2000. Vol. 2. P. 75–82.

17. Зельнер В. Психика и рак. Могут ли психосоциальные факторы вызывать рак или оказывать влияние на течение онкологического заболевания // *Консультативная психология и психотерапия*. 2014. Т. 22, № 1. С. 24–39.

18. Boele F.W., Rooney A.G., Grant R., Klein M. Psychiatric symptoms in glioma patients: from diagnosis to management // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2015. No. 11. P. 1413–1420. DOI 10.2147/NDT.S65874.

19. Madhusoodanan S., Ting M.B., Farah T., Ugur U. Psychiatric aspects of brain tumors: A review // *World J. Psychiatry*. 2015. Vol. 5, № 3. P. 273–285. DOI 10.5498/wjp.v5.i3.273.

20. Cordes M.Ch., Scherwath A., Ahmad T., Cole A.M., Ernst G., Oppitz K., Lanfermann H., Bremer M., Steinmann D. Distress, anxiety and depression in patients with brain metastases before and after radiotherapy // *BMC Cancer*. 2014. Vol. 14. P. 731. DOI 10.1186/1471-2407-14-731.

21. Гаркави Л.Х., Кузьменко Т.С., Мащенко Н.М. Экспертная система «Антистресс» // Мед. информ. системы. № 5. 1995. С. 13–16.

22. Ханнин Ю.Л. Краткое руководство к шкале реактивной и личностной тревожности Ч. Д. Спилбергера. Л., 1976.

23. Zhukova G.V., Shikhliarova A.I., Soldatov A.V., Barteneva T.A., Goroshinskaya I.A., Petrosian V.I., Gudtskova T.N., Bragina M.I., Polozhentsev O.E., Sheiko E.A.S., Maschenko N.M., Shirnina E.A., Zlatnik E.Yu., Kachesova P.S., Kurkina T.A. Some approaches to the activation of antitumor resistance mechanisms and functional analogs in the categories of synergetics // *Biophysics*. 2016. Vol. 61, № 2. P. 303–315. DOI 10.1134/S0006350916020251.

References

1. Dil'man V.M. *Endokrinologicheskaya onkologiya* [Endocrinological oncology]. Ed. 2, revised. and addit. Leningrad: Meditsina, 1983, 405 p.

2. Anisimov V.N. Biology of aging and cancer. *Cancer Control*. 2007, vol. 14, pp. 23-31.

3. Vineis P., Schatzkin A., Potter J.D. Models of carcinogenesis: an overview. *Carcinogenesis*. 2010, vol. 31, No. 10, pp. 1703-1709. DOI 10.1093/carcin/bgq087/.

4. Selye H. Correlation stress and cancer. *Am. J. Proctol*. 1979, vol. 30, No. 4, pp. 18-28.

5. Garkavi L.Kh. *Aktivatsionnaya terapiya* [Activation therapy]. Rostov-on-Don: Izd-vo Rost. gos. un-ta, 2006, 256 p.

6. Kit O.I., Zhukova G.V., Gaziev U.M., Shihlyarova A.I., Shirnina E.A., Torpudzhani I.S., Snezhko A.V. Osobennosti adaptatsionnogo statusa bolnykh rakom biliopankreatoduodenalnoy zonyi, otlichayuschihsy rasprostranennostyu protsessa i ob'emom operativnogo vmeshatelstva [Features of the adaptation status of the patients with differences in the prevalence of cancer process in biliopancreatoduodenal zone and in the volume of a surgical intervention]. *Eksperim. i klin. gastroenterologiya*. 2016, No. 10 (134), pp. 91-93.

7. Kit O.I., Shikhlyarova A.I., Zhukova G.V., Maryanovskaya G.Y., Barsukova L.P., Korobeinikova E.P., Sheiko E.A., Protasova T.P., Evstratova O.F., Barteneva T.A., Salatov R.N., Sergostians G.Z., Atmachidi D.P. Activation therapy: theoretical and applied aspects. *Cardiometry*. 2015, No. 7, pp. 22-29. DOI 10.12710/cardiometry.2015.7.2229.

8. Sidorov P.I., Novikova I.A. Psikhosomaticheskie zabolevaniya: kontseptsii, rasprostranennost', kachestvo zhizni, mediko-sotsial'naya pomoshch' bol'nym [Psychosomatic disorders: the concept, prevalence, quality of life, medico-social assistance to patients]. *Meditsinskaya psikhologiya v Rossii*. 2010, No. 1. Available at: <http://medpsy.ru> (accessed 03.05.2016).

9. Lantz P.M., House J.S., Mero R.P., Williams D.R. Stress, life events, and socioeconomic disparities in health: results from the Americans' Changing Lives Study. *J. Health Soc. Behav*. 2005, vol. 46, No. 3, pp. 274-288.

10. Reiche E.M.V., Nunes S.O.V., Morimoto H.K. Stress, depression, the immune system, and cancer. *THE LANCET oncology*. 2004, vol. 5, No. 10, pp. 617-625.

11. Bukhtoyarov O.V., Samarin D.M. Psychogenic carcinogenesis: carcinogenesis without exogenic carcinogens. *Medical Hypotheses*. 2009, vol. 73, No. 4, pp. 531-536.

12. Bobkova G.G., Vazhenin A.V. Mesto neitronnoi terapii v palliativnom lechenii pri metastazakh v limfaticheskie uzly shei bez pervichnogo ochaga, v golovnoi mozg, golovy i shei [The place of neutron therapy in the palliative treatment of metastases to lymph nodes without the primary tumor, in the brain, head and neck]. *Uspekhi sovr. estestvoznaniya*. 2012, No. 8, pp. 8-15.

13. Monje M., Wen P.Y. Neurological complications of oncological therapy. *Handbook of Neuro-Oncology Neuroimaging*. London: Academic Press, 2008, pp. 102-118.

14. Soldatova O.G., Shilov S.N., Potylitsina V.Yu. Vzaimosvyaz' osobennostei temperamenta s nespetsificheskoi rezistentnost'yu organizma i urovнем zdorov'ya [The relationship of characteristics of temperament with nonspecific resistance of the body and level of health] // *Nevrol. vestn.* 2008, vol. XL, iss. 1, pp. 10-13.

15. Bukhtoyarov O.V., Kozhevnikov V.S., Samarin D.M., Solov'eva I.G., Pronkina N.V., Shishkova I.V., Kozlov V.A. Gipnosuggestivnaya korrektsiya immunnogo statusa bol'nykh zlo-kachestvennymi novoobrazovaniyami [Hypnosuggestive correction of the immune status of patients with malignant neoplasms]. *Vo-prosy onkologii*. 2007, vol. 53, No. 6, pp. 699-703.

16. Perimutter J.B., Frishman W.H., Feinstein R.E. Major depression as risk factor for cardiovascular disease: therapeutic implications. *Heart Dis*. 2000, vol. 2, pp. 75-82.

17. Zel'ner V. Psikhika i rak. Mogut li psikhosotsial'nye faktory vyzvat' rak ili okazyvat' vliyanie na techenie onkologicheskogo zabolevaniya [Mind and cancer. Can psychosocial factors cause cancer or influence the course of cancer?]. *Konsul'tativnaya psikhologiya i psikhoterapiya*. 2014, vol. 22, No. 1, pp. 24-39.

18. Boele F. W., Rooney A. G., Grant R., Klein M. Psychiatric symptoms in glioma patients: from diagnosis to management. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2015, No. 11, pp. 1413-1420. DOI 10.2147/NDT.S65874.

19. Madhusoodanan S., Ting M.B., Farah T., Ugur U. Psychiatric aspects of brain tumors: A review. *World J. Psychiatry*. 2015, vol. 5, No. 3, pp. 273-285. DOI 10.5498/wjp.v5.i3.273.

20. Cordes M.Ch., Scherwath A., Ahmad T., Cole A.M., Ernst G., Oppitz K., Lanfermann H., Bremer M., Steinmann D. Distress, anxiety and depression in patients with brain metastases before and after radiotherapy. *BMC Cancer*. 2014, vol. 14, p. 731. DOI 10.1186/1471-2407-14-731.

21. Garkavi L.Kh., Kuz'menko T.S., Mashchenko N.M. Ekspertnaya sistema «Antistress» [Expert system "Anti-Stress"]. *Med. Inform. sistemy*. 1995, No. 5, pp. 13-16.

22. Khanin Yu. L. *Kratkoe rukovodstvo k shkale reaktivnoi i lichnostnoi trevozhnosti Ch. D. Spilbergera* [A brief guide to the Ch. D. Spielberger scale of reactive and personality anxiety]. Leningrad, 1976.

23. Zhukova G.V., Shikhliarova A.I., Soldatov A.V., Barteneva T.A., Goroshinskaya I.A., Petrosian V.I., Gudtskova T.N., Bragina M.I., Polozhentsev O.E., Sheiko E.A.S., Maschenko N.M., Shirnina E.A., Zlatnik E.Yu., Kachesova P.S., Kurkina T.A. Some approaches to the activation of antitumor resistance mechanisms and functional analogs in the categories of synergetics. *Biophysics*, 2016, vol. 61, No. 2, pp. 303-315. DOI 10.1134/S0006350916020251.

УДК 616-006, 57.08, 57.084.1

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-41-47

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТИМУСА И СЕЛЕЗЕНКИ МЫШЕЙ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ

© 2017 г. Е.Ю. Златник¹, Е.М. Непомнящая¹, О.Г. Шульгина¹, Е.И. Золотарева¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

MORPHOLOGIC PECULIARITIES OF THYMUS AND SPLEEN IN TUMOR-BEARING MICE AFTER ADMINISTRATION OF NANOPARTICLES OF TRANSITION METALS

E.Yu. Zlatnik¹, E.M. Nepomnyashchaya¹, O.G. Shulgina¹, E.I. Zolotareva¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Златник Елена Юрьевна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rniioi@list.ru

Непомнящая Евгения Марковна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rniioi@list.ru

Шульгина Оксана Геннадьевна – научный сотрудник, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rniioi@list.ru

Золотарева Екатерина Игоревна – младший научный сотрудник, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rniioi@list.ru

Elena Yu. Zlatnik - Doctor of Medicine, Professor, Main Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rniioi@list.ru

Evgeniya M. Nepomnyashchaya - Doctor of Medicine, Professor, Main Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rniioi@list.ru

Oksana G. Shulgina - Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rniioi@list.ru

Ekaterina I. Zolotareva - Junior Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rniioi@list.ru

Ранее нами был получен противоопухолевый эффект при введении наночастиц (НЧ) переходных металлов (Cu, Zn, Fe) мышам-опухоленосителям с перевиваемой опухолью – саркомой 37 (С37). В данной работе проведено экспериментальное исследование влияния введения тех же НЧ на состояние центрального (тимуса) и периферического (селезенки) органов иммунной системы у 40 мышей-опухоленосителей с С37. Выполнено морфологическое и морфометрическое изучение тимуса и селезенки животных трех основных групп (получавших НЧ металлов) и контрольной группы мышей-опухоленосителей. Установлено, что контрольная группа характеризуется гистологическими признаками угнетения обоих исследованных органов. Напротив, под действием введенных НЧ Zn происходит преимущественная стимуляция Т-клеточного звена, о чем можно судить по гиперплазии коркового вещества в дольках тимуса, а при введении НЧ Cu отмечена стимуляция В-клеточного звена, о чем говорят гиперплазия фолликулов селезенки и увеличение числа митозов в них. Поскольку такие изменения происходят на фоне регрессии перевиваемой опухоли мышей, они, по-видимому, свидетельствуют о вовлеченности иммунной системы в эффективный противоопухолевый ответ. При введении животным-опухоленосителям НЧ Fe, проявляющих слабый противоопухолевый эффект, гистологические особенности этих органов соответствуют контролю. Итак, показано стимулирующее действие на органы иммунной системы мышей НЧ Cu и НЧ Zn при индуцированной их введением регрессии перевиваемой опухоли, у НЧ Fe такого свойства не обнаружено.

Ключевые слова: наночастицы металлов, мыши-опухоленосители, саркома 37, морфология, Т- и В-клеточные звенья иммунной системы, тимус, селезенка.

We had achieved antitumor effect after the administration of metallic nanoparticles (NP Cu, NP Zn and NP Fe) on transplanted sarcoma 37 (S37) in tumor-bearing mice in previous studies. The experimental investigation of the effect of the same NP on central (thymus) and peripheral (spleen) organs of immune system was carried out in 40 tumor-bearing mice with the use of morphologic and morphometric methods in the present study. Thymus and spleens of 4 groups of mice were studied: 3 were experimental ones receiving NP Cu, NP Zn and NP Fe, 1 was the control one. Our results showed that the control mice were characterized by morphologic signs of depression and even injure in the studied organs. On the contrary, admin-

istration of NP Zn causes stimulation of predominantly T-link of immune system (hyperplasia of cortical substance in thymic lobules); while after injection of NP Cu enhancement of B-link was noted (hyperplasia of spleen follicles and increased incidence of mitosis). Since such changes developed in the context of the transplanted tumor regression they are likely to indicate the involvement of immune system in the effective antitumor response. After injection of NP Fe with poor antitumor effect histological peculiarities of the organs are similar to those of control mice with S37 and are characterized by morphologic signs of inhibition or even destruction. Thus we have showed stimulating effect of NP Cu and NP Zn on organs of immune system in mice with NP-induced regression of transplanted tumor while NP Fe produced no or rather inhibiting effect.

Keywords: metallic nanoparticles, tumor-bearing mice, sarcoma 37, morphology, T- and B-links of immune system, thymus, spleen.

Введение

Наноразмерные частицы различных веществ, в том числе металлосодержащих, разработка которых активно происходит в последние годы в стране и в мире, находят эффективное применение в биологии и медицине [1, 2]. Вследствие их размера, обеспечивающего многократное возрастание суммарной поверхности и проникающей способности, они могут представлять значительный интерес для коррекции различных патологических процессов. Нами ранее был проведен ряд экспериментальных исследований по оценке действия наночастиц (НЧ) переходных металлов (Cu, Zn, Fe и их сплава) на рост перевиваемых опухолей. При этом был получен противоопухолевый эффект, вплоть до полной регрессии мышинных сарком С180 и С37, сопровождающиеся развитием выраженных дистрофических изменений в опухолевых клетках и существенным повышением продолжительности жизни опытных животных [3, 4]. Наиболее выраженный эффект вызывали НЧ цинка и меди, а самый слабый и регистрируемый не во всех модельных системах проявляли НЧ железа [4]. Хорошо известно, что многие противоопухолевые вещества обладают иммунодепрессивным действием, приводящим к развитию значительных побочных явлений. Нарушение структурно-функциональных характеристик тимуса и селезенки как при развитии перевиваемых опухолей, так и при их экспериментальной химиотерапии является известным фактом [5–7]. Наночастицы в этом аспекте остаются малоисследованными, есть единичные данные о морфологических особенностях лимфоидных органов у крыс-опухоленосителей при действии НЧ Cu [8, 9].

Цель данной работы – сравнительное экспериментальное исследование действия НЧ переходных металлов (Cu, Zn, Fe) на морфофункциональное состояние органов иммунной системы (тимуса и селезенки) при развитии регрессии перевиваемой опухоли у животных.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы НЧ (размер 40 ± 100 нм), представляющие собой ультрадисперсные по-

рошки переходных металлов (Cu, Zn, Fe), синтезированные на Саратовском плазмохимическом комплексе ФГУП РФ ГНЦ ГНИИХТЭОС. Перевиваемая асцитная саркома (С37) мышей была получена из коллекции РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Эксперимент выполнялся с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации по защите позвоночных животных, используемых для лабораторных и иных целей. Сорока белым беспородным мышам-самцам массой 18 ± 20 г, содержащимся в стандартных условиях вивария, внутрибрюшинно перевивали С37; через 4 дня животным опытных групп начинали ежедневное внутрибрюшинное введение взвеси НЧ металлов (Zn, Cu или Fe) в концентрации 10 мкг/мл по 0,5 мл; контрольной группе – по 0,5 мл изотонического раствора NaCl. Введение выполняли в течение 4 дней, суммарная доза НЧ составляла 20 мкг/мышь (1 мг/кг массы), после чего животных наблюдали 4 дня. Рост или регрессию опухоли регистрировали по накоплению асцитической жидкости и по результатам ее цитологического исследования. Регрессия наблюдалась у мышей опытных групп, получавших НЧ Cu и НЧ Zn, в отличие от получавшей НЧ Fe и контрольной [4]. Десять мышей составили группу интактных животных. Тимусы и селезенки мышей всех групп фиксировали в формалине и в жидкости Карнуа, после проводки до парафиновых блоков готовили срезы, которые окрашивали гематоксилином-эозином и метиловым зеленым пиронином по Браше. Срезы исследовали с помощью светового микроскопа Micros (Австрия), выполняли морфометрию.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием параметрических (критерий Стьюдента) и непараметрических (критерий Вилкоксона, z-критерий знаков) методов.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1, 2 и на рис. 1–3.

Таблица 1

**Количество дистрофически измененных тимоцитов у мышей с С37, получавших НЧ металлов, %
 / The amount of injured thymocytes in mice with S37 after administration of metallic NP, %**

Зона тимуса	Группа животных, n=10			
	Контроль	НЧ Cu	НЧ Zn	НЧ Fe
Субкапсулярная	62,99±2,72	46,57±2,69 ^{1,3,4}	18,93±2,26 ^{1,2,4}	64,92±6,5 ^{2,3}
Корковая	49,53±4,55	20,32±1,9 ^{1,4}	18,22±2,78 ^{1,4}	54,23±7,17 ^{2,3}
Мозговое вещество	52,75±3,66	39,82±6,85	17,8±2,2 ^{1,2,4}	53,28±5,05 ³

Примечание. Статистически достоверные отличия: ¹ – от контроля; ² – от НЧ Cu; ³ – от НЧ Zn; ⁴ – от НЧ Fe (p<0,05); n – число животных в группе.

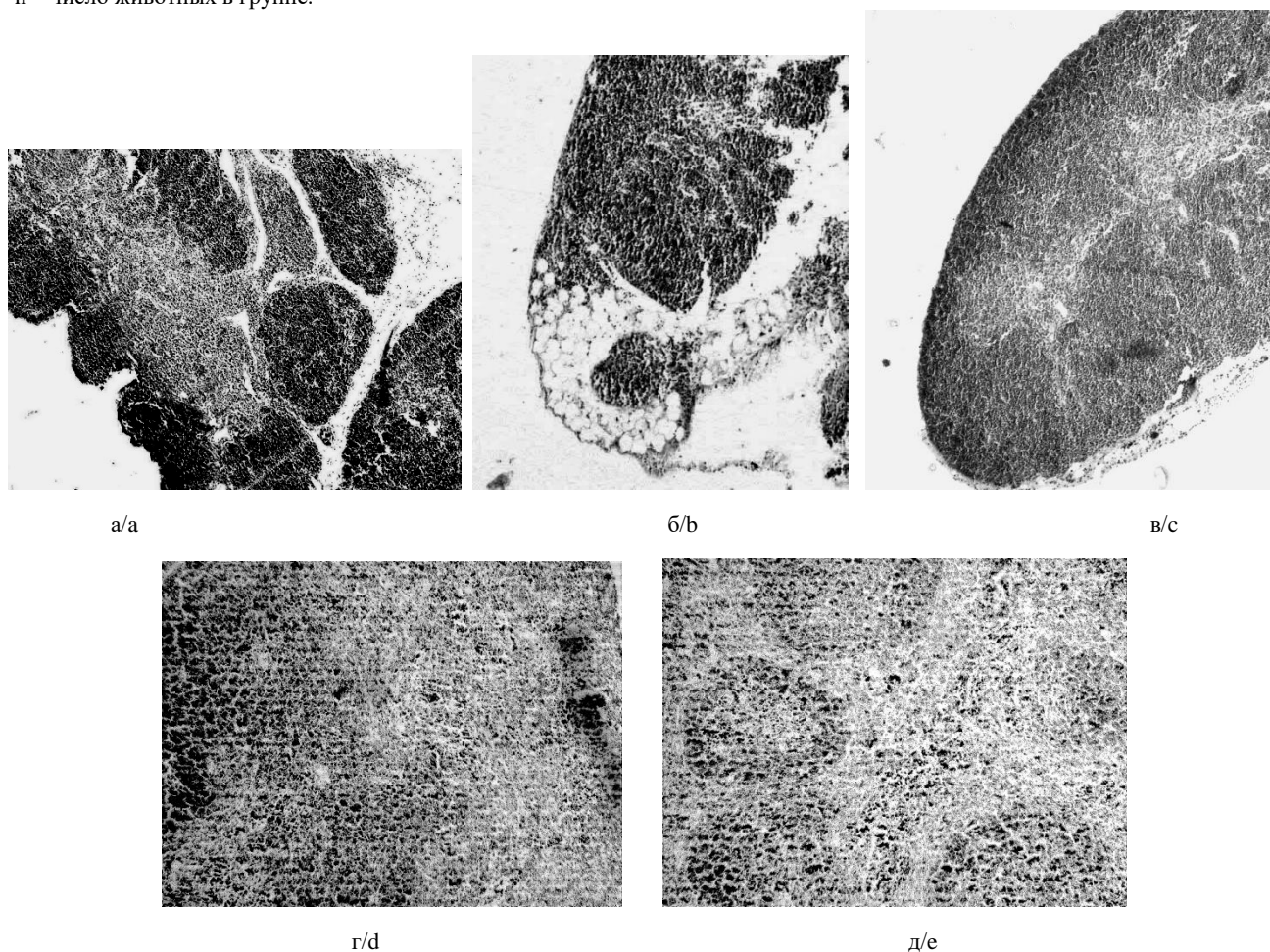


Рис. 1. Микроскопическая характеристика тимуса и селезенки мышей опытных и контрольной групп. Окрашивание метиловым зеленым пиронином по Браше, ×200: а – нарушение структуры тимуса у контрольных мышей: нечеткость деления на корковое и мозговое вещество, преобладание последнего; б – дезорганизация структуры тимуса мышей-опухоленосителей после введения НЧ Fe; корковое и мозговое вещество неразличимы; замещение паренхимы жировой тканью; в – высокая плотность расположения тимоцитов после введения НЧ Zn, редукция мозгового слоя при преобладании коркового, утолщенные капсулы за счет развития рыхлой волокнистой соединительной ткани; г – нечеткость границ между красной и белой пульпой в селезенках животных, получавших НЧ Fe, размытость фолликулов, отложение бесструктурных частиц бурого цвета; д – гиперплазия фолликулов селезенки со светлыми центрами и высокая плотность расположения спленоцитов в них у животных, получавших НЧ Cu / Fig. 1. Microscopic characteristics of thymus and spleen of experimental and control mice. Staining with methyl-green pyronin according to Brachet ×200: a - injure of thymic structure in control tumor-bearing mice: nebulosity of division into cortical and medullar substance with prevalence of the last one; b - destructurization of thymus in tumor-bearing mice after administration of NP Fe, borders between cortical and medullar substances are unclear; replacement of parenchyma by fatty tissue; c - high density of thymocytes location after administration of NP Zn, reduction of medullar substance and prevalence of cortical one, thickened capsule because of the development of loose connective tissue; г - нечеткость границ между красной и белой пульпой в селезенках животных, получавших НЧ Fe, размытость фолликулов, отложение бесструктурных частиц бурого цвета; д - гиперплазия фолликулов селезенки со светлыми центрами и высокая плотность расположения спленоцитов в них у животных, получавших НЧ Cu

Таблица 2

**Морфометрические характеристики селезенок мышей с С37, получавших НЧ металлов /
 Morphometric characteristics of spleens of mice with S37 after administration of metallic NP**

Показатель	Группа мышей, n=10			
	Контроль	НЧ Cu	НЧ Zn	НЧ Fe
Количество лимфоидных фолликулов (N в срезе)	13,29±1,17	29,13±3,4 ^{1,4}	25,43±3,12 ¹	18,6±1,72 ²
Больших, %	31,18±2,59	41,23±3,52 ¹	19,66±2,93 ^{1,2,4}	39,78±4,49 ³
Средних, %	32,26±2,14	31,31±2,74	32,6±3,15	37,64±3,55
Малых, %	36,56±3,35	27,46±2,21 ¹	47,74±3,38 ^{1,2,4}	22,58±1,53 ^{1,3}
С герминативным центром (N в срезе)	3,57±0,42	7,88±0,71 ^{1,4}	7,14±0,63 ^{1,4}	4,67±0,66 ^{2,3}
Количество фигур митоза в герминативных центрах, N	4,29±0,56	6,4±0,9 ^{1,4}	5,63±0,46 ⁴	3,86±0,48 ^{2,3}

Примечание. Статистически достоверные отличия: ¹ – от контроля; ² – от НЧ Cu; ³ – от НЧ Zn; ⁴ – от НЧ Fe (p<0,05); n – количество животных в группе; N – количество фолликулов в срезе.

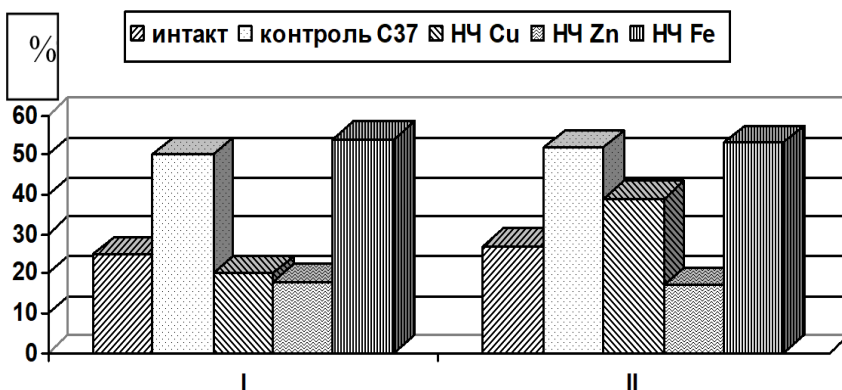


Рис. 2. Сравнительная характеристика количества дистрофически измененных тимоцитов мышей с перевитой С37 после введения металлических НЧ: I – корковое вещество; II – мозговое вещество / Fig. 2. Comparative characteristics of injured thymocytes in mice with transplanted S37 after administration of metallic nanoparticles: I – cortical substance; II – medullar substance

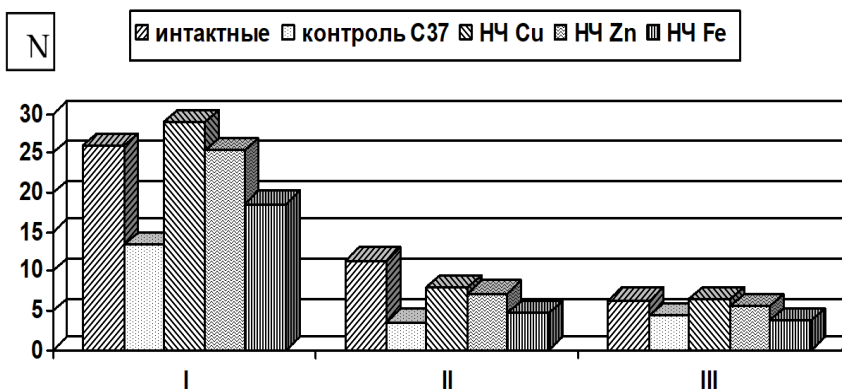


Рис. 3. Сравнительная характеристика некоторых морфометрических показателей селезенки мышей с перевитой С37 после введения металлических НЧ: I – общее количество лимфоидных фолликулов в срезе; II – количество фолликулов с герминативным центром; III – количество митозов / Fig. 3. Comparative characteristics of some morphometric indices of spleen in mice with transplanted S37 after administration of metallic nanoparticles: I – general amount of lymphoid follicles in one slice; II – amount of lymphoid follicles with germinal center; III – amount of mitoses

У контрольных животных-опухоленосителей выявлены признаки угнетения активности тимуса: в дольках мозговое вещество преобладает над корковым, местами наблюдается выход мозгового вещества за пределы дольки (рис. 1а). Подобная дезорганизация структуры тимуса отмечена у мышей-опухоленосителей и после введения НЧ Fe (рис. 1б). Напротив, в дольках тимусов животных, получавших НЧ Cu и НЧ Zn, наблюдались выраженное развитие коркового вещества, местами с редукцией мозгового вещества, а также умеренная (НЧ Cu) и высокая (НЧ Zn) плотность расположения тимоцитов (рис. 1в). В соединительной ткани тимуса мышей, получавших НЧ Fe, как и в контроле, встречаются единичные тучные клетки в состоянии активной дегрануляции, у животных после введения НЧ Zn наблюдались их скопления с гранулами внутри клеток, а после введения НЧ Cu – без гранул. Субкапсулярная зона лучше всего выражена после введения НЧ Zn; она богата пиронинофильными клетками, имеет высокую плотность расположения

тимоцитов (рис. 1в), тогда как у мышей других групп она развита слабее. У мышей контрольной группы и группы, получавшей НЧ Fe, корковое вещество тимуса менее развито, чем мозговое; в некоторых дольках наблюдается замещение паренхимы жировой тканью (рис. 1б). В отличие от них у животных, получавших НЧ Cu или НЧ Zn, корковое вещество хорошо развито, преобладает над мозговым, имеет плотное расположение тимоцитов, 1÷2 % из них в состоянии митоза; в нем встречаются единичные плазматические клетки. В мозговом веществе контрольных животных присутствуют макрофаги и плазматические клетки; после введения НЧ Cu – макрофаги и эпителиальные клетки, после введения НЧ Zn – плазматические и множество эпителиальных.

Количество тимоцитов с признаками дистрофических изменений (кариопикноза, кариорексиса, кариолизиса, вакуолизации ядра и цитоплазмы) у мышей-опухоленосителей, получавших внутрибрюшинное введение НЧ различных металлов, представлено в табл. 1 и на рис. 2. Сравнение с показателями интактных мышей демонстрирует выраженное повышение процентного содержания дистрофически измененных тимоцитов коркового и мозгового вещества при росте С37, а также его снижение вплоть до нормализации при введении НЧ Cu и особенно НЧ Zn, тогда как при введении НЧ Fe оно значительно превышает нормативные значения (рис. 2).

Как видно из табл. 1, процент дистрофически измененных клеток при введении НЧ Fe не отличается от контроля. При введении НЧ Zn происходит значительное (2,7÷3,3-кратное) уменьшение дистрофически измененных тимоцитов в субкапсулярной и корковой зонах, в мозговом веществе, причем отмечается минимальное количество тимоцитов с признаками наиболее тяжелых изменений (рексиса и лизиса ядер). Промежуточное положение по способности индуцировать дистрофические изменения тимоцитов занимают НЧ Cu (табл. 1).

Таким образом, НЧ Zn оказывают наиболее выраженное стимулирующее действие на тимус, что происходит одновременно с максимальной регрессией асцитной опухоли С37 после их внутрибрюшинного введения.

При морфологическом исследовании селезенки у мышей всех изученных групп были обнаружены тонкая или умеренно выраженная капсула, тонкие трабекулы, слабо заметные или умеренно выраженные сосуды, запустевшие или содержащие небольшое количество клеток крови. Белая пульпа представлена Т-зависимыми (периартериальными муфтами) и В-зависимыми областями (лимфоидными фолликулами, имеющими мантийную, маргиналь-

ную зоны, некоторые – герминативный центр) с плотным, иногда разреженным расположением лимфоцитов. Размеры фолликулов и муфт, а также их количество варьируют. Тучные клетки, пустые или заполненные гранулами, иногда с незначительной дегрануляцией, встречаются редко. Селезенки животных опытных групп, преимущественно получавших НЧ Cu и НЧ Zn, отличались от контроля высокой и умеренной плотностью расположения спленоцитов, при введении НЧ Cu – признаками гиперплазии фолликулов (рис. 1д), иногда с их смещением в область красной пульпы. У контрольных мышей, а также в группе, получавшей НЧ Fe, отмечается разреженное расположение спленоцитов, деструктуризация фолликулов, нечеткость их границ (рис. 1г). Наблюдаемые в срезах селезенки отложения бесструктурных частиц бурого цвета, по-видимому, представляют собой конгломераты металлических НЧ, накопление которых в селезенке описано в литературе [8]. Результаты морфометрии селезенки представлены в табл. 2 и на рис. 3.

Данные, представленные на рис. 3, показывают, что общее количество лимфоидных фолликулов селезенки снижается при развитии перевиваемой опухоли, а нормализация этого показателя происходит при введении НЧ Cu и НЧ Zn, но не НЧ Fe. Хотя развитие С37 и приводит к снижению числа фолликулов с герминативным центром у животных всех исследованных групп, введение НЧ Cu и НЧ Zn способствует восстановлению митотической активности спленоцитов.

Как видно из табл. 2, среднее количество фолликулов в срезе селезенки животных контрольной группы минимально; показатель мышей, получавших НЧ Fe, не отличается от него. Количество фолликулов после введения НЧ Zn и НЧ Cu было статистически достоверно выше, превосходя контроль в 2 раза, а показатель мышей, получавших НЧ Fe, – в 1,4–1,5 раза. При введении НЧ Cu преобладали крупные фолликулы, а при введении НЧ Zn – мелкие, однако число фолликулов с герминативным центром в обеих группах было выше, чем в контроле и при действии НЧ Fe. Количество фигур митоза у животных, получавших НЧ Cu, статистически достоверно превышало контрольные значения, а после введения НЧ Fe митотическая активность В-лимфоцитов, формирующих герминативный центр фолликул, была ниже, чем после введения НЧ Cu и НЧ Zn.

Итак, регрессия перевиваемой опухоли С37 мышей под действием введения металлических НЧ сопровождается не только восстановлением citoархитектоники центральных и периферических органов иммунной системы, но и морфологическими признаками стимуляции их активности. Развитие и

структурированные дольки, гиперплазия коркового вещества и снижение количества дистрофически измененных клеток в тимусе, увеличение количества лимфоидных фолликулов, в частности, с герминативным центром в селезенке, отражают стимуляцию активности Т- и В-клеточного звена иммунной системы животных при введении НЧ Cu и НЧ Zn, причем у первых отмечено преимущественное действие на В-звено, а у вторых – на Т-клеточное звено иммунной системы. При минимальном противоопухолевом эффекте от введения НЧ Fe отмечено нарушение структуры, а следовательно, и функции этих органов. Регрессия опухоли и состояние органов иммунной системы тесно связаны и взаимосвязаны. Повреждение центральных и периферических органов иммунной системы при опухолевом росте, как показано многочисленными исследованиями, носит стрессорный характер, а при регрессии опухоли происходит их восстановление и даже стимуляция, что и наблюдалось нами при введении НЧ Cu и НЧ Zn, в отличие от НЧ Fe, противоопухолевое действие которого было малоэффективным. Не только отсутствие гистологических признаков повреждения тимуса и селезенки, но и их стимуляция свидетельствуют о позитивном эффекте металлических НЧ меди и цинка, в отличие от действия цитостатиков, вызывающих наряду с регрессией опухоли дистрофические изменения иммунокомпетентных клеток, особенно тимоцитов, и грубые нарушения структуры органов иммунной системы [5, 7]. В литературе описаны, с одной стороны, высокая метаболическая активность, а с другой – токсические свойства меди [10–12], в частности, нами ранее было показано ее прямое повреждающее действие на клетки тимуса, культивируемые в диффузионных камерах [13]. Тем не менее при введении ее НЧ мышам-опухоленосителям нами не наблюдалось выраженного повреждающего действия на тимус, а действие на фолликулы белой пульпы селезенки было стимулирующим. Имеются данные литературы о более высоком содержании меди в клетках гепатомы крыс, чем в нормальных гепатоцитах [14], что предполагает возможность ее накопления в опухоли. Согласно ранее полученным нами данным, цинк, введенный в виде НЧ, также способен концентрироваться в перивиаемой опухоли [15]; таким образом, возможное повреждающее действие этих металлов на неопухолевые клетки может снижаться. Кроме того, цинк известен как микроэлемент, стимулирующий Т-клеточное звено иммунитета, в частности, усиливающий продукцию тимозина [14], что мы и наблюдали, судя по обилию эпителиальных клеток-продуцентов в тимусе мышей, получавших НЧ Zn. Увеличение количества малых фолликулов в белой пульпе селезенки именно у этих мышей, вероятно,

говорит о некотором угнетении В-клеточного звена иммунной системы под действием НЧ Zn, которое можно расценить как компенсированное и, возможно, транзиторное, поскольку митотическая активность оставалась сохранной, о чем свидетельствуют показатели количества фолликулов с герминативными центрами и числа митозов в них. НЧ Fe проявляли наименьшее действие на С37, а неблагоприятная гистологическая картина, наблюдаемая в тимусах и селезенках мышей при их введении, соответствует развивающейся при опухолевом росте у животных контрольной группы.

Заключение

Таким образом, показаны различные эффекты действия НЧ переходных металлов на состояние центральных и периферических органов иммунной системы мышей-опухоленосителей: НЧ цинка и меди демонстрируют иммуностимулирующее действие преимущественно на Т- и В-звено соответственно; НЧ железа подобных свойств не проявляют. Описанные эффекты, по-видимому, взаимосвязаны с особенностями действия этих НЧ на рост перивиаемой саркомы 37.

Авторы выражают глубокую благодарность профессору Саратовского государственного медицинского университета В.Б. Бородулину за любезное предоставление наночастиц металлов.

Литература

1. Гонсалвес К., Хальберштадт К., Лоренсин К., Наир Л. Наноструктуры в биомедицине / пер. с англ. С.А. Бусева, Т.П. Мосоловой, А.В. Хачоян. М., 2012. 519 с.
2. Zhang L., Gu F.X., Chan J.M., Wang A.Z., Langer R.S., Farokhzad O.C. Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2008. Vol. 83. P. 761–769.
3. Златник Е.Ю., Передреева Л.В. Регрессия опухоли и продолжительность жизни у мышей-опухоленосителей при введении НЧ металлов // *Изв. вузов. Сев.-Кавк. регион. Естеств. науки. Спецвыпуск: Клиническая и экспериментальная онкология*. 2010. С. 94–96.
4. Златник Е.Ю., Передреева Л.В. Экспериментальное изучение влияния наноразмерных частиц металлов на опухолевый рост и костномозговое кроветворение // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2012. Т. 153, № 1. С. 113–117.
5. Киселева Е.П. Механизмы инволюции тимуса при опухолевом росте // *Успехи современной биологии*. 2004. Т. 124, № 6. С. 589–601.
6. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В. Проблемы гистофизиологии иммунной системы // *Иммунология*. 2002. Т. 23, № 1. С. 4–8.
7. Strauss G., Osen W., Debatin K.M. Induction of apoptosis and modulation of activation and effector function in T cells by immunosuppressive drugs // *Clinical and Experimental Immunology*. 2002. № 2. P. 255–266.

8. Дыкман Л.А., Хлебцов Н.Г. Золотые наночастицы в биологии и медицине: достижения последних лет и перспективы // *Acta Naturae*. 2011. Т. 3, № 2 (9). С. 36–58.

9. Шалашина Е.В., Горошинская И.А., Качесова П.С., Жуклова Г.В. [и др.]. Структурно-функциональные и биохимические изменения в органах иммунной системы при противоопухолевом действии наночастиц меди в эксперименте // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2011. Т. 152, № 11. С. 552–556.

10. Дудакова Ю.С., Бабушкина И.В., Бородулин В.Б. Исследование токсического действия высокодисперсных порошков металлов // *Аллергология и иммунология*. 2009. Т. 10, № 2. С. 308.

11. Chen Z., Meng H., Xing G. [et al.]. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo // *Toxicology Letter*. 2006. Vol. 163. P. 109–120.

12. Meng H., Chen Z., Xing G. [et al.]. Ultrahigh reactivity and grave nanotoxicity of copper nanoparticles // *J. of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2007. Vol. 272, № 3. P. 595–598.

13. Златник Е.Ю., Передреева Л.В. Влияние наночастиц металлов на рост опухолевой и лимфоидной тканей в диффузионных камерах // *Аллергология и иммунология*. 2011. Т. 12, № 4. С. 360–363.

14. Кудрин А.В., Громова О.М. Микроэлементы в иммунологии и онкологии. М., 2007. 544 с.

15. Кит О.И., Златник Е.Ю., Передреева Л.В. Антипролиферативное действие наночастиц цинка и сплава металлов на моделях перевиваемых сарком // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2013. Т. 156, № 9. С. 367–370.

References

1. Gonsalves K., Khal'bershtadt K., Lorensin K., Nair L. *Nanostruktury v biomeditsine* [Nanostructures in biomedicine]. Transl. from Engl. S.A. Busev, T.P. Mosolova, A.V. Khachoyan. Moscow, 2012, 519 p.

2. Zhang L., Gu F.X., Chan J.M., Wang A.Z., Langer R.S., Farokhzad O.C. Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2008, vol. 83, pp. 761–769.

3. Zlatnik E.Yu., Peredreeva L.V. Regressiya opukholi i prodolzhitel'nost' zhizni u myshei-opukhlozenositelei pri vvedenii NCh metallov [Tumor regression and longevity in tumor-bearing mice with the introduction of low-frequency metals]. *Izv. vuzov. Sev.-Kavk. region. Estestv. nauki*. Spetsvypusk: Klinicheskaya i eksperimental'naya onkologiya. 2010, pp. 94–96.

4. Zlatnik E.Yu., Peredreeva L.V. Eksperimental'noe izuchenie vliyaniya nanorazmernykh chastits metallov na opukholevyi rost i kostnomozgovoe krovetvorenje [Experimental study of the effect of nanoscale metal particles on tumor growth

and bone marrow hematopoies]. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny*. 2012, vol. 153, No. 1, pp. 113–117.

5. Kiseleva E.P. Mekhanizmy involutsii timusa pri opukholevom roste [Mechanisms of thymus involution in tumor growth]. *Uspekhi sovremennoi biologii*. 2004, vol. 124, No. 6, pp. 589–601.

6. Trufakin V.A., Shurlygina A.V. Problemy gistofiziologii immunoj sistemy [Problems of histophysiology of the immune system]. *Immunologiya*. 2002, vol. 23, No. 1, pp. 4–8.

7. Strauss G., Osen W., Debatin K.M. Induction of apoptosis and modulation of activation and effector function in T cells by immunosuppressive drugs. *Clinical and Experimental Immunology*. 2002, No. 2, pp. 255–266.

8. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. Zolotyje nanochastitsy v biologii i meditsine: dostizheniya poslednikh let i perspektivy [Gold nanoparticles in biology and medicine: achievements of recent years and prospects]. *Acta Naturae*. 2011, vol. 3, No. 2 (9), pp. 36–58.

9. Shalashnaya E.V., Goroshinskaya I.A., Kachesova P.S., Zhukova G.V. [et al.]. Strukturno-funktsional'nye i biokhimicheskie izmeneniya v organakh immunoj sistemy pri protivopukholevom deistvii nanochastitsy medi v eksperimente [Structural and functional and biochemical changes in the organs of the immune system during the antitumor activity of copper nanoparticles in the experiment]. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny*. 2011, vol. 152, No. 11, pp. 552–556.

10. Dudakova Yu.S., Babushkina I.V., Borodulin V.B. Issledovanie toksicheskogo deistviya vysokodispersnykh poroshkov metallov [The study of the toxic effect of highly disperse metal powders]. *Allergologiya i immunologiya*. 2009, vol. 10, No. 2, p. 308.

11. Chen Z., Meng H., Xing G. [et al.]. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letter*. 2006, vol. 163, pp. 109–120.

12. Meng H., Chen Z., Xing G. [et al.]. Ultrahigh reactivity and grave nanotoxicity of copper nanoparticles. *J. of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2007, vol. 272, No. 3, pp. 595–598.

13. Zlatnik E.Yu., Peredreeva L.V. Vliyanie nanochastits metallov na rost opukholevoi i limfoidnoi tkanei v diffuzionnykh kamerakh [Influence of metal nanoparticles on the growth of tumor and lymphoid tissues in diffusion chambers]. *Allergologiya i immunologiya*. 2011, vol. 12, No. 4, pp. 360–363.

14. Kudrin A.V., Gromova O.M. Mikroelementy v immunologii i onkologii [Microelements in immunology and oncology]. Moscow, 2007, 544 p.

15. Kit O.I., Zlatnik E.Yu., Peredreeva L.V. Antiproliферативное deistvie nanochastits tsinka i splava metallov na modelyakh perevivaemykh sarkom [The antiproliferative effect of zinc and metal alloy nanoparticles on models of sarcomas transplanted]. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny*. 2013, vol. 156, No. 9, pp. 367–370.

УДК 615.273.52:616-066

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-48-57

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СВЕРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У БОЛЬНЫХ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ОРГАНОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

© 2017 г. **О.В. Кательницкая¹, О.И. Кит¹, Н.К. Гуськова¹, К.А. Аванесова¹, И.И. Кательницкий²,
Н.В. Солдаткина¹, Ю.А. Фоменко¹, Д.С. Петров¹**

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия,

²Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

ASSESSMENT OF FUNCTIONAL STATUS OF BLOOD COAGULATION SYSTEM IN POSTOPERATIVE PERIOD IN PATIENTS WITH GASTROINTESTINAL CANCER

**O.V. Katelnitskaya¹, O.I. Kit¹, N.K. Guskova¹, K.A. Avanesova¹, I.I. Katelnitskiy²,
N.V. Soldatkina¹, Yu.A. Fomenko¹, D.S. Petrov¹**

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia,

²Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Кательницкая Оксана Васильевна – кандидат медицинских наук, сосудистый хирург, отделение абдоминальной онкологии № 2, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: katelnitskaya@yandex.ru

Oksana V. Katelnitskaya - Candidate of Medicine, Vascular Surgeon, Department of Abdominal Oncology No. 2, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: katelnitskaya@yandex.ru

Кит Олег Иванович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор Ростовского научно-исследовательского онкологического института, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Oleg I. Kit - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, General Director, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Гуськова Наиля Катифовна – кандидат биологических наук, заведующая клинико-диагностической лабораторией, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Nailya K. Guskova - Candidate of Biological Sciences, Head of Clinical Diagnostic Laboratory, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Аванесова Кристина Александровна – врач, клинико-диагностическая лаборатория, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Kristina A. Avanesova - Doctor, Clinical Diagnostic Laboratory, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Кательницкий Игорь Иванович – доктор медицинских наук, доцент, профессор, кафедра хирургических болезней № 1, Ростовский государственный медицинский университет, пер. Нахичеванский, 29, г. Ростов-на-Дону, 344022, Россия, e-mail: okt@rostgmu.ru

Igor I. Katelnitskiy - Doctor of Medicine, Associate Professor, Professor, Department of Surgical Diseases No. 1, Rostov State Medical University, Nakhichevanskiy Lane, 29, Rostov-on-Don, 344022, Russia, e-mail: okt@rostgmu.ru

Солдаткина Наталья Васильевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, врач-онколог, отделение абдоминальной онкологии № 2, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: snv-rnioi@yandex.ru

Natalia V. Soldatkina - Doctor of Medicine, Senior Researcher, Oncologist, Department of Abdominal Oncology No. 2, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: snv-rnioi@yandex.ru

Фоменко Юрий Александрович – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по клинико-экспертной работе, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Yuriy A. Fomenko - Candidate of Medicine, Deputy Chief Physician for Clinical Expertise, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Петров Дмитрий Сергеевич - кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по хирургии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Dmitriy S. Petrov - Candidate of Medicine, Deputy Chief Physician for Surgery, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Проанализированы изменения показателей свертывающей системы на этапе хирургического лечения у 64 больных со злокачественными новообразованиями (ЗНО) желудочно-кишечного тракта. В динамике оценивались результаты, полученные при использовании параметров развернутой коагулограммы и нового глобального теста оценки гемостаза – «Регистратор тромбодинамики Т-2». На основании полученных данных построены модели прогнозирования послеоперационного венозного тромбоза, проведено сравнение различных методов исследования свертывающей системы. Показано, что тест тромбодинамики позволяет в послеоперационном периоде у 26,56 % больных со ЗНО желудочно-кишечного тракта на фоне стандартной антикоагулянтной профилактики оценить состояние тромботической готовности. После оперативного вмешательства выявлены высокие уровни маркеров тромбинемии и гиперкоагуляция по скорости роста фибринового сгустка. Обнаружена корреляция между уровнем фибриногена плазмы и плотностью фибринового сгустка. Следовательно, с помощью высокочувствительного глобального теста оценки системы гемостаза возможно выявить гиперкоагуляцию и оценить эффективность профилактической дозы низкомолекулярного гепарина.

Ключевые слова: система гемостаза, тромбинемия, тромбодинамика, рак желудка, рак толстой кишки.

We analyzed changes in indices of the blood coagulation system in 64 patients with gastrointestinal cancer (GIC) at surgical treatment. Results obtained using parameters of the expanded coagulogram and a new global hemostatic assessment test «Thrombodynamics registrar T-2» were evaluated in dynamics. Based on the findings, we created models for predicting postoperative venous thrombosis and compared different methods for the coagulation system research. The thrombodynamics test allows assessment of the state of thrombotic readiness in the postoperative period in 26.56 % of patients with GI cancer with the standard anticoagulant prophylaxis. High levels of thrombinemia markers and hypercoagulation at the growth rate of fibrin clot were revealed after the surgery. Correlation between plasma fibrinogen levels and fibrin clot density was observed. Therefore, a highly sensitive global assessment of the hemostatic system allows hypercoagulation detection and evaluation of the efficacy of a prophylactic dose of low molecular weight heparin.

Keywords: hemostasis system, thrombinemia, thrombodynamics, gastric cancer, colon cancer.

В настоящее время показатели заболеваемости и смертности от онкологических заболеваний в России имеют тенденцию к увеличению. Злокачественные новообразования (ЗНО) желудка и толстой кишки занимают лидирующие места в структуре заболеваемости. Летальность на первом году с момента установки диагноза при раке желудка составляет 54,1 %, а при раке ободочной и прямой кишки – 34,1 и 30,6 % [1, 2].

Венозные тромбоемболические осложнения (ВТЭО) являются второй по частоте причиной летальности онкологических больных. Поэтому некоторые исследователи относят онкологические заболевания к приобретенным тромбофилиям [3–6].

При целенаправленном поиске ВТЭО с использованием методов радиоиндикации и ультразвукового ангиосканирования у трети послеоперационных больных регистрируется тромбоз в глубоких и/или поверхностных венах [7, 8].

Наиболее часто венозный тромбоз наблюдается у больных с верифицированным диагнозом аденокарциномы легкого, поджелудочной железы, женских половых органов, желудочно-кишечного тракта [3, 4, 9].

Оценка степени риска ВТЭО складывается, помимо наличия опухолевого заболевания, из множества факторов. Дополнительный риск обеспечивают возраст, анамнез, наличие сопутствующих заболеваний, объем оперативного пособия, вид наркоза, активизация пациента в послеоперационном периоде, необходимость в химиотерапии и лучевом этапе лечения [4, 10].

В онкологии с целью профилактики ВТЭО на различных этапах лечения используют нефракционированный гепарин, низкомолекулярные гепарины (НМГ) и оральные антикоагулянты. Критерием эффективности купирования состояния тромботической готовности является нормализация показателей тромбинемии. Однако у значительной части

онкологических больных длительно регистрируются высокие уровни последних, несмотря на применение антикоагулянтов. Ретроспективно данное обстоятельство указывает на недостаточную эффективность тромбопрофилактики. Следовательно, оценить достаточность профилактической дозы антикоагулянта и выполнить при необходимости ее коррекцию в заданный момент времени сложно, опираясь лишь на показатели тромбинемии. Проанализировать адекватность профилактики ВТЭО, основываясь на данных стандартной коагулограммы, возможно только по повышению уровня маркеров тромбинемии и, соответственно, дать исключительно ретроспективную оценку эффективности проведенной стандартной терапии [11]. С нашей точки зрения, индивидуальный подход с регулярным контролем показателей гемостаза может снизить риск развития ВТЭО у пациентов со ЗНО.

Большинство лабораторных тестов по исследованию системы гемостаза направлено на определение концентрации или активности отдельных факторов и ингибиторов свёртывания. Таким образом, с помощью стандартных коагулологических тестов возможно выявить лишь дефект или дефицит одного из факторов свертывания, либо патологию одного из звеньев гемостаза.

Исследование маркеров гиперкоагуляции констатирует только тромбообразование. Однако их использование непродуктивно в оценке эффективности проводимой терапии или профилактики на данный момент. Только спустя несколько дней и недель возможно ретроспективно оценить эффективность мер по коррекции антикоагулянтами состояния тромботической готовности.

Цель работы – оценить свертывающий потенциал крови с помощью стандартных гемостазиологических тестов и глобального теста оценки свертывающей системы на хирургическом этапе лечения больных со ЗНО желудка и толстой кишки.

Материалы и методы

В исследование включены 64 пациента, поступивших на хирургический этап лечения по поводу ЗНО желудка и толстой кишки в торакоабдоминальное отделение Ростовского научно-исследовательского онкологического института.

Средний возраст пациентов составил 62,27 года, $s=10,64$ (стандартное отклонение).

ЗНО желудка диагностировали у 31 больного (48,44 %), толстой кишки – у 33 (51,56 %).

Распространенность онкологического процесса была представлена следующим образом: I стадия –

3 больных (4,69 %), II – 8 (12,50), III – 35 (54,69), IV – 18 (28,13 %) (табл. 1).

Наиболее часто регистрировалась аденокарцинома желудка и ободочной кишки.

Все больные получали стандартную профилактическую дозу НМГ, рекомендованную Ассоциацией флебологов России (эноксапарин 40 мг в сутки подкожно) за 12 ч до операции [12].

Для стратификации риска ВТЭО использовали шкалу Caprini. Средний балл составил 8,47, что позволяет отнести больных к группе с высоким риском развития ВТЭО в послеоперационном периоде.

При проведении анализа статистической зависимости послеоперационного венозного тромбоза от факторов риска ВТЭО не установлена достоверная связь послеоперационного тромботического эпизода с полом, возрастом, тромботическим анамнезом, типом операции, наличием отдаленных метастазов, стадией заболевания и гистотипом рака (табл. 1).

Исследование показателей гемостаза проводили на этапе госпитализации (исходные данные) и на 7–10-е сут после операции.

Венозную кровь забирали из локтевой вены без жгута или с коротким периодом наложения (не более 1 мин) широкой иглой в специальные пластиковые пробирки, содержащие раствор цитрата натрия, с использованием вакуумной техники. Кровь центрифугировали при 3000–4000 об/мин в течение 15 мин при комнатной температуре для получения бедной тромбоцитами плазмы. Исследования показателей системы гемостаза проводили не позднее 2 ч после взятия крови на автоматическом анализаторе STA Compact (Франция) с использованием 3 методов анализа – клоттингового, хромогенного и иммунохимического.

Для оценки гипо- и гиперкоагуляционного состояния системы гемостаза, эффективности дозы НМГ в 1-е сут послеоперационного периода применяли «Регистратор тромбодинамики Т-2» – ранний глобальный тест контроля плазменного гемостаза. Наиболее чувствительный метод для выявления рисков кровотечений и тромбообразования, основанный на видеомикроскопии роста фибринового сгустка от имитированной поврежденной сосудистой стенки, разработан в Гематологическом научном центре РАМН. Процесс образования фибринового сгустка запускается тканевым фактором, фиксированным на пространственной плоской поверхности в условиях, близких к условиям свертывания крови *in vivo*, а не во всем исследуемом объеме плазмы.

Таблица 1

Анализ дооперационных факторов риска ВТЭО у пациентов с наличием тромбоза после операции (n=5) и без него (n=59) / Analysis of preoperative risk factors for venous thromboembolic complications in patients with (n=5) and without thrombosis after surgery (n=59)

Характеристика состояния пациентов	Показатель, %		P
	Отсутствие тромбоза, абс. (%)	Наличие тромбоза, абс. (%)	
Пол: – мужчины – женщины	33 (91,67) 26 (92,86)	3 (8,33) 2 (7,14)	1
Отдаленные метастазы: – нет – есть	42 (91,30) 17 (94,44)	4 (8,70) 1 (5,56)	1
ВТЭО в анамнезе: – не были – были	57 (91,94) 2 (100,0)	5 (8,06) 0 (0,0)	1
Тип операции: – радикальная – циторедуктивная	42 (91,30) 17 (94,44)	4 (8,70) 1 (5,56)	1
Гистотип рака: – аденокарцинома – нейроэндокринный рак – перстневидно-клеточный рак – плоскоклеточный рак – недифференцированный рак	47 (94,00) 0 (0,00) 9 (100,00) 2 (100,0) 1 (33,33)	3 (6,0) 0 (0,00) 0 (0,00) 0 (0,0) 2 (66,67)	0,42
Стадия рака: I II III IV	3 (100,0) 8 (100,00) 31 (88,57) 17 (94,44)	0 (0,0) 0 (0,00) 4 (11,43) 1 (5,56)	0,44

Примечание. p – значимость различий показателей в подгруппах пациентов без и с наличием послеоперационных тромбо- тических осложнений.

Фибриновый сгусток, образующийся от активации тканевым фактором в неперемешиваемом тонком слое исследуемой плазмы, фиксируется красными светодиодами в термостатируемой камере оптическим методом. Далее выполняется компьютерная обработка данных.

Оцениваются следующие показатели:

– задержка роста сгустка T_{lag} – промежуток времени от момента контакта тромбопластина до момента начала образования фибринового сгустка (0,7–1,4 мин);

– начальная скорость роста сгустка V_i – начальный отрезок графика зависимости размера сгустка от времени (от 2 до 6 мин с момента начала роста сгустка) (36–54 мкм/мин);

– стационарная скорость роста сгустка V_{st} рассчитывается по наклону аппроксимирующего ста-

ционарного участка графика зависимости размера сгустка от времени (в диапазоне от 15 до 25 мин с момента начала роста сгустка) (19–30 мкм/мин);

– размер сгустка (PC) – интегральный показатель, характеризующий процесс роста сгустка в целом (800–1200 мкм);

– плотность сгустка (ПС) характеризует плотность образовавшегося сгустка (15000–32000 усл. ед.);

– появление спонтанных сгустков (в норме отсутствуют) – время возникновения фибриновых сгустков вдали от торца пластиковой вставки (активатора).

Статистический анализ данных проводили с помощью программы STATISTICA 6.1. Определяли средние величины, среднеквадратическое отклонение, медианы и межквартильные интервалы. Для выявления значимых различий между груп-

пами с различными значениями бинарного признака по среднему уровню показателя был использован тест Манна – Уитни. Связь признавалась значимой при $p < 0,05$.

Результаты

Исходно больные характеризовались повышением уровня фибриногена ($4,49 \pm 2,46$ г/л), РФМК

($6,49 \pm 3,15$ мг/100 мл) и D-димеров ($0,97 \pm 1,01$ мкг/мл). При этом у 7 (10,94 %) пациентов зарегистрирована недостаточность антитромбина. Тромбоцитоз выявлен в 6 (9,37 %) случаях, тромбоцитопения, не требующая снижения дозы НМГ, – в 4 (6,25 %). Не отмечено значимых различий в исходном уровне исследуемых показателей у больных с развитием ВТЭО после операции и без такового (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение исходных показателей гемостаза у пациентов с наличием и без венозного тромбоза в послеоперационном периоде / Comparison of initial hemostasis parameters in patients with and without venous thrombosis after surgery

Показатели пациентов до оперативного вмешательства (норма), единица измерения	Отсутствие тромбоза после операции (n=59)		Наличие послеоперационного тромбоза (n=5)		P
	Среднее М	Стандартное отклонение s	Среднее М	Стандартное отклонение s	
АЧТВ (24–35), с	29,72	3,75	30,02	1,66	0,86
МНО (близкое к 1,0)	1,12	0,20	1,04	0,05	0,41
Тромбиновое время (14–20), с	16,57	2,79	16,40	2,03	0,89
Фибриноген (2,0–4,0), г/л	4,54	2,55	3,99	1,00	0,64
Антитромбин (75–125), %	87,90	15,23	89,60	8,59	0,81
РФМК (до 4,0), мг/100 мл	6,42	3,16	7,40	3,19	0,51
D-димер (до 0,5), мкг/мл	0,96	1,04	1,04	0,56	0,88
Гемоглобин (120–160), г/л	115,93	23,89	113,80	35,57	0,85
Гематокрит (30–55), %	37,45	5,93	36,94	10,37	0,86
Тромбоциты (180–360), $\cdot 10^9$ /л	273,78	106,06	338,80	116,86	0,20

Примечание. p – значимость различий показателей в подгруппах пациентов без и с наличием послеоперационных тромбоцитических осложнений.

На 7–10-е сут после операции у больных отмечено нарастание концентрации фибриногена ($4,76 \pm 1,27$ г/л), РФМК ($6,77 \pm 3,92$ мг/100 мл) и D-димера ($1,21 \pm 0,92$ мкг/мл). При этом в 8 % случаев установлен дефицит антитромбина, у 11 больных – тромбоцитоз (17,18 %). Отмечена незначительная гипокоагуляция по показателю АЧТВ ($36,06 \pm 7,63$ с). На этом этапе не претерпели значимых изменений тромбиновое время, значения МНО и уровень антитромбина. Итак, у больных с ВТЭО на 2-й неделе послеоперационного периода достоверно повышены показатели тромбинемии – РФМК и D-димеры и понижен уровень антитромбина, что позволяет диагностировать тромбоцитические осложнения на этапе их реализации (табл. 3).

Согласно данным теста тромбодинамики в 1-е сут после операции средние значения параметров укладываются в границы нормокоагуляции на фоне введения стандартной профилактической дозы антикоагулянта (эноксапарин 40 мг в сут), за исключением показателя образования спонтанных сгустков в 6,25 % случаев. Несмотря на применение эноксапарина, показатели начальной и стационарной скоростей роста фибринового сгустка находятся на границе гиперкоагуляции (табл. 4). Таким образом, нам удалось выделить группу пациентов (26,56 %) с недостаточным эффектом используемого антикоагулянта. У пациентов этой группы с большей вероятностью возникнет венозный тромбоз в послеоперационном периоде. Данной категории больных нами предложено увеличить дозу НМГ до 60 мг в день.

Таблица 3

**Сравнение показателей гемостаза у пациентов с наличием и без тромбоза на 7–10-е сут после операции /
Comparison of hemostasis characteristics of patients with and without thrombosis on days 7–10 after surgery**

Показатели пациентов до оперативного вмешательства	Отсутствие тромбоза (n=59)		Наличие послеоперационного тромбоза (n=5)		p
	Среднее М	Стандартное отклонение s	Среднее М	Стандартное отклонение s	
АЧТВ (24–35), с	35,87	7,64	38,38	8,00	0,3813
МНО (близкое к 1,0)	1,35	0,34	1,45	0,49	0,9800
Тромбиновое время (14–20), с	17,51	6,20	12,87	4,53	0,0367
Фибриноген (2,0–4,0), г/л	4,82	1,28	4,05	1,07	0,1433
Антитромбин (75–125), %	88,75	14,85	70,80	11,84	0,0115
РФМК (до 4,0), мг/100 мл	6,27	3,21	12,70	6,70	0,0260
D-димер (до 0,5), мкг/мл	1,10	0,83	2,42	1,05	0,0041
Гемоглобин (120–160), г/л	102,10	18,06	93,20	5,76	0,2992
Гематокрит (30–55), %	34,70	4,73	31,60	3,79	0,1849
Тромбоциты (180–360), ·10 ⁹ /л	295,54	174,32	359,60	141,92	0,1094

Примечание. p – значимость различий показателей в подгруппах пациентов без и с наличием послеоперационных тромбо- тических осложнений.

На 7–10-е сут после операции средние значения Vi и Vst, PC и ПС соответствуют нормативным значениям (табл. 4). Спонтанное образование сгустков выявлено у одного больного (1,56 %). При

данной методике профилактики ВТЭО ко 2-й неде- ле послеоперационного периода гиперкоагуляция (недостаточная эффективность действия НМГ) от- мечена у 6 пациентов (9,38 %).

Таблица 4

**Показатели тромбодинамики после операции (числитель – 1-е сут; знаменатель – 7–10-е сут) /
Characteristics of thrombodynamics after surgery (numerator – on day 1; denominator – on days 7–10)**

Показатель	Среднее М	Медиана Me	Нижний квартиль LQ	Верхний квартиль UQ	Стандартное отклонение s	p
ПС, усл. ед.	<u>28624</u> 29616	<u>28906</u> 29735	<u>26302</u> 27286	<u>31089</u> 32687	<u>3380</u> 3632	0,0085
Vst, мкм/мин	<u>28,48</u> 27,19	<u>28,00</u> 26,75	<u>25,05</u> 24,70	<u>31,40</u> 30,00	<u>4,571</u> 4,423	0,13
Плаг, мин	<u>1,18</u> 1,10	<u>1,00</u> 1,10	<u>0,90</u> 0,90	<u>1,20</u> 1,20	<u>1,326</u> 0,202	0,039
Vi, мкм/мин	<u>53,66</u> 53,26	<u>54,60</u> 54,15	<u>51,10</u> 50,35	<u>57,55</u> 58,80	<u>5,920</u> 7,638	0,81
PC, мкм	<u>1136</u> 1149	<u>1133</u> 1170	<u>1045</u> 1026	<u>1252</u> 1278	<u>136,24</u> 188,65	0,28
Спонтанные сгустки, мин	<u>0,34</u> 0,37	<u>0,00</u> 0,00	<u>0,00</u> 0,00	<u>0,00</u> 0,00	<u>1,394</u> 1,85	0,28

Для оценки соответствия показателей коагулограммы и параметров «Регистратора тромбодинамики Т-2» произведен анализ уровня фибриногена

и ПС. Как оказалось, ПС на 7–10-й день после операции хорошо коррелирует (рис. 1) с концентрацией фибриногена в крови ($r=0,7006$, $p<0,00001$).

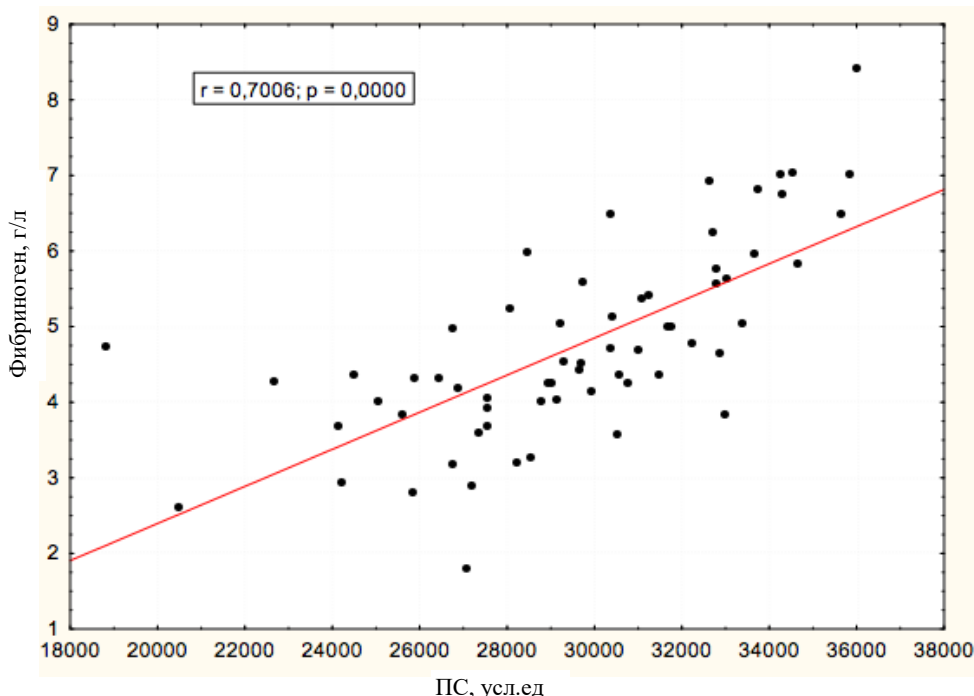


Рис. 1. Зависимость между ПС от уровня фибриногена на 7–10-е сут после операции ($r=0,70$, $p=0,00000$) / Fig. 1. The dependence of the density of the bunch on the level of fibrinogen on the day 7-10 after the operation ($r=0.70$, $p=0.00000$)

С целью определения возможности прогнозирования послеоперационного тромбоза был использован дискриминантный метод с использованием комплекса исходных данных: пола, возраста, локализации, стадии и гистотипа опухоли, типа операции, анамнеза ВТЭО, балла по шкале Caprini, показателей гемостаза (дискриминантная матрица). После исключения из анализа наименее информативных показателей четкого разделения на исследуемые подгруппы получено не было.

При анализе матрицы установлено, что прогноз ВТЭО по показателям, включенным в модель, невозможен, поскольку статистическая значимость рассчитанных коэффициентов в модели оказалась неудовлетворительной. Таким образом, совокупность перечисленных показателей не может быть использована в онкологии для выделения из группы высокого риска развития ВТЭО группы крайне высокого риска тромботических осложнений. Прогноз развития ВТЭО достаточно низкий и составляет 51,56 % (табл. 5).

Таблица 5

Матрица классификации для прогнозирования послеоперационных тромбозов на основании показателей пациентов в предоперационном периоде / Classification matrix for prediction of postoperative thrombosis based on characteristics of patients in preoperative period

Показатель	Процент	Отсутствие тромбоза	Дистальный тромбоз	Проксимальный тромбоз
Отсутствие тромбоза	49,15	29	18	12
Дистальный тромбоз	100,0	0	2	0
Проксимальный тромбоз	66,67	0	1	2
Всего	51,56	29	21	14

Примечание. Строки – наблюдаемые классы; столбцы – предсказанные.

Было проведено сравнение показателей тромбодинамики в первые сутки после операции (табл. 6) у больных с возникшими ВТЭО и без. В группе с тромбозом установлены более высокие уровни V_i и V_{st} скоростей, уменьшение времени задержки роста сгустка. Особенно значимой является регистрация спонтанных сгустков, в то время как в подгруппе без ВТЭО не зафиксировано ни одного случая с образованием спонтанных сгустков ($p < 0,00001$).

Дискриминантная статистическая модель на основе показателей тромбодинамики дала следующие результаты. Было получено четкое разделение подгрупп без тромбоза и с тромботическими осложнениями. Один из пациентов ложно попадает в подгруппу без тромбоза, так как у него не зафиксировано наличие спонтанных сгустков. Аналогичную картину можно наблюдать и в матрице классификации (табл. 7).

Таблица 6

Сравнение показателей тромбодинамики пациентов с наличием и без тромбоза на 1-е сут после операции / Comparison of characteristics of thrombodynamics in patients with and without thrombosis on day 1 after surgery

Показатели пациентов до оперативного вмешательства	Отсутствие тромбоза (n=59)		Наличие тромбоза (n=5)		P
	Среднее M	Стандартное отклонение s	Среднее M	Стандартное отклонение s	
ПС, усл. ед.	28693	3431	27805	2884	0,43
V_{st} , мкм/мин	28,24	4,61	31,30	3,29	0,057
Плаг, мин	1,21	1,378	0,86	0,13	0,064
V_i , мкм/мин	53,23	5,84	58,76	4,63	0,036
РС, мкм	1132	138,30	1190,60	105,51	0,41
Спонтанные сгустки, мин	0,00	0,000	4,40	2,88	0,0031

Примечание. p – значимость различий показателей в подгруппах пациентов без и с наличием послеоперационных тромботических осложнений.

Таблица 7

Матрица классификации для прогнозирования послеоперационных тромбозов на основании показателей тромбодинамики пациентов после операции / Classification matrix for prediction of postoperative thrombosis based on characteristics of patients after surgery

Показатель	Процент	Отсутствие тромбоза	Дистальный тромбоз	Проксимальный тромбоз
Отсутствие тромбоза	100,00	59	0	0
Дистальный тромбоз	100,00	0	2	0
Проксимальный тромбоз	66,67	1	0	2
Всего	98,44	60	2	2

Примечание. Строки – наблюдаемые классы; столбцы – предсказанные.

Можно сделать вывод, что наибольшее значение в различие между указанными подгруппами вносит процент спонтанных сгустков, в меньшей степени – размер фибринового сгустка. Остальные показатели

теста тромбодинамики прогностической ценностью не обладают (табл. 8). При этом можно сделать прогноз развития ВТЭО в 1-е сут после оперативного вмешательства с высокой точностью (98,44 %).

Таблица 8

Статистическая значимость показателей модели для прогнозирования послеоперационных тромбозов на основании показателей тромбодинамики пациентов в 1-е сут послеоперационного периода / Statistical significance of characteristics of the model for prediction of post-operative thrombosis based on characteristics of thrombodynamics in patients on day 1 of postoperative period

Показатель	р-уровень
ПС, усл. ед.	0,54
Vst, мкм/мин	0,83
Плаг, мин	0,97
Vi, мкм/мин	0,21
РС, мкм	0,095
Спонтанные сгустки, мин	0,000000

Таким образом, использование «Регистратора тромбодинамики Т-2» позволяет получить информацию, важную для прогнозирования тромботических осложнений и оценки эффективности дозы антикоагулянтной профилактики.

Выявлена достоверная зависимость образования спонтанных сгустков в 1-е сут после операции от тромботических осложнений на фоне профилактической дозы антикоагулянта ($p=0,0031$).

Выводы

При использовании предложенной методики профилактики ВТЭО у онкологических пациентов наиболее эффективно купируется состояние тромботической готовности. Терапия антикоагулянтами с подобранной дозой компенсировала у пациентов нарастающую в послеоперационном периоде тромбинемия. Индивидуальный подбор дозы эноксапарина минимизирует частоту развития ВТЭО до 6,25 %.

Совместное использование показателей коагулограммы и тромбодинамики позволяет с высокой вероятностью прогнозировать тромботические осложнения в послеоперационном периоде.

Литература

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФБГУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 250 с.
- Архипова О.Е., Чернозубова Е.А., Лихтанская Н.В., Тарасов В.А., Кит О.И., Матишов Д.Г. Анализ встречаемости онкологических заболеваний в Ростовской области.

Пространственно-временная статистика // Фундаментальные исследования. 2013. № 7 (3). С. 504–510.

3. Khorana A.A., Francis C.W., Culakova E. [et al.]. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving out patient chemotherapy // *J. Thromb. Haemost.* 2007. Vol. 5 (3). P. 632–634.

4. Макацария А.Д. Тромбогеморрагические осложнения в акушерско-гинекологической практике : руководство для врачей. М.: Мед. информ. агентство, 2011. 1056 с.

5. Khorana A.A. Venous Thromboembolism Prevention in Cancer Outpatients // *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 2013. Vol. 11, № 11. P. 1431–1438.

6. Monreal M., Trujillo-Santos J. Screening for occult cancer in patients with acute venous thromboembolism // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2007. Vol. 13. P. 368–371.

7. Rasmussen M.S. Prolonged thromboprophylaxis with low molecular weight heparin after major abdominal surgery // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2007. Vol. 13. P. 389–392.

8. Lee A.Y.Y. Treatment of venous thromboembolism in cancer patients // *Best Practice & Research Clinical Hematology.* 2009. Vol. 22. P. 93–101.

9. Кит О.И., Франциянц Е.М., Козлова Л.С. [и др.]. Свободный и связанный плазмин в опухоли и прилежащих тканях при плоскоклеточном раке пищевода у мужчин и женщин // *Современные проблемы науки и образования.* 2017. № 2. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26150> (дата обращения: 20.05.2017).

10. Ay C., Vormittag R., Dunkler D. [et al.]. D-dimer and prothrombin fragment 1+2 predict venous thromboembolism in patients with cancer: results from the Vienna cancer and thrombosis study // *J. Clin. Oncology.* 2009. Vol. 27 (25). P. 4124–4129.

11. Момот А.П., Цывкина Л.П., Тараненко И.А. [и др.]. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности. Барнаул: Алтайский гос. мед. ун-т, 2011. 138 с.

12. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнения (ВТЭО) // *Флебология.* 2015. Т. 9, № 4, вып. 2. С. 2–52.

References

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Zlokachestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2015 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality)]. Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena - filial FBGU «NMIRTs» Minzdrava Rossii, 2017, 250 p.
- Arhipova O.E., Chernogubova E.A., Likhtanskaya N.V., Tarasov V.A., Kit O.I., Matishov D.G. Analiz vstrechaemosti onkologicheskikh zabolevanii v Rostovskoi oblasti. *Prostranstvenno-vremennaya statistika* [An analysis of the incidence of cancer in the Rostov region. Space-time statistics]. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2013, No. 7 (3), pp. 504-510.
- Khorana A.A., Francis C.W., Culakova E. [et al.]. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving out patient chemotherapy. *J. Thromb. Haemost.* 2007, vol. 5 (3), pp. 632-634.
- Makatsariya A.D. *Trombogemorragicheskie oslozhneniya v akushersko-ginekologicheskoi praktike* [Thrombohemorrhagic complications in obstetric-gynecological practice]. Guide for physicians. Moscow: Med. inform. agentstvo, 2011, 1056 p.

5. Khorana A.A. Venous Thromboembolism Prevention in Cancer Outpatients. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 2013, vol. 11, No. 11, pp. 1431-1438.

6. Monreal M., Trujillo-Santos J. Screening for occult cancer in patients with acute venous thromboembolism. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2007, vol. 13, pp. 368-371.

7. Rasmussen M.S. Prolonged thromboprophylaxis with low molecular weight heparin after major abdominal surgery. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2007, vol. 13, pp. 389-392.

8. Lee A.Y.Y. Treatment of venous thromboembolism in cancer patients. *Best Practice & Research Clinical Hematology.* 2009, vol. 22, pp. 93-101.

9. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kozlova L.S. [et al.]. Svoobodnyi i svyazannyi plazmin v opukholy i prilezhashchikh tkanyakh pri ploskokletochnom rake pishchevoda u muzhchin i zhenshchin [Free and bound plasmin in tumors and adjacent tissues with squamous cell carcinoma of men and women]. *Sov-*

remennye problemy nauki i obrazovaniya. 2017, No. 2. Available at: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26150> (accessed 20.05.2017).

10. Ay C., Vormittag R., Dunkler D. [et al.]. D-dimer and prothrombin fragment 1+2 predict venous thromboembolism in patients with cancer: results from the Vienna cancer and thrombosis study. *J. Clin. Oncology.* 2009, vol. 27 (25), pp. 4124-4129.

11. Momot A.P., Tsyvkina L.P., Taranenko I.A. [et al.]. *Sovremennye metody raspoznavaniya sostoyaniya tromboticheskoi gotovnosti* [Modern methods of recognition of thrombotic state]. Barnaul: Altaiskii gos. med. un-t, 2011, 138 p.

12. Rossiiskie klinicheskie rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike venoznykh tromboembolicheskikh oslozhenii (VTEO) [Russian clinical recommendations for the diagnosis, treatment and prevention of venous thromboembolic complications (VTEO)]. *Flebologiya.* 2015, vol. 9, No. 4, iss. 2, pp. 2-52.

Поступила в редакцию / Received

6 сентября 2017 г. / September 6, 2017

УДК 616-092.6:618.14-006.6:618.14-065.873

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-58-67

CNV ГЕНОВ В КАЧЕСТВЕ БИОМАРКЕРА И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ МИШЕНИ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

© 2017 г. **О.И. Кит¹, Д.И. Водолажский¹, М.З. Татимов¹, Н.Г. Васильченко¹,
А.А. Пушкин¹, К.А. Куцын¹, Е.Н. Колесников¹, А.А. Маслов¹, Ю.А. Геворкян¹,
А.Ю. Максимов¹, М.Н. Дурицкий¹, Ю.А. Фоменко¹**

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

CNV GENES AS A BIOMARKER AND THERAPEUTIC TARGET FOR GASTRIC CANCER

**O.I. Kit¹, D.I. Vodolazhsky¹, M.Z. Tatimov¹, N.G. Vasil'chenko¹, A.A. Pushkin¹, K.A. Kutsyn¹,
E.N. Kolesnikov¹, A.A. Maslov¹, Yu.A. Gevorkyan¹, A.Yu. Maksimov¹, M.N. Duritskiy¹, Yu.A. Fomenko¹**

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Кит Олег Иванович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор Ростовского научно-исследовательского онкологического института, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rni oi@list.ru

Oleg I. Kit - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, General Director, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rni oi@list.ru

Водолажский Дмитрий Игоревич – кандидат биологических наук, руководитель лаборатории молекулярной онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Dmitry I. Vodolazhsky - Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Татимов Мартин Замирович – аспирант, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Martin Z. Tatimov - Postgraduate, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Васильченко Никита Геннадьевич – младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Nikita G. Vasil'chenko - Junior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Пушкин Артем Андреевич – младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Artem A. Pushkin - Junior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Куцын Ксения Андреевна – младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: jozhka@bk.ru

Ksenia A. Kutsyn - Junior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: jozhka@bk.ru

Колесников Евгений Николаевич – кандидат медицинских наук, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Evgeniy N. Kolesnikov - Candidate of Medicine, Head of the Department of Abdominal Oncology No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Маслов Андрей Александрович – доктор медицинских наук, профессор, главный врач, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Andrey A. Maslov - Doctor of Medicine, Professor, Chief Physician, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Геворкян Юрий Артушевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 2, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: gevorkyan.000@mail.ru

Yuriy A. Gevorkyan - Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Abdominal Oncology No. 2, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: gevorkyan.000@mail.ru

Максимов Алексей Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Aleksey Yu. Maksimov - Doctor of Medicine, Professor, Deputy General Director for Advanced Scientific Research, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Дурицкий Максим Николаевич – заведующий консультативно-диагностическим отделением, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: Duritskimaxim75@mail.ru

Maksim N. Duritskiy - Head of Consultative and Diagnostic Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: Duritskimaxim75@mail.ru

Фоменко Юрий Александрович – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по клинико-экспертной работе, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Yuriy A. Fomenko - Candidate of Medicine, Deputy Chief Physician for Clinical Expertise, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Рак желудка (РЖ) – одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований в мире с плохим прогнозом и ограниченными возможностями лечения. Южный федеральный округ занимает 5-е место по смертности населения от РЖ среди субъектов РФ, а летальность больных в течение года с момента установления диагноза в России в 2015 г достигала 47,8 %, что в большинстве случаев связано с метастазированием первичной опухоли. Анализ литературы показал, что значение CNV в качестве фактора малигнизации ранее было недооценено. Появляется все больше доказательств тому, что CNV генов является перспективной терапевтической мишенью при РЖ. CNV способствуют развитию и прогрессии злокачественных новообразований у человека, они представляют собой один из основных механизмов контроля экспрессии потенциальных онкогенов и генов-супрессоров в опухолевых клетках. Точная характеристика числа копий генов определяет возможность создания предиктивных маркеров малигнизации тканей. Экспериментальные данные, полученные из разных источников, противоречивы, а эффективность некоторых CNV в качестве потенциальных маркеров эффективности ответа на лечение должна быть дополнительно изучена в клинических исследованиях. Данный обзор обобщает и систематизирует накопленные за последние годы данные об информативности CNV для диагностики, прогноза и таргетной терапии РЖ.

Ключевые слова: рак желудка (РЖ), вариация числа копий генов (CNV), таргетная терапия.

Gastric cancer (GC) is one of the most common malignant neoplasms in the world with poor prognosis and acquisition of treatment. The Southern Federal District ranks 5th in the death rate from gastric cancer among the subjects of the Russian Federation, as well as mortality in the next years from the time of treatment in Russia in 2015, 47.4 %, which in most cases is associated with metastasis of the primary tumor. Analysis of the literature showed that the value of CNV as a malignancy factor had previously been underestimated. There is increasing evidence that CNV genes are a promising therapeutic target for GC. CNV promote the development and progression of malignant neoplasms in humans, they represent one of the main mechanisms controlling the expression of potential oncogenes and suppressor genes in tumor cells. The exact characterization of the number of copies of genes determines the possibility of creating predictive markers for the malignancy of tissues. Experimental data obtained from different sources are contradictory, as well as some CNV as an alternative in clinical studies. This review summarizes and systematizes the information accumulated over the past years on the informative nature of CNV for the diagnosis, prognosis and targeted therapy of gastric cancer.

Keywords: gastric cancer (GC), copy number variation (CNV), target therapy.

Введение

Рак желудка (РЖ) остается одним из основных вопросов общественного здравоохранения, поскольку он является пятым по распространенности злокаче-

ственным заболеванием и третьей ведущей причиной смерти от рака у обоих полов во всем мире [1]. Различия в клинико-патологических характеристиках между гистологическими типами РЖ свидетельствуют о том, что развитие опухоли желудка происходит через

прогрессирующее накопление различных генетических изменений [2–5]. Таким образом, характеристика этих геномных аномалий при РЖ может помочь прояснить молекулярный патогенез заболевания, раскрыть генетические маркеры прогрессирования и предсказать ответ лечения или выживания.

Геномная нестабильность с частыми вариациями числа копий ДНК (CNVs) является одним из ключевых признаков канцерогенеза желудка [6]. Прогрессирование опухоли, по-видимому, зависит от последовательного приобретения хромосомных aberrаций, что приводит к выигрышам или потерям частей генома. Однако нет четкого согласия в отношении генетических изменений, лежащих в основе канцерогенеза желудка. В последние десятилетия в результате хромосомной сравнительной геномной гибридизации (сCGH) и анализа CGH-чипов (аCGH) опухолей желудка и линий желудочных клеток были обнаружены CNVs ДНК [7–11]. Поэтому в данном обзоре мы сосредоточили своё внимание на выявлении CNV генетических локусов, которые проливают свет на молекулярный патогенез и отображают диагностические, прогностические или терапевтические мишени при РЖ.

Информативность CNV как биомаркеров РЖ

CNV относится к форме геномных структурных вариаций, которые приводят к aberrантным или, для определенных генов, к вариациям в пределах нормы количества копий одного или нескольких участков ДНК [12]. CNV ДНК включают в себя такие генетические события, как амплификации генов или их утрата. Накопление CNV в процессе малигнизации тканей желудка может быть результатом селективного отбора, при котором онко-трансформированные клетки приобретают селективное преимущество по сравнению с нормальными. Поэтому копияемость генов-эффекторов апоптоза часто делетируется в процессе малигнизации тканей по сравнению с частой амплификацией онкогенов, связанных с клеточной пролиферацией, отражая факт угнетения апоптоза и интенсификацию процессов клеточного деления в малигнизированных тканях [13].

В прошлом РЖ считался единым заболеванием. Однако в настоящее время он разделяется по меньшей мере на 4 подтипа в соответствии со спектрами генетических изменений, которые были идентифицированы. Среди них подтипы: Эпштейна – Барр вирус-позитивный (EBV), мик-

росателлитно нестабильный (MSI), геномно стабильный (GS) и хромосомно-нестабильный (CIN) [14]. Пятьдесят процентов опухолей РЖ классифицируются как CIN; важной особенностью этого подтипа является частая геномная амплификация генов, которые кодируют рецепторы тирозинкиназ (RTK), что приводит к развитию aberrантного клеточного роста. Однако ген, который кодирует лиганд VEGFA, также часто амплифицируется в этом подтипе РЖ, как продемонстрировано в исследованиях рамуцирумаба, антитела к VEGFR2. Кроме того, в подтипе CIN наблюдались амплификации медиаторов клеточного цикла (CCNE1, CCND1 и CDK6) [15].

Идентифицировано 42 aberrантных области CNV при РЖ, но всё еще требуется дальнейшее исследование того, какие из затронутых генов могут иметь функциональные роли при РЖ [16]. Кроме того, было показано, что частые амплификации наблюдались в хромосомах 1q, 5p, 7, 8, 13 и 20, делеции – в 1p, 3p, 4, 5q, 9p, 17p, 18q, 19p, 21 и 22.41 [17]. Некоторые из этих молекулярных изменений тесно связаны с плохим клиническим исходом для пациентов с РЖ. Больные РЖ с метастазами в лимфатических узлах имеют значительно более высокие показатели aberrантных CNV, чем без метастазов. CNV ДНК являются значимыми факторами для экспрессии генов, которые, в свою очередь, могут влиять на деятельность онкогенных или опухолюсупрессорных метаболических путей, таких как p53, RTK/AS/MAPK, mTOR, wnt/ β -катенин, PI3K/Akt [14, 17, 18]. CNV могут влиять на выживание пациента, а также на другие клинико-патологические параметры. Например, как 1q-амплификация, так и 18q-делеция связаны с плохим прогнозом [19]. CNV генов APC, PI3CA, OCT4, CASP3, CFLAR и mtDNA в значительной степени связаны с глубиной инвазии опухоли, наличием метастазов в регионарные лимфатические узлы, удаленными метастазами у пациентов с РЖ и плохим прогнозом течения болезни, что позволяет предположить, что этот показатель может быть более ценным в качестве прогностического маркера, чем сверхэкспрессия белка [20–24]. Наиболее ценные и часто встречаемые CNV генов, являющиеся биомаркерами РЖ, представлены в табл. 1 (гены, подверженные амплификации) и в табл. 2 (гены, подверженные делеции).

Обнаружение CNV в хромосомной или митохондриальной ДНК из тканей или образцов крови может помочь в диагностике, прогнозе и целевой терапии при РЖ. Это обеспечивает новые возможности для персонализированной терапии.

Таблица 1

Гены, амплифицированные при РЖ / Genes susceptible to amplification, gastric cancer biomarkers

Ген	Локализация	Частота при РЖ, %	Ссылка на литературный источник
PIK3CA, TNK2	3q		[20, 25–27]
S6K2, CCND1, ORAOV1	11q13	CCND1–17,4	[28–30]
CCNE1, CD22	19q	5	[17]
MYC	8q24.21	24,8	[17, 29]
KRAS	12p12.1	1	[20]
BCL2	18q21.33		[31]
TUBB3	16q24.3		[17]
HER2, TOP2A, FBXL20, MED1, PERLD1, IKZF3, ZBP2	17q	HER2–17,4	[17, 32]
OCT1	1q24.2		[33–35]
FGFR2	10q26	4–10	[36–39]
miR-23a	19p13.13	до 30	[40, 41]
IL11RA, MELK, PAX5	9p13	19,1, 55,9	[4, 32]
DGCR8, USP41, ZNF74, SCARF2, KLHL22, MED15, PI4KA, SERPIND1, SNAP29, CRKL, THAP7, P2RX6, LOC729526, CRKL	22q11	CRKL–24,4	[32]
RTEL1, ABCA13		38, 38	[42]
MET	7q21	0–23	[23, 43–47]
EGFR	7p12	22,7	[48–52]

Таблица 2

Гены, делетируемые при РЖ / Genes susceptible to deletion, gastric cancer biomarkers

Ген	Локализация	Функция	Ссылка на литературный источник
TP53	17p13.1	Пролиферация, дифференцировка, репарация, апоптоз, вместе с митохондриальным PPIF участвует в активации некроза, вызванного окислительным стрессом	[31]
OCT4	6p21.33	Регуляция канонического WNT-сигнального пути, морфогенез, регуляция сайленсинга генов, сохранение стволовости соматических клеток	
SOX2	3q26.33	Регенерация, сохранение стволовости соматических клеток, негативная регуляция канонического WNT-пути, клеточной дифференцировки, пролиферации	
APC	5q21-q22	Отрицательно регулирует передачу сигналов в сигнальном пути WNT и приводит к его инактивации, накоплению β-катенина и транскрипционной активности генов (MYC, cyclin D1), связанных с клеточной пролиферацией	[21, 22, 53, 54]
IRX1	5p15.33	Подавляет клеточную пролиферацию, инвазию, миграцию и онкогенез	[55, 56]
AMY2A	1p21.1	Метаболизм углеводов, расщепление полисахаридов	[30]
GKN1	2p13.3	Негативно регулирует рост клеток эпителия желудка	[57, 58]
GSTP1	11q13.2	Детоксикация гидрофобных и электрофильных ксенобиотиков и канцерогенов, регуляция активации нескольких каскадов стресс-киназ, включая и ИКК-NFKB-сигнальный путь	[59]

CNV в разработке таргетной терапии РЖ

Основными стратегиями лечения РЖ являются хирургическая резекция и химиотерапия. Несмотря на недавние успехи в периперативной и адъ-

ювантной химиотерапии, большинство пациентов с распространенным РЖ имеют плохой прогноз. Лучшее понимание механизмов патогенеза при РЖ приведет к новым диагностическим, терапевтическим и превентивным подходам к этому забо-

леванию. Выявление генетических маркеров РЖ является решающим фактором в успехе персонализированной и таргетной терапии. CNV этих генов могут служить в качестве маркеров для терапии ингибиторами.

При РЖ часто возникают амплификации в генах пути передачи сигналов RTK/RAS/MAPK. В [17] использовали амплификации ERBB2, EGFR, MET, FGFR2 и KRAS для классификации РЖ (5 подгрупп), что позволило персонализировать лечение каждой подгруппы с помощью разных препаратов. Клинические испытания таргетных препаратов (моноклональных антител (mAbs) и ингибиторов тирозинкиназ (TKI)) на пациентах с РЖ показали, что применение цетуксимаба (ингибитор EGFR), лапатиниба (ингибитор как EGFR, так и HER2), форетениба и рилотумумаба (ингибитор с-MET), AZD4547 (ингибитор KSAM) в сочетании с традиционными химиопрепаратами даёт лучший эффект от лечения, увеличивая время выживания без прогрессии (PFS) и частоту объективного ответа [60]. Применение трастузумаба (специфичного к ERBB2 антитела) более эффективно при лечении пациентов с РЖ, имеющих амплификацию гена HER2 данным таргетным препаратом. Это даёт основания полагать, что таргетная терапия РЖ будет более успешной против генов-мишеней, проявляющих CNV [61], ERBB2, EGFR, MET и FGFR2 могут быть мишенями для таких препаратов, как трастузумаб, нимотузумаб, онртузумаб и AZD4547. По существу 37 % пациентов с РЖ могут потенциально лечиться препаратами, таргетированными на путь передачи сигналов RTK/RAS/MAPK [62, 63].

Интересно, что благодаря интегративному анализу амплификаций при РЖ сообщалось о совместной амплификации генов, связанных с клеточным циклом, с другими онкогенами. Например, CCNE1 часто совместно амплифицируется с HER2 [64], и пациенты с РЖ с CCNE1/HER2 ко-амплификацией обычно развивают устойчивость к лапатинибу, маломолекулярному ингибитору HER2 [65]. Транскрипционная регуляторная сеть генов KLF5, GATA4 и GATA6, амплифицированных при РЖ, была недавно описана с использованием ChIP-seq. Обнаружен нисходящий ген HNF4 α , который регулируется совместно этими тремя факторами транскрипции. Примечательно, что HNF4 α может быть лекарственной мишенью против диабетического препарата metformin. Это имеет важные терапевтические последствия, так как 30 % пациентов с раком показали амплификацию в KLF5/GATA4/GATA6 [66].

Недавние успехи в развитии молекулярной терапии рака выявили новые молекулярно-нацеливающие препараты (EGFR-нацеливающий препарат

ZD1839 (Iressa), HER2-нацеливающий анти-HER2, моноклональное антитело трастузумаб (герцептин)), которые являются эффективными лекарственными средствами для определенных видов рака [67–69]. В другом исследовании BMS354825 двойной ингибитор для Src- и BCR-ABL-киназ, но не AMN107, BCRABL-специфический ингибитор, показал ингибирующее действие на выживание клеток MKN74 с CRKL-амплификацией. CRKL-белок может быть мишенью BMS354825-опосредованной терапии для подгруппы желудочных раков. Полученные результаты должны способствовать созданию CRKL-таргетной терапии для части РЖ в будущем [15].

MET-амплификация позволяет таргетировать подгруппу пациентов с РЖ, восприимчивых к TKI гена MET [46, 47]. Влияние амплификации вышеприведенных генов на исход таргетной терапии изучено только для HER2 и MET, поэтому в будущих клинических исследованиях эффективность использования CNV генов KSAM и EGFR в качестве маркера-ответа на лечение должна быть дополнительно изучена.

Заключение

Таким образом, молекулярно-генетические маркеры РЖ охватывают большинство уровней организации эукариотической клетки (абберантные изменения копийности как в хромосомной, так и в митохондриальной ДНК). Многие из этих геномных амплификаций поддаются блокированию терапевтическими средствами, которые в настоящее время доступны или находятся в разработке, особенно ингибиторами циклин-зависимых киназ. Более того, эти изменения связаны с соответствующими клиническими признаками (этиологией, полом, возрастом, диагностикой и анатомической локализацией). В совокупности эти данные подчеркивают важность выяснения различных канцерогенных процессов, приводящих к конкретному подтипу РЖ, а также соответствующих генов и сигнальных путей, которые могут быть целями таргетной терапии.

Литература

1. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase 2012. No. 11. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France, 2013. URL: [http:// globocan.iarc.fr](http://globocan.iarc.fr) (дата обращения: 20.03.2015).
2. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification // Acta Pathol. Microbiol. Scand. 1965. Vol. 64. P. 31–49.
3. Burbano R.R., Assumpção P.P., Leal M.F., Calcagno D.Q., Guimarães A.C., Khayat A.S. [et al.]. C-MYC locus amplification as metastasis predictor in intestinal-type gastric adenocarci-

- nomas: CGH study in Brazil // *Anticancer Res.* 2006. Vol. 26. P. 2909–2914.
4. *Calcagno D.Q., Takeno S.S., Gigeck C.O., Leal M.F., Wisniewski F., Chen E.S.* [et al.]. Identification of IL11RA and MELK amplification in gastric cancer by comprehensive genomic profiling of gastric cancer cell lines // *World J. Gastroenterol.* 2016. Vol. 22 (43). P. 9506–9514.
5. *Calcagno D.Q., Guimarães A.C., Leal M.F., Seabra A.D., Khayat A.S., Pontes T.B.* [et al.]. MYC insertions in diffuse-type gastric adenocarcinoma // *Anticancer Res.* 2009. Vol. 29. P. 2479–2483.
6. *Panani A.D.* Cytogenetic and molecular aspects of gastric cancer: clinical implications // *Cancer Lett.* 2008. Vol. 266. P. 99–115.
7. *Koo S.H., Kwon K.C., Shin S.Y., Jeon Y.M., Park J.W., Kim S.H.* [et al.]. Genetic alterations of gastric cancer: comparative genomic hybridization and fluorescence in situ hybridization studies // *Cancer Genet. Cytogenet.* 2000. Vol. 117. P. 97–103.
8. *Wu M.S., Chang M.C., Huang S.P., Tseng C.C., Sheu J.C., Lin Y.W.* [et al.]. Correlation of histologic subtypes and replication error phenotype with comparative genomic hybridization in gastric cancer // *Genes. Chromosomes Cancer.* 2001. Vol. 30. P. 80–86.
9. *Kimura Y., Noguchi T., Kawahara K., Kashima K., Daa T., Yokoyama S.* Genetic alterations in 102 primary gastric cancers by comparative genomic hybridization: gain of 20q and loss of 18q are associated with tumor progression // *Mod. Pathol.* 2004. Vol. 17. P. 1328–1337.
10. *Takeno S.S., Leal M.F., Lisboa L.C., Lipay M.V., Khayat A.S., Assumpção P.P.* [et al.]. Genomic alterations in diffuse-type gastric cancer as shown by high-resolution comparative genomic hybridization // *Cancer Genet. Cytogenet.* 2009. Vol. 190. P. 1–7.
11. *Seabra A.D., Araújo T.M., Mello Junior F.A., Di Felipe Ávila Alcântara D., De Barros A.P., De Assumpção P.P.* [et al.]. Highdensity array comparative genomic hybridization detects novel copy number alterations in gastric adenocarcinoma // *Anticancer Res.* 2014. Vol. 34. P. 6405–6415.
12. *Nakamura Y.* DNA variations in human and medical genetics: 25 years of my experience // *J. Hum. Genet.* 2009. Vol. 54. P. 1–8.
13. *Mauro J.A., Butler S.N., Ramsamoj M., Blanck G.* Copy number loss or silencing of apoptosis-effector genes in cancer // *Gene.* 2015. Vol. 554. P. 50–57.
14. The Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma // *Nature.* 2014. Vol. 513 (7517). P. 202–209.
15. *Riquelme I., Saavedra K., Espinoza J.A., Weber H., García P., Nervi B.* [et al.]. Molecular classification of gastric cancer: Towards a pathway-driven targeted therapy // *Oncotarget.* 2015. Vol. 6, № 28. P. 24750–24759.
16. *Kiyose S., Igarashi H., Nagura K., Kamo T., Kawane K., Mori H.* [et al.]. Chromogenic in situ hybridization (CISH) to detect HER2 gene amplification in breast and gastric cancer: comparison with immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH) // *Pathol. Int.* 2012. Vol. 62. P. 728–734.
17. *Deng N., Goh L.K., Wang H., Das K., Tao J., Tan I.B.* [et al.]. A comprehensive survey of genomic alterations in gastric cancer reveals systematic patterns of molecular exclusivity and co-occurrence among distinct therapeutic targets // *Gut.* 2012. Vol. 61. P. 673–684.
18. *Chia N.Y., Deng N., Das K.* [et al.]. Regulatory crosstalk between lineage-survival oncogenes KLF5, GATA4 and GATA6 cooperatively promotes gastric cancer development // *Gut.* 2015. Vol. 64. P. 707–719.
19. *Weiss M.M., Kuipers E.J., Postma C.* [et al.]. Genomic alterations in primary gastric adenocarcinomas correlate with clinicopathological characteristics and survival // *Cell. Oncol.* 2004. Vol. 26. P. 307–317.
20. *Takahashi N., Yamada Y., Taniguchi H., Fukahori M., Sasaki Y., Shoji H.* [et al.]. Clinicopathological features and prognostic roles of KRAS, BRAF, PIK3CA and NRAS mutations in advanced gastric cancer // *BMC Res. Notes.* 2014. Vol. 7. P. 271.
21. *Tsai P.C., Huang S.W., Tsai H.L., Ma C.J., Hou M.F., Yang L.P.* [et al.]. The association between DNA copy number aberrations at chromosome 5q22 and gastric cancer // *PLoS One.* 2014. Vol. 9. P. e106624.
22. *Fang Z., Xiong Y., Li J., Liu L., Zhang W., Zhang C.* [et al.]. APC gene deletions in gastric adenocarcinomas in a Chinese population: a correlation with tumour progression // *Clin. Transl. Oncol.* 2012. Vol. 14. P. 60–65.
23. *Teng L., Lu J.* cMET as a potential therapeutic target in gastric cancer (Review) // *Int. J. Mol. Med.* 2013. Vol. 32. P. 1247–1254.
24. *Kut O.И., Водолажский Д.И., Геворкян Ю.А., Кутулин Д.С., Малейко М.Л., Двадненко К.В.* [и др.]. Изменение относительной копийности генов OCT4 и SOX2 при малигнизации тканей желудка // *Фундаментальные исследования.* 2014. № 10, ч. 4. С. 671–674.
25. *Samuels Y., Wang Z., Bardelli A., Silliman N., Ptak J., Szabo S.* [et al.]. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers // *Science.* 2004. Vol. 304.
26. *Shi J., Yao D., Liu W., Wang N., Lv H., Zhang G.* [et al.]. Highly frequent PIK3CA amplification is associated with poor prognosis in gastric cancer // *BMC Cancer.* 2012. Vol. 12. P. 50.
27. *Shinmura K., Kiyose S., Nagura K., Igarashi H., Inoue Y., Nakamura S.* [et al.]. TNK2 gene amplification is a novel predictor of a poor prognosis in patients with gastric cancer // *J. Surg. Oncol.* 2014. Vol. 109. P. 189–197.
28. *Stahl P., Seeschaaf C., Lebok P., Kutup A., Bockhorn M., Izbiicki J.R.* [et al.]. Heterogeneity of amplification of HER2, EGFR, CCND1 and MYC in gastric cancer // *BMC Gastroenterol.* 2015. Vol. 15. P. 7.
29. *Yoshida S., Matsumoto K., Arao T., Taniguchi H., Goto I., Hanafusa T.* [et al.]. Gene amplification of ribosomal protein S6 kinase-1 and -2 in gastric cancer // *Anticancer Res.* 2013. Vol. 33. P. 469–475.
30. *Kang J.U., Koo S.H., Kwon K.C., Park J.W.* AMY2 A: A possible tumor-suppressor gene of 1p21.1 loss in gastric carcinoma // *Int. J. Oncol.* 2010. Vol. 36. P. 1429–1435.
31. *Kut O.И., Водолажский Д.И., Кутулин Д.С., Таммолов М.З., Гудуева Е.Н., Маслов А.А.* Изменение копийности генетических локусов – предиктивный маркер метастазов у больных раком желудка // *Современные проблемы науки и образования.* 2015. № 6. С. 584–591.
32. *Natsume H., Shinmura K., Tao H., Igarashi H., Suzuki M., Nagura K.* [et al.]. The CRKL gene encoding an adaptor protein is amplified, overexpressed, and a possible therapeutic target in gastric cancer // *J. of Translational Medicine.* 2012. Vol. 10. P. 97.
33. *Lee M.C., Toh L.L., Yaw L.P., Luo Y.* Drosophila octamer elements and Pdm-1 dictate the coordinated transcription of core histone genes // *J. Biol. Chem.* 2010. Vol. 285. P. 9041–9053.
34. *Maddox J., Shakya A., South S., Shelton D., Andersen J.N., Chidester S.* [et al.]. Transcription factor Oct1 is a somatic and

cancer stem cell determinant // *PLoS Genet.* 2012. Vol. 8. P. e1003048.

35. *Parmar N.R., Solanki J.V., Patel A.B., Shah T.M., Patel A.K., Parmar S.* [et al.]. Metagenome of Mehsani buffalo rumen microbiota: an assessment of variation in feed-dependent phylogenetic and functional classification // *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2014. Vol. 24. P. 249–261.

36. *Xie L., Su X., Zhang L., Yin X., Tang L., Zhang X.* [et al.]. FGFR2 gene amplification in gastric cancer predicts sensitivity to the selective FGFR inhibitor AZD4547 // *Clin. Cancer Res.* 2013. Vol. 19. P. 2572–2583.

37. *Chang J., Wang S., Zhang Z., Liu X., Wu Z., Geng R.* [et al.]. Multiple receptor tyrosine kinase activation attenuates therapeutic efficacy of the fibroblast growth factor receptor 2 inhibitor AZD4547 in FGFR2 amplified gastric cancer // *Oncotarget.* 2015. Vol. 6. P. 2009–2022.

38. *Matsumoto K., Arao T., Hamaguchi T., Shimada Y., Kato K., Oda I.* [et al.]. FGFR2 gene amplification and clinicopathological features in gastric cancer // *Br. J. Cancer.* 2012. Vol. 106. P. 727–732.

39. *Oshima T., Masuda M.* Molecular targeted agents for gastric and gastroesophageal junction cancer // *Surg. Today.* 2012. Vol. 42. P. 313–327.

40. *An J., Pan Y., Yan Z., Li W., Cui J., Yuan J.* [et al.]. MiR-23a in amplified 19p13.13 loci targets metallothionein 2A and promotes growth in gastric cancer cells // *J. Cell. Biochem.* 2013. Vol. 114. P. 2160–2169.

41. *Hu Y., Wang J., Qian J., Kong X., Tang J., Wang Y.* [et al.]. Long noncoding RNA GAMLINC regulates CD44-dependent cell invasiveness and associates with poor prognosis of gastric cancer // *Cancer Res.* 2014. Vol. 74. P. 6890–6902.

42. *Araújo T.M., Seabra A.D., Lima E.M., Assumpção P.P., Montenegro R.C., Demachki S.* [et al.]. Recurrent amplification of RTEL1 and ABCA13 and its synergistic effect associated with clinicopathological data of gastric adenocarcinoma // *Molecular Cytogenetics.* 2016. Vol. 9. P. 52.

43. *Jung K.H., Park B.H., Hong S.S.* Progress in cancer therapy targeting c-Met signaling pathway // *Arch. Pharm. Res.* 2012. Vol. 35. P. 595–604.

44. *Graziano F., Galluccio N., Lorenzini P., Ruzzo A., Canestrari E., D'Emidio S.* [et al.]. Genetic activation of the MET pathway and prognosis of patients with high-risk, radically resected gastric cancer // *J. Clin. Oncol.* 2011. Vol. 29. P. 4789–4795.

45. *Ha S.Y., Lee J., Kang S.Y., Do I.G., Ahn S., Park J.O.* [et al.]. MET overexpression assessed by new interpretation method predicts gene amplification and poor survival in advanced gastric carcinomas // *Mod. Pathol.* 2013. Vol. 26. P. 1632–1641.

46. *Kawakami H., Okamoto I., Arao T., Okamoto W., Matsumoto K., Taniguchi H.* [et al.]. MET amplification as a potential therapeutic target in gastric cancer // *Oncotarget.* 2013. Vol. 4. P. 9.

47. *Gavine P.R., Ren Y., Han L., Lv J., Fan S., Zhang W.* [et al.]. Volitinib, a potent and highly selective c-Met inhibitor, effectively blocks c-Met signaling and growth in c-MET amplified gastric cancer patient-derived tumor xenograft models // *Mol. Oncol.* 2015. Vol. 9. P. 323–333.

48. *Patel R., Leung H.Y.* Targeting the EGFR-family for therapy: Biological challenges and clinical perspective // *Curr. Pharm. Des.* 2012. Vol. 18. P. 2672–2679.

49. *Hong L., Han Y., Brain L.* The role of epidermal growth factor receptor in prognosis and treatment of gastric cancer // *Exp. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014. Vol. 8. P. 111–117.

50. *Hong L., Han Y., Yang J., Zhang H., Jin Y., Brain L.* [et al.]. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with gastric cancer: a meta-analysis // *Gene.* 2013. Vol. 529. P. 69–72.

51. *Oh H.S., Eom D.W., Kang G.H., Ahn Y.C., Lee S.J., Kim J.H.* [et al.]. Prognostic implications of EGFR and HER-2 alteration assessed by immunohistochemistry and silver in situ hybridization in gastric cancer patients following curative resection // *Gastric Cancer.* 2014. Vol. 17. P. 402–411.

52. *Higaki E., Kuwata T., Nagatsuma A.K., Nishida Y., Kinoshita T., Aizawa M.* [et al.]. Gene copy number gain of EGFR is a poor prognostic biomarker in gastric cancer: evaluation of 855 patients with bright-field dual in situ hybridization (DISH) method // *Gastric Cancer.* 2016. Vol. 19. P. 69–73.

53. *Li Z., Li W., Song L., Zhu W.* Cilia adenomatous polyposis coli and associated diseases // *Oncogene.* 2012. Vol. 31. P. 1475–1483.

54. *Bria E., De Manzoni G., Beghelli S., Tomazzoli A., Barbi S., Di Gregorio C.* [et al.]. A clinical-biological risk stratification model for resected gastric cancer: prognostic impact of Her2, Fhit, and APC expression status // *Ann. Oncol.* 2013. Vol. 24. P. 693–701.

55. *Jin G., Xu L., Shu Y., Tian T., Liang J., Xu Y.* [et al.]. Common genetic variants on 5p15.33 contribute to risk of lung adenocarcinoma in a Chinese population // *Carcinogenesis.* 2009. Vol. 30. P. 987–990.

56. *Guo X., Liu W., Pan Y., Ni P., Ji J., Guo L.* [et al.]. Homeobox gene IRX1 is a tumor suppressor gene in gastric carcinoma // *Oncogene.* 2010. Vol. 29. P. 3908–3920.

57. *Kim O., Yoon J.H., Choi W.S., Ashktorab H., Smoot D.T., Nam S.W.* [et al.]. Gastrokine 1 inhibits gastrin-induced cell proliferation // *Gastric Cancer.* 2016. Vol. 19. P. 381–391.

58. *Yoon J.H., Song J.H., Zhang C., Jin M., Kang Y.H., Nam S.W.* [et al.]. Inactivation of the Gastrokine 1 gene in gastric adenomas and carcinomas // *J. Pathol.* 2011. Vol. 223. P. 618–625.

59. *Кут О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Малейко М.Л., Двадненко К.В., Енин Я.С.* [и др.]. Копийность генов GSTP1, NFKB1 и локуса HV2 митохондриальной ДНК при некоторых гистологических типах рака желудка // *Успехи современного естествознания.* 2015. № 1, ч. 6. С. 918–921.

60. *Park S.C., Chun H.J.* Chemotherapy for advanced gastric cancer: review and update of current practices // *Gut Liver.* 2013. Vol. 7. P. 385–393.

61. *Jing Shi, Yi-Ping Qu, Peng Hou.* Pathogenetic mechanisms in gastric cancer // *World J. Gastroenterol.* 2014. Vol. 20 (38). P. 13804–13819. DOI 10.3748/wjg.v20.i38.13804.

62. *Chia N.Y., Tan P.* Molecular classification of gastric cancer // *Ann. Oncol.* 2016. Vol. 27 (5). P. 763–769. DOI 10.1093/annonc/mdw040.

63. *Vladimirova L.Y., Kit O.I., Nikipelova E.A.* Results of monoclonal antibodies against EGFR-receptors application in patients with metastatic colorectal cancer // *J. of Clin. Oncol.* 2013. Vol. 31, № 15S. P. 19047.

64. *Meining A., Morgner A., Miehle S., Bayerdorffer E., Stolte M.* Atrophy-metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence in the stomach: a reality or merely an hypothesis? // *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2001. Vol. 15. P. 983–998.

65. *Camargo M.C., Kim W.H., Chiaravalli A.M., Kim K.M., Corvalan A.H., Matsuo K., Yu J., Sung J.J., Herrera-Goepfert R., Meneses-Gonzalez F., Kijima Y., Natsugoe S., Liao L.M.* [et al.]. Improved survival of gastric cancer with tumour Epstein-Barr

virus positivity: an international pooled analysis // *Gut*. 2014. Vol. 63 (2). P. 236–243.

66. Kakiuchi M., Nishizawa T., Ueda H., Gotoh K., Tanaka A., Hayashi A., Yamamoto S., Tatsuno K., Katoh H., Watanabe Y., Ichimura T., Ushiku T., Funahashi S. [et al.]. Recurrent gain-of-function mutations of RHOA in diffuse-type gastric carcinoma // *Nat. Genet.* 2014. Vol. 46 (6). P. 583–587.

67. Ko J.C., Ciou S.C., Cheng C.M., Wang L.H., Hong J.H., Jheng M.Y., Ling S.T., Lin Y.W. Involvement of Rad51 in cytotoxicity induced by epidermal growth factor receptor inhibitor (gefitinib, IressaR) and chemotherapeutic agents in human lung cancer cells // *Carcinogenesis*. 2008. Vol. 29. P. 1448–1458.

68. Holden J., Garrett Z., Stevens A. NICE guidance on trastuzumab for the treatment of HER2-positive metastatic gastric cancer // *Lancet Oncol.* 2011. Vol. 12. P. 16–17.

69. Norell H., Poschke I., Charo J., Wei W.Z., Erskine C., Piechocki M.P., Knutson K.L., Bergh J., Lidbrink E., Kiessling R. Vaccination with a plasmid DNA encoding HER-2/neu together with low doses of GM-CSF and IL-2 in patients with metastatic breast carcinoma: a pilot clinical trial // *J. Transl. Med.* 2010. Vol. 8. P. 53.

References

1. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase 2012. No. 11. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France, 2013. Available at: <http://globocan.iarc.fr> (accessed 20.03.2015).

2. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1965, vol. 64, pp. 31-49.

3. Burbano R.R., Assumpção P.P., Leal M.F., Calcagno D.Q., Guimarães A.C., Khayat A.S. [et al.]. C-MYC locus amplification as metastasis predictor in intestinal-type gastric adenocarcinomas: CGH study in Brazil. *Anticancer Res.* 2006, vol. 26, pp. 2909-2914.

4. Calcagno D.Q., Takeno S.S., Gigeck C.O., Leal M.F., Wisniewski F., Chen E.S. [et al.]. Identification of IL11RA and MELK amplification in gastric cancer by comprehensive genomic profiling of gastric cancer cell lines. *World J. Gastroenterol.* 2016, vol. 22 (43), pp. 9506-9514.

5. Calcagno D.Q., Guimarães A.C., Leal M.F., Seabra A.D., Khayat A.S., Pontes T.B. [et al.]. MYC insertions in diffuse-type gastric adenocarcinoma. *Anticancer Res.* 2009, vol. 29, pp. 2479-2483.

6. Panani A.D. Cytogenetic and molecular aspects of gastric cancer: clinical implications. *Cancer Lett.* 2008, vol. 266, pp. 99-115.

7. Koo S.H., Kwon K.C., Shin S.Y., Jeon Y.M., Park J.W., Kim S.H. [et al.]. Genetic alterations of gastric cancer: comparative genomic hybridization and fluorescence in situ hybridization studies. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2000, vol. 117, pp. 97-103.

8. Wu M.S., Chang M.C., Huang S.P., Tseng C.C., Sheu J.C., Lin Y.W. [et al.]. Correlation of histologic subtypes and replication error phenotype with comparative genomic hybridization in gastric cancer. *Genes. Chromosomes Cancer.* 2001, vol. 30, pp. 80-86.

9. Kimura Y., Noguchi T., Kawahara K., Kashima K., Daa T., Yokoyama S. Genetic alterations in 102 primary gastric cancers by comparative genomic hybridization: gain of 20q and loss of 18q are associated with tumor progression. *Mod. Pathol.* 2004, vol. 17, pp. 1328-1337.

10. Takeno S.S., Leal M.F., Lisboa L.C., Lipay M.V., Khayat A.S., Assumpção P.P. [et al.]. Genomic alterations in diffuse-type gastric cancer as shown by high-resolution comparative genomic hybridization. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2009, vol. 190, pp. 1-7.

11. Seabra A.D., Araújo T.M., Mello Junior F.A., Di Felipe Ávila Alcântara D., De Barros A.P., De Assumpção P.P. [et al.]. Highdensity array comparative genomic hybridization detects novel copy number alterations in gastric adenocarcinoma. *Anticancer Res.* 2014, vol. 34, pp. 6405-6415.

12. Nakamura Y. DNA variations in human and medical genetics: 25 years of my experience. *J. Hum. Genet.* 2009, vol. 54, pp. 1-8.

13. Mauro J.A., Butler S.N., Ramsamooj M., Blanck G. Copy number loss or silencing of apoptosis-effector genes in cancer. *Gene.* 2015, vol. 554, pp. 50-57.

14. The Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014, vol. 513 (7517), pp. 202-209.

15. Riquelme I., Saavedra K., Espinoza J.A., Weber H., García P., Nervi B. [et al.]. Molecular classification of gastric cancer: Towards a pathway-driven targeted therapy. *Oncotarget.* 2015, vol. 6, No. 28, pp. 24750-24759.

16. Kiyose S., Igarashi H., Nagura K., Kamo T., Kawane K., Mori H. [et al.]. Chromogenic in situ hybridization (CISH) to detect HER2 gene amplification in breast and gastric cancer: comparison with immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH). *Pathol. Int.* 2012, vol. 62, pp. 728-734.

17. Deng N., Goh L.K., Wang H., Das K., Tao J., Tan I.B. [et al.]. A comprehensive survey of genomic alterations in gastric cancer reveals systematic patterns of molecular exclusivity and co-occurrence among distinct therapeutic targets. *Gut.* 2012, vol. 61, pp. 673-684.

18. Chia N.Y., Deng N., Das K. [et al.]. Regulatory crosstalk between lineage-survival oncogenes KLF5, GATA4 and GATA6 cooperatively promotes gastric cancer development. *Gut.* 2015, vol. 64, pp. 707-719.

19. Weiss M.M., Kuipers E.J., Postma C. [et al.]. Genomic alterations in primary gastric adenocarcinomas correlate with clinicopathological characteristics and survival. *Cell. Oncol.* 2004, vol. 26, pp. 307-317.

20. Takahashi N., Yamada Y., Taniguchi H., Fukahori M., Sasaki Y., Shoji H. [et al.]. Clinicopathological features and prognostic roles of KRAS, BRAF, PIK3CA and NRAS mutations in advanced gastric cancer. *BMC Res. Notes.* 2014, vol. 7, p. 271.

21. Tsai P.C., Huang S.W., Tsai H.L., Ma C.J., Hou M.F., Yang L.P. [et al.]. The association between DNA copy number aberrations at chromosome 5q22 and gastric cancer. *PLoS One.* 2014, vol. 9, p. e106624.

22. Fang Z., Xiong Y., Li J., Liu L., Zhang W., Zhang C. [et al.]. APC gene deletions in gastric adenocarcinomas in a Chinese population: a correlation with tumour progression. *Clin. Transl. Oncol.* 2012, vol. 14, pp. 60-65.

23. Teng L., Lu J. cMET as a potential therapeutic target in gastric cancer (Review). *Int. J. Mol. Med.* 2013, vol. 32, pp. 1247-1254.

24. Kit O.I., Vodolazhskii D.I., Gevorkyan Yu.A., Kutilin D.S., Maleiko M.L., Dvadenko K.V. [et al.]. Izmenenie otноситel'noi kopiinosti genov OCT4 i SOX2 pri malignizatsii tkanei zheludka [Changes in the relative copies of the OCT4 and SOX2 genes during the malignancy of the stomach tissues]. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2014, No. 10, part 4, pp. 671-674.

25. Samuels Y., Wang Z., Bardelli A., Silliman N., Ptak J., Szabo S. [et al.]. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science*. 2004, vol. 304.
26. Shi J., Yao D., Liu W., Wang N., Lv H., Zhang G. [et al.]. Highly frequent PIK3CA amplification is associated with poor prognosis in gastric cancer. *BMC Cancer*. 2012, vol. 12, p. 50.
27. Shinmura K., Kiyose S., Nagura K., Igarashi H., Inoue Y., Nakamura S. [et al.]. TNK2 gene amplification is a novel predictor of a poor prognosis in patients with gastric cancer. *J. Surg. Oncol.* 2014, vol. 109, pp. 189-197.
28. Stahl P., Seeschaaf C., Lebok P., Kutup A., Bockhorn M., Izbiicki J.R. [et al.]. Heterogeneity of amplification of HER2, EGFR, CCND1 and MYC in gastric cancer. *BMC Gastroenterol.* 2015, vol. 15, p. 7.
29. Yoshida S., Matsumoto K., Arao T., Taniguchi H., Goto I., Hanafusa T. [et al.]. Gene amplification of ribosomal protein S6 kinase-1 and -2 in gastric cancer. *Anticancer Res.* 2013, vol. 33, pp. 469-475.
30. Kang J.U., Koo S.H., Kwon K.C., Park J.W. AMY2 A: A possible tumor-suppressor gene of 1p21.1 loss in gastric carcinoma. *Int. J. Oncol.* 2010, vol. 36, pp. 1429-1435.
31. Kit O.I., Vodolazhskii D.I., Kutilin D.S., Tatimov M.Z., Gudueva E.N., Maslov A.A. Изменение копиности генетических локусов – предиктивный маркер метастазов у больных раком желудка [The change in the copy locus of genetic loci is a predictive marker of metastases in patients with stomach cancer]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015, No. 6, pp. 584-591.
32. Natsume H., Shinmura K., Tao H., Igarashi H., Suzuki M., Nagura K. [et al.]. The CRKL gene encoding an adaptor protein is amplified, overexpressed, and a possible therapeutic target in gastric cancer. *J. of Translational Medicine*. 2012, vol. 10, p. 97.
33. Lee M.C., Toh L.L., Yaw L.P., Luo Y. Drosophila octamer elements and Pdm-1 dictate the coordinated transcription of core histone genes. *J. Biol. Chem.* 2010, vol. 285, pp. 9041-9053.
34. Maddox J., Shakya A., South S., Shelton D., Andersen J.N., Chidester S. [et al.]. Transcription factor Oct1 is a somatic and cancer stem cell determinant. *PLoS Genet.* 2012, vol. 8, p. e1003048.
35. Parmar N.R., Solanki J.V., Patel A.B., Shah T.M., Patel A.K., Parnerkar S. [et al.]. Metagenome of Mehsani buffalo rumen microbiota: an assessment of variation in feed-dependent phylogenetic and functional classification. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2014, vol. 24, pp. 249-261.
36. Xie L., Su X., Zhang L., Yin X., Tang L., Zhang X. [et al.]. FGFR2 gene amplification in gastric cancer predicts sensitivity to the selective FGFR inhibitor AZD4547. *Clin. Cancer Res.* 2013, vol. 19, pp. 2572-2583.
37. Chang J., Wang S., Zhang Z., Liu X., Wu Z., Geng R. [et al.]. Multiple receptor tyrosine kinase activation attenuates therapeutic efficacy of the fibroblast growth factor receptor 2 inhibitor AZD4547 in FGFR2 amplified gastric cancer. *Oncotarget*. 2015, vol. 6, pp. 2009-2022.
38. Matsumoto K., Arao T., Hamaguchi T., Shimada Y., Kato K., Oda I. [et al.]. FGFR2 gene amplification and clinicopathological features in gastric cancer. *Br. J. Cancer*. 2012, vol. 106, pp. 727-732.
39. Oshima T., Masuda M. Molecular targeted agents for gastric and gastroesophageal junction cancer. *Surg. Today*. 2012. Vol. 42. P. 313-327.
40. An J., Pan Y., Yan Z., Li W., Cui J., Yuan J. [et al.]. MiR-23a in amplified 19p13.13 loci targets metallothionein 2A and promotes growth in gastric cancer cells. *J. Cell. Biochem.* 2013, vol. 114, pp. 2160-2169.
41. Hu Y., Wang J., Qian J., Kong X., Tang J., Wang Y. [et al.]. Long noncoding RNA GAPLINC regulates CD44-dependent cell invasiveness and associates with poor prognosis of gastric cancer. *Cancer Res.* 2014, vol. 74, pp. 6890-6902.
42. Araújo T.M., Seabra A.D., Lima E.M., Assumpção P.P., Montenegro R.C., Demachki S. [et al.]. Recurrent amplification of RTEL1 and ABCA13 and its synergistic effect associated with clinicopathological data of gastric adenocarcinoma. *Molecular Cytogenetics*. 2016, vol. 9, p. 52.
43. Jung K.H., Park B.H., Hong S.S. Progress in cancer therapy targeting c-Met signaling pathway. *Arch. Pharm. Res.* 2012, vol. 35, pp. 595-604.
44. Graziano F., Galluccio N., Lorenzini P., Ruzzo A., Canestrari E., D'Emidio S. [et al.]. Genetic activation of the MET pathway and prognosis of patients with high-risk, radically resected gastric cancer. *J. Clin. Oncol.* 2011, vol. 29, pp. 4789-4795.
45. Ha S.Y., Lee J., Kang S.Y., Do I.G., Ahn S., Park J.O. [et al.]. MET overexpression assessed by new interpretation method predicts gene amplification and poor survival in advanced gastric carcinomas // *Mod. Pathol.* 2013, vol. 26, pp. 1632-1641.
46. Kawakami H., Okamoto I., Arao T., Okamoto W., Matsumoto K., Taniguchi H. [et al.]. MET amplification as a potential therapeutic target in gastric cancer. *Oncotarget*. 2013, vol. 4, p. 9.
47. Gavine P.R., Ren Y., Han L., Lv J., Fan S., Zhang W. [et al.]. Volitinib, a potent and highly selective c-Met inhibitor, effectively blocks c-Met signaling and growth in c-MET amplified gastric cancer patient-derived tumor xenograft models. *Mol. Oncol.* 2015, vol. 9, pp. 323-333.
48. Patel R., Leung H.Y. Targeting the EGFR-family for therapy: Biological challenges and clinical perspective. *Curr. Pharm. Des.* 2012, vol. 18, pp. 2672-2679.
49. Hong L., Han Y., Brain L. The role of epidermal growth factor receptor in prognosis and treatment of gastric cancer. *Exp. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014, vol. 8, pp. 111-117.
50. Hong L., Han Y., Yang J., Zhang H., Jin Y., Brain L. [et al.]. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with gastric cancer: a meta-analysis. *Gene*. 2013, vol. 529, pp. 69-72.
51. Oh H.S., Eom D.W., Kang G.H., Ahn Y.C., Lee S.J., Kim J.H. [et al.]. Prognostic implications of EGFR and HER-2 alteration assessed by immunohistochemistry and silver in situ hybridization in gastric cancer patients following curative resection. *Gastric Cancer*. 2014, vol. 17, pp. 402-411.
52. Higaki E., Kuwata T., Nagatsuma A.K., Nishida Y., Kinoshita T., Aizawa M. [et al.]. Gene copy number gain of EGFR is a poor prognostic biomarker in gastric cancer: evaluation of 855 patients with bright-field dual in situ hybridization (DISH) method. *Gastric Cancer*. 2016, vol. 19, pp. 69-73.
53. Li Z., Li W., Song L., Zhu W. Cilia adenomatous polyposis coli and associated diseases. *Oncogene*. 2012, vol. 31, pp. 1475-1483.
54. Bria E., De Manzoni G., Beghelli S., Tomezzoli A., Barbi S., Di Gregorio C. [et al.]. A clinical-biological risk stratification model for resected gastric cancer: prognostic impact of Her2, Fhit, and APC expression status. *Ann. Oncol.* 2013, vol. 24, pp. 693-701.
55. Jin G., Xu L., Shu Y., Tian T., Liang J., Xu Y. [et al.]. Common genetic variants on 5p15.33 contribute to risk of lung

adenocarcinoma in a Chinese population. *Carcinogenesis*. 2009, vol. 30, pp. 987-990.

56. Guo X., Liu W., Pan Y., Ni P., Ji J., Guo L. [et al.]. Homeobox gene IRX1 is a tumor suppressor gene in gastric carcinoma. *Oncogene*. 2010, vol. 29, pp. 3908-3920.

57. Kim O., Yoon J.H., Choi W.S., Ashktorab H., Smoot D.T., Nam S.W. [et al.]. Gastrokine 1 inhibits gastrin-induced cell proliferation. *Gastric Cancer*. 2016, vol. 19, pp. 381-391.

58. Yoon J.H., Song J.H., Zhang C., Jin M., Kang Y.H., Nam S.W. [et al.]. Inactivation of the Gastrokine 1 gene in gastric adenomas and carcinomas. *J. Pathol.* 2011, vol. 223, pp. 618-625.

59. Kit O.I., Vodolazhskii D.I., Kutilin D.S., Maleiko M.L., Dvadnenko K.V., Enin Ya.S. [et al.]. Kopiinnost' genov GSTP1, NFKB1 i lokusa HV2 mitokhondrial'noi DNK pri nekotorykh gistologicheskikh tipakh raka zheludka [The copy of the genes GSTP1, NFKB1 and the HV2 locus of mitochondrial DNA in certain histological types of gastric cancer]. *Uspekhi sovremenogo estestvoznaniya*. 2015, No. 1, part 6, pp. 918-921.

60. Park S.C., Chun H.J. Chemotherapy for advanced gastric cancer: review and update of current practices. *Gut Liver*. 2013, vol. 7, pp. 385-393.

61. Jing Shi, Yi-Ping Qu, Peng Hou. Pathogenetic mechanisms in gastric cancer. *World J. Gastroenterol.* 2014, vol. 20 (38), pp. 13804-13819. DOI 10.3748/wjg.v20.i38.13804.

62. Chia N.Y., Tan P. Molecular classification of gastric cancer. *Ann. Oncol.* 2016, vol. 27 (5), pp. 763-769. DOI 10.1093/annonc/mdw040.

63. Vladimirova L.Y., Kit O.I., Nikipelova E.A. Results of monoclonal antibodies against EGFR-receptors application in

patients with metastatic colorectal cancer. *J. of Clin. Oncol.* 2013, vol. 31, No. 15S, p. 19047.

64. Meining A., Morgner A., Miehke S., Bayerdorffer E., Stolte M. Atrophy-metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence in the stomach: a reality or merely an hypothesis? *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2001, vol. 15, pp. 983-998.

65. Camargo M.C., Kim W.H., Chiaravalli A.M., Kim K.M., Corvalan A.H., Matsuo K., Yu J., Sung J.J., Herrera-Goepfert R., Meneses-Gonzalez F., Kijima Y., Natsugoe S., Liao L.M. [et al.]. Improved survival of gastric cancer with tumour Epstein-Barr virus positivity: an international pooled analysis. *Gut*. 2014, vol. 63 (2), pp. 236-243.

66. Kakiuchi M., Nishizawa T., Ueda H., Gotoh K., Tanaka A., Hayashi A., Yamamoto S., Tatsuno K., Katoh H., Watanabe Y., Ichimura T., Ushiku T., Funahashi S. [et al.]. Recurrent gain-of-function mutations of RHOA in diffuse-type gastric carcinoma. *Nat. Genet.* 2014, vol. 46 (6), pp. 583-587.

67. Ko J.C., Ciou S.C., Cheng C.M., Wang L.H., Hong J.H., Jheng M.Y., Ling S.T., Lin Y.W. Involvement of Rad51 in cytotoxicity induced by epidermal growth factor receptor inhibitor (gefitinib, IressaR) and chemotherapeutic agents in human lung cancer cells. *Carcinogenesis*. 2008, vol. 29, pp. 1448-1458.

68. Holden J., Garrett Z., Stevens A. NICE guidance on trastuzumab for the treatment of HER2-positive metastatic gastric cancer. *Lancet Oncol.* 2011, vol. 12, pp. 16-17.

69. Norell H., Poschke I., Charo J., Wei W.Z., Erskine C., Piechocki M.P., Knutson K.L., Bergh J., Lidbrink E., Kiessling R. Vaccination with a plasmid DNA encoding HER-2/neu together with low doses of GM-CSF and IL-2 in patients with metastatic breast carcinoma: a pilot clinical trial. *J. Transl. Med.* 2010, vol. 8, p. 53.

УДК 616-006

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-68-75

ПОПЫТКА ОПТИМИЗАЦИИ РЕЖИМОВ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ ЛЕГКОГО

© 2017 г. **Е.Ф. Комарова¹, А.И. Шихлярова¹, Е.П. Коробейникова¹, Л.В. Ванжа¹,
О.В. Лихачев-Мищенко², Л.П. Кучкина¹, А.В. Дашков¹, В.В. Позднякова¹, Р.Г. Луганская¹,
Н.А. Максимова¹, М.Г. Ильченко¹, Е.А. Шейко¹, Е.С. Босенко¹, И.Н. Туркин¹**

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия,

²Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

ATTEMPT OF OPTIMIZATION OF PHOTODYNAMIC THERAPY REGIMENS ON EXPERIMENTAL LUNG TUMOR MODEL

**E.F. Komarova¹, A.I. Shikhlyarova¹, E.P. Korobeynikova¹, L.V. Vanzha¹, O.V. Likhachev-Mishchenko²,
L.P. Kuchkina¹, A.V. Dashkov¹, V.V. Pozdnyakova¹, R.G. Luganskaya¹, N.A. Maksimova¹, M.G. Ilchenko¹,
E.A. Sheiko¹, E.S. Bosenko¹, I.N. Turkin¹**

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia,

²Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Комарова Екатерина Федоровна – доктор биологических наук, профессор РАН, главный научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: katitako@gmail.com

Ekaterina F. Komarova - Doctor of Biological Sciences, Professor, RAS, Main Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: katitako@gmail.com

Шихлярова Алла Ивановна – доктор биологических наук, профессор, руководитель испытательного лабораторного центра, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Alla I. Shikhlyarova - Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Коробейникова Елена Петровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: katitako@gmail.com

Elena P. Korobeynikova - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: katitako@gmail.com

Ванжа Людмила Викторовна – ветеринарный врач, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: katitako@gmail.com

Lyudmila V. Vanzha - Veterinarian, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: katitako@gmail.com

Лихачев-Мищенко Олег Валерьевич – врач-ординатор, руководитель отдела инноваций, Ростовский государственный медицинский университет, пер. Нахичеванский, 29, г. Ростов-на-Дону, 344022, Россия, e-mail: Gelo2007@bk.ru

Oleg V. Likhachev-Mishchenko - Resident Physician, Head of Innovation Department, Rostov State Medical University, Nakhichevanskii Lane, 29, Rostov-on-Don, 344022, Russia, e-mail: Gelo2007@bk.ru

Кучкина Людмила Петровна – кандидат медицинских наук, хирург-онколог, отделение опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: katitako@gmail.com

Lyudmila P. Kuchkina - Candidate of Medicine, Surgical Oncologist, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: katitako@gmail.com

Дашков Андрей Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: katitako@gmail.com

Andrey V. Dashkov - Candidate of Medicine, Senior Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: katitako@gmail.com

Позднякова Виктория Вадимовна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: vvpdoc@gmail.com

Viktoria V. Pozdnyakova - Doctor of Medicine, Professor, Leading Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: vvpdoc@gmail.com

Луганская Роза Генриковна – кандидат медицинских наук, врач-хирург, отделение опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: katitako@gmail.com

Roza G. Luganskaya - Candidate of Medicine, Surgery-Oncologist, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: katitako@gmail.com

Максимова Наталья Александровна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель радиоизотопной лаборатории с группой УЗИ-диагностики, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: zhenilo_mihail@mail.ru

Natalia A. Maksimova - Doctor of Medicine, Professor, Head of Radioisotope Laboratory with Ultrasonic Diagnostics Group, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: zhenilo_mihail@mail.ru

Ильченко Мария Геннадьевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Maria G. Ilchenko - Candidate of Medicine, Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Шейко Елена Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: katitako@gmail.com

Elena A. Sheiko - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Senior Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: katitako@gmail.com

Босенко Екатерина Сергеевна – кандидат медицинских наук, хирург-онколог, отделение опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: silverokate@gmail.com

Ekaterina S. Bosenko - Candidate of Medicine, Surgery-Oncologist, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: silverokate@gmail.com

Туркин Игорь Николаевич – доктор медицинских наук, заведующий отделением торакальной хирургии, врач – торакальный хирург, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: k.denees@yandex.ru

Igor N. Turkin - Doctor of Medicine, Head of Department of Thoracic Surgery, Thoracic Surgeron, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: k.denees@yandex.ru

Цель исследования – изучение влияния проведения фотодинамической терапии с фотодитазином высокоэнергетическим лазером в разные сроки после перевивки опухоли на динамику роста экспериментальной опухоли легкого мышей.

Материалы и методы. Работа выполнена на 176 мышах-самцах линии C57Bl6 весом 18–20 г с перевитой подкожно карциномой легкого Льюис (LLC). Проводили экспериментальную фотодинамическую терапию (ФДТ) (662 нм, 3 Вт, доза фотодитазина 25 мг/кг, 300 Дж/см²). В I экспериментальной серии ФДТ осуществляли на 11-е сут от момента перевивки, во II серии экспериментов – на 21-е сут. Экспериментальные группы делили в зависимости от зоны воздействия ФДТ (на первичную опухоль, грудную клетку и обе зоны). Контроль – животные-опухоленосители без ФДТ.

Результаты. Показано, что ФДТ с использованием фотодитазина мощностью лазера 3 Вт оказывает стимулирующее влияние на рост первичного опухолевого узла. Обнаружено, что уровень стимуляции роста опухоли зависит от сроков проведения ФДТ. Увеличение размеров опухоли имеет различия уже на 7-е сут после применения ФДТ в разные моменты роста перевитой опухоли LLC. При ФДТ с примененными нами параметрами достоверно больше усиливает рост опухоли LLC при воздействии на 11-е сут после ее перевивки. Меньший прирост объема опухоли отмечен в группе с ФДТ на первичную опухоль, а группа, которой проводилась терапия на 2 зоны, занимает промежуточное положение по этому параметру. Также зарегистрировано увеличение средней продолжительности жизни экспериментальных животных, которым применялось фотодинамическое воздействие на первичный опухолевый узел.

Выводы. Выявленные особенности развития экспериментальной опухоли LLC при примененном воздействии позволяют продолжить подбор параметров режимов фотодинамической терапии.

Ключевые слова: экспериментальная фотодинамическая терапия, фотодитазин, карцинома легкого Льюис, динамика роста опухоли, продолжительность жизни животных.

Objectives. Study of the effect of photodynamic therapy (PDT) with Photoditazine using a high-energy laser at various periods after tumor transplantation on the dynamics of growth of experimental lung tumors in mice.

Material and methods. The study included 176 male C57Bl6 mice weighing 18-20 g with Lewis lung carcinoma (LLC) transplanted subcutaneously. The animals received experimental PDT (662 nm, 3 W, Photoditazine 25 mg/kg, 300 J/cm²). Animals received PDT on day 11 after the transplantation (experimental series I) and on day 21 (experimental series II). Experimental groups were divided in dependence on the exposure area (to the primary tumor, thorax and to both zones). Animals with tumors without PDT were used as controls.

Results. PDT with Photoditazine using the 3W laser stimulated the growth of primary tumor node. The degree of stimulation depended on the time of PDT. Increase in tumor sizes differed already on day 7 after PDT at various periods of the LCC growth. PDT significantly increased the LCC growth at the exposure on day 11 after the transplantation. A smaller increase in tumor volume was observed in animals receiving PDT to the primary tumor, and the group receiving therapy to both areas was in between. Increase in the median survival was registered in experimental animals with PDT to the primary tumor.

Conclusions. The revealed characteristics of the development of experimental LLC at PDT exposure allows further selection of parameters for photodynamic therapy regimens.

Keywords: experimental photodynamic therapy, Photoditazine, Lewis lung carcinoma, dynamics of tumor growth, survival of animals.

Важной задачей клинической онкологии является органосохраняющее лечение опухолей. Одним из методов, позволяющих проводить такое лечение, является фотодинамическая терапия (ФДТ), широко применяемая для лечения онкологической патологии [1–6]. В различных исследованиях показан цитотоксический эффект ФДТ на опухолевые клетки [7, 8].

Эффективность ФДТ зависит от множества факторов. Важным моментом развития метода является оптимизация его в отношении опухолей различной локализации и степени злокачественности. Это связано с выбором условий и параметров ФДТ (поиском новых фотосенсибилизаторов (ФС), разработкой систем транспорта их в клетку, совершенствованием источников света). Создание новых ФС – очень дорогостоящий и довольно длительный процесс. Поэтому важным аспектом развития метода ФДТ является оптимизация режимов с существующими препаратами.

Согласно литературным данным, в экспериментальных исследованиях в настоящее время проводится оценка противоопухолевой эффективности спектра параметров фотодинамического воздействия при использовании различных ФС. Так, при исследовании различных режимов применения ФДТ саркомы М-1 крыс выявлен значительный ингибирующий эффект при мощности лазерного излучения 0,51 Вт/см², дозе ФС (амидаминохлорина) 1,25 мг/кг и плотности энергии 150 Дж/см² [9]. ФДТ глиомы С6 у крыс мощностью терапевтического излучения 100 мВт (с использованием ФС фотосенса) оказывала значительный противоопухолевый эффект, который оценивали по степени патоморфоза [10]. В статье [11] в рамках эксперимента проведена оценка клинических эффектов ФДТ на модели злокачественной опухоли у мышей. При облучении подкожно перевитой аденокарциномы Эрлиха (с параметрами воздействия: мощ-

ность излучения – 3 Вт, плотность – 200 Дж/см², ФС радахлорин) показан «положительный» эффект в виде некротизации опухоли уже на 10-е сут и увеличенной в 2 раза продолжительности жизни опытной группы.

Несмотря на совершенствование методов диагностики и лечения, как первичный, так и метастатический рак легкого остается одной из ведущих локализаций в общей структуре заболеваемости и смертности в России [12, 13]. Возможности применения ФДТ для данной нозологии ограничены трудностью непосредственного подведения лазерного излучателя к опухолям, расположенным в центральных отделах органа.

В связи с вышесказанным целью исследования явилось изучение влияния на динамику роста экспериментальной опухоли легкого мышей ФДТ с фотодитазинем высокоэнергетическим лазером в разные сроки после перевивки опухоли.

Материалы и методы

Работа выполнена на 176 мышах-самцах линии C57Bl6 массой 18÷20 г (протокол биоэтической комиссии ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ № 9 от 27.07.2016). Животные получены из вивария филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская область). Все манипуляции с животными осуществляли в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

В эксперименте использована перевивная опухоль – эпидермоидная карцинома легкого Льюиса (LLC), метастазирующая в легкое в 100 % случаев. Штамм получен в банке опухолевых материалов лаборатории комбинированной терапии опухолей Научно-исследовательского института экспери-

ментальной диагностики и терапии опухолей РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Поддержание и перевивку опухолевого штамма осуществляли в соответствии с общепринятыми методами на линии С57В16, в опытах *in vivo* использовали материалы 2–8 пассажей. Имплантацию опухолевых клеток ($1 \cdot 10^6$) проводили подкожно в правое бедро мыши.

В качестве сенсibilизатора использовали фотодитазин («Вета-Гранд», Россия), который применяется для ФДТ злокачественных новообразований и разрешен для клинических применений (рег. номер ЛС-001246 от 10.02.2006).

Фотодитазин, раствор для инфузий, концентрацией 5 мг/мл вводили внутривенно в дозе 25 мг/кг массы тела. Дозу препарата определяли по общепринятой формуле, принятой для пересчета на мышей с дозы на человека.

В качестве источника света для ФДТ использовался лазерный диодный модуль WSLB-660-003-Н (Китай) с излучением на длине волны 662 нм, мощностью лазерного излучения 3 Вт. Воздействие лазерным излучением производилось методом кругового поля. Световая энергия подводилась строго перпендикулярно поверхности опухоли. В эксперименте использована методика поверхностного (дистанционного) лазерного облучения. Световод устанавливался на таком расстоянии от поверхности опухоли, чтобы световое пятно захватывало всю опухоль и часть окружающей кожи с отступлением от видимых границ опухоли не менее 0,5 см, исходя из заданной эмпирически подобранной эффективной плотности энергии подведенного излучения E (эффективной световой дозой считали энергию лазерного излучения 300 Дж/см²).

Перед облучением всем животным проводилась депиляция кожи в зоне засветки. Проведение ФДТ не требовало наркотизации животного ввиду кратковременности облучения, которое начинали через 2 ч после введения ФС.

Проведены 2 серии экспериментов, в которых ФДТ осуществляли в разные сроки развития перевитой опухоли (табл. 1). В I экспериментальной серии ФДТ проводили на 11-е сут от момента перевивки опухоли (достижение необходимого для воздействия объема опухоли), во II – на 21-е сут от момента перевивки опухоли (достижение оптимальных размеров метастатических узлов).

Для оценки эффектов ФДТ животные были распределены по 4 группам: 3 экспериментальные и контрольная. Экспериментальные группы делили в зависимости от зоны воздействия ФДТ:

- 1-я группа – на область первичной опухоли;
- 2-я – грудную клетку (область метастазов LLC);

3-я – на 2 зоны: область первичной опухоли и на грудную клетку (область метастазов LLC).

Контрольную группу исследования (К) составили животные-опухоленосители с перевитой LLC, которым не проводилось никакого лечения, – интактная опухоль.

Таблица 1

Дизайн эксперимента / Design of the experiment

Номер серии эксперимента	Срок воздействия, сутки после перевивки опухоли	Количество животных на начало эксперимента по группам			
		1-я	2-я	3-я	К
I	11-е	22	22	22	20
II	21-е	20	20	20	20

Оценивали динамику роста опухоли, продолжительность жизни животных (ПЖЖ), рассчитывали прирост объема опухоли ($\Delta V_{оп-к}$, %) на 12, 20, 22, 29-е сут от момента перевивки опухоли (что соответствовало 1, 7, 14, 16-м сут после окончания ФДТ), а также в абсолютных значениях ($\Delta V_{оп-к}$, см³) на 10–29-е сут эксперимента.

Для количественных данных во всех группах вычислялось групповое среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (m). Достоверность отличий между группами данных оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента. Уровень достоверности различий $p \leq 0,05$. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы STATISTICA 10.0.

Результаты исследования

Результаты первой серии экспериментов представлены в табл. 2. При анализе полученных результатов обнаружено, что воздействие ФДТ на 11-е сут после перевивки опухоли LLC стимулировало рост опухоли и не влияло на ПЖЖ экспериментальных групп. Начальный расчет размеров опухолевого узла вели через 10 сут после перевивки опухоли. На 1-е сут после окончания воздействия не выявлено значимых изменений размеров опухоли по сравнению со сроком до лечения.

Через 7 сут после окончания лечения (20-е сут после перевивки опухоли) показано усиление роста опухоли во 2-й и 3-й группах, о чем свидетельствует высокий процент прироста объема опухоли по сравнению с контрольными значениями. На 16-е сут после окончания воздействия (на 29-е сут от момента перевивки) обнаружена сходная динамика изменения объемов опухоли. Во всех экспериментальных группах показатель прироста объема опухоли указывал на выраженную стимуляцию ее роста.

Таблица 2

**Влияние ФДТ (11-е сут после перевивки LLC) на динамику роста опухоли (Vоп, см³) и ПЖЖ опухоленосителей /
 Effect of PDT (day 11 after LLC transplantation) on dynamics of tumor growth (Vt, cm³) and survival of animals with tumors**

Группа	Сутки после лечения (после перевивки опухоли) ($\Delta V_{оп-к}$, %)				СПЖ, % (ПЖЖ, дни)
	До лечения (10-е)	1-е (12-е)	7-е (20-е)	16-е (29-е)	
1-я	3,2±0,8 (13)	3,3±0,5 (5,7)	5,26±0,7 ^{2,3} (4,36)	16,97±1,5 ^{1,3} (60,7)	4,1 (30,7±2,9)
2-я	3,2±0,6 (13)	3,1±0,6 (11,4)	7,0±0,9 ^{1,3} (27,3)	17,91±1,6 ^{1,3} (69,6)	0,7 (29,3±2,6)
3-я	3,9±0,6 (5,4)	3,7±0,9 (5,7)	7,44±1,0 ^{1,3} (26,1)	19,68±1,9 ^{1,3} (86,4)	4,3 (30,75±2,8)
К	3,7±0,5	3,5±0,4	5,5±0,5 ³	10,56±0,9 ³	29,5±2,5

Примечание. Различия достоверны: ¹ – относительно контроля (p<0,05); ² – относительно 2-й группы (p<0,05); ³ – относительно предыдущего этапа исследования (p<0,05); СПЖ – средняя продолжительность жизни.

При сравнении эффекта от ФДТ в экспериментальных группах в зависимости от зоны воздействия нами обнаружено различие в динамике опухолевого роста в 1-й группе по сравнению с остальными: показан достоверно меньший прирост объема опухоли через 7 и 16 сут после окончания лечения (табл. 2). В группе с воздействием ФДТ на 2 зоны на 16-е сут после окончания лечения отмечено наибольшее увеличение размеров опухоли.

Во 2-й серии экспериментов при применении ФДТ на 21-е сут после перевивки опухоли также обнаружена стимуляция роста первичного опухолевого узла (табл. 3). В 1-е сут после окончания ФДТ не выявлено значимых изменений размеров опухоли по сравнению с предыдущим сро-

ком исследования (за 1-е сут до начала воздействия – 20-е сут после перевивки опухоли). Однако происходит усиление роста объемов опухоли относительно контроля, причем так же, как и в 1-й серии экспериментов, наименьший прирост отмечен в 1-й экспериментальной группе (при воздействии ФДТ на первичный очаг). Через 7 сут (29-е сут после перевивки опухоли) после окончания лечения выявлена сходная с предыдущим этапом динамика изучаемого показателя. Важно отметить, что на этом этапе исследования у животных, которым ФДТ производили на первичный опухолевый очаг, ПЖЖ превышала на 22,6 % контрольные показатели, а также значения в остальных экспериментальных группах.

Таблица 3

**Влияние ФДТ (21-е сут после перевивки LLC) на динамику роста опухоли (Vоп, см³) и ПЖЖ опухоленосителей /
 Effect of PDT (day 21 after LLC transplantation) on dynamics of tumor growth (Vt, cm³) and survival of animals with tumors**

Группа	Сутки после лечения (после перевивки опухоли) ($\Delta V_{оп-к}$, %)				СПЖ, % (ПЖЖ, дни)
	До лечения (10-е)	До лечения 20-е	1-е (22-е)	7-е (29-е)	
1-я	2,95±0,3 (16,6)	5,67±0,6 ³ (2,2)	5,93±0,6 (18,6)	10,8±0,9 ³ (20)	22,6 (38,5±2,5) ¹
2-я	3,5±0,4 (2,8)	6,3±0,5 ³ (8,6)	6,6±0,5 (32)	12,2±1,0 ³ (35,6)	1,9 (30,8±2,4)
3-я	3,9±0,4 (9)	6,3±0,4 ³ (8,6)	6,44±0,5 (28,8)	11,2±0,9 ³ (24,4)	1,8 (30,2±3,0)
К	3,6±0,3	5,8±0,4 ³	5,0±0,4	9,0±0,6 ³	31,4±2,1

Примечание. Различия достоверны: ¹ – относительно контроля (p<0,05); ² – относительно 2-й группы (p<0,05); ³ – относительно предыдущего этапа исследования (p<0,05).

Выраженные различия обнаружены при сравнительном анализе прироста объема опухоли на различных этапах после окончания лечения в зависимости от сроков ФДТ. Наиболее интересными

представляются результаты, показывающие, что при проведении ФДТ на 11-е сут от момента перевивки опухоли процент $\Delta V_{оп}$ на 7-е сут после окончания лечения значительно превышал подоб-

ный показатель в группах животных, которым ФДТ проводили на 21-е сут роста перевитой опухоли (рис. 1). Таким образом, понятно, что при более раннем начале проведения ФДТ выявлена большая стимуляция роста опухоли, чем при проведении терапии в поздние сроки.

Подобный вывод сделан и по результатам сравнительного анализа показателя прироста опухоли в сериях экспериментов (рис. 2). Показано значительное превышение прироста объема опухоли у всех экспериментальных групп при проведении ФДТ на 11-е сут после перевивки опухоли.

Подводя итог, можно заключить, что примененное фотодинамическое воздействие с использованием ФС фотодитазина мощностью лазера 3 Вт как на первичный очаг экспериментальной опухоли легкого LLC, на зону метастатического поражения (область грудной клетки), так и на обе зоны одновременно оказывает стимулирующее влияние на рост первичного опухолевого узла.

Кроме того, проявление стимулирующего эффекта на опухолевый рост не зависит от сроков

проведения ФДТ экспериментальной опухоли легкого LLC. От сроков проведения ФДТ зависит уровень стимуляции роста опухоли. Отмечено, что увеличение размеров опухоли имеет различия уже на 7-е сут после применения ФДТ в разные моменты роста перевитой опухоли LLC, о чем свидетельствуют показатели процента прироста ее объема по сравнению с предыдущим этапом исследования. Очевидно, что при ФДТ с примененными нами параметрами достоверно больше усиливает рост опухоли LLC при воздействии на 11-е сут после ее перевивки.

Выявлены различия опухолевого роста в экспериментальных группах в зависимости от зоны воздействия. Меньший прирост объема опухоли отмечен в группе с ФДТ на первичную опухоль, а группа, которой проводилась терапия на 2 зоны, занимает промежуточное положение по этому параметру.

Одним из выявленных фактов является увеличение СПЖ экспериментальных животных, которым применялось фотодинамическое воздействие на первичный опухолевый узел.

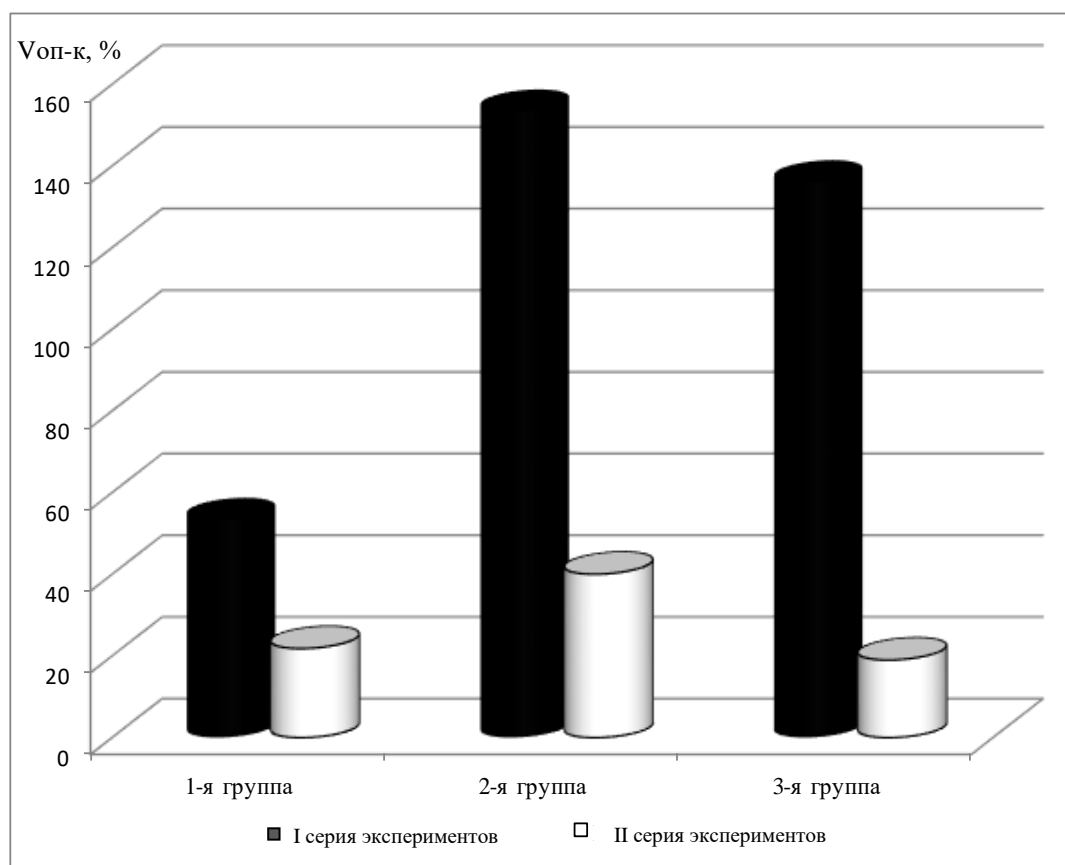


Рис. 1. Прирост объема опухоли LLC (ΔV_t-c) у экспериментальных животных с 1-х по 7-е сут после окончания ФДТ в сериях экспериментов (различия достоверны при $p < 0,05$) / Fig. 1. Increase in LLC volume (ΔV_t-c , %) in experimental animals on days 1–7 after PDT in series of experiments (differences significant at $p < 0.05$)

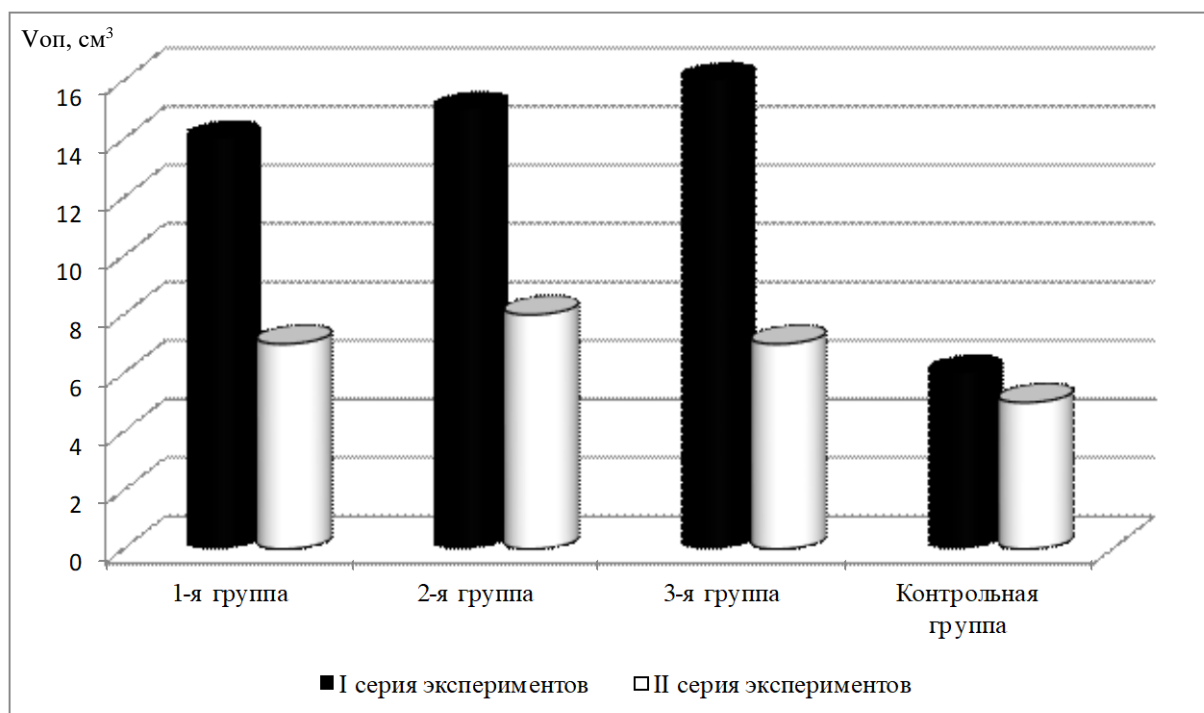


Рис. 2. Прирост объема опухоли LLC ($\Delta V_{оп}$, см³) с 10-х по 29-е сут эксперимента в зависимости от срока проведения ФДТ в исследованных группах (различия достоверны при $p < 0,05$) / Fig. 2. Increase in LLC volume (ΔV_t , cm³) on days 10–29 of experiment in dependence on PDT periods in studied groups (differences significant at $p < 0,05$)

Несмотря на то что ФДТ с использованием фотодитазина и мощностью лазерного излучения 3 Вт стимулирует рост экспериментальной опухоли легкого LLC, наименьшее «отрицательное» влияние показано при воздействии на первичную опухоль на 21-е сут от момента ее перевивки, что позволяет продолжить подбор параметров режимов фотодинамической терапии.

Литература

1. Рагулин Ю.А., Каплан М.А., Медведев В.Н. Фотодинамическая терапия рака легкого // Рос. онкол. журн. 2009. № 2. С. 49–52.
2. Куржупов М.И., Филоненко Е.В., Лошаков В.А., Зайцев А.М. Фотодинамическая терапия в нейроонкологии // Рос. онкол. журн. 2010. № 4. С. 45–48.
3. Узденский А.Б. Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии. М.: Наука, 2010. 336 с.
4. Улащик В.С. Фотодинамическая терапия – технология XXI века // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2013. № 1. С. 36–43.
5. Патент РФ № 2015139409 /14 (060567). Устройство для многокурсовой фотодинамической терапии опухолей / О.И. Кит, И.В. Базин-Парфенов, Э.Е. Росторгуев, В.М. Легостаев. 2016. Бюл. № 3.

6. Oinuma T., Nakamura T., Nishiwaki Y. Report on the National Survey of Photodynamic Therapy (PDT) for Gastric Cancer in Japan (a secondary publication) // Laser Ther. 2016. Vol. 25, № 2. P. 87–98.
7. Гельфонд М.Л. Возможности ФДТ в онкологической практике // Физ. медицина. 2005. Т. 15, № 2. С. 33–37.
8. Филоненко Е.Б. Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия в онкологии // Рос. биотерапевт. журн. 2013. Т. 12, № 2. С. 51.
9. Каплан М.А., Малыгина А.И., Пономарев Г.В. [и др.]. Фотодинамическая терапия саркомы М-1 крыс с использованием фотосенсибилизатора амидаминхлорина // Рос. биотерапевт. журн. 2015. Т. 14, № 1. С. 53–56.
10. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Борисова Л.М. [и др.]. Фотодинамическая терапия опухолей мозга крыс с использованием фотосенса // Рос. биотерапевт. журн. 2005. Т. 4, № 3. С. 52–57.
11. Бикбов Э.Н., Привалов В.А., Куренков Е.Л. Эффекты фотодинамической терапии с препаратом радахлорином в эксперименте на мышцах с перевитой аденокарциномой Эрлиха // Человек. Спорт. Медицина. 2009. № 20 (153). С. 82–87.
12. Владимиров Л.Ю., Кит О.И., Шолохова Е.А. Роль гистологического и молекулярного анализа в выборе метода лечения немелкоклеточного рака легкого поздних стадий // Фарматека. 2012. № 8 (241). С. 9–22.
13. Водолажский Д.И., Кит О.И., Максимов А.Ю. [и др.]. Связь мутаций гена EGFR с клинико-патологическими особенностями аденокарциномы легкого у пациентов Юга России // Клини. медицина. 2014. Т. 92, № 7. С. 57–62.

References

1. Ragulin Yu.A., Kaplan M.A., Medvedev V.N. Fotodinamicheskaya terapiya raka legkogo [Photodynamic therapy of lung cancer]. *Ros. onkol. zhurn.* 2009, No. 2, pp. 49-52.
2. Kurzhupov M.I., Filonenko E.V., Loshakov V.A., Zaitsev A.M. Fotodinamicheskaya terapiya v neiroonkologii [Photodynamic therapy in neurooncology]. *Ros. onkol. zhurn.* 2010, No. 4, pp. 45-48.
3. Uzdenskiy A.B. *Kletочно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии* [Cellular-molecular mechanisms of photodynamic therapy]. Moscow: Nauka, 2010, 336 p.
4. Ulashchik V.S. Fotodinamicheskaya terapiya – tekhnologiya XXI veka [Photodynamic therapy - technology of the XXI century]. *Fizioterapiya, bal'neologiya i reabilitatsiya.* 2013, No. 1, pp. 36-43.
5. Kit O.I., Balyazin-Parfenov I.V., Rostorguev E.E., Legostaev V.M. *Ustroystvo dlya mnogokursovoi fотодинамической терапии опухолей* [The device for multi-course photodynamic therapy of tumors]. Patent RF, No. 2015139409/14 (060567). 2016. № 3.
6. Oinuma T., Nakamura T., Nishiwaki Y. Report on the National Survey of Photodynamic Therapy (PDT) for Gastric Cancer in Japan (a secondary publication). *Laser Ther.* 2016, vol. 25, No. 2, pp. 87-98.
7. Gel'fond M.L. Vozmozhnosti FDT v onkologicheskoi praktike [Opportunities of PDT in oncological practice]. *Fiz. meditsina.* 2005, vol. 15, No. 2, pp. 33-37.
8. Filonenko E.B. Fluorescentnaya diagnostika i fotodinamicheskaya terapiya v onkologii [Fluorescent diagnostics and photodynamic therapy in oncology]. *Ros. bioterapevt. zhurn.* 2013, vol. 12, No. 2, p. 51.
9. Kaplan M.A., Malygina A.I., Ponomarev G.V. [et al.]. Fotodinamicheskaya terapiya sarkomy M-1 krys s ispol'zovaniem fotosensibilizatora amidaminkhlorina [Photodynamic therapy of sarcoma M-1 rats with the use of amidaminchlorin photosensitizer]. *Ros. bioterapevt. zhurn.* 2015, vol. 14, No. 1, pp. 53-56.
10. Smirnova Z.S., Kubasova I.Yu., Borisova L.M. [et al.]. Fotodinamicheskaya terapiya opukholei mozga krys s ispol'zovaniem fotosensa [Photodynamic therapy of brain tumors of rats with the use of photosens]. *Ros. bioterapevt. zhurn.* 2005, vol. 4, No. 3, pp. 52-57.
11. Bikbov E.N., Privalov V.A., Kurenkov E.L. Effekty fotodinamicheskoi terapii s preparatom radakhlorinom v eksperimente na myshakh s perevitoy adenokartsinomoi Erlikha [Effects of photodynamic therapy with radachlorin in an experiment in mice with Ehlich's transplanted adenocarcinoma]. *Chelovek. Sport. Meditsina.* 2009, No. 20 (153), pp. 82-87.
12. Vladimirova L.Yu., Kit O.I., Sholokhova E.A. Rol' gistologicheskogo i molekulyarnogo analiza v vybore metoda lecheniya nemelkokletochnogo raka legkogo pozdnykh stadii [The role of histological and molecular analysis in the choice of a method for the treatment of non-small-cell lung cancer of late stages]. *Farmateka.* 2012, No. 8 (241), pp. 9-22.
13. Vodolazhskii D.I., Kit O.I., Maksimov A.Yu. [et al.]. Svyaz' mutatsii gena EGFR s kliniko-patologicheskimi osobennostyami adenokartsinomy legkogo u patsientov Yuga Rossii [Relationship of mutations of the EGFR gene with clinical and pathological features of lung adenocarcinoma in patients of the South of Russia]. *Klin. meditsina.* 2014, vol. 92, No. 7, pp. 57-62.

УДК 616.5-006.81:577.175.44]-092.9-055

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-76-83

СОДЕРЖАНИЕ ГОРМОНОВ В ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ДИНАМИКЕ РОСТА ПЕРЕВИВНОЙ МЕЛАНОМЫ B16/F10, ВОСПРОИЗВЕДЕННОЙ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ У САМОК МЫШЕЙ

© 2017 г. И.М. Котиева¹, О.И. Кит¹, Е.М. Франциянц¹, В.А. Бандовкина¹, И.В. Каплиева¹,
Ю.А. Погорелова¹, Н.Д. Черярина¹, Л.К. Трепитаки¹, М.В. Бликян¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

HORMONE LEVELS IN THYROID TISSUES IN THE DYNAMICS OF GROWTH OF TRANSPLANTABLE B16/F10 MELANOMA IN FEMALE MICE WITH CHRONIC NEUROGENIC PAIN

I.M. Kotieva¹, O.I. Kit¹, E.M. Frantsiyants¹, V.A. Bandovkina¹, I.V. Kaplieva¹,
Yu.A. Pogorelova¹, N.D. Cheryarina¹, L.K. Trepitaki¹, M.V. Blikjan¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Котиева Инга Мавлиевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Inga M. Kotieva - Candidate of Medicine, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Кит Олег Иванович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор Ростовского научно-исследовательского онкологического института, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: mioi@list.ru

Oleg I. Kit - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, General Director, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: mioi@list.ru

Франциянц Елена Михайловна – доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Elena M. Frantsiyants - Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy General Director for Scientific Research, Head of Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Бандовкина Валерия Ахтямовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Valeriya A. Bandovkina - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Каплиева Ирина Викторовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: kaplirina@yandex.ru

Irina V. Kaplieva - Candidate of Medicine, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: kaplirina@yandex.ru

Погорелова Юлия Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Julija A. Pogorelova - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Natal'ya D. Cheryarina – Doctor - Laboratory Assistant, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Трепитакки Лидия Константиновна – научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Lidiya K. Trepitaki - Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Бликян Марина Владимировна – кандидат медицинских наук, ассистент, кафедра патологической физиологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Marina V. Blikjan - Candidate of Medicine, Assistant, Department of Pathological Physiology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Важная роль гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси в реакции на острый и хронический стресс не подлежит сомнению. Исследования изменений активности тиреоидной системы при злокачественных патологиях дают разноречивые результаты. Целью исследования явилось изучение уровня тиреоидных гормонов и тиротропина гипофизарного в ткани щитовидной железы у мышей с перевивной меланомой B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли. Исследования проводили на мышцах линии C57BL/6 (n=64), у которых с помощью ИФА-методов исследовали влияние нейрогенной хронической боли на функциональную активность щитовидной железы в динамике роста перевивной меланомы B16/F10. Полученные экспериментальные результаты свидетельствуют о модифицирующем влиянии хронической нейрогенной боли на функциональную активность щитовидной железы. На фоне нарушений тиреоидного гомеостаза выход опухолей у мышей основной группы был ускорен, а агрессивность меланомы повышена. Хроническая нейрогенная боль оказалась патогенным фактором, способствующим сокращению срока жизни животных.

Ключевые слова: хронический болевой синдром, меланома B16/F10, тиреоидные гормоны, щитовидная железа.

An important role of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the response to acute and chronic stress is undeniable. Studies of changes in the thyroid system activity in malignant tumors show contradictory results. The purpose of the study was to determine levels of thyroid hormones and TSH in thyroid tissues in mice with transplantable B16/F10 melanoma and chronic neurogenic pain. The effect of chronic neurogenic pain on the functional activity of the thyroid gland was studied by ELISA in C57BL/6 mice (n=64) in the dynamics of growth of transplantable B16/F10 melanoma. The results demonstrated the modifying effect of chronic neurogenic pain on the functional activity of the thyroid gland. The tumor onset was accelerated, and the aggressiveness of melanoma was higher in mice of the main group with disorders of thyroid homeostasis. Chronic neurogenic pain was the pathogenic factor shortening the survival of animals.

Keywords: chronic pain syndrome, B16/F10 melanoma, thyroid hormones, thyroid gland.

Для понимания роли эндокринной системы в механизмах хронической боли все чаще прибегают к экспериментальным исследованиям. Многие болезненные состояния оказываются прямо и/или косвенно индуцированными, купированными, а в некоторых случаях модулированными гормонами. Литература о функциях щитовидной железы (ЩЖ) обширна, но очень немногие исследования сосредоточены на взаимосвязи гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной (ГГТ) оси и боли [1]. Динамическая способность поддерживать гибкие гомеостатические равновесия в ответ на возникающие проблемы является отличительной чертой здорового состояния организма. Гормоны ЩЖ играют двойную роль в гомеостатической регуляции, действуя как контролируемые, так и контролируемые элементы. Они нацелены на широкий спектр метаболических эффектов, но одновременно сами регулируются [2].

Заметную роль ЩЖ играет в метаболизме и развитии тканей; кроме того, ось ГГТ является одной из ведущих для процессов модуляции и нейротрансмиссии в центральной нервной системе [3], ГГТ действует как адаптивная динамическая система, функционирующая в двух разных режимах, работает в качестве гомеостатического регулятора в неустановленных условиях покоя [2, 4, 5]. Стабильная ситуация в равновесии позволяет использовать измерение тиротропина гипофизарного гормона (ТТГ) для диагностических целей при заболевании ЩЖ. Однако концентрации ТТГ и гормонов ЩЖ могут быть изменены в других физиологических и патологических ситуациях в отсутствие какой-либо дисфункции тиреотропной системы управления или любого из ее элементов [6, 7]. Гомеостатический контроль функции ЩЖ представляет собой классический пример механизма эндокринной об-

ратной связи с гипоталамусом и гипофизом. Его основными медиаторами являются гипоталамический тиреотропин-высвобождающий гормон, ТТГ, тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3). Nishioka et al. (2017) обнаружили высокую распространенность аутоиммунного тиреоидита среди 207 пациентов с клинически выраженной хронической фибралгией, причем среди этих пациентов особенно был замечен высокий уровень антител против тиреоглобулина [8].

В риске возникновения злокачественных опухолей имеется разноречивое мнение о роли изменения функции ЩЖ. Некоторые исследователи указывают на увеличение риска возникновения злокачественных опухолей репродуктивных органов на 45–80 % у больных гипертиреозом [9]. Другие, напротив, отмечают частые проявления гипотиреоза при росте злокачественных опухолей [10, 11], при этом некоторые авторы не находят ассоциации рака молочной железы с гипотиреозом [12]. По нашему мнению, такое разнообразие зачастую противоречащих друг другу данных подтверждает важную роль ЩЖ в развитии любого патологического процесса; нарушение ее функции может рассматриваться как срыв адаптационных возможностей и противоопухолевой защиты организма. Экспериментальные исследования дают возможность изучить на клеточном и тканевом уровне основные изменения и поломки, возникающие в динамике патологии.

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня тиреоидных гормонов и ТТГ в ткани ЩЖ в динамике роста меланомы В16/Ф10 на фоне нейрогенной боли.

Материалы и методы

Работа выполнена на самках мышей линии С57ВL/6 (n=64) 8-недельного возраста с начальной массой 21–22 г. Животные получены из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий», филиал ФМБА «Андреевка» (Московская область). В работе использовали клеточную линию мышшиной меланомы В16/Ф10, метастазирующей в легкие. Опухолевый штамм получен из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва). Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Все исследования проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики». Животные были распределены на группы: две контрольные – интактные мыши (n=7) и мыши с воспроизведением

модели хронической боли (n=7); группу сравнения – мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы В16/Ф10 (n=22) – и основную группу – мыши, которым меланому В16/Ф10 перевивали через 2 недели после создания модели хронической боли (n=28). Мышам основной группы осуществляли перевязку седалищного нерва с 2 сторон под ксила-золетилловым наркозом. Через 2 недели после заживления операционной раны подкожно под правую лопатку вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток меланомы В16/Ф10 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Животным из группы сравнения перевивали меланому В16/Ф10 подкожно в той же дозе и объеме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли. При стандартной перевивке опухоль появляется в 100 % случаев, достаточно быстро растёт и на 12–16-е сут роста метастазирует преимущественно гематогенно в легкие (60±90 %), реже – в печень и селезенку. Контрольными для основной группы животных служили мыши с 2-сторонней перевязкой седалищного нерва без онкопроцесса; для группы сравнения – интактные мыши. Контрольных животных, а также мышшей из основной группы и группы сравнения через 1, 2 и 3 недели эксперимента декапитировали на гильотине, ЩЖ выделяли на льду. Проводили расчет весовых коэффициентов (у.е.) по соотношению массы органа к массе тела животного. Из тканей получали 1%-е цитозольные фракции, приготовленные на 0,1М калий-фосфатном буфере рН 7,4, содержащем 0,1 % твин-20 и 1 % БСА, в которых с помощью наборов адаптированных для животных ИФА (Cusabio, Китай) определяли уровень ТТГ, Т4 и Т3, а также их свободных форм: FT4 и FT3. Статистическая обработка материала проводилась с помощью программы STATISTICA 10.0 с определением средних значений с указанием стандартных отклонений. Значимость различий средних показателей оценивалась с помощью критерия суммы рангов Вилкоксона. Существенными считали различия при $p < 0,05$. При этом соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

Результаты исследования

В ткани ЩЖ у мышшей с хронической болью (контрольная группа) в сравнении с показателями у интактных мышшей установлено увеличение общего содержания Т3 в 4 раза, свободных форм тиреоидных гормонов: FT4 – в 3,4 раза и FT3 – в 4,1 раза на фоне сниженного в 10 раз уровня ТТГ. Содержание тироксина, основного гормона, синтезируемого ЩЖ, оказалось неожиданно низким – в 3,5 раза ниже нормы (табл. 1).

Таблица 1

**Уровень гормонов в ткани ЩЖ самок мышей с меланомой B16/ F10 и меланомой, сочетанной с хронической болью /
Hormone levels in thyroid tissues of female mice with B16/F10 melanoma with and without chronic pain**

Группа	FT3, пмоль/л	FT4, пмоль/л	T ₃ , нмоль/г тк	T ₄ , нмоль/г тк	ТТГ, мМед/г тк
Интактные животные					
Интактная железа	0,84±0,06	3,02±0,25	0,35±0,03	3,88±0,2	0,1±0,007
Контроль (боль)	3,46±0,32 ¹	10,2±0,9 ¹	1,4±1,2 ¹	1,1±0,8 ¹	0,01±0,001 ¹
1-я неделя роста меланомы B16/F10					
Сравнения	1,32±0,09 ¹	3,27±0,27	0,56±0,04 ¹	5,1±0,43 ¹	0,047±0,002 ¹
Основная	2,16±0,2 ^{1,2}	5,4±0,47 ^{1,2}	0,4±0,035 ²	1,1±0,1 ¹	0,02±0,0015 ^{1,2}
2-я неделя роста меланомы B16/F10					
Сравнения	0,21±0,01 ^{1,2}	0,82±0,06 ^{1,2}	0,21±0,01 ^{1,2}	4,61±0,44	0,045±0,003 ¹
Основная	1,5±0,14 ^{1,2,3}	5,9±0,48 ^{1,2}	0,6±0,05 ^{1,2,3}	1,6±0,14 ^{1,2,3}	0,01±0,001 ^{1,3}
3-я неделя роста меланомы B16/F10					
Сравнения	0,18±0,01 ¹	0,69±0,04 ^{1,3}	0,22±0,02 ¹	4,5±0,28	0,05±0,003 ¹
Основная	1,2±0,10 ^{1,2,3}	5,7±0,52 ^{1,2}	0,7±0,06 ^{1,2}	1,5±0,12 ^{1,2}	0,01±0,001 ¹

Примечание. Достоверные отличия по сравнению: ¹ – с интактной железой; ² – с контролем; ³ – с предыдущим сроком исследования, p<0,05.

При этом оказалось, что у мышей с хроническим болевым синдромом (контрольная группа) изменения функциональной активности ЩЖ сопровождались существенным (в 4,9 раза) снижением весового коэффициента органа по сравнению с показателями у интактных животных (табл. 2). Несмотря на то что орган существенно уменьшился под влиянием болевого синдрома, синтетическая активность его клеток оставалась на уровне интактных животных, и снижение уровня тироксина, вероятно, было обусловлено именно снижением массы органа.

Через 1 неделю после перевивки меланомы B16/F10 у мышей основной группы уровень общего тироксина в ЩЖ не изменился, однако снизилась концентрация общего T₃ в 3,5 раза и свободных форм FT4 – в 1,9 раза и FT3 – в 1,6 раза на фоне повышения ТТГ в 2 раза по сравнению с исходными показателями. Следует отметить, что по сравнению с нормой уровень T₄ оставался сниженным в 3,5 раза, ТТГ – в 5 раз, содержание T₃ в органе достоверно не отличалось, а FT4 и FT3 превышали показатели у интактных животных в 1,8 и 2,6 раза соответственно.

Таблица 2

Изменение весовых коэффициентов ЩЖ и соотношения вырабатываемого T4 к массе ЩЖ у самок мышей с меланомой B16/ F10 и меланомой, сочетанной с хронической болью, у.е.·10⁻⁴ / Changes in weight coefficients of the thyroid gland (SU·10⁻⁴) and the thyroxin to thyroid mass ratio (SU) in female mice with B16/F10 melanoma with and without chronic pain

Группа	Весовой коэффициент ЩЖ, у.е. ·10 ⁻⁴	Масса ЩЖ, мг	T4/масса ЩЖ, у.е.
Интактные	12,9±0,82	28,3±1,97	0,14±0,013
Контроль с болью	2,63±0,24 ¹	6,0±0,54 ¹	0,18±0,02
Основная (B16/F10+боль)			
1-я неделя	7,94±0,43 ^{1,2}	17,7±1,2 ^{1,2}	0,062±0,005 ^{1,2}
2-я неделя	7,21±0,78 ^{1,2}	15,8±1,4 ^{1,2}	0,098±0,007 ^{1,2,3}
3-я неделя	8,78±0,86 ^{1,2}	18,3±1,5 ^{1,2}	0,082±0,006 ^{1,2}
Сравнения (B16/F10)			
1-я неделя	10,64±1,0	20,8±2,0 ¹	0,25±0,018 ¹
2-я неделя	6,1±0,7 ^{1,3}	14,3±1,2 ^{1,3}	0,32±0,024 ^{1,3}
3-я неделя	9,17±0,55 ^{1,3}	18,5±1,7 ^{1,3}	0,24±0,021 ^{1,3}

Примечание. Достоверные отличия по сравнению: ¹ – с интактной железой; ² – с контролем; ³ – с предыдущим сроком исследования, p<0,05.

Весовой коэффициент ЩЖ через одну неделю после перевивки опухоли у самок из основной группы вырос в 3 раза по сравнению с исходным уровнем, однако оставался в 1,6 раза ниже, чем в норме. Несмотря на тот факт, что весовой коэффициент существенно увеличился, синтетическая активность органа, выражавшаяся в соотношении содержания Т3 к массе ЩЖ, снизилась в 2,9 раза по сравнению с исходным фоном. У животных группы сравнения через неделю после перевивки опухоли в ЩЖ отмечена совершенно другая динамика изменения активности. Уровень Т4 и Т3, а также FT3 возросли в 1,3, в 1,6 и в 1,6 раза соответственно на фоне снижения в 2,1 раза ТТГ. При этом достоверно значимых изменений весовых коэффициентов ЩЖ не установлено, а синтетическая активность железы возросла в 1,8 раза.

Через 2 недели роста меланомы у животных основной группы установлено повышение содержания Т4 в ЩЖ в 1,4 раза по сравнению с предыдущим и исходным этапами; в 1,5 раза вырос уровень Т3, не изменилась концентрация FT4, но снизилась в 1,4 раза FT3. Содержание ТТГ в ЩЖ при этом снизилось в 2 раза. Весовой коэффициент органа оставался таким же, как и на предыдущем этапе эксперимента, будучи в 1,8 раза ниже нормы: синтетическая активность органа повысилась по сравнению с предыдущим этапом в 1,6 раза, оставаясь ниже исходных значений в 1,8 раза.

У мышей в группе сравнения через 2 недели после перевивки меланомы B16/F10, несмотря на то что содержание Т4 и ТТГ не отличалось от предыдущего этапа, снизился уровень Т3 в 2,7, FT4 – в 4, FT3 – в 6,3 раза. Следует отметить, что через 2 недели эксперимента установлено значимое снижение весового коэффициента органа в 2,1 раза по сравнению с нормой и в 1,7 – по сравнению с предыдущим этапом исследования, но синтетическая активность повысилась в 2,3 раза, что и позволило удерживать содержание Т4 в норме.

Через 3 недели эксперимента у животных основной группы не установлено достоверно значимых изменений содержания ТТГ, Т4, Т3 и FT4, однако уровень FT3 снизился в 1,3 раза по сравнению с предыдущим этапом исследования. Весовой коэффициент достоверно не изменился по сравнению со 2-й неделей эксперимента, превышая исходный фон в 3,3 раза, но ниже нормы в 1,5 раза. Одновременно выявлена недостаточная синтетическая активность, сниженная в 2,2 раза на последнем этапе эксперимента.

В группе сравнения уровень исследованных гормонов не отличался от предыдущих показателей, демонстрируя low3/low4-синдром – недостаточность свободных форм тиреоидных гормонов,

не контролируемая ТТГ, однако в 1,5 раза вырос весовой коэффициент органа с повышенной синтетической активностью ткани – в 1,7 раза выше нормы.

Обсуждение

Предполагается, что хроническое стрессорное воздействие, к которому можно отнести и хроническую боль, приводит к угнетению и ослаблению тиреоидной функции ЩЖ [13]. Однако экспериментальные исследования свидетельствуют о возможности разнонаправленного изменения функциональной активности ГТТ-оси, что, вероятно, зависит как от типа, так и от продолжительности стрессорного воздействия. И.В. Городецкая с соавт. в эксперименте с крысами показала, что хронический стресс, моделируемый длительным содержанием большого количества животных в клетках малого размера, приводит к снижению уровня Т4 в крови без повышения ТТГ [14]. При этом введение экзогенного Т4 позволяет улучшить состояние экспериментальных животных, повысить их физическую выносливость и снизить возможность их гибели при хроническом стрессе. Кроме того, хроническое стрессовое воздействие вызывает изменение относительной массы органов – маркеров стресса [14]. А.М. Менджеричкий с соавт. [15] установил, что болевой стресс вызывает фазные изменения концентрации тиреоидных гормонов в крови: в начальный период возрастает уровень Т4 и Т3, затем Т4 снижается, а Т3 остается повышенным.

Все перечисленные исследования тиреоидных гормонов проводили в крови. Работ, посвященных исследованию синтетической активности самой ЩЖ при различных патологических и физиологических процессах, практически нет. В этой связи полученные нами результаты прежде всего указывают на изменение функциональной активности ЩЖ при хроническом стрессорном воздействии, каким является хроническая боль. Фолликулы ЩЖ окружены густой сетью капилляров, на которых оканчиваются норадренергические волокна верхнего шейного ганглия, а также волокна блуждающего нерва и щитовидных ганглиев, что вызывает ответную реакцию органа на нейрогенную боль. Хронический болевой синдром оказал существенное, но не однозначное влияние на функциональную активность ЩЖ. С одной стороны, установлен высокий уровень свободных форм тиреоидных гормонов и общей формы Т3 в ЩЖ на фоне низкого содержания ТТГ, с другой – существенное снижение содержания основного продукта ЩЖ – Т4 на фоне уменьшения весового коэффициента органа при отсутствии изменения синтетической активности

ткани, что может указывать на истощение и/или угнетение тиреоидной функции. Следует отметить, что очевидно высокий уровень FT4 и FT3 в фолликулярной ткани ЩЖ по принципу обратной связи регулировал содержание ТТГ, снижая его концентрацию. В результате этого синтез Т4 железой блокировался. Кроме того, возможно, высокие концентрации FT4 и FT3 непосредственно в ЩЖ, а не в органах мишенях, способны стимулировать аутоиммунные процессы, аналогичные тиреоидиту Хашимото. Одним из подтверждений этого предположения может служить существенное уменьшение весового коэффициента ЩЖ у мышей с хроническим болевым синдромом. Существуют косвенные клинические доказательства, подтверждающие гипотезу о том, что хронический стресс может влиять на проявление аутоиммунных заболеваний ЩЖ [16, 17].

Рост злокачественной перевивной меланомы у самок мышей на фоне хронического болевого синдрома повлиял на активность ЩЖ иным образом, нежели в группе сравнения. У мышей с хроническим болевым синдромом в динамике роста меланомы B16/F10, несмотря на повышение весового коэффициента органа, синтетическая активность клеток ЩЖ снизилась, проявляясь недостаточностью выработки Т4. При этом, несмотря на снижение концентрации свободных форм тиреоидных гормонов в ЩЖ, у мышей основной группы в динамике роста меланомы их уровень все равно превышал норму.

Ранее нами было установлено, что рост меланомы оказывает существенное влияние на локальный и периферический синтез тиреоидных гормонов и зависит от пола животных [18, 19]. У мышей группы сравнения установлено, начиная со второй недели эксперимента, снижение свободных форм тиреоидных гормонов и Т3, неконтролируемое ТТГ на фоне нормальной продукции Т4, т.е. low3/low4-синдром. Весовой коэффициент ЩЖ достоверно значимо снижался со 2-й недели роста меланомы, при этом синтетическая активность органа повышалась.

Можно предположить, что изменения функциональной активности и удельного веса ЩЖ под влиянием хронического болевого синдрома могли быть не только одним из важных моментов стимуляции опухолевого процесса в ходе перевивки меланомы B16/F10, но и одномоментной попыткой формирования противоопухолевой резистентности организма. У мышей основной группы подкожные опухоли появлялись уже через одну неделю после перевивки, а средняя продолжительность жизни составила $19,17 \pm 1,35$ дня, максимальная – 24. В группе сравнения подкожные опухоли появились на 12÷14-й день, средняя продолжительность жизни

составила $30,25 \pm 1,67$ дня: первая смерть наступила на 24-е сут, максимальный срок жизни – 36 дней. Кроме того, у мышей из основной группы меланомы B16 вела себя более агрессивно, поскольку метастазировала чаще, иногда в несколько органов, и имела нетипичные для себя зоны метастазирования. Метастазы у мышей основной группы регистрировались уже через неделю после перевивки, а у мышей из группы сравнения – через 4 недели. У мышей основной группы опухоль метастазировала, кроме типичных мест – в печень, селезенку и легкие, ещё и в нетипичные: сердце, матку. В предтерминальном состоянии мыши из основной группы регистрировались уже на 1-й неделе после перевивки; с развитием процесса их относительное количество увеличивалось. В группе сравнения в предтерминальном состоянии мыши регистрировались только с 3-й недели. Имеются данные о том, что высокий уровень тиреоидных гормонов сокращал выживаемость у экспериментальных животных с меланомой, тогда как относительный гипотиреоз играл защитную роль [20]. Подобный эффект гипертиреозного влияния связывают с системным провоспалительным и проонкогенным действием тиреоидных гормонов. Предполагают, что длительный гипертиреоз может способствовать хронической воспалительной реакции, которая делает клетки более восприимчивыми к малигнизации [21]. Эпидемиологические исследования клинических наблюдений продемонстрировали, что эпизод гипертиреоза в анамнезе больных увеличивает риск развития рака яичников, легких, поджелудочной, молочной и предстательной желез. Кроме того, гипертиреоз, в том числе и субклинический, является независимым прогностическим фактором ответа на лечение и риск развития рецидива заболевания [22]. Таким образом, хронический болевой синдром оказывает существенное влияние на функциональную активность ЩЖ, способствуя изменению баланса тиреоидных гормонов в сторону преобладания активных свободных форм на фоне резкого снижения весового коэффициента железы, за счет чего снижается продукция основного продукта – Т4. В результате этого перевивка меланомы животным с изменённым тиреоидным статусом приводит к более раннему «выходу», раннему метастазированию, зачастую в нетипичные органы, и, как результат, повышенной агрессивности – меньшему сроку жизни животных. Полученные экспериментальные результаты свидетельствуют о модифицирующем влиянии коморбидных состояний на течение онкологического процесса с возможностью ускорения «естественной истории развития опухоли» и формирования премеататических ниш для злокачественных клеток.

Литература

1. Aloisi A.M., Water S., Buonocore M. Pain and thyroid hormones // *Neurol Sci.* 2013. Vol. 34 (9). P. 1501–1508. DOI 10.1007/s10072-013-1440-7.

2. Hoermann R., Midgley J.E., Larisch R., Dietrich J.W. Homeostatic control of the thyroid-pituitary axis: perspectives for diagnosis and treatment // *Front Endocrinol.* 2015. Vol. 6. P. 177. DOI 10.3389/fendo.2015.00177.

3. Da Costa M.A., Trentini C.A., Shafranski M.D., Pipino O., Gomez R.Z., dos Santos R.E.S. Factors associated with the development of chronic pain after a stentotomy: a study using random control // *Braz. J. Cardiovasc Surg.* 2015. Vol. 30 (5). P. 552–556. DOI 10.5935/1678-9741.20150059. PMID PMC4690660.

4. Goede S.L., Leow M.K., Smit J.W., Klein H.H., Dietrich J.W. Hypothalamus-pituitary-thyroid feedback control: implications of mathematical modeling and consequences for thyrotropin (TSH) and free thyroxine (FT4) reference ranges // *Bull. Math. Biol.* 2014. Vol. 76 (6). P. 1270–1287. DOI 10.1007/s11538-014-9955-5.

5. Hoermann R., Larisch R., Dietrich J.W., Midgley J.E. Derivation of a multivariate reference range for pituitary thyrotropin and thyroid hormones: diagnostic efficiency compared with conventional single-reference method // *Eur. J. Endocrinol.* 2016. Vol. 174 (6). P. 735–743. DOI 10.1530/EJE-16-0031.

6. Fliers E., Bianco A.C., Langouche L., Boelen A. Thyroid function in critically ill patients // *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015. Vol. 3 (10). P. 816–825. DOI 10.1016/S2213-8587(15)00225-9.

7. Hoermann R., Cheung A.S., Milne M., Grossmann M. Hypothalamic-pituitary-thyroid axis set point alterations are associated with body composition in androgen deprived men // *J. Endocr. Soc.* 2017. Vol. 10. DOI 1210/js.2017-00057.

8. Nishioka K., Uchida T., Usui C., Tanaka R., Matsushima T., Matsumoto Y., Nakamura I., Nishioka K., Hattori No. High prevalence of antibodies against TSH-receptor in the syndrome of fibromyalgia // *Int. J. Rheum Dis.* 2017. Vol. 20 (6). P. 685–690. DOI 10.1111/1756-185X.12964.

9. Ness R.B., Grisso J.A., Cottreau C. Factors related to inflammation of the ovarian epithelium and risk of ovarian cancer // *Epidemiology.* 2000. Vol. 11. P. 111–117.

10. Верескунова М.И. Эндокринно-метаболические механизмы развития гиперпластических процессов органов женской репродуктивной системы в пери- и постменопаузе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов н/Д., 2011. 25 с.

11. Козлова М.Б., Франциянц Е.М., Салатова А.М., Комарова Е.Ф., Погорелова Ю.А. Первичные опухоли и их метастазы в головной мозг: особенности влияния на системный статус тиреоидных гормонов и кортизола // *Фундаментальные исследования.* 2014. Т. 7 (1). С. 81–86.

12. Angelousi A.G., Anagnostou V.K., Stamatacos M.K. Primary Hypothyroidism and risk for breast cancer: A systematic review and meta-analysis // *Eur. J. Endocrinol.* 2011. E11-11-0838.

13. Ясенявская А.Л., Рябыкина Н.В. Влияние иммобилизационного стресса и антиоксидантов на тиреоидную функцию на разных этапах онтогенеза // *Естественные науки.* 2009. № 4. С. 132–140.

14. Городецкая И.В., Корневская Н.А. Влияние тиреоидного статуса на интенсивность стресс-синдрома при хроническом стрессовом воздействии // *Вестн. ВГМУ.* 2010. Вып. 9 (4). С. 24–33.

15. Менджерцки А.М., Белякова Е.И. Адренкортикальная и тиреоидная системы крыс в начальный период ноцицептивного воздействия // *Рос. физиол. журн.* 2005. Вып. 6. P. 611–615.

16. Chrousos G.P. Stress and disorders of the stress system // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2009. Vol. 5 (7). P. 374–381. DOI 10.1038/nrendo.2009.106.

17. Tsatsoulis A. The role of stress in the clinical expression of thyroid autoimmunity // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006. Vol. 1088. P. 382–395. PMID 17192582. DOI 10.1196/annals.1366.015.00.

18. Кут О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Черярина Н.Д. Половые различия функционирования щитовидной железы в динамике роста перевивной меланомы B16/F10 у мышей // *Рос. онкол. журн.* 2016. Вып. 21 (5). С. 253–258.

19. Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Трештаки Л.К., Черярина Н.Д., Димитриади С.Н., Пржедецки Ю.В. Влияние роста перевивной меланомы B16/F10 на функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и тиреоидной осей организма у самцов и самок мышей // *Изв. вузов. Сев.-Кавк. регион. Естеств. науки.* 2017. № 3-2. С. 118–124.

20. Fabian I.D., Rosner M., Fabian I., Vishnevskia-Dai V., Zloto O., Shinderman Maman E., Cohen K., Ellis M., Lin H.Y., Herbergs A., Davis P.J., Ashur-Fabian O. Low thyroid hormone levels improve survival in murine model for ocular melanoma // *Oncotarget.* 2015. Vol. 6 (13). P. 11038–46.

21. Глушаков Р.И., Козырко Е.В., Соболев И.В., Ермолова С.А., Власева О.В., Кузин А.А., Татильская Н.И. Заболевания щитовидной железы и риск возникновения нетиреоидной патологии // *Казанский мед. журн.* 2017. Вып. 98 (1). С. 77–84.

22. Hellevik A.I., Asvold B.O., Bjoro T. Thyroid function and cancer risk: a prospective population study // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009. Vol. 18 (2). P. 570–574.

References

1. Aloisi A.M., Water S., Buonocore M. Pain and thyroid hormones. *Neurol Sci.* 2013, vol. 34 (9), pp. 1501-1508. DOI 10.1007/s10072-013-1440-7.

2. Hoermann R., Midgley J.E., Larisch R., Dietrich J.W. Homeostatic control of the thyroid-pituitary axis: perspectives for diagnosis and treatment. *Front Endocrinol.* 2015, vol. 6, p. 177. DOI 10.3389/fendo.2015.00177.

3. Da Costa M.A., Trentini C.A., Shafranski M.D., Pipino O., Gomez R.Z., dos Santos R.E.S. Factors associated with the development of chronic pain after a stentotomy: a study using random control. *Braz. J. Cardiovasc Surg.* 2015, vol. 30 (5), pp. 552-556. DOI 10.5935/1678-9741.20150059. PMID PMC4690660.

4. Goede S.L., Leow M.K., Smit J.W., Klein H.H., Dietrich J.W. Hypothalamus-pituitary-thyroid feedback control: implications of mathematical modeling and consequences for thyrotropin (TSH) and free thyroxine (FT4) reference ranges. *Bull. Math. Biol.* 2014, vol. 76 (6), pp. 1270-1287. DOI 10.1007/s11538-014-9955-5.

5. Hoermann R., Larisch R., Dietrich J.W., Midgley J.E. Derivation of a multivariate reference range for pituitary thyrotropin and thyroid hormones: diagnostic efficiency compared with conventional single-reference method. *Eur. J. Endocrinol.* 2016, vol. 174 (6), pp. 735-743. DOI 10.1530/EJE-16-0031.

6. Fliers E., Bianco AC., Langouche L., Boelen A. Thyroid function in critically ill patients. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015, vol. 3 (10), pp. 816-825. DOI 10.1016/S2213-8587(15)00225-9.
7. Hoermann R., Cheung A.S., Milne M., Grossmann M. Hypothalamic-pituitary-thyroid axis set point alterations are associated with body composition in androgen deprived men. *J. Endocr. Soc.* 2017, vol. 10. DOI 1210/js.2017-00057.
8. Nishioka K., Uchida T., Usui C., Tanaka R., Matsushima T., Matsumoto Y., Nakamura I., Nishioka K., Hattori No. High prevalence of antibodies against TSH-receptor in the syndrome of fibromyalgia. *Int. J. Rheum Dis.* 2017, vol. 20 (6), pp. 685-690. DOI 10.1111/1756-185X.12964.
9. Ness R.B., Grisso J.A., Cotreau C. Factors related to inflammation of the ovarian epithelium and risk of ovarian cancer. *Epidemiology.* 2000, vol. 11, pp. 111-117.
10. Vereskunova M.I. *Endokrinno-metabolicheskie mekhanizmy razvitiya giperplasticheskikh protsessov organov zhenskoi reproduktivnoi sistemy v peri- i postmenopauze*: avtoref. dis. ... kand. med. nauk [Endocrine-metabolic mechanisms of the development of hyperplastic processes in the organs of the female reproductive system in peri- and post-menopause]. Rostov-on-Don, 2011, 25 p.
11. Kozlova M.B., Frantsiyants E.M., Salatova A.M., Komarova E.F., Pogorelova Yu.A. Pervichnye opukholi i ikh metastazy v golovnoi mozg: osobennosti vliyaniya na sistemnyi status tireoidnykh gormonov i kortizola [Primary tumors and their metastases in the brain: features of the effect on the systemic status of thyroid hormones and cortisol]. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2014, vol. 7 (1), pp. 81-86.
12. Angelousi A.G., Anagnostou V.K., Stamatacos M.K. Primary Hypothyroidism and risk for breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Endocrinol.* 2011. EJL-11-0838.
13. Yasenyavskaya A.L., Ryabykina N.V. Vliyanie immobilizatsionnogo stressa i antioksidantov na tireoidnyuyu funktsiyu na raznykh etapakh ontogeneza [Influence of immobilization stress and antioxidants on the thyroid function at different stages of ontogenesis]. *Estestvennye nauki.* 2009, No. 4, pp. 132-140.
14. Gorodetskaya I.V., Korenevskaya N.A. Vliyanie tireoidnogo statusa na intensivnost' stress-sindroma pri khronicheskom stressovom vozdeistvii [Influence of the thyroid status on the intensity of the stress syndrome under chronic stress influence]. *Vestn. VGMU.* 2010, iss. 9 (4), pp. 24-33.
15. Mendzheritskii A.M., Belyakova E.I. Adrenokortikal'naya i tireoidnaya sistemy krysa v nachal'nyi period notsitseptivnogo vozdeistviya [Adrenocortic and thyroid systems of rats in the initial period of nociceptive exposure]. *Ros. fiziol. zhurn.* 2005, iss. 6, pp. 611-615.
16. Chrousos G.P. Stress and disorders of the stress system. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2009, vol. 5 (7), pp. 374-381. DOI 10.1038/nrendo.2009.106.
17. Tsatsoulis A. The role of stress in the clinical expression of thyroid autoimmunity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006, vol. 1088, pp. 382-395. PMID 17192582. DOI 10.1196/annals.1366.015.00.
18. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Cheryarina N.D. Polovye razlichiya funktsionirovaniya shchitovidnoi zhelezy v dinamike rosta perevivnoi melanomy V16/F10 u myshei [Sexual differences in the functioning of the thyroid gland in the dynamics of growth of the inoculated melanoma B16/F10 in mice]. *Ros. onkol. zhurn.* 2016, iss. 21 (5), pp. 253-258.
19. Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Dimitriadi S.N., Przhedetskii Yu.V. Vliyanie rosta perevivnoi melanomy V16/F10 na funktsionirovanie gipotalamo-gipofizarno-nadpochechnikovoi i tireoidnoi osei organizma u samtsov i samok myshei [Influence of growth of the inoculated melanoma B16 / F10 on the functioning of the hypothalamic-pituitary-adrenal and thyroid axis of the organism in males and female mice]. *Izv. vuzov. Sev.-Kavk. region. Estestv. nauki.* 2017, No. 3-2, pp. 118-124.
20. Fabian I.D., Rosner M., Fabian I., Vishnevskia-Dai V., Zloto O., Shinderman Maman E., Cohen K., Ellis M., Lin H.Y., Hercbergs A., Davis P.J., Ashur-Fabian O. Low thyroid hormone levels improve survival in murine model for ocular melanoma. *Oncotarget.* 2015, vol. 6 (13), pp. 11038-11046.
21. Glushakov R.I., Kozyrko E.V., Sobolev I.V., Ermolova S.A., Vlas'eva O.V., Kuzin A.A., Tapil'skaya N.I. Zabolevaniya shchitovidnoi zhelezy i risk vozniknoveniya netireoidnoi patologii [Diseases of the thyroid gland and the risk of non-thyroid pathology]. *Kazanskii med. zhurn.* 2017, iss. 98 (1), pp. 77-84.
22. Hellevik A.I., Asvold B.O., Bjoro T. Thyroid function and cancer risk: a prospective population study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009, vol. 18 (2), pp. 570-574.

УДК 577.21:616.34-006.6

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-84-95

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ В ТКАНЯХ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ С МЕТАСТАЗАМИ И БЕЗ МЕТАСТАЗОВ

© 2017 г. Д.С. Кутилин¹, О.И. Кит¹, Д.И. Водолажский¹, А.В. Шапошников¹, Н.В. Николаева¹, Д.В. Бурцев², Е.А. Дженкова¹, А.А. Маслов¹, М.Н. Дурицкий¹, Ю.А. Фоменко¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия,

²Областной консультативно-диагностический центр, Ростов-на-Дону, Россия

PECULIARITIES OF PROTEOM PROFILE IN TISSUES OF PATIENTS WITH METASTATIC AND NON-METASTATIC COLORECTAL CANCER

D.S. Kutilin¹, O.I. Kit¹, D.I. Vodolazhsky¹, A.V. Shaposhnikov¹, N.V. Nikolaeva¹, D.V. Burtsev², E.A. Dzhenkova¹, A.A. Maslov¹, M.N. Duritskiy¹, Yu.A. Fomenko¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia,

²Regional Consultative and Diagnostic Center, Rostov-on-Don, Russia

Кутилин Денис Сергеевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: k.denees@yandex.ru

Denis S. Kutilin - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: k.denees@yandex.ru

Кит Олег Иванович – доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Oleg I. Kit - Doctor of Medicine, Professor, General Director, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Водолажский Дмитрий Игоревич – кандидат биологических наук, руководитель лаборатории молекулярной онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Dmitry I. Vodolazhsky - Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Шапошников Александр Васильевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, отделение общей онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Alexander V. Shaposhnikov - Doctor of Medicine, Professor, Main Researcher, General Oncology Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Николаева Надежда Владимировна – доктор медицинских наук, врач-гематолог, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Nadezhda V. Nikolaeva - Doctor of Medicine, Hematologist, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Бурцев Дмитрий Владимирович – доктор медицинских наук, главный врач, Областной консультативно-диагностический центр, ул. Пушкинская, 127, г. Ростов-на-Дону, 344000, Россия, e-mail: dr-burtsev@mail.ru

Dmitry V. Burtsev - Doctor of Medicine, Chief Physician, Regional Consultative and Diagnostic Center, Pushkinskaya St., 127, Rostov-on-Don, 344000, Russia, e-mail: dr-burtsev@mail.ru

Дженкова Елена Алексеевна – доктор биологических наук, доцент, ученый секретарь, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: enikipelova@mail.ru

Elena A. Dzhenkova - Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Scientific Secretary, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: enikipelova@mail.ru

Маслов Андрей Александрович – доктор медицинских наук, профессор, главный врач, руководитель отделения абдоминальной онкологии № 3, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: maslov.36@mail.ru

Andrey A. Maslov - Doctor of Medicine, Professor, Chief Physician, Head of Department of Abdominal Oncology No. 3, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: maslov.36@mail.ru

Дурицкий Максим Николаевич – заведующий консультативно-диагностическим отделением, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: Duritskimaxim75@mail.ru

Maksim N. Duritskiy - Head of Consultative and Diagnostic Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: Duritskimaxim75@mail.ru

Фоменко Юрий Александрович – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по клинико-экспертной работе, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Yuriy A. Fomenko - Candidate of Medicine, Deputy Chief Physician for Clinical Expertise, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Цель – поиск протеомных информативных биомаркеров колоректального рака у пациентов с метастазами и без, которые затем могут применяться в рутинных гистохимических исследованиях.

Методы. Для исследования использовали ткани (опухолевые и условно здоровые) 20 пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом «аденокарцинома толстой кишки»: 10 пациентов с метастазами и 10 – без. Экстракцию белков из свежемороженых тканей проводили с применением набора Panorama Antibody Microarray – Cell Signaling Kit (Sigma, США). Для маркировки белков использовали красители Cy3 и Cy5; маркированную белковую пробу наносили на микрочип (слайд с моноклональными антителами), содержащий 224 антитела, нанесенные на нитроцеллюлозное покрытие в двух повторностях, плюс положительный контроль (Cy3- и Cy5-конъюгированные с БСА) и немеченый БСА-отрицательный контроль (512 точек (спотов) на слайд). Далее слайды сканировали на сканере для микрочипов GenePix 4100A (Molecular Devices, США) и обрабатывали с использованием программного обеспечения для анализа изображений GenePix™ Pro 6.0. Применяли два метода нормализации: смена красителя и по референсным белкам (актин). Рассчитывались частоты встречаемости у пациентов с повышенной или пониженной экспрессией белка; проводился статистический анализ с использованием критерия χ^2 и Манна – Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты. В опухолевой ткани больных колоректальным раком с метастазами обнаружено достоверное ($p < 0,05$) увеличение экспрессии белков c-тус, SMAD4, PCAF, Adaptin b1+b2, FAK Phospho (pY577), PKC g, Phospho-Pyk2 (pY579/580) по сравнению с условно нормальной тканью кишки. В опухолевой ткани у 50 % пациентов с метастазами обнаружено увеличение экспрессии белка c-тус, PKC g, Phospho-Pyk2 (pY579/580) относительно нормальной ткани, у 40 – повышение экспрессии белка FAK Phospho (pY577); у 33 – повышение экспрессии белков Phospho-DAPK (pS308), Cdk6, Cyclin D3, SMAD4, HAT1 (Histone acetyltransferase), PCAF, Adaptin b1+b2, Cytokeratin per, Ezrin в 2,5 раза, NAK, PKC b в опухолевой ткани относительно нормальной.

В опухолевой ткани пациентов без метастазов обнаружено достоверное ($p < 0,05$) увеличение экспрессии NGFR p75 и Phospho-Ta (pS199/202, у 50 % пациентов без метастазов – увеличение экспрессии NGFR p75 и Phospho-Pyk2; у 43 – увеличение экспрессии белков p14 arf и Cytokeratin per 7 относительно нормальной ткани, у 50 – снижение экспрессии белков b-Synuclein (PNP-14), FAK Phospho (pY577), PKC b и Phospholipase C g1 относительно нормальной ткани.

Выводы.

1. Протеомный профиль значительно отличается в опухолевых тканях больных с метастазами и без: обнаружено изменение экспрессии 30 белков, дифференциальное в каждой группе пациентов.

2. Выявлены кластеры протеомных маркеров, обладающих высоким потенциалом для прогнозирования течения заболевания (с метастазами или без): PKC g и b, c-тус, FAK, NGFR p75, b-Synuclein, Phospholipase C, SMAD4, Cdk6, Cyclin D3 и DAPK.

Ключевые слова: протеомный профиль, аденокарцинома толстой кишки, метастазы, онкомаркеры.

Aim – search for proteomic informative biomarkers of colorectal cancer in patients with and without metastases, which can then be used in routine histochemical studies.

Methods. Tissues (tumor and non-tumor) of 20 patients with histologically confirmed diagnosis of colon adenocarcinoma (10 patients with metastases and 10 patients without) were used for the study. Extraction of proteins from fresh-frozen tissues was carried out using the Panorama Antibody Microarray-Cell Signaling Kit (Sigma, USA). For marking of proteins were used dyes Cy3 and Cy5. The marked protein sample was applied to a microchip (slide with monoclonal antibodies) containing 224 antibodies applied to a nitrocellulose coating in duplicate plus positive control (Cy3 and Cy5 conjugated to BSA) and unlabeled BSA negative control (512 points (spots) per slide). Next, the slides were scanned on a GenePix 4100A microarray scanner (Molecular Devices, USA) and processed using the GenePix™ Pro 6.0 image analysis software. Two methods of normalization were used: the change of the dye and the reference proteins (actin). The frequencies of occurrence in patients with increased or decreased expression of the protein were calculated and statistical analysis was performed using the χ^2 and Mann-Whitney test for a threshold level of statistical significance $p < 0.05$.

Results. In tumor tissue of patients with colorectal cancer with metastases, a significant ($p < 0.05$) increase in the expression of c-myc, SMAD4, PCAF, Adaptin b1 + b2, FAK Phospho (pY577), PKCg, Phospho-Pyk2 (pY579 / 580) with conventionally normal tissue was found. In tumor tissue, an increase in the expression of the protein c-myc, PKCg, Phospho-Pyk2 (pY579 / 580) with respect to normal tissue was found in 50 % of patients with metastases. An increase in the expression of FAK Phospho protein (pY577) was found in 40 % of patients. In 33 % of patients, the expression of Phospho-DAPK (pS308), Cdk6, Cyclin D3, SMAD4, HAT1 (Histone acetyltransferase), PCAF, Adaptin b1 + b2, Cytokeratin pep, Ezrin 2.5 times, NAK, PKC b in tumor tissue relatively normal.

In the tumor tissue of patients without metastases, a significant ($p < 0.05$) increase in the expression of NGFR p75 and Phospho-Ta (pS199 / 202) was detected. In tumor tissue, an increase in NGFR expression of p75 and Phospho-Pyk2 was detected in 50 % of patients without metastases, 43% of patients showed an increase in expression of p14 arf and Cytokeratin pep 7 proteins relative to normal tissue, 50 % of patients showed a decrease in the expression of b-Synuclein proteins (PNP -14), FAK Phospho (pY577), PKC b and Phospholipase C g1 relative to normal tissue.

Conclusions

1. The proteome profile differs significantly in tumor tissues of patients with and without metastases: a change in the expression of 30 proteins, a differential in each group of patients, is found.

2. Clusters of proteomic markers with high potential for predicting the course of the disease (with or without metastases) have been identified: PKC g and b, c-myc, FAK, NGFR p75, b-Synuclein, Phospholipase C, SMAD4, Cdk6, Cyclin D3 and DAPK.

Keywords: proteomic profile, colon adenocarcinoma, metastasis, tumor markers.

Введение

Колоректальный рак (КРР) – наиболее распространенный тип неоплазии в развитых странах и второй – по причине смерти среди раковых заболеваний. За последние 20 лет в мире число смертей от данной патологии увеличилось с 490 000 до 715 000 в год, при этом ежегодно во всем мире более чем у 1 млн человек диагностируется КРР [1, 2].

Летальность от этого заболевания довольно высока по причине поздней диагностики. Она достигает 40 % в течение года с момента выявления болезни. Наиболее частым органом, в который метастазирует КРР, является печень, что обусловлено особенностями венозного оттока от кишечника, который осуществляется через систему воротной вены печени. Метастазы в печени при КРР обнаруживаются у 50 % пациентов [3, 4].

КРР хорошо охарактеризован с генетической точки зрения [1, 5, 6]: это относительно медленный процесс, который требует нескольких последовательных мутаций в опухолевых клетках и занимает десятилетия, чтобы развиться полностью. Но, несмотря на знание о генетических событиях, которые необходимы для развития КРР, данные о белковых биомаркерах весьма скудны. Системы диагностики КРР в настоящее время основаны на результатах гистологических исследований, поэтому большинство опухолей обнаруживается уже на поздних стадиях, что приводит к снижению выживаемости. Генетические исследования КРР на основе анализа ДНК микрочипов не дали новых инструментов для его классификации или усовершенствованного прогнозирования [7].

Многочисленные изменения генов и белков связаны с каждым типом рака. Эти изменения могут рассматриваться в качестве биомаркеров и быть полезны в диагностике, определении прогноза и

мониторинга развития заболевания (лимфогенного и отдаленного метастазирования). К сожалению, поиск новых опухолевых маркеров – непростая задача. Описаны только 10 белков, которые эффективно используют в качестве маркеров (например, prostate-специфический антиген, карциноэмбриональный антиген и СА125) [8]. Но и они показывают отсутствие высокой чувствительности или обладают высокими показателями ложных срабатываний.

Таким образом, новые инструменты и стратегии необходимы для улучшения этой ситуации. Протеомные исследования в целом и использование белковых микрочипов в частности являются очень привлекательной стратегией для скрининга новых высокоспецифичных биомаркеров, позволяющих улучшить прогнозирование течения заболевания.

Цель исследования – поиск протеомных информативных биомаркеров КРР у пациентов с метастазами и без, которые затем могут быть использованы в рутинных гистохимических исследованиях.

Материалы и методы

Клиническим материалом для исследования послужили ткани (опухолевые и условно здоровые) 20 пациентов Юга России с гистологически подтвержденным диагнозом «аденокарцинома толстой кишки» (стадия дифференцировки G2): 10 пациентов с метастазами и 10 пациентов – без. Образцы тканей получены в процессе хирургического вмешательства в Ростовском научно-исследовательском онкологическом институте (РНИОИ) в 2014 г. Для верификации образцов тканей проводилось стандартное патолого-морфологическое исследование с окрашиванием фиксированных срезов гематоксилин-эозином. Биоптаты тканей после проведения патолого-морфологического исследования раздели-

ли на две группы: опухолевые (малигнизированные) и контрольные (немалигнизированные) образцы.

Экстракцию белков из свежемороженых тканей проводили с использованием набора Panorama Antibody Microarray – Cell Signaling Kit (Sigma, США) по инструкции производителя. Ткань в камере криостата при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ нарезают слайсами $10\text{ }\mu\text{m}$ толщиной по $15\text{--}20\text{ }\mu\text{m}$. Гомогенизацию проводили в Magna Lyser при 5000 оборотах за 30 с в буфере, содержащем ингибиторы протеаз и фосфатаз, а также бензоназу. В экстрактах определяли концентрацию белка по Мэрион Брэдфорд и нормализовали её буфером до $1\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$.

Для маркировки белков использовали красители Cy3 и Cy5, растворенные в карбонатно-бикарбонатном буфере pH 9,5. Протеомный экстракт инкубировали при комнатной температуре 30 мин, после чего удаляли не связавшиеся с белками свободные красители Cy3/Cy5 из промаркированной пробы с использованием колонок SigmaSpin.

После этого снова определялась концентрация белка и вычислялось молярное соотношение краски к белку (D/P). Если $D/P \geq 2$ маркированную белковую пробу инкубировали с микрочипом (слайдом с моноклональными антителами).

Каждый слайд (микрочип) содержит 224 антитела, нанесенные на нитроцеллюлозное покрытие в двух экземплярах на 32-сеточный микрочип, каждая сетка – дубликаты 7 антител плюс положительный контроль (Cy3- и Cy5-конъюгированные с бычьим сывороточным альбумином (БСА)) и немеченый БСА-отрицательный контроль, в результате чего получается 512 точек (спотов) на слайд. Кроме того, антитела к актину, миозину и тубулину включены в микрочип для целей нормализации, так как экспрессия этих белков не должна меняться при различных обработках образца и контроля.

Условно нормальные и опухолевые образцы, помеченные различными красителями, смешивали перед нанесением на слайд в инкубационном буфере до одинаковой конечной концентрации $8\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$. Чтобы верифицировать результаты, проводили замену красителей (normalization by dye swapping): каждый нормальный образец, меченный Cy3, смешивали с опухолевым, меченным Cy5, а нормальный образец, меченный Cy5, смешивали с опухолевым, меченным Cy3. Смешанные с буфером образцы помещали в инкубационную емкость и инкубировали при комнатной температуре 30 мин, на качающемся шейкере при умеренной частоте встряхивания. Далее слайды сканировали на сканере для микрочипов GenePix 4100A (Molecular Devices, США).

Изображения микрочипов были обработаны с использованием программного обеспечения для анализа изображений GenePixTM Pro 6.0. Измеренную интен-

сивность флуоресценции от каждого элемента микрочипа сравнивали с локальным фоном и вычитали из нее значение фона. Перед нормализацией значения флуоресценции по каналам Cy3 и Cy5, равные или меньшие суммы среднего значения, и 2 негативных контроля отбрасывались. Для спотов микрочипа, находящихся в нескольких повторностях, рассчитывали среднее арифметическое для обоих каналов (рис. 1, 2).

Поскольку нормализация по референсным белкам является частным случаем нормализации по суммарной интенсивности флуоресценции, а dye swapping может быть использован в обоих вариантах нормализации, мы использовали два метода: нормализацию сменой красителя и по референсным белкам.

Нормализованную интенсивность для каждого элемента микрочипа (антитела) рассчитывали как среднее геометрическое интенсивностей Cy3 и Cy5 двух разных слайдов, т.е. среднее геометрическое между интенсивностью флуоресценции образца нормальной ткани, окрашенного Cy3, с одного слайда и интенсивностью флуоресценции образца нормальной ткани, окрашенного Cy5, со второго слайда.

Далее рассчитывали нормализующий коэффициент по референсному белку.

$$N_{total} = \frac{\sum_{i=1}^{N_{array}} R_i}{\sum_{i=1}^{N_{array}} G_i} \quad (1)$$

Формулу (1), согласно данным J. Quackenbush [9], можно преобразовать в следующую:

$$N_{ref} = \frac{\sum_{i=1}^n R_{ref(i)}}{\sum_{i=1}^n G_{ref(i)}} \quad (2)$$

где $R_{ref(i)}$ – среднее геометрическое интенсивности флуоресценции Cy3- и Cy5-референтных белков образца опухолевой ткани; $G_{ref(i)}$ – среднее геометрическое интенсивности флуоресценции Cy3- и Cy5-референтных белков образца нормальной ткани.

Окончательный результат получали по формуле (3), следующей из формулы (4),

$$T_i = \frac{R_{(cancer)i}}{G_{normal(i)} N_{ref}} \quad (3)$$

$$T_i = \frac{R_i}{G_i} = \frac{1}{N_{total}} \frac{R_i}{G_i} \quad (4)$$

где T_i – отношение среднего геометрического интенсивности флуоресценции i -го спота по каналам Cy3 и Cy5 для опухолевой ткани к среднему геометрическому интенсивности флуоресценции i -го спота по каналам Cy3 и Cy5 для нормальной ткани с учетом коэффициента нормализации по референсному белку.

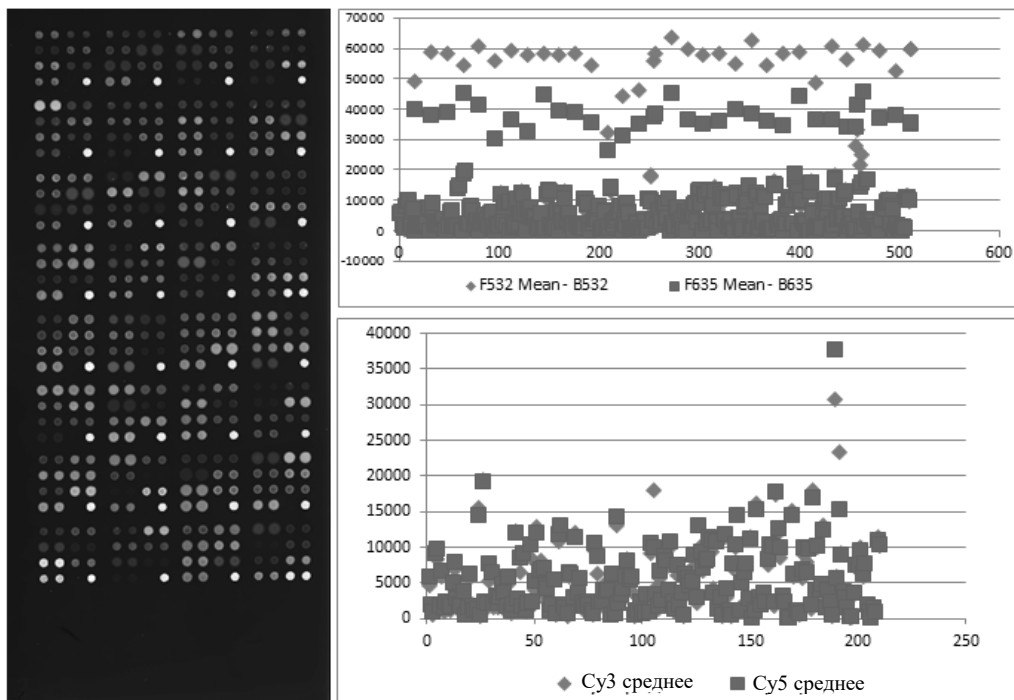


Рис. 1. Изображение, полученное после сканирования слайда (слева) и изменения распределения интенсивностей флуоресценции до (сверху) и после преднормализации (снизу) по негативным контролям / Fig. 1. Image obtained after scanning the slide (left) and changing the distribution of fluorescence intensities to (above) and after pre-normalization (from below) through negative controls

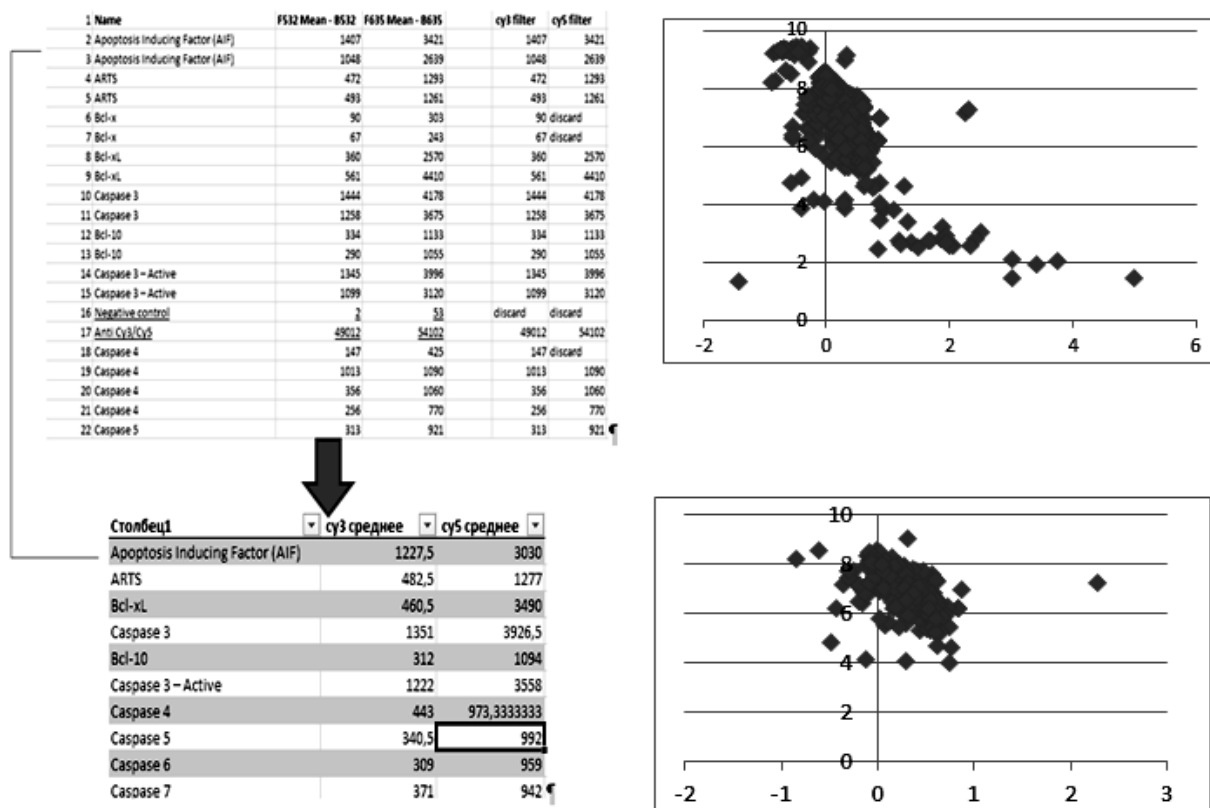


Рис. 2. Алгоритм преднормализации – объединение дубликатов (слева) и изменение разброса данных до и после нормализации (справа) / Fig. 2. Algorithm before normalization - combining duplicates (left) and changing the spread of data before and after normalization (right)

На рис. 3 представлены графики разброса данных при нормализации по суммарной интенсивности, актину и тубулину. При нормализации по референсным белкам в отличие от нормализации по суммарной интенсивности отклонение от среднего значительно меньше, а при нормализации по актину несколько меньше, чем по тубулину. Исходя из

этих данных, нормализацию проводили по референсному белку актину.

Уровень экспрессии белка признавался достоверно повышенным, если абсолютное значение коэффициента было $\geq 1,49$, или достоверно пониженным, если абсолютное значение коэффициента $\leq 0,7$.

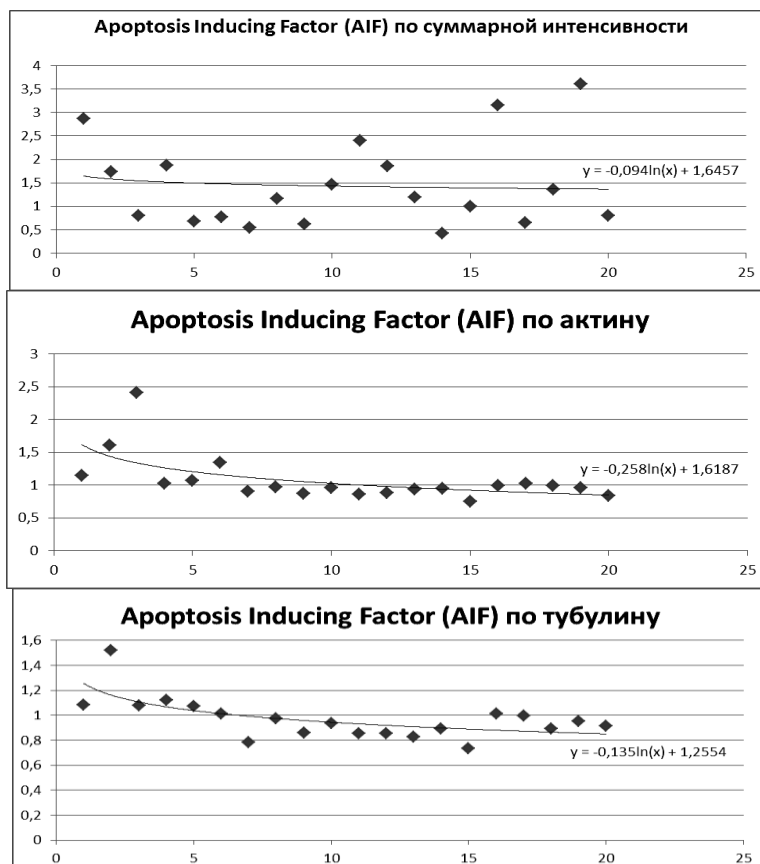


Рис. 3. Графическое представление результатов нормализации / Fig. 3. Graphical representation of the results of normalization

Рассчитывались частоты встречаемости у пациентов с повышенной или пониженной экспрессией белка. Проводился статистический анализ с использованием критерия χ^2 для порогового уровня $p < 0,05$, а также давалась оценка достоверности различий по критерию Манна – Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0,05$ между нормальной и опухолевой тканью для двух выборок (с метастазами и без).

Результаты и обсуждение

В опухолевой ткани больных КРП с метастазами обнаружено достоверное ($p < 0,05$) увеличение экспрессии белков с-мус, SMAD4, PCAF, Adaptin b1+b2, FAK Phospho (pY577), PKC g, Phospho-Pyk2 (pY579/580) в 2,1; 1,5; 1,5; 1,5; 2,7 и 1,6 раза соот-

ветственно по сравнению с условно нормальной тканью кишки.

В опухолевой ткани у 50 % пациентов с метастазами обнаружено увеличение экспрессии белка с-мус в среднем в 3,2 раза, PKC g – в 4,3, Phospho-Pyk2 (pY579/580) – в 2,3 раза относительно нормальной ткани. У 40 % пациентов обнаружено повышение экспрессии белка FAK Phospho (pY577) в 2,1 раза; у 33 % пациентов повышена экспрессия белков Phospho-DAPK (pS308) в 2,2, Cdk6 – 2,5, Cyclin D3 – 2,3, SMAD4 – 2,7, HAT1 (Histone acetyltransferase) – 2,3, PCAF – 2,6, Adaptin b1+b2 – 2,6, Cytokeratin pеп 7 – 2,1, Ezrin – 2,5, NAK – 2,5, PKC b – 2,5 раза в опухолевой ткани относительно нормальной (рис. 4). Полный список белков, изменивших свою экспрессию у пациентов этой группы, представлен в таблице.

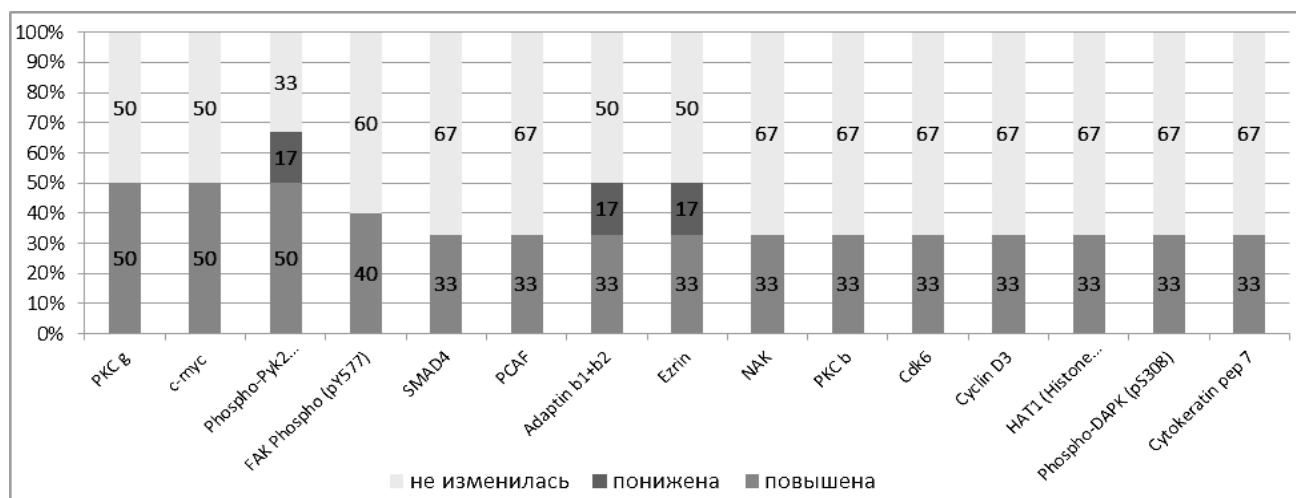


Рис. 4. Процент пациентов (группа с метастазами) с измененной и неизменной экспрессией белков в опухолевой ткани относительно нормальной / Fig. 4. Percentage of patients (metastatic group) with altered and unchanged expression of proteins in tumor tissue relatively normal

В опухолевой ткани пациентов без метастазов обнаружено достоверное ($p < 0,05$) увеличение экспрессии белков Nerve Growth Factor Receptor (NGFR p75) в 3,8 раза и Phospho-Ta (pS199/202) – в 1,9.

В опухолевой ткани у 50 % пациентов без метастазов обнаружено увеличение экспрессии белка Nerve Growth Factor Receptor (NGFR p75) в среднем в 6,7 раза, Phospho-Pyk2 (pY579/580) – 2; у 43 – p14

arf и Cytokeratin pep 7 – в 1,6 раза относительно нормальной ткани, у 50 – снижение экспрессии белка b-Synuclein (PNP-14) в 2,3 раза, FAK Phospho (pY577) – в 2,5, PKC b – в 3 и Phospholipase C g1 – в 2,8 раза относительно нормальной ткани. Данные об изменении экспрессии других исследованных белков (с частотой менее 40 %) в опухолевой ткани относительно нормальной ткани у пациентов без метастазов представлены на рис. 5 и в таблице.

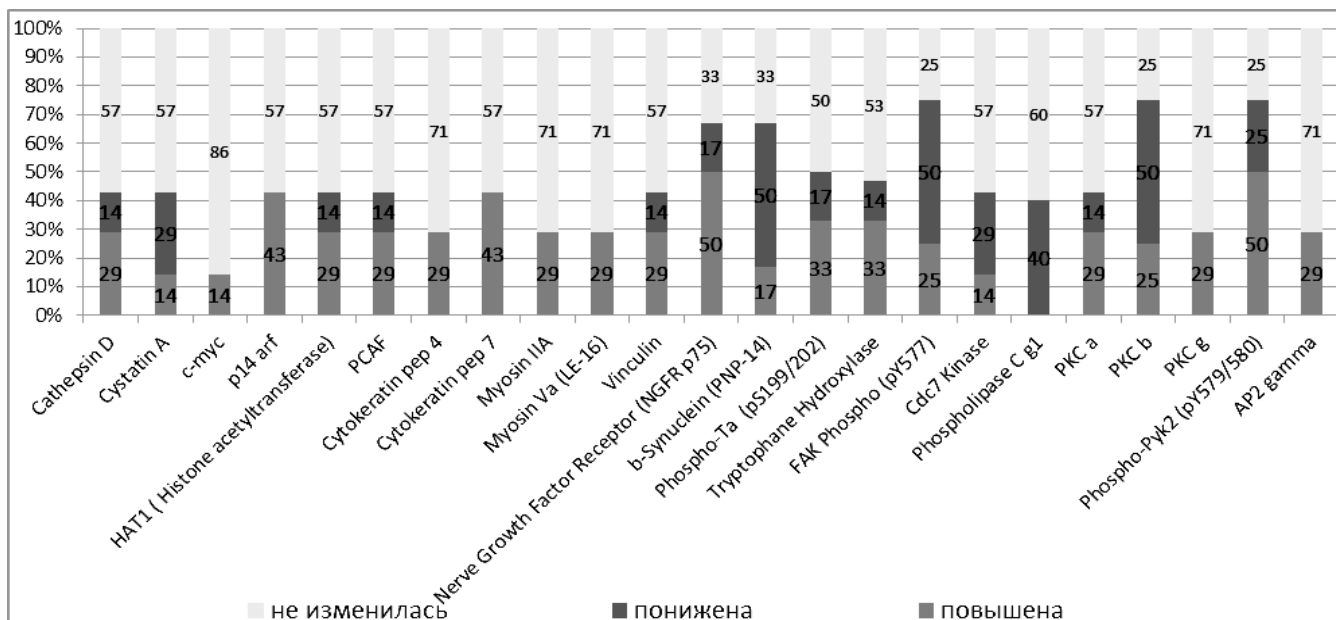


Рис. 5. Процент пациентов (группа без метастазов) с измененной и неизменной экспрессией белков в опухолевой ткани относительно нормальной / Fig. 5. Percentage of patients (group without metastases) with altered and unchanged expression of proteins in tumor tissue relatively normal

**Частота встречаемости измененной и неизменной экспрессии белков среди обследованной выборки пациентов /
 The frequency of occurrence of proteins altered and unchanged expression among the patients sample**

Белок	Частота, %					
	Пациенты без метастазов			Пациенты с метастазами		
	Повышена	Понижена	Не изменилась	Повышена	Понижена	Не изменилась
PKC g*	29	0	71	50	0	50
PKC b*	25	50	25	33	0	67
PKC a*	29	14	57	17	0	83
c-myc*	14	0	86	50	0	50
Cytokeratin pep 7	43	0	57	33	0	67
Cytokeratin pep 4*	29	0	71	17	0	83
HAT1 (Histone acetyltransferase)	29	14	57	33	0	67
PCAF	29	14	57	33	0	67
Cathepsin D*	29	14	57	17	0	83
Cystatin A	14	29	57	17	17	66
p14 arf	43	0	57	33	0	67
FAK Phospho (pY577)*	25	50	25	40	0	60
Myosin II A*	29	0	71	17	0	83
Myosin Va (LE-16)*	29	0	71	17	0	83
Vinculin*	29	14	57	17	0	83
Nerve Growth Factor Receptor (NGFR p75)*	50	17	33	17	0	83
b-Synuclein (PNP-14)*	17	50	33	17	17	66
Phospho-Ta (pS199/202)*	33	17	50	17	17	66
Tryptophane Hydroxylase*	33	14	53	17	0	83
Cdc7 Kinase	14	29	57	17	17	66
Phospholipase C g1*	0	40	60	17	0	83
Phospho-Pyk2 (pY579/580)	50	25	25	50	17	33
AP2 gamma*	29	0	71	17	0	83
SMAD4*	0	14	86	33	0	67
Adaptin b1+b2*	14	14	72	33	17	50
Ezrin*	14	0	86	33	17	50
NAK*	14	0	86	33	0	67
Cdk6	0	14	86	33	0	67
Cyclin D3	0	0	100	33	0	67
Phospho-DAPK (pS308)	0	0	100	33	0	67

* – выявлена на основании критерия χ^2 ассоциация изменения экспрессии белка с формированием или отсутствием метастазов ($\chi^2 > 6$, $p < 0,05$).

Из представленных данных видно, что протеомный профиль опухолевых тканей пациентов с метастазами и без значительно отличается. Первое значительное отличие касается повышенной экспрессии у 50 % больных с метастазами протоонкогенного белка c-мус, представляющего собой фактор

транскрипции, который у человека регулирует экспрессию до 15 % всех генов [10], связываясь с энхансерными последовательностями в ДНК (E-boxes) и усиливая активность ацетилтрансфераз гистонов (НАТ). Это и наблюдается у 33 % пациентов с метастазами, в опухолевой ткани которых в

2,3 раза повышена экспрессия HAT1 (Histone acetyltransferase). У пациентов без метастазов изменения экспрессии белка c-myc не наблюдаются, однако экспрессия HAT1 повышена у 29 % больных и снижена у 14.

Второе отличие касается дифференциальной экспрессии изоформ белка протеинкиназы С у больных с метастазами и без.

Протеинкиназы С (PKC) представляют собой семейство серин- и треонинспецифических протеинкиназ, которые могут быть активированы кальцием и вторичным мессенджером диацилглицеринном. Члены семейства PKC фосфорилируют разнообразные белковые мишени и участвуют в разнообразных путях передачи клеточных сигналов, а также служат в качестве основных рецепторов для фоболовых сложных эфиров (класс опухолевых промоторов). Каждый член семейства PKC имеет определенный профиль экспрессии и играет различные роли в клетках. Семейство PKC состоит из 15 изоферментов (в организме человека) [11]. Они разделены на 3 подсемейства на основании активирующих их вторичных мессенджеров: обычные (или классические), новые и атипичные. Обычные PKC содержат изоформы альфа (а), бета (b) и гамма (g). Они требуют Ca^{2+} , ДАГ и фосфатидилсерина для активации.

Протеинкиназа гамма (PKC g), по данным литературы, экспрессируется только в головном и спинном мозге, и её локализация ограничивается нейронами [12]. Протеинкиназа бета (PKC b) участвует в активации В-клеток, индукции апоптоза, пролиферации эндотелиальных клеток и всасывании сахара в кишечнике. Протеинкиназа альфа (PKC a) участвует в различных клеточных процессах, таких как клеточная адгезия и трансформация клеток. Повышенная активация PKC a связана с ростом и инвазией раковых образований [13].

Экспрессия PKC g и PKC b повышена у 50 и 33 % исследованных больных KPP с метастазами, а у больных без метастазов повышение экспрессии PKC a, PKC b и PKC g наблюдается не более чем в 30 % случаев. При этом у 50 % больных без метастазов наблюдается снижение экспрессии белка PKC b.

Экспрессия FAK Phospho (pY577) в опухолевой ткани 40 % больных KPP с метастазами увеличена в среднем в 2,1 раза. Focal Adhesion Kinase (FAK), ассоциированная с фокальной адгезией протеинкиназа, участвует в клеточной адгезии (контактах клеток друг с другом и их окружением) и в распространении процессов (передвижении клеток) [14]. FAK фосфорилируется в ответ на взаимодействия с интегринами, фактором стимуляции роста и действием митогенных нейропептидов, он может иг-

рать другие роли в клетке, в том числе регуляции опухолевого супрессора p53. Избыточная экспрессия FAK приводит к ингибированию апоптоза и увеличению распространенности метастатических опухолей [15]. В [16] было показано, что блокировка FAK приводит к уменьшению подвижности раковых клеток, делая их менее метастатическими. В нашем исследовании у больных KPP без метастазов экспрессия FAK Phospho (pY577) в опухолевой ткани повышена только в 25 % случаев, а в 50 она снижена в 2,5 раза.

У больных KPP с метастазами и без метастазов в 50 % случаев повышена экспрессия белка Phospho-Pyk2 (pY579/580). Pyk2 (Protein tyrosine kinase 2 beta) – нерецепторная цитоплазматическая тирозинкиназа, в норме преимущественно экспрессирующаяся в клетках гемопоэтических линий и центральной нервной системы, участвующая в кальцийиндуцированной регуляции ионных каналов и активации сигнального пути MAP-киназы. Она является членом подсемейства FAK протеинтирозинкиназ [17]. У 17 и 25 % больных с метастазами и без наблюдается снижение экспрессии этого белка в 1,5 и 2 раза соответственно. То есть изменения в экспрессии Phospho-Pyk2 (pY579/580) сходны у больных KPP с метастазами и без в опухолевой ткани по сравнению с нормальной.

У пациентов обеих групп наблюдается увеличение экспрессии Cytokeratin per 7: у 33 % пациентов с метастазами и у 43 – без. Цитокератин-7 является представителем низкомолекулярных цитокератинов. Цитокератины – кератинсодержащие белки промежуточных филаментов цитоскелета, находящиеся в цитоплазме эпителиальной ткани. Этот тип цитокератина специфически экспрессируется в эпителии, выстилающем полости внутренних органов, а также желез и кровеносных сосудов. Эпителиальные клетки легких и молочной железы содержат цитокератин-7, а железистый эпителий толстой кишки и простаты – нет. Поэтому антитела к цитокератину-7 могут быть использованы в иммуногистохимии для детекции карцином толстой кишки и предстательной железы [18]. Увеличение экспрессии Cytokeratin per 4 также наблюдается у пациентов обеих групп, но у пациентов с метастазами реже (у 17 %), чем у пациентов без метастазов (у 29 %). Кератин-4 представляет собой II тип цитокератинов, он обнаружен в клетках слизистых оболочек и эпителия пищевода [19].

Интересные результаты получены касательно экспрессии белка Phospho-DAPK (pS308) (DAPK1, Death-associated protein kinase). DAPK1 участвует в различных клеточных процессах, таких как апоптоз, аутофагия и воспаление, является положительным медиатором гамма-интерферона, индуци-

рующим запрограммированную гибель клеток, является кандидатом в супрессоры опухолей [20]. При многих видах рака наблюдается снижение экспрессии гена DAPK [21]. В нашем исследовании экспрессия белка DAPK не изменяется в опухолевой ткани в сравнении с нормальной тканью толстой кишки у пациентов без метастазов и увеличивается у 33 % пациентов с метастазами в 2,2 раза. Показана связь белков DAPK1, SMAD4, p14 arf, Phospho-Ta и Myosin II в клеточных сигнальных путях [22].

Экспрессия белка SMAD4 повышена у 33 % пациентов с метастазами в 2,7 раза и снижена у 14 без метастазов в 1,5 раза. SMAD4 взаимодействует с другими членами семейства SMAD, такими как SMAD2 или SMAD3, формируя с ними комплекс, может связываться с ДНК и изменять экспрессию нескольких генов, ответственных за пролиферацию или дифференцировку [23]. Белок SMAD4 экспрессируется в коже, поджелудочной железе, толстой кишке и матке. Для многих видов рака характерны мутации в гене SMAD4 (наследственные или приобретенные в течение жизни человека). Функционально SMAD4 участвует в регуляции TGF- β пути передачи сигнала, который негативно регулирует рост эпителиальных клеток и внеклеточного матрикса. Изменение структуры SMAD4 нарушает регуляцию экспрессии генов, участвующих в росте клеток, и пролиферации клеток могут продолжаться без какого-либо торможения, что приводит к формированию опухолей, в частности к КРР [24]. Наблюдаемая повышенная экспрессия белка у пациентов с метастазами может отражать и увеличение аберрантного белка с утраченной функциональностью.

Изменения в экспрессии белков адаптинов (1 и 2 β) наблюдаются у больных КРР с метастазами и без метастазов в опухолевой ткани относительно нормальной, однако эти изменения более выражены у пациентов с метастазами. Из этой группы пациентов экспрессия адаптинов изменяется у 50 % (у 33 увеличивается, у 17 уменьшается), в группе без метастазов только у 28 % пациентов (у 14 увеличивается, у 14 уменьшается), при этом у 72 % пациентов не отличается от экспрессии в нормальной ткани. Адаптины представляют собой белки, которые участвуют в образовании везикул на покрытых клатрином углублениях путем взаимодействия с мембранно-связанными рецепторами. Кластеры адаптинов формируют комплекс AP2.

Изменение экспрессии белка β -синуклеина (phosphoneuroprotein 14) затрагивает 67 и 34 % выборки пациентов без метастазов и с метастазами соответственно, причем для пациентов без метастазов характерно снижение экспрессии белка у 50 % выборки. Синуклеины (α , β и γ) являются неболь-

шими, растворимыми, высококонсервативными нейрональными белками, которые привлекли значительное внимание в связи с их участием в нейродегенеративных заболеваниях и раке. Содержится β -синуклеин в норме в ЦНС (равномерно распределён в терминалях аксонов нейронов всей ЦНС), астроцитах, клетках Сертоли (яички), сетчатке и оптическом нерве, в слизистой обонятельной системе. На основе полуколичественной РТ-ПЦР была обнаружена экспрессия мРНК синуклеинов в восьми клеточных линиях КРР. Результаты вестерн-блоттинга показали, что уровни экспрессии этих белков в клетках опухоли толстой кишки приблизительно соответствуют уровням экспрессии мРНК синуклеина. Также было показано, что экспрессия белков синуклеинов достоверно коррелирует с клинической стадией и вовлечением лимфоузлов в развитие КРР. При распространении опухолевого процесса на лимфатические узлы (метастазы) обнаружено повышение экспрессии синуклеинов (β и γ) [25].

У пациентов с метастазами, и без обнаружено увеличение экспрессии белка p14ARF. Этот белок индуцируется в ответ на повышение митогенной стимуляции, такой как аберрантный сигнал роста, от белков MYC и Ras [26]. Накапливается p14ARF в основном в ядрышке, где он образует устойчивые комплексы с NPM или Mdm2, что позволяет ему действовать как супрессор опухоли путем ингибирования биогенеза рибосом или инициирования p53-зависимой остановки клеточного цикла и апоптоза [27].

Отличия в протеомном профиле двух групп пациентов затрагивают и ещё один белок – фосфолипазу C, которая является ключевым ферментом метаболизма фосфатидилинозитола и липидных сигнальных путей. У больных КРР без метастазов у 40 % выборки наблюдается снижение экспрессии данного белка, с метастазами – только увеличение экспрессии фосфолипазы C и только у 17 % выборки.

Выводы

1. В ходе проведенного исследования обнаружено изменение протеомного профиля в малигнизированной ткани толстой кишки, причем протеомный профиль значительно отличается в опухолевых тканях больных с метастазами и без. Всего обнаружено изменение экспрессии 30 белков, дифференцированное в каждой группе пациентов.

2. Из этих белков 63 % в пределах каждой группы пациентов изменяют свою экспрессию разнонаправленно (снижают или увеличивают), что, вероятно, может быть обусловлено гендерным и возрастным разнообразием выборки. Тем не менее про-

веденное исследование позволило выявить кластеры протеомных маркеров, обладающих высоким потенциалом для прогнозирования течения заболевания (с метастазами или без): PKC γ и β , c-мус, FAK, NGFR p75, b-Synuclein, Phospholipase C, SMAD4, Cdk6, Cyclin D3 и DAPK.

Литература

1. Madoz-Gurpide J., Canamero M., Sanchez L. [et al.]. Proteomics Analysis of Cell Signaling Alterations in Colorectal Cancer // *Molecular & Cellular Proteomics*. 2007. Vol. 6. P. 2150–2164.
2. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 // *Lancet*. 2016. Vol. 388 (10053). P. 1459–1544. DOI 10.1016/S0140-6736(16)31012-1.
3. Патютко Ю.И., Пылёв А.Л. Диагностика и лечение метастазов колоректального рака в печени // *РМЖ*. 2009. № 22. С. 1505.
4. Vladimirova L.Y., Kit O.I., Nikipelova E.A. Results of monoclonal antibodies against EGFR-receptors application in patients with metastatic colorectal cancer // *Clinical Oncology*. 2013. Vol. 31, № 15S. P. 19047.
5. Кит О.И., Водолажский Д.И., Двадненко К.В., Гудуева Е.Н., Кутилин Д.С., Геворкян Ю.А., Владимиров Л.Ю. Частота мутаций в гене KRAS в различных клинических группах пациентов Юга России с колоректальным раком // *Мед. генетика*. 2014. Т. 13, № 12 (150). С. 35–41.
6. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Двадненко К.В., Тимошкина Н.Н., Енин Я.С., Максимов А.Ю., Геворкян Ю.А., Кожушко М.А., Петров Д.С. Комплексный анализ потенциальных биомаркеров у больных колоректальным раком // *Злокачественные опухоли*. 2015. № 4–2 (16). С. 318–319.
7. Madoz-Gurpide J., Lopez-Serra P., Martinez-Torrecedrera J. [et al.]. Proteomics-based validation of genomic data: applications in colorectal cancer diagnosis // *Molecular & Cellular Proteomics*. 2006. Vol. 5. P. 1471–1483.
8. Sidransky D. Emerging molecular markers of cancer // *Nat. Rev. Cancer*. 2002. Vol. 2 (3). P. 210–219.
9. Quackenbush J. Microarray data normalization and transformation nature // *Genetics supplement*. 2002. Vol. 32. P. 496–501. DOI 10.1038/ng1032.
10. Gearhart J., Pashos E.E., Prasad M.K. Pluripotency redux—advances in stem-cell research // *The New England J. of Medicine*. 2007. Vol. 357, № 15. P. 1469–1472.
11. Ringvold H.C., Khalil R.A. Protein Kinase C as Regulator of Vascular Smooth Muscle Function and Potential Target in Vascular Disorders // *Adv. Pharmacol.* 2017. Vol. 78. P. 203–301.
12. Saito N., Shirai Y. Protein kinase C gamma (PKC gamma): function of neuron specific isotype // *J. Biochem.* 2003. Vol. 132 (5). P. 683–687.
13. Koivunen J., Aaltonen V., Peltonen J. Protein kinase C (PKC) family in cancer progression // *Cancer Letters*. 2006. Vol. 235 (1). P. 1–10.
14. Blackshaw S.E., Dow J. K., Lackie J. M. The dictionary of cell and molecular biology (3rd ed.). San Diego: Academic Press, 1999. 502 p.

15. Mehlen P., Puisieux A. Metastasis: a question of life or death // *Nat. Rev. Cancer*. 2006. Vol. 6 (6). P. 449–58. DOI 10.1038/nrc1886. PMID 16723991.
16. Chan K.T., Cortesio Ch.L., Huttenlocher A. FAK alters invadopodia and focal adhesion composition and dynamics to regulate breast cancer invasion // *J. Cell. Biol.* 2009. DOI 10.1083/jcb.200809110.
17. Eleniste P.P., Patel V., Positong S. [et al.]. Pyk2 and Megakaryocytes Regulate Osteoblast Differentiation and Migration Via Distinct and Overlapping Mechanisms // *Cell. Biochem.* 2016. Vol. 117 (6). P. 1396–1406. DOI 10.1002/jcb.25430. PMID 26552846.
18. Leong A. S-Y., Cooper K., Leong F. Manual of Diagnostic Cytology (2 ed.). Greenwich Medical Media, Ltd, 2003. P. 173.
19. Chao S.C., Tsai Y.M., Yang M.H., Lee J.Y. A novel mutation in the keratin 4 gene causing white sponge naevus // *Br. J. Dermatol.* 2003. Vol. 148 (6). P. 1125–1128.
20. Steinmann S., Scheibe K., Erlenbach-Wuensch K. [et al.]. Death-associated protein kinase: A molecule with functional antagonistic duality and a potential role in inflammatory bowel disease (Review) // *Int. J. Oncol.* 2015. Vol. 47. P. 5–15. PMID 25963636.
21. Huang Y., Chen L., Guo L., Hupp T.R., Lin Y. Evaluating DAPK as a therapeutic target // *Apoptosis*. 2014. Vol. 19 (2). P. 371–386.
22. Bialik S., Kimchi A. The DAP-Kinase Interactome // *Apoptosis*. 2014. Vol. 19. P. 316–328.
23. Lin X., Liang M., Liang Y.Y. [et al.]. Activation of transforming growth factor-beta signaling by SUMO-1 modification of tumor suppressor Smad4/DPC4 // *The J. of Biological Chemistry*. 2003. Vol. 278 (21). P. 18714–18719.
24. Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Robbins S.L., Cotran R.S. Robbins and Cotran pathologic basis of disease (7th ed.). St. Louis, Mo: Elsevier Saunders, 2005. 1525 p.
25. Ye Q., Wang T.F., Peng Y.F. [et al.]. Expression of alpha-, beta- and gamma-synuclein in colorectal cancer, and potential clinical significance in progression of the disease // *Oncol. Rep.* 2010. Vol. 23 (2). P. 429–436.
26. Abida W.M., Gu W. p53-Dependent and p53-independent activation of autophagy by ARF // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68 (2). P. 352–357.
27. Sherr C.J. Autophagy by ARF: a short story // *Mol. Cell*. 2006. Vol. 22 (4). P. 436–437.

References

1. Madoz-Gurpide J., Canamero M., Sanchez L. [et al.]. A Proteomics Analysis of Cell Signaling Alterations in Colorectal Cancer. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2007, vol. 6, pp. 2150-2164.
2. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016, vol. 388 (10053), pp. 1459-1544. DOI 10.1016/S0140-6736(16)31012-1.
3. Patyutko Yu.I., Pylev A.L. Diagnostika i lechenie metastazov kolorektalnogo raka v pecheni [Diagnosis and treatment of metastases of colorectal cancer in the liver]. *RMZh*. 2009, No. 22, p. 1505.
4. Vladimirova L.Y., Kit O.I., Nikipelova E.A. Results of monoclonal antibodies against EGFR-receptors application in patients with metastatic colorectal cancer. *Clinical Oncology*. 2013, vol. 31, No. 15S, p. 19047.

5. Kit O.I., Vodolazhskii D.I., Dvadenko K.V., Gudueva E.N., Kutilin D.S., Gevorkyan Yu.A., Vladimirova L.Yu. Chastota mutatsii v gene KRAS v razlichnykh klinicheskikh gruppakh patsientov Yuga Rossii s kolorektal'nym rakom [The frequency of mutations in the KRAS gene in different clinical groups of patients in Southern Russia with colorectal cancer]. *Med. genetika*. 2014, vol. 13, No. 12 (150), pp. 35-41.
6. Kit O.I., Vodolazhskii D.I., Kutilin D.S., Dvadenko K.V., Timoshkina N.N., Enin Ya.S., Maksimov A.Yu., Gevorkyan Yu.A., Kozhushko M.A., Petrov D.S. Kompleksnyi analiz potentsial'nykh biomarkerov u bol'nykh kolorektal'nym rakom [The frequency of mutations in the KRAS gene in different clinical groups of patients in Southern Russia with colorectal cancer]. *Zlokachestvennye opukholi*. 2015, No. 4-2 (16), pp. 318-319.
7. Madoz-Gurpide J., Lopez-Serra P., Martinez-Torrecedrera J. [et al.]. Proteomics-based validation of genomic data: applications in colorectal cancer diagnosis *Molecular & Cellular Proteomics*. 2006, vol. 5, pp. 1471-1483.
8. Sidransky D. Emerging molecular markers of cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 2002, vol. 2 (3), pp. 210-219.
9. Quackenbush J. Microarray data normalization and trans-formation nature. *Genetics supplement*. 2002, vol. 32, pp. 496-501. DOI 10.1038/ng1032.
10. Gearhart J., Pashos E.E., Prasad M.K. Pluripotency redux-advances in stem-cell research. *The New England J. of Medicine*. 2007, vol. 357, No. 15, pp. 1469-1472.
11. Ringvold H.C., Khalil R.A. Protein Kinase C as Regulator of Vascular Smooth Muscle Function and Potential Target in Vascular Disorders. *Adv. Pharmacol.* 2017, vol. 78, pp. 203-301.
12. Saito N., Shirai Y. Protein kinase C gamma (PKC gamma): function of neuron specific isotype. *J. Biochem.* 2003, vol. 132 (5), pp. 683-687.
13. Koivunen J., Aaltonen V., Peltonen J. Protein kinase C (PKC) family in cancer progression. *Cancer Letters*. 2006, vol. 235 (1), pp. 1-10.
14. Blackshaw S.E., Dow J. K., Lackie J. M. *The dictionary of cell and molecular biology* (3rd ed.). San Diego: Academic Press, 1999, 502 p.
15. Mehlen P., Puisieux A. Metastasis: a question of life or death. *Nat. Rev. Cancer*. 2006, vol. 6 (6), pp. 449-58. DOI 10.1038/nrc1886. PMID 16723991.
16. Chan K.T., Cortesio Ch.L., Huttenlocher A. FAK alters invadopodia and focal adhesion composition and dynamics to regulate breast cancer invasion. *J. Cell. Biol.* 2009. DOI 10.1083/jcb.200809110.
17. Eleniste P.P., Patel V., Positong S. [et al.]. Pyk2 and Megakaryocytes Regulate Osteoblast Differentiation and Migration Via Distinct and Overlapping Mechanisms. *Cell. Biochem.* 2016, vol. 117 (6), pp. 1396-1406. DOI 10.1002/jcb.25430. PMID 26552846.
18. Leong A. S-Y., Cooper K., Leong F. *Manual of Diagnostic Cytology* (2 ed.). Greenwich Medical Media, Ltd., 2003, p. 173.
19. Chao S.C., Tsai Y.M., Yang M.H., Lee J.Y. A novel mutation in the keratin 4 gene causing white sponge naevus. *Br. J. Dermatol.* 2003, vol. 148 (6), pp. 1125-1128.
20. Steinmann S., Scheibe K., Erlenbach-Wuensch K. [et al.]. Death-associated protein kinase: A molecule with functional antagonistic duality and a potential role in inflammatory bowel disease (Review). *Int. J. Oncol.* 2015, vol. 47, pp. 5-15. PMID 25963636.
21. Huang Y., Chen L., Guo L., Hupp T.R., Lin Y. Evaluating DAPK as a therapeutic target. *Apoptosis*. 2014, vol. 19 (2), pp. 371-386.
22. Bialik S., Kimchi A. The DAP-Kinase Interactome. *Apoptosis*. 2014, vol. 19, pp. 316-328.
23. Lin X., Liang M., Liang Y.Y. [et al.]. Activation of trans-forming growth factor-beta signaling by SUMO-1 modification of tumor suppressor Smad4/DPC4. *The J. of Biological Chemistry*. 2003, vol. 278 (21), pp. 18714-8719.
24. Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Robbins S.L., Cotran R.S. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease* (7th ed.). St. Louis, Mo: Elsevier Saunders, 2005, 1525 p.
25. Ye Q., Wang T.F., Peng Y.F. [et al.]. Expression of alpha-, beta- and gamma-synuclein in colorectal cancer, and potential clinical significance in progression of the disease. *Oncol. Rep.* 2010, vol. 23 (2), pp. 429-436.
26. Abida W.M., Gu W. p53-Dependent and p53-independent activation of autophagy by ARF. *Cancer Res.* 2008, vol. 68 (2), pp. 352-357.
27. Sherr C.J. Autophagy by ARF: a short story. *Mol. Cell.* 2006, vol. 22 (4), pp. 436-437.

УДК 618.16-006.61-091.8

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-96-103

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ НЕКОТОРЫХ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ВУЛЬВЫ

© 2017 г. Г.А. Неродо¹, И.А. Новикова¹, Е.Ю. Златник¹, Е.М. Непомнящая¹, Е.А. Дженкова¹,
В.А. Иванова¹, Е.В. Вереникина¹, Е.П. Ульянова¹, Ю.Т. Таджибаева²

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия,

²Ташкентский институт усовершенствования врачей, Ташкент, Узбекистан

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SOME IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS IN PATIENTS WITH VULVAR CANCER

G.A. Nerodo¹, I.A. Novikova¹, E.Yu. Zlatnik¹, E.M. Nepomnyashchaya¹,
E.A. Dzhenkova¹, V.A. Ivanova¹, E.V. Verenikina¹, E.P. Ulianova¹, Yu.T. Tadzhibaeva²

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia,

²Tashkent Institute for Advanced Medical Education, Tashkent, Uzbekistan

Неродо Галина Андреевна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Galina A. Nerodo - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, Main Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Новикова Инна Арнольдовна – кандидат медицинских наук, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: novikovainna@yahoo.com

Inna A. Novikova - Candidate of Medicine, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: novikovainna@yahoo.com

Златник Елена Юрьевна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: elena-zlatnik@mail.ru

Elena Yu. Zlatnik - Doctor of Medicine, Professor, Main Researcher, Laboratory of Tumors Immunophenotyping, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: elena-zlatnik@mail.ru

Непомнящая Евгения Марковна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Evgenia M. Nepomnyashchaya - Doctor of Medicine, Professor, Main Researcher, Laboratory of Tumors Immunophenotyping, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Дженкова Елена Алексеевна – доктор биологических наук, доцент, ученый секретарь, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: enikipelova@mail.ru

Elena A. Dzhenkova - Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Scientific Secretary, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: enikipelova@mail.ru

Иванова Виктория Александровна – доктор медицинских наук, профессор, врач-онколог, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Viktoriya A. Ivanova - Doctor of Medicine, Professor, Oncologist, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Вереникина Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением онкогинекологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Ekaterina V. Verenikina - Candidate of Medicine, Head of Oncogynecology Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Ульянова Елена Петровна – научный сотрудник, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: uljanova_elen@lenta.ru

Elena P. Ulianova - Researcher, Laboratory of Tumors Immunophenotyping, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: uljanova_elen@lenta.ru

Таджибаева Юлдуз Таджибаевна – доктор медицинских наук, профессор, кафедра онкологии, Ташкентский институт усовершенствования врачей, ул. Паркетская, 51, г. Ташкент, 100007, Республика Узбекистан, e-mail: tatyana.koshkina.58@bk.ru

Yulduz T. Tadjhibaeva - Doctor of Medicine, Professor, Department of Oncology, Tashkent Institute for Advanced Medical Education, Parketskaya St., 51, Tashkent, 100007, Republic of Uzbekistan, e-mail: tatyana.koshkina.58@bk.ru

Для определения возможной роли иммунологического микроокружения опухоли в поддержании длительности ремиссии проведено иммуногистохимическое исследование лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации, а также маркеров пролиферации, апоптоза и неоплазии в опухолевой ткани 126 больных раком вульвы с длительным (свыше 2 лет) и коротким периодом (менее 2 лет) ремиссии. В строме и паренхиме опухолевой ткани выявлено наличие лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации различной степени выраженности, с преобладанием в ней Т-лимфоцитов. У больных с длительной ремиссией отмечено преобладание CD8+-клеток в ткани злокачественной опухоли, тогда как более высокий уровень опухолевой инфильтрации CD4+-Т-лимфоцитов ассоциировался с более короткой ремиссией и неблагоприятным прогнозом. Процессы пролиферации и неоплазии при раке вульвы имели выраженные различия у больных с длительной и кратковременной ремиссией. При короткой ремиссии экспрессия факторов пролиферации ki-67 и апоптоза p53 в несколько раз превышала показатели больных с длительной ремиссией, а уровень клеток, экспрессирующих фактор неоплазии CD34, был статистически достоверно выше. Выявленные различия экспрессии ki-67, p53, CD34, а также количества CD3+, CD4+, CD8+ и CD20+-лимфоцитов в ткани первичной плоскоклеточной карциномы вульвы позволили прогнозировать течение опухолевого процесса и развитие рецидива в ранние или отдаленные сроки.

Ключевые слова: рак вульвы, лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация, маркеры пролиферации, апоптоза и неоплазии, прогноз.

We conducted an immunohistochemical study of lymphocyte and macrophage infiltration, as well as of markers of proliferation, apoptosis and neoplasia in tumor tissue of 126 vulvar cancer patients with a long (over 2 years) and short (less than 2 years) remission in order to determine a possible role of immunologic microenvironment of tumors in remission maintaining. Stroma and parenchyma of tumor tissues demonstrated lymphocyte and macrophage infiltration of various degrees with the predominance of T-lymphocytes. CD8+ cells prevailed in tumor tissue of patients with a long remission period (over 2 years), while a higher level of CD4+ T-lymphocytic infiltration was associated with a short remission (less than 2 years) and a poor prognosis. Processes of proliferation and neoplasia in vulvar cancer had significant differences in patients with prolonged and short remission periods. Expression of the ki-67 proliferation factor and p53 apoptosis factor in the short remission period was several times higher than in the prolonged period, and levels of cells expressing the CD34 neoplasia factor were significantly higher as well. The observed differences in expression of ki-67, p53 and CD34 and in levels of CD3+, CD4+, CD8+ and CD20+ lymphocytes in tissues of primary squamous cells carcinoma of the vulva allowed prognosis of the disease course and the development of early or late recurrences.

Keywords: vulvar cancer, lymphocyte and macrophage infiltration, markers of proliferation, apoptosis and neoplasia, prognosis.

Введение

Рак наружных половых органов составляет до 8 % общего показателя заболеваемости всеми злокачественными опухолями женских гениталий и занимает 4-е место после рака тела матки, шейки матки и яичников. Данное заболевание в основном выявляется у пожилых женщин, находящихся в менопаузе, и чаще всего возникает в возрасте 60–70 лет. Поэтому рак вульвы представляет собой не только онкологическую, но и геронтологическую проблему. В связи с ростом числа долгожительниц актуальность данной проблемы возрастает.

В настоящее время отмечается увеличение заболеваемости раком наружных половых органов. Несмотря на визуальную доступность своевременной

диагностики этого заболевания, малосимптомное течение болезни в ранней стадии приводит к поздней обращаемости, а потому более 50 % больных поступают в лечебные учреждения в III – IV стадии опухолевого процесса, когда эффективность проводимого лечения значительно снижена, а наличие некомпенсированных сопутствующих заболеваний делает вообще невозможным проведение радикального лечения. В силу особенностей анатомо-топографического строения наружных половых органов с чрезвычайно богато развитой сетью лимфатических сосудов рак данной локализации является заболеванием весьма агрессивным, так как обладает выраженной склонностью к быстрому росту, раннему метастазированию и рецидивированию (до 30÷60 %) [1–3].

Практически к моменту установления диагноза у 45÷60 % больных обнаруживаются метастазы в регионарных лимфатических узлах. Несмотря на усовершенствование хирургического метода лечения с выполнением сверхрадикальных операций, а также применение в комбинации лучевых воздействий, результаты лечения больных раком вульвы все еще остаются неудовлетворительными [4, 5], и, по сводным данным 84 ведущих мировых онкологических центров, 5-летняя выживаемость составляет лишь 50,5 %.

Таким образом, увеличение заболеваемости раком наружных половых органов, тяжесть клинического течения, быстрота рецидивирования, частота метастазирования в регионарные лимфоузлы и низкая эффективность существующих методов лечения являются основанием для изучения патогенеза данного заболевания и поиска прогностических факторов эффективности лечения. Опухолевое микроокружение – один из факторов, определяющих прогноз заболевания. Роль инфильтрации опухоли иммунокомпетентными клетками неоднозначна, в литературе есть данные о том, что они могут способствовать не только ее регрессии, но и росту [6]. Гетерогенность состава лимфоцитарно-макрофагального инфильтрата, находящегося вблизи опухоли, можно рассматривать как отражение различия биологических свойств опухолевых клеток, способствующих его формированию [7]. Как указано в литературе, состав лимфоидного инфильтрата и его функциональная активность являются факторами независимого прогноза: при наличии высокого содержания в ткани опухоли и перифокальной зоне колоректального рака CD8+ лимфоцитов 5-летняя выживаемость больных составила 86,2 %, а рецидивы возникали у 4,8 % больных, тогда как на фоне низкого содержания этих клеток данные показатели составили 27,5 и 75 % соответственно [8]. Большое число CD8+ цитотоксических лимфоцитов коррелирует с ухудшением показателей выживаемости при лимфоме Ходжкина [9], плоскоклеточном раке анального канала, но является фактором благоприятного прогноза при раке эндометрия [10], яичников [11–13]. Установлено, что снижение уровня Т-клеточной инфильтрации опухоли имеет определенную связь с регионарным метастазированием или наличием микрометастазов. В некоторых работах прослеживается положительная корреляция между Т-клеточной инфильтрацией опухоли (включая CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты) и положительным клиническим прогнозом, однако, судя по данным авторов, это относится к HLA-DR II-позитивным опухолям [14]. В других исследованиях подчеркивается однозначно позитивная прогностическая роль инфи-

трации CD8+ Т-клетками как предшественниками цитотоксических Т-лимфоцитов – эффекторов адаптивного иммунитета [15].

Цель настоящего исследования – оценка экспрессии и прогностической значимости лимфоцитарно-макрофагальных маркеров, а также маркеров пролиферации, апоптоза и неоангиогенеза в ткани плоскоклеточной карциномы вульвы.

Материал и методы исследования

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование рака вульвы проводили на срезах с парафиновых блоков 126 пациентов, окрашивание – по стандартной методике. С парафиновых блоков готовили срезы толщиной 3–4 мкм на ротационном микротоме Accu-Cut SRM 200 фирмы Sakura (Япония). Срезы наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали вертикально в термостате при температуре 37 °С в течение ночи. Депарафинизацию и регидратацию проводили через серию ксилола и спиртов по стандартной методике, «демаскировку» антигенов – в PT-LinkThermo. Протокол включал в себя предварительный нагрев до 65 °С, восстановление антигена в течение 20 мин при температуре 97 °С и дальнейшее охлаждение до 65 °С. Затем стекла промывались в течение 1÷3 мин TBS-буфером (Dako) и помещались в автостейнер ThermoScientific для окрашивания в автоматическом режиме. В работе использованы первичные мышиные моноклональные антитела ki-67 для определения пролиферативной активности; p53 – апоптоза, CD31 и CD34 – неоангиогенеза. Для визуализации применялась система детекции RevealBiotin-FreePolyvalent DAB. Для маркеров ki-67 и p53 оценивали ядерную локализацию окрашивания с учетом количества положительных опухолевых клеток в зонах с максимальным их содержанием. Для маркеров CD31 и CD34 определяли количество сосудов в каждом поле зрения препарата. ИГХ-исследование иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих опухоль вульвы, проводили аналогично; определяли уровни лимфоцитов с маркерами Т- и В-лимфоцитов (CD3+ и CD20+), макрофагов (CD68+), CD4+, CD8+-клеток (табл. 1). Результаты ИГХ-исследования анализировали ретроспективно с учетом последующей продолжительности жизни больных.

Для оценки маркеров применяли следующие критерии:

1. При морфологическом и ИГХ-исследовании наличие лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации оценивали в строме и паренхиме опухолевой ткани, а также в перифокальной зоне; остальные показатели – только в опухоли. Результаты

определения количества макрофагов (CD68+) и субпопуляций Т-лимфоцитов – Т-хелперно-индукторных (CD4+) и Т-цитотоксических (CD8+) – оценивали полуколичественно на 10 случайно выбран-

ных полях зрения с применением светового микроскопа ZeissAxioImagerM2 под увеличением $\times 40$ и выражали в процентах.

Таблица 1

Панель антител для ИГХ-исследования опухолей больных раком вульвы /
Panel of antibodies for IHC study of tumors in vulvar cancer patients

Антитело	Клон	Фирма	Разведение	Буфер для «демаскировки антигенов»
Антиген ki-67, пролиферативная активность (ядерное окрашивание)	H3060	Spring Bioscience	1:200	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 6,0)
Нормальный и мутантный тип p53 (ядерное окрашивание)	DO-7	DAKO	1:100	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 9,0)
CD68 (цитоплазматическое окрашивание)	KP 1	DAKO	RTU	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 9,0)
CD3 (мембранное окрашивание)	SP7	Thermo Scientific	1:150	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 6,0)
CD20 (мембранное окрашивание)	L26	Cell Marque	1:500	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 8,0)
CD4 (мембранное окрашивание)	IF 6	DCS	1:40	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 9,0)
CD8 (мембранное и цитоплазматическое окрашивание)	C8/1448	DAKO	RTU	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 9,0)
CD34 (мембранное окрашивание эндотелиальных клеток)	QBEnd-10	DAKO	1:150	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 9,0)
CD31	1A10	Thermo Scientific	1:50	10 ммоль Tris, 1 мМ EDTA (pH 6,0)

2. Для оценки пролиферативной активности (ПА) опухоли подсчитывали количество ki-67-положительных опухолевых клеток, приходящихся на 200÷300 опухолевых. Индекс ki-67 определяли по формуле: ПА= число ki-67 положительных клеток $\times 100$ /общее количество клеток. Маркеры ПА расценивались на основе наиболее часто употребляющегося способа оценки: 0–20 % – низкая ПА, 21–50 % – умеренная, 51–100 % – высокая.

3. Опухоль считали отрицательной по p53, если в ткани опухоли отсутствовала ядерная реакция с антителами или количество окрашенных клеток было менее 25 %; положительной по p53, если было окрашено более 25 % ядер опухолевых клеток.

4. Для оценки ангиогенеза в опухолях использовали индекс внутриопухолевой микрососудистой плотности (intratumor microvessel density – MVD). Микрососуды окрашивали антителом CD34. Количество сосудов определяли в каждом поле зрения препарата при использовании объектива $\times 40$ с использованием программы AxioVs40 v-4.8.1.0.

5. Интенсивность реакций, локализованных в цитоплазме и на мембранах клеток, оценивали полуколичественным способом по шкале от 0 до 3 баллов, учитывая выраженность реакции и ее локализацию: 0 – отсутствие реакции; 1 – слабая; 2 – умеренная; 3 – сильная реакция.

Результаты исследования

Под наблюдением находилось 126 больных раком вульвы в возрасте от 27 до 85 лет, 57 из кото-

рых после лечения были с кратковременной ремиссией, 69 – с длительной. Больные раком вульвы с кратковременной ремиссией находились в возрасте от 46 до 85 лет, средний возраст – 67 лет. Среди них в I стадии было 15,8 % больных, во II – 21, в III – 47,4 и в IV – 15,8, т.е. в ранних стадиях было 36,8 – менее половины больных, а в поздних стадиях – 63,2 %, т.е. с распространённым злокачественным процессом было почти 2/3 больных. По гистологической структуре у всех был выявлен плоскоклеточный рак: у 30 % имел место высокодифференцированный, у 70 – умеренно и низкодифференцированный (40 и 30 %). Длительность ремиссии у больных этой группы была от 5 до 20 мес., в среднем 11 мес. Ни у одной из пациенток этой группы ДНК ВПЧ обнаружен не был.

Возраст больных в группе с длительной ремиссией колебался от 27 до 71 года, средний возраст – 48 лет. В I стадии было 38,5 % больных, во II – 53,8, в III – 7,7, т.е. в ранних стадиях было 92,3 % больных, а среди больных с короткой ремиссией всего 36,8 % (более чем в 2 раза меньше); больных с запущенными формами заболевания с длительной ремиссией было лишь 7,7 % по сравнению с 63,2 % в группе с короткой ремиссией. По гистологической структуре у всех пациенток данной группы был выявлен плоскоклеточный рак, преимущественно высоко- и умеренно дифференцированный с преобладанием первого (60 %). Низкая степень дифференцировки опухоли у больных данной группы отсутствовала. Длительность ремиссии составила от 3 до 18 лет, в среднем – 8 лет. Среди больных в группе с длительной

ремиссией у 54 % отмечено наличие ДНК ВПЧ (в основном 16-го и 18-го типов). Все больные подверглись комплексному лечению в соответствии со стадией заболевания. Для определения возможной роли иммунологического микроокружения опухоли в эффективности лечения и поддержания длительной ремиссии было проведено ретроспективное морфологическое исследование лимфоцитарной инфильтрации и ИГХ-исследование рака вульвы у больных обеих подгрупп.

Морфологическое исследование опухоли вульвы выявило наличие в ней лимфоцитарной

инфильтрации от незначительной с одиночно рассеянными лимфоцитами до очаговых скоплений по типу формирования лимфоидных фолликулов. По данным ИГХ-исследования, в лимфоцитарных инфильтратах обнаружено присутствие как В-, так и Т-лимфоцитов с преобладанием последних.

Сравнительная характеристика факторов локального клеточного иммунитета при раке вульвы у больных, у которых впоследствии развилась ремиссия различной длительности, представлена в табл. 2.

Таблица 2

Результаты ИГХ-исследования, %, при раке вульвы у больных с различной длительностью ремиссии: числитель – длительная, знаменатель – кратковременная / Results of IHC study in vulvar cancer in patients with various remission durations

Иммунокомпетентные клетки, инфильтрирующие опухоль					Неоангиогенез		Пролиферация	
Т-лимфоциты (CD3+)	CD4+	CD8+	В-лимфоциты (CD20+)	Макрофаги (CD68+)	CD31	CD34	ki-67	p53
95,3±9,7* 85,7±6,6*↓	41,9±4,9* 67,5±9,7*↑	52,4±6,1* 17,3±3,2*↓	6±1,7 13±2,4*↑	76,0±5,1 76,4±12,1	3,36±0,39 3,97±0,62	3,25±0,43* 5,47±1,31*↑	8,7±4,1* 85±5,0*↑	14,2±2,8* 71,4±5,1*↑

Примечание. * – статистически достоверные различия между группами (p<0,05).

Как видно из табл. 2, в ткани первичной опухоли больных с коротким периодом ремиссии экспрессия ki-67 и p53 по отношению к больным с длительной ремиссией была статистически достоверно выше (p<0,05). При количественной оценке внутриопухолевой микрососудистой плотности выявлено, что среднее количество сосудов микроциркуляторного русла в поле зрения при короткой ремиссии было выше, чем при длительной; результаты экспрессии CD34 были статистически достоверны (p<0,05).

У больных с длительной ремиссией уровень Т-лимфоцитов в опухоли был выше (p<0,05), содержание В-лимфоцитов – ниже, чем у больных с кратковременной ремиссией, а количество макрофагов – одинаковым.

Обращает на себя внимание разнонаправленность содержания основных субпопуляций Т-клеток, инфильтрирующих опухоль: так, количество CD8+-лимфоцитов было статистически значимо выше, а уровень CD4+-клеток – ниже в опухолях больных, впоследствии продемонстрировавших длительную ремиссию. Показатели этой группы для CD4+ составляли 41,9±4,9 %, для CD8+ – 52,4±6,1, тогда как в группе больных с кратковременной ремиссией – 67,5±9,7 и 17,3±3,2 соответственно; в обоих случаях p<0,05.

Преобладание в опухоли CD8+-клеток, являющихся предшественниками ЦТЛ и способных проявлять цитотоксичность, наблюдается преимущественно в опухолях с низкой пролиферативной активностью и с менее интенсивными процессами неоангиогенеза, чем в высокопролиферирующих карциномах вульвы.

Такой лимфоцитарный состав, по-видимому, более благоприятным образом отражается на эффекте лечения и длительности ремиссии, а также взаимосвязан с некоторыми факторами позитивного прогноза, что описано для других опухолей, например, для рака молочной железы [15], рака пищевода [8] и др.

Присутствие в опухолях больных, вышедших после проведенного лечения в непродолжительную ремиссию, высокого количества CD4+-Т-клеток можно объяснить возможным превалированием среди них иммуносупрессивных и проонкогенных Tregs-клеток (CD4+CD25+FoxP3+), в том числе проявляющих такие виды активности через стимуляцию неоангиогенеза и пролиферации. Подобные результаты были описаны при исследовании других опухолей. Так, сопоставление лимфоцитарного состава образцов ткани первичных и рецидивных сарком мягких тканей позволило установить, что процентное содержание CD3+CD8+-лимфоцитов

в ткани первичных опухолей статистически достоверно выше, чем в ткани рецидивных, а количество Tregs, напротив, в них ниже [16]. По данным литературы, рак пищевода характеризуется усилением инфильтрации опухоли Т-регуляторными лимфоцитами (Tregs) при более распространенных стадиях заболевания [17]; сходные данные приводятся в литературе для рака поджелудочной и молочной желез [18–20], рака яичников [21, 22].

Ранее нами было показано, что в опухолях больных раком вульвы при развитии длительной ремиссии после такого лечения исходный уровень Т-лимфоцитов оказался выше за счет CD8+-клеток, а содержание CD4+-лимфоцитов – ниже, чем в опухолях больных, вышедших в кратковременную ремиссию [23].

Для факторов локального иммунитета опухолей исследуемых нами групп выявлены не только различия, но и общие черты в виде выраженной инфильтрации CD68+-макрофагами, в незначительно большем количестве в ткани больных с коротким периодом ремиссии, составившим $80,4 \pm 12,1$ и $76 \pm 5,1$ для больных с длительным периодом ремиссии. Инфильтрация CD68+-макрофагами в исследуемых группах была представлена как в строме, так и в зонах сплошного опухолевого роста. Так, в строме и паренхиме опухоли определялась выраженная диффузная инфильтрация макрофагами в виде густого очагового скопления и диффузно-рассеянного при различной длительности безрецидивного периода. Механизмы раннего рецидивирования рака вульвы, по всей вероятности, были взаимобусловлены пролиферативными характеристиками опухолевых клеток и иммунологическими особенностями микроокружения, прежде всего Т-клеточного.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование выявило ряд значимых особенностей ИГХ-маркеров у больных с раком вульвы. Процессы пролиферации и неопластического роста при раке вульвы имели выраженные различия у больных с длительной и кратковременной ремиссией. При короткой ремиссии экспрессия факторов пролиферации ki-67 и апоптоза p53 в несколько раз превышала показатели больных с длительной ремиссией, а уровень клеток, экспрессирующих фактор неопластического роста CD34, также был статистически достоверно выше. Выявленные различия экспрессии ki-67, p53, CD34, а также количества CD3+-, CD4+-, CD8+- и CD20+-лимфоцитов в ткани первичной плоскоклеточной карциномы вульвы позволили прогнозировать те-

чение опухолевого процесса и развитие рецидива в ранние или отдаленные сроки.

Литература

1. Неродо Г.А., Непомнящая Е.М., Неродо Е.А. Клиническое течение рака вульвы у больных репродуктивного возраста // Креативная хирургия и онкология. 2012. № 3. С. 61–66.
2. Неродо Е.А., Иванова В.А., Неродо Г.А., Мироненко Т.В. Клиническая характеристика больных с рецидивами рака вульвы // Сиб. онкол. журн. 2011. Приложение № 1. С. 85.
3. Турчак А.В. Рецидивы рака вульвы и результаты их терапии (20-летний опыт) // Онкология. 2009. Т. 11 (4). С. 312–313.
4. Неродо Г.А., Иванова В.А., Неродо Е.А. Сроки возникновения рецидивов рака вульвы и их прогностические факторы // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 1. URL: <http://www.science-education.ru/107-8442> (дата обращения: 11.04.2015).
5. Неродо Е.А., Неродо Г.А., Иванова В.А. Анализ сроков появления рецидивов и безрецидивной выживаемости у больных раком вульвы // Рос. мед. журн. 2014. № 2. С. 18–21.
6. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. Киев: Наукова думка, 2005. 790 с.
7. Перельмутер В.М., Вторушин С.В., Одинцов Ю.Н., Завьялова М.В., Слонимская Е.М., Савенкова О.В. Особенности воспалительной инфильтрации в строме инвазивного протокового рака молочной железы при развитии рецидивов // Сиб. онкол. журн. 2010. № 5 (41). С. 11–16.
8. Кит О.И., Шапошиников А.В., Златник Е.Ю., Никителова Е.А., Новикова И.А. Местный клеточный иммунитет при аденокарциноме и полипах толстой кишки // Сиб. мед. обозрение. 2012. № 4 (76). С. 11–16.
9. Asano N., Asano N., Oshiro A., Matsuo K. Prognostic significance of T-cell or cytotoxic molecules phenotype in classical Hodgkin's lymphoma: a clinicopathologic study // J. Clin. Oncol. 2006. Vol. 24. P. 4626–4633.
10. De Jong R.A., Leffers N., Boezen H.M. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer // Gynecol. Oncol. 2009. Vol. 114. P. 105–110.
11. Leffers N., Gooden M.J., de Jong R.A. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer // Cancer Immunol. Immunother. 2009. Vol. 58. P. 449–459.
12. Златник Е.Ю., Неродо Г.А., Новикова И.А., Бахтин А.В., Загора Г.И., Селютин О.Н., Арджа А.Ю. Молекулярные и клеточные факторы локального иммунитета в асцитической жидкости при раке яичника // Молекулярная медицина. 2016. Т. 14, № 3. С. 39–42.
13. Златник Е.Ю., Неродо Г.А., Бахтин А.В., Новикова И.А., Мкртчян Э.Т., Арджа А.Ю. Характеристика общего и локального клеточного иммунитета у больных раком яичника // Междунар. журн. эксперим. образования. 2014. № 1. С. 72–75.
14. Летягин В.П., Тулицын Н.Н., Артамонова Е.В. Варианты иммунофенотипа рака молочной железы и их клиническое значение для прогноза // Материалы VII Рос. онкол. конгресса. М., 2003. С. 50–53.
15. Шамилов Ф.А. Субпопуляции интрагуморальных лимфоцитов при раке молочной железы // Онкология. 2012. № 2. С. 50–53.

16. Златник Е.Ю., Непомнящая Е.М., Новикова И.А. Характеристика факторов локального иммунитета у больных саркомами мягких тканей // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 3. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24621> (дата обращения: 23.09.2017).

17. Kono K., Kawaida H., Takahashi A. CD4+CD25 high regulatory T cells increase with tumour stage in patients with gastric and oesophageal cancers // *Cancer Immunol. Immunother.* 2006. Vol. 5. P. 1064–1071.

18. Liyanage U.K., Moore T.T., Joo H.G. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor micro-environment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma // *J. Immunol.* 2002. Vol. 169. P. 2756–2761.

19. Bates G.J., Fox S.B., Han C. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse // *J. Clin. Oncol.* 2006. Vol. 24. P. 5373–5380.

20. De Kruijf E.M., Van Nes J.G., Sajet A. The predictive value of HLA class I tumor cell expression and presence of intratumoral Tregs for chemotherapy in patients with early breast cancer // *Clin. Cancer. Res.* 2010. Vol. 16 (4). P. 1272–1280.

21. Curiel T.J., Coukos G., Zou L. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival // *Nat. Med.* 2004. Vol. 10. P. 942–949.

22. Zhang L., Conejo-Gracia J.R., Katsaros D. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer // *N. Engl. J. Med.* 2003. Vol. 348. P. 203–213.

23. Неродо Г.А., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Иванова В.А., Ульянова Е.П. Прогностическое значение лимфоцитарной инфильтрации у больных раком вульвы // Политем. сетевой электр. науч. журн. Куб. гос. аграр. ун-та. 2017. № 125. С. 827–839. DOI 10.21515/1990-4665-125-056.

References

1. Nerodo G.A., Nepomnyashchaya E.M., Nerodo E.A. Klinicheskoe techenie raka vul'vy u bol'nykh reproduktivnogo vozrasta [Clinical course of vulvar cancer in patients of reproductive age]. *Kreativnaya khirurgiya i onkologiya.* 2012, No. 3, pp. 61-66.

2. Nerodo E.A., Ivanova V.A., Nerodo G.A., Mironenko T.V. Klinicheskaya kharakteristika bol'nykh s retsidivami raka vul'vy [Clinical characteristics of patients with relapses of vulvar cancer]. *Sib. onkol. zhurn.* 2011, suppl. № 1, p. 85.

3. Turchak A.V. Retsidivy raka vul'vy i rezul'taty ikh terapii (20-letnii opyt) [Relapses of vulvar cancer and the results of their therapy (20 years of experience)]. *Onkologiya.* 2009, vol. 11 (4), pp. 312-313.

4. Nerodo G.A., Ivanova V.A., Nerodo E.A. Sroki vozniknoveniya retsidivov raka vul'vy i ikh prognosticheskie faktory [The timing of the occurrence of recurrences of vulvar cancer and their prognostic factors]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2013, No. 1. Available at: <http://www.science-education.ru/107-8442> (accessed 11.04.2015).

5. Nerodo E.A., Nerodo G.A., Ivanova V.A. Analiz srokov poyavleniya retsidivov i bezretsidivnoi vyzhivaemosti u bol'nykh rakom vul'vy [Analysis of the timing of the occurrence of relapse and relapse-free survival in patients with vulvar cancer]. *Ros. med. zhurn.* 2014, No. 2, pp. 18-21.

6. Berezhnaya N.M., Chekhun V.F. *Immunologiya zlo-kachestvennogo rosta* [Immunology of malignant growth]. Kiev: Naukova dumka, 2005, 790 p.

7. Perel'muter V.M., Vtorushin S.V., Odintsov Yu.N., Zav'yalova M.V., Slonimskaya E.M., Savenkova O.V. Osobnosti vospalitel'noi infil'tratsii v strome invazivnogo protokovogo raka molochnoi zhelezy pri razvitiu retsidivov [Especially inflammatory infiltration in the stroma of invasive breast cancer in the development of relapses]. *Sib. onkol. zhurn.* 2010, No. 5 (41), pp. 11-16.

8. Kit O.I., Shaposhnikov A.V., Zlatnik E.Yu., Nikipelova E.A., Novikova I.A. Mestnyi kletochnyi immunitet pri adenokartsinome i polipakh tolstoi kishki [Local cellular immunity in adenocarcinoma and polyps of the colon]. *Sib. med. obozrenie.* 2012, No. 4 (76), pp. 11-16.

9. Asano N., Asano N., Oshiro A., Matsuo K. Prognostic significance of T-cell or cytotoxic molecules phenotype in classical Hodgkin's lymphoma: a clinicopathologic study. *J. Clin. Oncol.* 2006, vol. 24, pp. 4626-4633.

10. De Jong R.A., Leffers N., Boezen H.M. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 2009, vol. 114, pp. 105-110.

11. Leffers N., Gooden M.J., de Jong R.A. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and meta-static lesions of advanced stage ovarian cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 2009, vol. 58, pp. 449-459.

12. Zlatnik E.Yu., Nerodo G.A., Novikova I.A., Bakhtin A.V., Zakora G.I., Selyutina O.N., Ardzha A.Yu. Molekulyarnye i kletochnye faktory lokal'nogo immuniteta v astiticheskoj zhidkosti pri rake yaichnika [Molecular and cellular factors of local immunity in ascites fluid in ovarian cancer]. *Molekulyarnaya meditsina.* 2016, vol. 14, No. 3, pp. 39-42.

13. Zlatnik E.Yu., Nerodo G.A., Bakhtin A.V., Novikova I.A., Mkrtychyan E.T., Ardzha A.Yu. Kharakteristika obshchego i lokal'nogo kletochnogo immuniteta u bol'nykh rakom yaichnika [Characteristics of general and local cellular immunity in patients with ovarian cancer]. *Mezhdunar. zhurn. eksperim. obrazovaniya.* 2014, No. 1, pp. 72-75.

14. Letyagin V.P., Tupitsyn N.N., Artamonova E.V. [The variants of immunophenotype of breast cancer and their clinical significance for prognosis]. *Materialy VII Ros. onkol. kongressa* [Materials of VII. Oncol. Congress]. Moscow, 2003, pp. 50-53.

15. Shamilov F.A. Subpopulyatsii intratumoral'nykh limfotsitov pri rake molochnoi zhelezy [Subpopulations of intratumoral lymphocytes in breast cancer]. *Onkologiya.* 2012, No. 2, pp. 50-53.

16. Zlatnik E.Yu., Nepomnyashchaya E.M., Novikova I.A. Kharakteristika faktorov lokal'nogo immuniteta u bol'nykh sarkomami myagkikh tkanei [Characteristics of local immunity factors in patients with soft tissue sarcomas]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2016, No. 3. Available at: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24621> (accessed 23.09.2017).

17. Kono K., Kawaida H., Takahashi A. CD4+CD25 high regulatory T cells increase with tumour stage in patients with gastric and oesophageal cancers. *Cancer Immunol. Immunother.* 2006, vol. 5, pp. 1064-1071.

18. Liyanage U.K., Moore T.T., Joo H.G. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. *J. Immunol.* 2002, vol. 169, pp. 2756-2761.

19. Bates G.J., Fox S.B., Han C. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *J. Clin. Oncol.* 2006, vol. 24, pp. 5373-5380.

20. De Kruijf E.M., Van Nes J.G., Sajet A. The predictive value of HLA class I tumor cell expression and presence of intratumoral Tregs for chemotherapy in patients with early breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2010, vol. 16 (4), pp. 1272-1280.

21. Curiel T.J., Coukos G., Zou L. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privi-

lege and predicts reduced survival. *Nat. Med.* 2004, vol. 10, pp. 942-949.

22. Zhang L., Conejo-Gracia J.R., Katsaros D. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.* 2003, vol. 348, pp. 203-213.

23. Nerodo G.A., Novikova I.A., Zlatnik E.Yu., Ivanova V.A., Ulyanova E.P. Prognosticheskoe znachenie limfotsitarnoi infil'tratsii u bol'nykh rakom vul'vy [Prognostic value of lymphocytic infiltration in patients with vulvar cancer]. *Politem. setevoi elektr. nauch. zhurn. Kub. gos. agrar. un-ta.* 2017, No. 125, pp. 827-839. DOI 10.21515/1990-4665-125-056.

Поступила в редакцию / Received

6 сентября 2017 г. / September 6, 2017

УДК 618.11:616.98-092.4

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-104-110

СОСТОЯНИЕ ГИПОФИЗАРНО-ГОНАДНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТЕЛА МАТКИ РЕПРОДУКТИВНОГО И ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ПЕРИОДА

© 2017 г. В.П. Никитина¹, Г.А. Неродо¹, А.М. Тютюнова¹, Э.А. Шурыгина¹, Е.В. Вереникина¹, И.С. Никитин¹, О.Е. Кравцова¹, Н.А. Максимова¹, Ю.С. Шатова¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

PITUITARY-GONADAL SYSTEM IN REPRODUCTIVE AND POSTMENOPAUSAL PATIENTS WITH UTERINE CANCER

V.P. Nikitina¹, G.A. Nerodo¹, A.M. Tyutyunova¹, E.A. Shurygina¹, E.V. Verenikina¹, I.S. Nikitin¹, O.E. Kravtsova¹, N.A. Maksimova¹, Yu.S. Shatova¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Никитина Вера Петровна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: vera_nikitina_oo@bk.ru

Vera P. Nikitina - Doctor of Medicine, Professor, Leading Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: vera_nikitina_oo@bk.ru

Неродо Галина Андреевна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Galina A. Nerodo - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, Main Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Тютюнова Ангелина Михайловна – научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Angelina M. Tyutyunova - Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Шурыгина Эльвина Александровна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Elvina A. Shurygina - Candidate of Medicine, Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Вереникина Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением онкогинекологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Ekaterina V. Verenikina - Candidate of Medicine, Head of Oncogynecology Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Никитин Иван Сергеевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: vitman14@bk.ru

Ivan S. Nikitin - Candidate of Medicine, Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: vitman14@bk.ru

Кравцова Оксана Евгеньевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Oksana E. Kravtsova - Candidate of Medicine, Senior Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Максимова Наталья Александровна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель радиоизотопной лаборатории с группой УЗИ-диагностики, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Natalia A. Maksimova - Doctor of Medicine, Professor, Head of Radioisotope Laboratory with Ultrasonic Diagnostics Group, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Шатова Юлиана Сергеевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, отделение опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: shat5@rambler.ru

Yuliana S. Shatova - Doctor of Medicine, Leading Researcher, Department of Soft Tissue, Bone and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: shat5@rambler.ru

Исследовали состояние гипофизарно-гонадной системы у больных раком тела матки (РТМ) в сопоставлении с овариальной функцией у 156 больных РТМ, распределенных в зависимости от состояния овариальной функции на 2 группы: 1-я – 65 больных репродуктивного периода, 2-я – 91 больная в менопаузе. Изучали радиометрическими методами концентрацию в крови ЛГ и ФСГ, а также общепринятыми биохимическими методами – экскрецию с мочой эстрогенов, прегнандиола, андростерона и этиохоланолона. Контроль – здоровые женщины. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета программ STATISTICA 7. Оценка достоверности проведена с использованием t-критерия Стьюдента. У больных РТМ репродуктивного возраста установлено снижение продукции половых гормонов всех классов. Сумма эстрогенов в среднем в 1,7 раза ниже, чем у здоровых в фолликулиновую фазу, и в 6,3 раза ниже, чем у здоровых в лютеиновую. Экскреция прегнандиола ниже в 1,8 раза и меньше уровня, характеризующего лютеиновую фазу, в 4,7 раза. Коэффициент отношения эстрадиола к андростерону составил $1,13 \pm 0,1$, у здоровых – $0,73 \pm 0,06$. Концентрация ФСГ вдвое выше, чем в нормальной фолликулиновой фазе, и в 4 раза выше, чем в нормальной лютеиновой. В основе относительной гиперэстрогенизации у менопаузальных больных лежит сдвиг равновесия между прогестинами и эстрогенами в сторону последних, коэффициент эстрадиол/прегнандиол у больных $3,3 \pm 0,21$, у здоровых – $1,75 \pm 0,14$.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о важной роли эстрогенов в развитии РТМ. У больных репродуктивного возраста установлено снижение по сравнению с контролем уровня эстронов и эстрадиола ($p \leq 0,001$). У больных с сохраненной репродуктивной функцией, несмотря на снижение абсолютного уровня эстрогенов, нельзя полностью отрицать состояние относительной эстрогенизации, которое проявляется благодаря наиболее выраженному в сравнении со всеми стероидами снижению уровня андрогенных гормонов, сдвигу андрогенно-эстрогенного равновесия в сторону эстрадиола, а также в нарушении эстрогенно-прогестинового баланса. В постменопаузальном периоде выявлен сдвиг равновесия между стероидными гормонами в сторону эстрогенов. Обращает на себя внимание низкий уровень прогестинов у больных в постменопаузе, в отличие от его уровня у пациенток репродуктивного возраста и группы контроля ($p \leq 0,05$).

Такие изменения в гормональном статусе больных РТМ со всей очевидностью демонстрируют роль гипопрогестеронемии в развитии РТМ, что подтверждается данными литературы о значении прогестеронотерапии в профилактике и лечении гиперпластических процессов эндометрия.

Ключевые слова: рак тела матки, овариальная функция, половые гормоны, гонадотропины, эстрогены, прегнандиол.

The pituitary-gonadal system was studied in 156 uterine cancer (UC) patients divided into two groups: group I - 65 reproductive patients, group II - 91 menopausal patients. Blood levels of LH and FSH were measured by radiometric methods, and the excretion of estrogens, pregnanediol, androsterone and etiocholanolone in the urine was studied by the standard biochemical methods. The values in healthy women were used as the control. Statistical processing of the data was performed using the STATISTICA 7 program, and significance was assessed using Student's t-test. UC patients of the reproductive age showed decrease production of sex hormones. The sum of estrogens was on average 1.7 times lower than in healthy people at the follicular phase and 6.3 times lower than at the luteal phase. Pregnanediol expression was 1.8 times lower, and 4.7 times lower than the level at the luteal phase. Estradiol to androsterone coefficient was 1.13 ± 0.1 , while in healthy people – 0.73 ± 0.06 . The FSH concentration was twice higher than at the normal follicular phase and 4 times higher than at the normal luteal phase. The relevant hyperestrogenization in menopausal patients was based on a shift in the balance between progestins and estrogens towards the latter; the estradiol/pregnanediol expression was 3.3 ± 0.21 in patients and 1.75 ± 0.14 in healthy people.

The results demonstrated an important role of estrogens in the UC development. Patients of the reproductive age showed lower levels of estrone and estradiol compared to the controls ($p \leq 0.001$). Patients with preserved reproductive function, in spite of the decrease in the absolute estrogen level, showed signs of the relative estrogenization expressed in the most marked, compared to other steroids, decrease in androgenic hormones, a shift of the androgen-estrogen balance towards estradiol, and estrogen-progestin imbalance. In the postmenopausal period, we revealed a shift in the balance between steroid hormones towards estrogens. The low level of progestins was observed in postmenopausal patients, in contrast to the levels in patients of the reproductive age and controls ($p \leq 0.05$).

Such changes in the hormonal status of UC patients clearly demonstrate the role of hypoprogesteronemia in the development of UC which is confirmed by the literature data on the importance of progesterone therapy in the prevention and treatment of endometrial hyperplastic processes.

Keywords: uterine cancer, ovarian function, sex hormones, gonadotropin, estrogen, pregnanediol.

Введение

В структуре заболеваний женских половых органов рак тела матки (РТМ) по-прежнему занимает лидирующее место. Участие эстрогенов в развитии РТМ общепризнано и рассматривается как один из

ведущих этиологических факторов его возникновения. И хотя о молекулярных механизмах действия стероидов накоплен большой экспериментальный материал, вопрос о том, как эти гормоны стимулируют пролиферацию в раковых клетках, пока остается открытым.

В последние годы значительно расширилась информация о внутриклеточных механизмах действия половых гормонов на органы-мишени, в том числе и на матку. Стало известно, что интегрирующая роль половых стероидов в деятельности всей репродуктивной системы происходит благодаря наличию в них рецепторов к этим стероидам [1, 2].

Гормональное влияние на слизистую матки, в частности, осуществляется посредством серии интегрированных внутриклеточных процессов, в результате которых возникает ассоциация стероидных половых гормонов с цитоплазматическим стероидным белком. Клеточный гомеостаз матки, зависимый от половых гормонов, обеспечивает ее нормальную функцию и развитие, оказывая влияние на баланс между популяцией пролиферирующих и гибнущих клеток. Гормональный механизм регуляции клеточного гомеостаза сдерживает чрезмерную пролиферацию железистого эпителия слизистой матки при условии циклически изменяющегося динамического равновесия между отдельными представителями половых стероидов: эстрогенами, андрогенами, прогестинами [3, 4].

Таким образом, одним из необходимых условий осуществления гормонального влияния на матку являются нормальная функция стероидно-рецепторного комплекса, состояние динамического равновесия между отдельными представителями половых стероидов и цикличность их изменения [5].

Известно, что при старении организма, когда чаще всего развивается злокачественный рост в репродуктивных органах, изменяется не только количество секретируемых половых гормонов, но также способность клеток репродуктивных органов регулировать происходящие в них гормонально-метаболические процессы. Теоретически гормоны не должны вызывать рак, так как они не меняют первичной структуры ДНК. В то же время не подлежит сомнению, что гормоны способны индуцировать рак. По мнению В.М. Дильмана [6], гормоны создают условия, при которых повышается вероятность возникновения рака под влиянием истинного канцерогенного фактора. К таким условиям относятся увеличение пула пролиферирующих клеток, снижение противоопухолевого иммунитета, изменение способности репарации ДНК. Первое условие обеспечивается в основном пролиферативным влиянием эстрогенов на эндометрий. Большинство исследований, посвященных этиопатогенезу РТМ, исходит из идеи его гормонозависимости и гормонообусловленности в основном от уровня эстрогенных гормонов [7]. При этом необходимо учитывать возрастные особенности больной, состояние обменных процессов в ее организме. В этом плане не вызывает сомнения важность

дифференциального подхода к оценке роли различных факторов в возникновении и развитии опухоли, в том числе и гормональных, с учетом функции всех звеньев эндокринной системы.

Женщины репродуктивного возраста, страдающие РТМ, составляют 2,1–5,0 % от общего числа болеющих. Молодые женщины с диагнозом «рак шейки матки» представляют собой совершенно отличную форму от всех остальных пациенток [3].

Цель исследования – изучить состояние гипофизарно-гонадной системы у больных РТМ в сопоставлении с овариальной функцией.

Материал и методы

В исследование включены 156 больных РТМ, находившихся на лечении в отделении гинекологии ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ с 2012 по 2016 г. По состоянию овариальной функции все больные были разделены на 2 группы. В 1-ю вошли 65 (42 %) больных РТМ репродуктивного периода, средний их возраст составил $41 \pm 3,3$ года. Во 2-ю – 91 больная (58 %) в менопаузе, средний возраст $56 \pm 2,7$.

По степени распространения заболевания больные распределились следующим образом: с I стадией (ст.) заболевания – 74 пациентки, со II – 82. Морфологическая структура опухоли в основном представлена умеренно дифференцированной аденокарциномой – 84 %.

У всех больных до лечения было проведено исследование состояния гипофизарно-гонадной системы. Для этого радиометрическими методами определяли концентрацию в крови ЛГ и ФСГ, а также общепринятыми биохимическими методами – экскрецию с мочой эстрогенов (эстрон, эстрадиол, эстриол), прегнандиола (одного из метаболитов прогестерона), андростерона и этиохоланолон (главных метаболитов тестостерона). Определить фазу менструального цикла (ФМЦ) на период обследования у большинства больных не представлялось возможным из-за нарушения менструальной функции, задержки на несколько месяцев менструации или наличия кровотечения. Поэтому гормональные показатели больных репродуктивного возраста мы сравнивали с нормальными данными здоровых женщин, характерными для фолликулиновой или лютеиновой ФМЦ.

Результаты исследования (табл. 1) характеризуют явную гипофункцию яичников у молодых женщин, больных РТМ, сопровождающуюся понижением продукции половых гормонов всех классов: эстрогенов, прогестинов, андрогенов.

Таблица 1

Гормональные показатели гипофизарно-гонадной системы у больных РТМ репродуктивного периода / Hormonal parameters of the pituitary-gonadal system in reproductive patients with uterine cancer

Гормоны	Больные без учета ФМЦ	Здоровые, ФМЦ	
		Фолликулиновая	Лютеиновая
ФСГ, МЕ/л	4,80±0,70 p ₁ , p ₂ ≤ 0,001	2,01±0,24	1,28±0,16
ЛГ, МЕ/л	3,41±0,21 p ₁ , p ₂ ≥ 0,05	2,54±0,28	2,51±0,30
Эстрон (Э ₁), нмоль/сут	7,35±0,63 p ≤ 0,001	17,3±1,67	49,0±3,80
Эстрадиол (Э ₂), нмоль/сут	4,20±0,34 p ₁ , p ₂ ≤ 0,001	8,75±0,92	25,5±2,81
Эстриол (Э ₃), нмоль/сут	12,30±1,10 p ₁ ≥ 0,05; p ₂ ≤ 0,001	14,35± 1,80	75,9±7,32
Сумма эстрогенов	23,90 ± 2,13 p ₁ ≥ 0,05; p ₂ ≤ 0,001	40,61±4,0	150,52±14,3
Андростерон, мкмоль/сут	3,68±0,28 p ₁ , p ₂ ≥ 0,01	11,90±1,42	13,47±1,56
Этиохоланолон, мкмоль/сут	4,82±0,36 p ₁ , p ₂ ≤ 0,01	9,45±0,86	11,23±0,95
Прегнандиол, мкмоль/сут	1,41±0,11 p ₁ , p ₂ ≤ 0,001	2,52±0,12	6,60±0,3

Сумма женских половых гормонов у них была в среднем в 1,7 раза ниже, чем у здоровых в фолликулиновую ФМЦ, и в 6,3 раза ниже, чем у здоровых женщин в лютеиновую ФМЦ. Уменьшение суммы эстрогенных гормонов происходило в основном за счет эстрона и эстрадиола. Степень снижения их уровня (в сравнении с соответствующими показателями контрольной группы) повторяла степень снижения суммы эстрогенов. Количество эстриола соответствовало средним величинам фолликулиновой фазы и было в 6 раз ниже, чем в лютеиновую фазу нормального менструального цикла. При изучении индивидуальных колебаний концентрации женских половых гормонов было установлено, что лишь у 8 % больных количество экскретируемого с мочой эстрона в пределах нормы, характерной для фолликулярной фазы, и у 20 % – количество эстрадиола. У остальных содержание изучаемых фракций было значительно ниже, чем у здоровых лиц, а количество эстрадиола у 24 % больных совсем не определялось или было близким к нулевому значению. Ни в одном случае ни та, ни другая фракция не превышала показателей, свойственных здоровым женщинам соответствующего возраста. Экскреция андростерона в среднем была втрое ниже нормы, а выделение этиохоланолона – вдвое. Картина индивидуальных колебаний андрогенных метаболитов была более разнородной, чем эстрогенов. У 34 % больных количество андростерона находилось в пределах нормальных колеба-

ний, у 12 % экскреция этого метаболита выше, чем у здоровых. Экскреция этиохоланолона у 28 % больных была в пределах колебаний, свойственных практически здоровым женщинам, в 4 % случаев содержание его превысило нормальные показатели. У остальных больных количество андростерона и этиохоланолона было значительно ниже нормальных величин.

Как показали результаты исследования, у большинства обследуемых больных в значительной степени снижен уровень прегнандиола. Его экскреция ниже соответствующего показателя, характерного для фолликулиновой фазы цикла, в среднем в 1,8 раза; меньше уровня, характеризующего лютеиновую фазу, в 4,7 раза. Нормальное количество данного гормона отмечено лишь у 6 % женщин. Ни в одном случае уровень прегнандиола не превышал норму. Состояние относительной гиперэстрогении у этой группы больных поддерживалось не только за счет уменьшения уровня прогестерона, но и вследствие выраженного снижения продукции андрогенных гормонов. Андрогенно-эстрогенное равновесие у молодых женщин сдвигалось в сторону эстрадиола: коэффициент отношения эстрадиола к андростерону у больных составил 1,13±0,1, у здоровых – 0,73±0,06 (p ≤ 0,5).

Известно, что весьма тонко регулировать синтез и распределение, а следовательно, и влияние стероидных гормонов на ткани-мишени могут гонадотропины. Они влияют на различные стадии мета-

болических реакций. Изучение гонадотропных гормонов у молодых женщин, болеющих РТМ, выявило прежде всего нарушение нормального равновесия между их основными представителями: ФСГ и ЛГ. Содержание ЛГ в крови больных соответствовало средним величинам фолликулиновой и лютеиновой фаз, а концентрация ФСГ была вдвое выше, чем в нормальной фолликулиновой фазе, и в 4 раза выше, чем в нормальной лютеиновой. Другими словами, результаты анализа свидетельствуют об относительной недостаточности ЛГ больных РТМ репродуктивного возраста и об абсолютном увеличении у них концентрации ФСГ, что может характеризовать состояние разбалансированности гонадотропной функции гипофиза.

Закономерности иного характера обнаружены у больных РТМ в постменопаузальном возрасте (табл. 2). Результаты исследования показывают у большинства больных этой группы отклонения от нормального уровня экскреции стероидных гормонов всех классов: эстрогенов, андрогенов, прогестинов. Выявлены также бесспорные нарушения в продукции гонадотропных гормонов гипофиза: ФСГ и ЛГ, регулирующих синтез женских и мужских половых стероидов.

Таблица 2

**Гормональные показатели гипофизарно-гонадной системы у больных РТМ постменопаузального периода /
 Hormonal parameters of the pituitary-gonadal system in postmenopausal patients with uterine cancer**

Гормоны	Больные РТМ	Здоровые
ФСГ, МЕ/л	9,60±0,62 p ≤ 0,05	16,0±1,35
ЛГ, МЕ/л	9,2±1,90 p ≥ 0,05	11,0±1,10
Эстрон (Э ₁), нмоль/сут	6,64±0,04 p ≥ 0,10	6,70±0,61
Эстрадиол (Э ₂), нмоль/сут	4,92±0,38 p ≤ 0,05	3,50±0,23
Эстриол (Э ₃), нмоль/сут	12,60±0,94 p ≥ 0,01	19,36±1,82
Сумма эстрогенов	24,1±2,50 p ≥ 0,05	29,51±1,94
Андростерон, мкмоль/сут	5,63±0,54 p ≥ 0,10	4,55±0,35
Этиохоланолон, мкмоль/сут	7,03±0,62 p ≥ 0,05	0,10±0,48
Прегнандиол, мкмоль/сут	1,47±0,14 p ≤ 0,05	2,02±0,16

Однако, если у женщин репродуктивного возраста количество активных фракций эстрогенов снижено, у больных менопаузального периода экс-

кретция самого активного естественного эстрогена (эстрадиола) значительно превышала соответствующий показатель контрольной группы здоровых. Если у молодых пациенток уровень выделения андрогенных метаболитов (андростерона и этиохоланолона) ниже нормы, у пожилых экскреция этих гормонов не отличалась от нормы.

В противовес молодым, у которых уровень ФСГ выше нормального, у пожилых его содержание ниже нормы. Если у молодых соотношение между ФСГ и ЛГ сдвинуто в сторону ФСГ, у пожилых преобладающим в равновесии гонадотропином явился ЛГ. Лишь низкий уровень прегнандиола объединял больных молодого и пожилого возраста. Если для больных репродуктивного возраста характерно состояние относительной гиперэстрогенизации, для менопаузальных свойственна сочетанная гиперэстрогенизация. В основе относительной гиперэстрогенизации у менопаузальных больных лежит сдвиг равновесия между прогестинами и эстрогенами в сторону последних, коэффициент эстрадиол/прегнандиол у больных 3,3±0,21, у здоровых – 1,75±0,14 (p ≤ 0,001).

Широкий диапазон всех параметров, характеризующих функцию гипофизарно-гонадной системы, послужил поводом для разделения больных постменопаузального возраста в зависимости от длительности менопаузы на две подгруппы: 1-я – женщины, продолжительность менопаузы у которых менее 5 лет, и 2-я – более 5 лет.

Согласно результатам анализа, обследуемые группы отличались не только по степени выраженности нарушений функциональной активности гипофизарно-гонадной системы, специфическим в каждой группе был характер их проявлений (табл. 3).

В 1-й подгруппе в основе состояния стероидного дисбаланса лежит нарушение равновесия между отдельными фракциями женских половых гормонов. Коэффициент отношения суммы эстрона и эстрадиола к эстриолу у больных составил 1,06±0,18, у здоровых – 0,53±0,005 (p ≤ 0,001), так же – между эстрадиолом и андрогенными гормонами. Во всех случаях сдвиг равновесия между стероидными гормонами происходил в пользу самой активной эстрогенной фракции – эстрадиола, что и поддерживало состояние гиперэстрогениции.

Нарушение гормонального баланса у больных 1-й подгруппы усугублялось статистически достоверным уменьшением секреции гонадотропных гормонов (ФСГ и ЛГ), гипофизом и явным сдвигом их равновесия между собой в сторону относительного увеличения ЛГ. У больных 2-й группы сумма эстрогенных гормонов находилась в пределах колебаний возрастной нормы, что, однако, совсем не свидетельствовало об отсутствии эстро-

генизации организма больных. Перераспределение отдельных фракций женских половых гормонов со сдвигом равновесия в сторону не только эстра-

диола, но и эстрогена на фоне замедления интенсивности образования эстриола создавало определенные условия для гиперэстрогенизации.

Таблица 3

Гормональные показатели гипофизарно-гонадной системы у больных РТМ в зависимости от продолжительности менопаузы / Hormonal parameters of the pituitary-gonadal system in patients with uterine cancer in dependence on the menopause duration

Гормоны	Продолжительность менопаузы			
	Менее 5 лет		Более 5 лет	
	Больные	Здоровые	Больные	Здоровые
ФСГ, МЕ/л	5,85±,60 p ≤ 0,001	16,31±1,80	11,70±1,10 p ≤ 0,05	15,80±0,90
ЛГ, МЕ/л	7,12±0,80 p ≤ 0,05	10,00±1,20	10,30±0,80 p ≥ 0,10	11,90±1,00
Эстрон (Э ₁), нмоль/сут	6,65±0,54 p ≥ 0,10	7,70±0,54	6,40±0,50 p ≤ 0,05	4,90±0,31
Эстрадиол (Э ₂), нмоль/сут	5,25±0,41 p ≤ 0,05	3,89±0,28	4,52±0,31 p ≤ 0,05	3,50±0,25
Эстриол (Э ₃), нмоль/сут	12,60±0,13 p ≥ 0,05	19,95±1,72	12,60±0,92 p ≤ 0,05	14,72±1,10
Сумма эстрогенов	24,85±1,98 p ≥ 0,05	31,50±3,00	23,40±1,94 p ≥ 0,10	23,60±4,40
Андростерон, мкмоль/сут	5,43±0,42 p ≥ 0,05	4,83±0,36	4,90±0,28 p ≤ 0,05	3,90±0,31
Этиохоланолон, мкмоль/сут	7,35±0,71 p ≥ 0,05	5,95±0,49	6,79±0,35 p ≤ 0,05	5,60±0,52
Прегнандиол, мкмоль/сут	1,68±0,15 p ≥ 0,05	2,01±0,20	1,35±0,09 p ≤ 0,05	1,92±,15

Это состояние усиливалось уменьшением уровня прогестинов. Между эстрадиолом и андростероном в этой группе поддерживалось нормальное соотношение.

Изучение индивидуальных колебаний величины отдельных фракций эстрогенов у 2-й подгруппы больных позволило установить взаимосвязь повышения экскреции активных эстрогенов со снижением уровня их метаболита – эстриола.

Количество больных с высоким содержанием эстрогена и эстрадиола (40 %) было близко к числу больных с низкой экскрецией эстриола (53 %).

Необходимо обратить внимание на то, что у значительного числа больных 2-й группы (40 %) уровень эстрогена и эстрадиола был ниже нормы, а у 18 % количество эстриола превышало норму. Полученные данные свидетельствуют о неоднородности гормональных изменений даже в этой однородной (по распространению процесса и по длительности менопаузы) группе больных.

У женщин с продолжительностью менопаузального периода больше 5 лет выше нормы был уровень экскреции андрогенных метаболитов: андро-

стерона и этиохоланолона. При исследовании индивидуальных колебаний экскреции этих гормонов обнаружено почти равномерное распределение больных с повышенным, пониженным и нормальным количеством андростерона и этиохоланолона.

Очень низкий уровень экскреции прегнандиола у женщин с продолжительностью менопаузы более 5 лет отражает недостаточную продукцию у них прогестинов и, следовательно, отсутствие противодействия эстрогенам, которые усиливают пролиферативные процессы и способствуют развитию злокачественных новообразований в матке.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о важной роли эстрогенов в развитии РТМ. У больных репродуктивного возраста установлено снижение по сравнению с контролем уровня эстрогена и эстрадиола (p ≤ 0,001). У больных с сохраненной репродуктивной функцией, несмотря на снижение абсолютного уровня эстрогенов, нельзя полностью отрицать состояние относитель-

ной эстрогенизации, которое проявляется благодаря наиболее выраженному в сравнении со всеми стероидами снижению уровня андрогенных гормонов, сдвигу андрогенно-эстрогенного равновесия в сторону эстрадиола, а также в нарушении эстрогенно-прогестинового баланса. В постменопаузальном периоде выявлен сдвиг равновесия между стероидными гормонами в сторону эстрогенов. Обращает на себя внимание низкий уровень прогестин у больных в постменопаузе, в отличие от его уровня у пациенток репродуктивного возраста и группы контроля ($p \leq 0,05$).

Такие изменения в гормональном статусе больных РТМ со всей очевидностью демонстрируют роль гипопрогестеронемии в развитии РТМ, что подтверждается данными литературы о значении прогестеронотерапии в профилактике и лечении гиперпластических процессов эндометрия.

Литература

1. Неродо Г.А., Тютюнова А.М., Никитина В.П. Состояние гипофизарно-надпочечниковой системы у больных раком тела матки в зависимости от стадии заболевания и степени дифференцировки опухоли // Изв. вузов. Сев.-Кавк. регион. Естеств. науки. 2005. № 4. С. 74–79.
2. Никитина В.П., Неродо Г.А. Некоторые показатели эндокринной системы при рецидивировании рака тела матки // Сиб. онкол. журн. 2009. № 2. С. 148–149.
3. Коломиец Л.А., Бочкарева Н.В., Чернышова А.Л. Рак эндометрия и метаболический синдром. Томск, 2010. 228 с.
4. Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А. Уровень половых гормонов и пролактина в ткани злокачественных опухолей молочной железы у больных разного возраста // Фундаментальные исследования. 2013. № 7 (3). С. 560–564.

5. Берштейн Л.М., Максимов С.Я. Гормональный канцерогенез. СПб., 2000. 199 с.

6. Дильман В.М. Четыре модели медицины. М., 1987. 287 с.

7. Almassi N. M., Al Hamad M. Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma // *Brest Cancer Rec.* 2005. Vol. 7 (5). P. 598–604.

References

1. Nerodo G.A., Tyutyunova A.M., Nikitina V.P. Sostoyanie gipofizarno-nadpochechnikovoi sistemy u bol'nykh rakom tela matki v zavisimosti ot stadii zabolevaniya i stepeni differentsirovki opukholi [The state of the pituitary-adrenal system in patients with the body of the uterus, depending on the stage of the disease and the degree of differentiation of the tumor]. *Izv. vuzov. Sev.-Kavk. region. Estestv. nauki.* 2005, No. 4, pp. 74-79.
2. Nikitina V.P., Nerodo G.A. Nekotorye pokazateli endokrinnoi sistemy pri retsidivirovanii raka tela matki [Some indicators of the endocrine system with recurrence of uterine body cancer]. *Sib. onkol. zhurn.* 2009, No. 2, pp. 148-149.
3. Kolomiets L.A., Bochkareva N.V., Chernyshova A.L. *Rak endometriya i metabolicheskii sindrom* [Endometrial cancer and metabolic syndrome]. Tomsk, 2010, 228 p.
4. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A. Uroven' polovykh hormonov i prolaktina v tkani zlokachestvennykh opukholei molochnoi zhelezy u bol'nykh raznogo vozrasta [The level of sex hormones and prolactin in the tissue of malignant breast tumors in patients of different ages]. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2013, No. 7 (3), pp. 560-564.
5. Bershtein L.M., Maksimov S.Ya. *Gormonal'nyi kantserogenez* [Hormonal cancerogenesis]. Saint Petersburg, 2000, 199 p.
6. Dil'man V.M. *Chetyre modeli meditsiny* [Four models of medicine]. Moscow, 1987, 287 p.
7. Almassi N. M., Al Hamad M. Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma. *Brest Cancer Rec.* 2005, vol. 7 (5), pp. 598-604.

УДК 616-006-04; 616-08-06

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-111-118

ДЕЙСТВИЕ КСЕНОНА НА ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА

© 2017 г. Л.Я. Розенко¹, М.С. Зинькович¹, Ю.Ю. Арапова¹, Т.П. Протасова¹, А.И. Шихлярова¹,
Н.Н. Попова¹, Е.П. Коробейникова¹, Л.Н. Ващенко¹, Н.Д. Ушакова¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

EFFECT OF XENON ON SPATIAL ORGANIZATION OF BIOELECTRIC ACTIVITY OF THE BRAIN

L.Ya. Rozenko¹, M.S. Zinkovich¹, Yu.Yu. Arapova¹, T.P. Protasova¹,
A.I. Shikhlyarova¹, N.N. Popova¹, E.P. Korobeynikova¹, L.N. Vashchenko¹, N.D. Ushakova¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Розенко Людмила Яковлевна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, отделение радиологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: lusiroz@yandex.ru

Lyudmila Ya. Rozenko - Doctor of Medicine, Professor, Main Researcher, Department of Radiology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: lusiroz@yandex.ru

Зинькович Михаил Сергеевич – врач-радиотерапевт, отделение лучевых методов лечения, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: zinkovich.m@mail.ru

Michail S. Zinkovich - Radiotherapist, Radiology Department, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: zinkovich.m@mail.ru

Арапова Юлия Юрьевна - кандидат биологических наук, научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: juli.arapova@yandex.ru

Yulia Yu. Arapova - Candidate of Biological Sciences, Researcher, Experimental Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: juli.arapova@yandex.ru

Протасова Татьяна Пантелеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: protasovatp@yandex.ru

Tatjana P. Protasova - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: protasovatp@yandex.ru

Шихлярова Алла Ивановна – доктор биологических наук, профессор, руководитель испытательного лабораторного центра, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Alla I. Shikhlyarova - Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Попова Наталья Николаевна – врач-анестезиолог, отделение анестезиологии и реанимации, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: Natalyaanest@mail.ru

Natal'ya N. Popova - Anesthetist, Department of Anesthesiology and Critical Care, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: Natalyaanest@mail.ru

Коробейникова Елена Петровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: korobeynikovaep@gmail.com

Elena P. Korobeynikova - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: korobeynikovaep@gmail.com

Ващенко Лариса Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением опухолей мягких тканей, костей и молочной железы, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rmioi@list.ru

Larisa N. Vashchenko - Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Soft Tissue, Bone and Breast Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rmioi@list.ru

Ушакова Наталья Дмитриевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением гемодиализа, врач-анестезиолог-реаниматолог, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Natalia D. Ushakova - Doctor of Medicine, Professor, Head of the Hemodialysis Department, Anesthetist-Resuscitator, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Нервная система обладает высокой чувствительностью к ионизирующим излучениям, ввиду чего является одной из основных дозолimitирующих структур в радиотерапии. Побочные эффекты, сопровождающие облучение головного мозга, требуют поиска новых подходов, направленных на снижение его негативных последствий. В этом отношении перспективным представляется использование ксенона, поскольку в ряде исследований были констатированы его нейропротекторные свойства. Исследованы показатели электроэнцефалограммы (ЭЭГ) 24 пациентов обоего пола в возрасте $50,5 \pm 0,9$ года с одиночным метастатическим поражением головного мозга (МППМ), распределенных поровну на 3 группы. Аджьювантную лучевую терапию в 1-й группе больных осуществляли в объеме облучения всего головного мозга (ОВГМ), во 2-й – ОВГМ с добавлением буста на ложе удаленного метастаза, в 3-й – аналогично предыдущей схеме в сопровождении ингаляций ксенон-кислородной смесью. Изучение влияния ксенона на параметры биоэлектрической активности головного мозга пациентов проведено перед началом, в середине и по окончании курса лучевой терапии. Рассчитывали спектральную мощность ЭЭГ спокойного бодрствования с закрытыми глазами в диапазоне частот 0,5–18,0 Гц с помощью Фурье-преобразования. Установлено, что у больных, получавших дополнительно к ОВГМ ингаляции ксеноном, по завершении курса лечения нарушения ЭЭГ были выражены только в области метастатического поражения, а также в прилегающих к ней областях и, в отличие от пациентов двух других групп, не затрагивали интактные зоны коры.

Таким образом, ингаляции ксеноном являются эффективным средством оптимизации лучевой терапии. Его нейропротекторное и, возможно, радиопротекторное действие позволяет уменьшить выраженность побочных реакций, улучшить функциональное состояние центральной нервной системы и качество жизни пациентов с МППМ. Вероятно, такой эффект связан с позитивным влиянием ксенона не только на кору, но и на подкорковые структуры мозга.

Ключевые слова: биоэлектрическая активность, электроэнцефалограмма, спектральная мощность, ксенон, ингаляции, метастатическое поражение головного мозга, облучение головного мозга, буст.

The nervous system is highly sensitive to ionizing radiation, thus it is one of the main dose-limiting structures in radiotherapy. Side effects accompanying brain radiation require new approaches to reduce the negative consequences. The use of xenon appears promising, since a number of studies demonstrated its neuroprotective effects. EEG parameters were studied in 24 patients of both genders aged 50.5 ± 0.9 years with solitary brain metastases that were divided equally into three groups. Group 1 received adjuvant whole brain irradiation (WBI), group 2 - WBI with the additional boost to the bed of resected metastasis, and group 3 - the scheme similar to the previous one plus xenon-oxygen mixture inhalations. The effect of xenon on the parameters of the bioelectric activity of the brain of patients was studied before, during and after radiotherapy. Spectral EEG power of quiet wakefulness with closed eyes in the frequency range of 0.5 - 18.0 Hz was calculated using the Fourier transform. After the treatment course, patients receiving brain radiation and xenon inhalations showed EEG abnormalities only at the site of metastatic lesion and in adjacent areas and, in contrast to the other two groups, did not involve intact cortex areas. Thus, xenon inhalations are an effective way of radiotherapy optimization. Its neuroprotective and possibly radioprotective effect allows reducing the severity of adverse reactions and improving the functional state of the central nervous system and quality of life of patients with brain metastasis. Such an effect could be associated with the positive influence of xenon not only on the cortex but also on the subcortical structures of the brain.

Keywords: bioelectric activity, electroencephalogram, spectral power, xenon, inhalation, brain metastases, brain irradiation, boost.

Традиционно ксенон используется в низкопотоочной анестезии. Он считается одним из лучших ингаляционных анестетиков, поскольку является химически инертным и выделяется из организма через легкие в неизменном виде [1], не вызывает негативных сдвигов в биоэлектрической активности мозга [2], обладает кардиопротекторными и нейропротекторными [1, 3] свойствами.

Обычно для лечения метастатического поражения головного мозга (МППМ) и профилактики его рецидивов используется адьювантная лучевая терапия (ЛТ) в объеме облучения всего головного мозга (ОВГМ) [4] и/или буста на ложе метастаза [5], что позволяет увеличить показатели выживаемости пациентов. Однако частыми побочными эффектами данного вида терапии являются снижение

качества жизни больных (головные боли, утомляемость, нарушение координации), а также долгосрочное снижение когнитивных функций, в частности памяти, как полагают, вследствие лучевого повреждения гиппокампа [6]. В соответствии с вышесказанным актуальным является поиск стратегий, направленных на снижение негативного влияния ЛТ и восстановление функций мозга. В этом отношении перспективным представляется использование ксенона, поскольку в ряде исследований показано, что его применение в субанестетических концентрациях позволяет снизить риск церебральной ишемии [7] и улучшить общее самочувствие больных [8], в том числе за счет активирующего влияния на центральную нервную систему [9]. Иначе говоря, были констатированы нейропротекторные свойства ксенона [10].

Целью настоящего исследования – изучение влияния ксенона на параметры биоэлектрической активности головного мозга на разных этапах адьювантной ЛТ у пациентов с удаленными церебральными метастазами.

Методы исследования

В исследование были включены 24 пациента мужского и женского пола в возрасте $50,5 \pm 0,9$ года с одиночным МПГМ, причиной которого являлись опухоли легкого (35 %), молочной железы (26 %), меланомы (31 %), а также рак нижних отделов толстого кишечника, яичников, почки (всего 8 %). Пациенты находились на лечении в ФГБУ «РНИОИ» в 2013–2016 гг. Все протоколы исследования были подготовлены в соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации (1964) и были одобрены этическим комитетом института.

В соответствии с тактикой лечения сформированы 3 группы пациентов по 8 человек в каждой. В 1-ю группу были включены больные, получавшие адьювантную ЛТ в объеме ОВГМ; во 2-ю вошли пациенты, которым проводилась ЛТ в объеме ОВГМ с бустом на ложе удаленного метастатического очага; 3-ю составили пациенты, получавшие ОВГМ с бустом, методологически аналогичное 2-й группе, а также ингаляции ксенон-кислородной смесью после локального облучения (2 раза в неделю) на протяжении всего курса ЛТ.

Курс ЛТ, как правило, начинали через 3–4 недели после резекции метастаза. ОВГМ разовой очаговой дозой (РОД) 2,4 Гр выполняли 1 раз в день 5 дней в неделю на протяжении 3 недель, всего 15 фракций. Суммарная очаговая изоэффективная доза (СОД изоэф.) составляла 40 Гр. Для 2-й и 3-й групп буст на ложе удаленного метастатического очага подводился через 4–5 ч после ОВГМ; РОД

составляла 0,6 Гр, а СОД изоэф. – 60 с учетом дозой нагрузки при ОВГМ.

Ингаляции ксенон-кислородной смесью проводили после сеанса локального облучения 2 раза в неделю: во 2, 5, 7, 10, 12 и 15-й дни курса ЛТ. Процедуру начинали с денитрогенезации (удаление из организма свободного и растворенного азота). Через дыхательную маску в течение 5 мин давали дышать пациенту медицинским кислородом по полуоткрытому контуру (газопоток 4–6 л/мин). Затем контур переводили в закрытый режим, в систему подавали ксенон при скорости потока 0,8 л/мин. Содержание ксенона во вдыхаемой смеси составляло 20–25 %. В завершение процедуры пациенту в течение нескольких минут в ингаляционный контур подавался медицинский кислород. Общая длительность процедуры составляла 15–20 мин.

До начала, в середине и на следующие сутки после завершения ЛТ проводили регистрацию электроэнцефалограммы (ЭЭГ) пациентов в состоянии спокойного бодрствования с открытыми и закрытыми глазами. Регистрировали ЭЭГ в 19 моноплярных отведениях (Fp1Fp2F7F3FzF4F8T3C3CzC4T4T5P3PzP4T6O1O2), расположенных по системе 10 – 20 на электроэнцефалограферегистраторе «Энцефалан ЭЭГР-19/26» («Медиком МТД», Таганрог).

Рассчитывали спектральную мощность ЭЭГ спокойного бодрствования с закрытыми глазами в диапазоне частот 0,5–18,0 Гц с помощью Фурье-преобразования (fast Fourier transform, FFT). Артефакты исключали из анализа. Данные обрабатывали, используя пакет программы STATISTICA 8. Метод анализа Repeated ANOVA после поправки Bonferroni использовали для оценки влияния вида терапии на параметры спектральной мощности ЭЭГ. Статистический анализ пространственных изменений спектральной мощности ЭЭГ на этапах лечения выполняли с помощью непараметрического теста Колмогорова – Смирнова ($p < 0,01$).

Результаты исследования

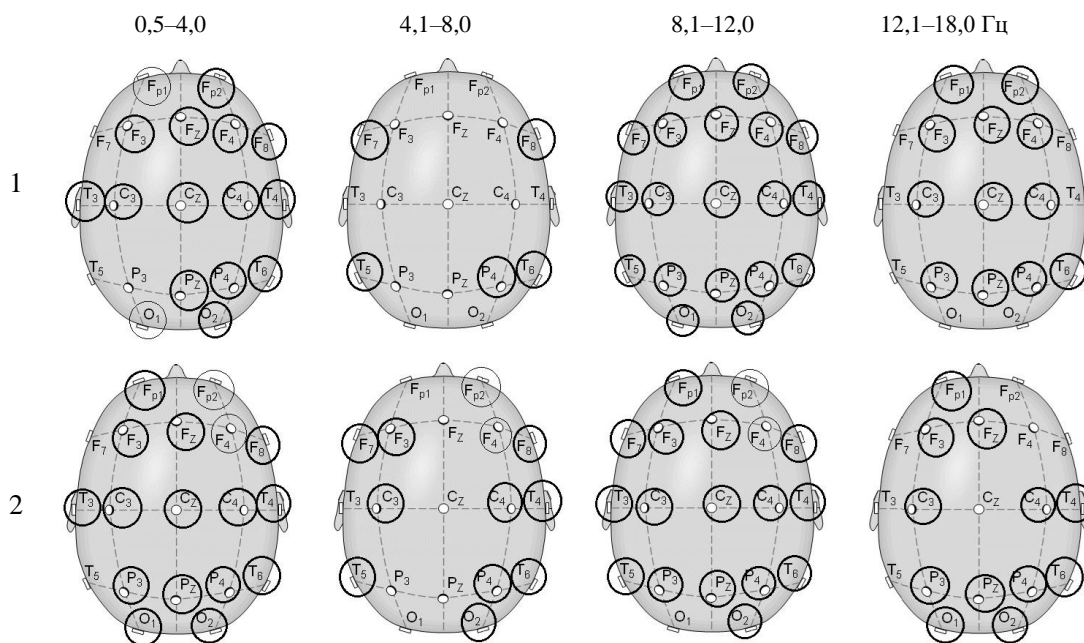
До начала ЛТ у всех пациентов отмечены в соответствии с классификацией Е.А. Жирмунской и В.С. Лосева [11] умеренные нарушения ЭЭГ. Фоновое обследование в состоянии спокойного бодрствования при закрытых глазах показало наличие регулярного альфа-ритма частоты 8–9 Т/с немодулированного либо слабomodулированного веретена, со слабовыраженной зональностью (Т-период). В ответ на открывание глаз отмечены четкая депрессия альфа-ритма и неполное его восстановление после закрывания.

Анализ средних значений спектральной мощности в четырех частотных диапазонах ЭЭГ бодрствования с закрытыми глазами у пациентов всех 3 групп (Repeated ANOVA, с поправкой Bonferroni) показал, что этот показатель изменяется на разных этапах лечения и зависит от вида терапии ($F(df 10)=11,7, p=0,0001$). Статистический анализ пространственных изменений спектральной мощности ЭЭГ позволил выявить у пациентов 1-й группы прирост мощности дельта-активности на 3-и – 5-е сут лечения практически во всех анализируемых областях, кроме височной и затылочной левого полушария, а также снижение мощности в лобной и затылочной зонах коры также слева. Помимо этого, отмечен прирост мощности тета-активности в височных областях обоих полушарий и теменной области – правого, альфа-активности – во всех анализируемых областях, а также бета-активности – в лобной, центральной и теменной корковых зонах мозга (рис. а1).

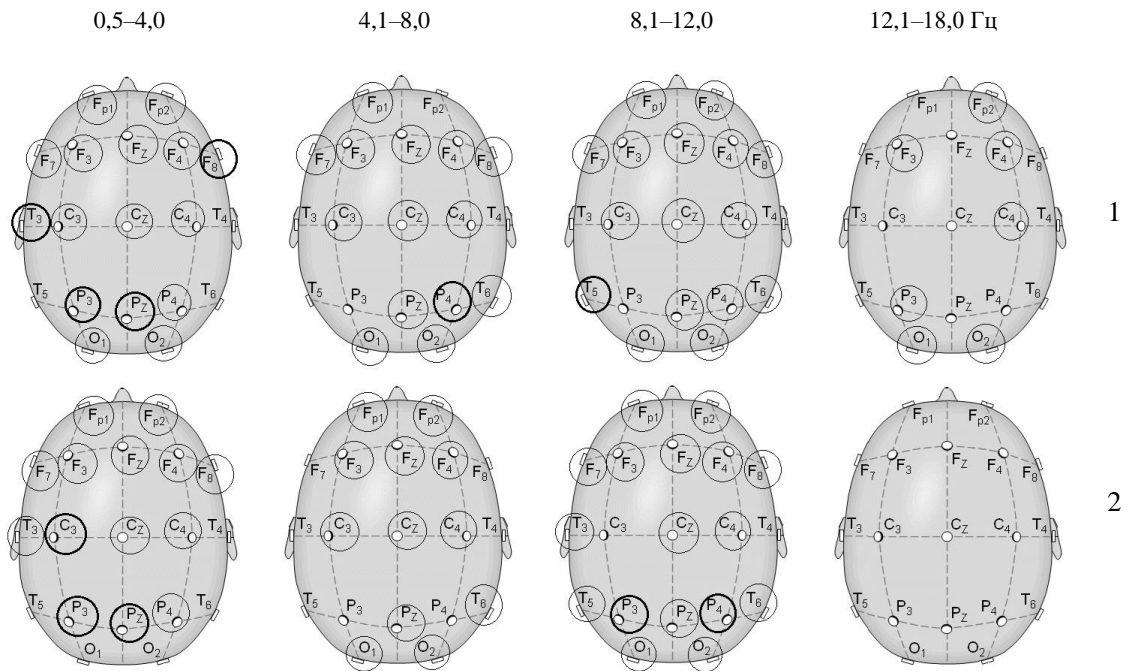
После завершения ЛТ у пациентов 1-й группы были выявлены по сравнению с фоном увеличение мощности дельта- и альфа-активности практически во всех анализируемых областях коры мозга и ее снижение в лобной области правого полушария. Отмечено также увеличение мощности тета-активности во фронтальных и центральных корковых зонах обеих гемисфер, височной и теменной

областях правого полушария, а ее снижение – во фронтальной области коры также справа. Кроме того, установлен прирост мощности бета-активности в теменно-затылочных и центральной областях обоих полушарий, а также во фронтальной области – левого (рис. а2).

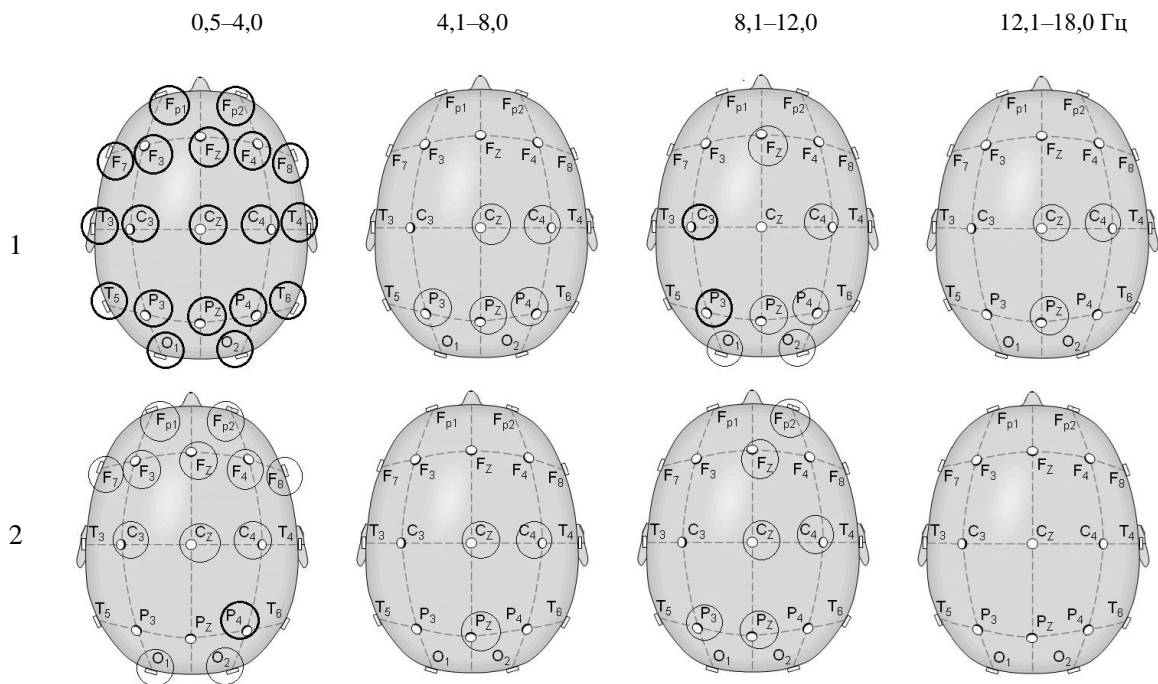
У пациентов 2-й группы по сравнению с фоном на 3-и – 5-е сут терапии на ЭЭГ выявлено снижение спектральной мощности дельта-, тета- и альфа-активности в лобной, центральной, теменной и затылочной областях. Отмечено снижение мощности бета-активности во фронтальной и затылочной областях обоих полушарий, в центральной области правого и теменной – левого полушария. Выявлены прирост мощности дельта-активности во фронтальной области правого полушария, в височной и теменной – левого, а также увеличение мощности тета-активности в теменной области правого полушария и альфа-активности в височной области левого полушария (рис. б1). По окончании курса ЛТ установлено снижение мощности дельта-, тета-, альфа-активности по сравнению с фоновыми значениями практически во всех анализируемых областях. Выявлен прирост мощности дельта-активности в центральной и теменной областях правого, а также альфа-активности – в теменной области обоих полушарий (рис. б2).



a/a



6/b



в/с

Изменения значений спектральной мощности в диапазоне частот ЭЭГ на разных этапах лечения:
 а – пациентов 1-й группы; б – 2-й группы; в – 3-й группы. Сравнение спектральной мощности в диапазоне частот ЭЭГ с ее значениями до лечения: 1 – на 3-и – 5-е сут лечения; 2 – после лечения / Changes in spectral power values of EEG frequency range at different stages of treatment: a - patients of group 1; b - 2; c - 3. Comparison of spectral power values of EEG frequency range of treatment and before: 1 - on days 3-5; 2 - after treatment

У пациентов 3-й группы, получавших ингаляции ксеноном, на 3–5-й день терапии по сравнению с исходными значениями выявлены увеличение мощности дельта-активности во всех анализируемых областях, уменьшение мощности тета-активности в центральной области правого и в теменных областях обоих полушарий. Зарегистрировано также увеличение мощности альфа-активности в центральной и теменной областях левого полушария, ее снижение – в центральной и теменной правой и затылочных областях обоих полушарий. Снижение мощности бета-активности было отмечено в центральной и теменной зонах коры (рис. в1).

По сравнению с параметрами ЭЭГ до начала терапии, после ее завершения отмечено снижение мощности дельта-активности в лобных, центральных и затылочных областях, а ее увеличение – в теменной области правого полушария. Также было выявлено снижение мощности тета-активности в центральной и теменной областях, альфа-активности – в лобной и центральной зонах коры со смещением в правое и в теменной – со смещением в левое полушарие (рис. в2).

Таким образом, у пациентов 1-й группы после завершения курса ЛТ в объеме ОВГМ выявлено усиление синхронизации ЭЭГ; отмечены признаки общемозговых нарушений корково-подкорковых связей. Из данных литературы известно, что ОВГМ сопровождается гипоксией тканей головного мозга вследствие повреждающего влияния на его сосуды [12]. Существуют предположения, что наиболее выраженное негативное влияние ЛТ оказывает на подкорковые структуры мозга, в частности на гиппокамп [13].

В целях предупреждения рецидивирования и дальнейшего развития метастазов в дополнение к ОВГМ либо в качестве самостоятельной терапии применяют буст на ложе метастатического поражения [14]. Однако в литературе не найдено сведений о влиянии увеличения лучевой нагрузки за счет добавления буста на функциональное состояние головного мозга. Результаты нашего исследования показали, что у пациентов 2-й группы адьювантная ЛТ сопровождалась активацией ЭЭГ в большинстве исследуемых зон и усилением синхронизации в области удаленного метастатического очага. Кроме того, после курса ЛТ установлены общемозговые нарушения корково-гиппокампальных связей на фоне снижения мощности ЭЭГ. На основании анализа биоэлектрической активности мозга пациентов 1-й и 2-й групп предполагается, что получаемая ими терапия, вероятно, оказывает негативное влияние на активность нейронов коры и подкорковых структур.

После завершения ЛТ в сочетании с ксеноном у пациентов 3-й группы патологические изменения биоэлектрической активности были обнаружены только в области удаленного метастатического очага, а в прилегающих к нему областях мозга выявлена активация биоэлектрической активности. Подобный региональный активирующий эффект ксенона был описан в [9].

Патологические изменения биоэлектрической активности мозга, наблюдаемые на фоне ОВГМ с бустом и без него, по мнению ряда авторов, связаны с гипоксией [12, 13]. Гипоксия, в свою очередь, сопровождается нарушением метаболических процессов, ионного транспорта, накоплением свободных ионов Ca^{2+} и запуском реакций глутамат-кальциевого каскада [15], что приводит к изменению свойств клеточных мембран, развитию тканевого отека, нарушению проницаемости гематоэнцефалического барьера, сосудистому спазму [16] и, как следствие, гибели клеток мозга. В работе [17] были установлены нейропротекторные свойства ксенона при использовании его в качестве базисной анестезии у пациентов при хирургическом лечении опухолей больших полушарий мозга. Исследование, выполненное на гипоксической модели, показало, что при использовании ксенона отмечается защитный эффект, распространяющийся на кору мозга, гиппокамп, базальные ганглии, таламус [18]. Возможно, данный эффект ксенона обусловлен его способностью увеличивать региональный кровоток и повышать метаболизм тканей [19].

Таким образом, ингаляции ксеноном являются эффективным средством оптимизации адьювантной ЛТ. Нейропротекторное и, возможно, радиопротекторное действие ксенона позволяет улучшить функциональное состояние центральной нервной системы и уменьшить выраженность побочных реакций противоопухолевой терапии у пациентов с МПГМ. Вероятно, такой эффект связан с позитивным влиянием ксенона не только на кору, но и на подкорковые структуры мозга.

Литература

1. Буров Н.Е., Потанов В.Н., Макеев Г.Н. Ксенон в анестезиологии (клинико-экспериментальные исследования). М., 2000. 300 с.
2. Рылова А.В., Сазонова О.Б., Лубнин А.Ю., Маишеров Е.Л. Динамика биоэлектрической активности мозга при проведении анестезии ксеноном у нейрохирургических больных // Анестезиология и реаниматология. 2010. № 2. С. 31–33.
3. Harris K., Armstrong S.P., Campos-Pires R., Kiru L., Franks N.P., Dickinson R. Neuroprotection against traumatic brain injury by xenon, but not argon, is mediated by inhibition at the N-methyl-D-aspartate receptor glycine site // Anesthesiology. 2013. Vol. 119 (5). P. 1137–1148.

4. Nieder C., Astner S.T., Grosu A.L., Andratschke N.H., Molls M. The role of postoperative radiotherapy after resection of a single brain metastasis. Combined analysis of 643 patients // *Strahlenther Onkol.* 2007. Vol. 183 (10). P. 576–580.

5. Brennan C., Yang T.J., Hilden P., Zhang Z., Chan K., Yamada Y., Chan T.A., Lymberis S.C., Narayana A., Tabar V., Gutin P.H., Ballangrud Å., Lis E., Beal K. A phase 2 trial of stereotactic radiosurgery boost after surgical resection for brain metastases // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2014. Vol. 88 (1). P. 130–136.

6. Dye N.B., Gondi V., Mehta M.P. Strategies for preservation of memory function in patients with brain metastases // *Chin. Clin. Oncol.* 2015. Vol. 4 (2), № 24. P. 2304–3865.

7. Ma D., Wilhelm S., Maze M., Franks N. Neuroprotective and neurotoxic properties of the inert gas, xenon // *Br. J. Anaesth.* 2002. Vol. 89. P. 739–746.

8. Кит О.И., Франциянц Е.М., Меньшенина А.П., Моисеенко Т.И., Ушакова Н.Д., Попова Н.Н., Якушин А.В. Роль плазмафереза и ксенон-терапии в коррекции острых последствий хирургической менопаузы у больных раком шейки матки // *Политем. сетевой электрон. науч. журн. Куб. гос. аграр. ун-та.* 2016. № 117. С. 472–486.

9. Бубеев Ю.А., Кальманов А.С., Котровская Т.И. Нейрофизиологическое сопровождение процедуры коррекции функционального состояния методом ингаляции человеком терапевтических доз медицинского ксенона // *Технология живых систем.* 2010. Т. 7, № 8. С. 58–63.

10. Schmidt M., Marx T., Armbruster S., Reinelt H., Schirmer U. Effect of xenon on elevated intracranial pressure as compared with nitrous oxide and total intravenous anesthesia in pigs // *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2005. Vol. 49. P. 494–501.

11. Жирмунская Е.А., Лосев В.С. Системы описания и классификация электроэнцефалограмм человека. М.: Наука, 1984. С. 51–60.

12. Yoder M. Defining human endothelial progenitor cells // *J. Thromb. Haemost.* 2009. № 7, suppl. 1. P. 49–52.

13. Zhang Z., Zhang L., Jiang Q., Zhang R., Davies K., Powers C., Bruggen N., Chopp M. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain // *J. Clin. Invest.* 2000. Vol. 106. P. 829–838.

14. Akhtar M.S., Kousar F., Fatmi S., Jabeen K., Akhtar K. Quality of life and symptoms control in brain metastasis after palliative whole brain radiotherapy using two different protocols // *J. Coll. Physicians Surg. Pak.* 2012. Vol. 22 (5). P. 311–316.

15. Michenfelder J. The interdependency of cerebral function and metabolic effects following massive doses of thiopental in the dog // *Anesthesiology.* 1974. № 41 (3). P. 231–236.

16. Wilson J.X., Gelb A.W. Free radicals, antioxidants, and neurologic injury: possible relationship to cerebral protection by anesthetics // *J. Neurosurg. Anesthesiol.* 2002. № 14 (1). P. 66–79.

17. Петросян Л.Г. Оценка нейропротективных свойств ксенона при операциях у больных с объемными образованиями головного мозга: дис. ... канд. мед. наук. М., 2014. 116 с.

18. Dingley J., Tooley J., Porter H., Thoresen M. Xenon provides short-term neuroprotection in neonatal rats when administered after hypoxia-ischemia // *Stroke.* 2006. Vol. 37. P. 501–506.

19. Horn P., Vajkoczy P., Thome C., Muench E., Schilling L., Schmiedek P. Xenon-induced flow activation in patients with cerebral insult who undergo xenon-enhanced CT blood flow studies // *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2001. Vol. 22. P. 1543–1549.

References

1. Burov N.E., Potapov V.N., Makeev G.N. *Ksenon v anesteziologii (kliniko-eksperimental'nye issledovaniya)* [Xenon in anesthesiology (clinical and experimental studies)]. Moscow, 2000, 300 p.

2. Rylova A.V., Sazonova O.B., Lubnin A.Yu., Mashe-rov E.L. Dinamika bioelektricheskoi aktivnosti mozga pri provedenii anestezii ksenonom u neirokhirurgicheskikh bol'nykh [Dynamics of bioelectrical activity of the brain during xenon anesthesia in neurosurgical patients]. *Anesteziologiya i reanimatologiya.* 2010, No. 2, pp. 31–33.

3. Harris K., Armstrong S.P., Campos-Pires R., Kiru L., Franks N.P., Dickinson R. Neuroprotection against traumatic brain injury by xenon, but not argon, is mediated by inhibition at the N-methyl-D-aspartate receptor glycine site. *Anesthesiology.* 2013, vol. 119 (5), pp. 1137–1148.

4. Nieder C., Astner S.T., Grosu A.L., Andratschke N.H., Molls M. The role of postoperative radiotherapy after resection of a single brain metastasis. Combined analysis of 643 patients. *Strahlenther Onkol.* 2007, vol. 183 (10), pp. 576–580.

5. Brennan C., Yang T.J., Hilden P., Zhang Z., Chan K., Yamada Y., Chan T.A., Lymberis S.C., Narayana A., Tabar V., Gutin P.H., Ballangrud Å., Lis E., Beal K. A phase 2 trial of stereotactic radiosurgery boost after surgical resection for brain metastases. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2014, vol. 88 (1), pp. 130–136.

6. Dye N.B., Gondi V., Mehta M.P. Strategies for preservation of memory function in patients with brain metastases. *Chin. Clin. Oncol.* 2015, vol. 4 (2), No. 24, pp. 2304–3865.

7. Ma D., Wilhelm S., Maze M., Franks N. Neuroprotective and neurotoxic properties of the inert gas, xenon. *Br. J. Anaesth.* 2002, vol. 89, pp. 739–746.

8. Кит О.И., Франсиянц Е.М., Мен'шенина А.П., Моисеенко Т.И., Ушакова Н.Д., Попова Н.Н., Якушин А.В. Роль плазмафереза и ксенонотерапии в коррекции острых последствий хирургической менопаузы у больных раком шейки матки [Role of plasmapheresis and xenon therapy in correction of acute consequences of surgical menopause in patients with cervical cancer]. *Politem. setevoi elektron. nauch. zhurn. Kub. gos. agrar. un-ta.* 2016, No. 117, pp. 472–486.

9. Бубеев Ю.А., Кальманов А.С., Котровская Т.И. Нейрофизиологическое сопровождение процедуры коррекции функционального состояния методом ингаляции человеком терапевтических доз медицинского ксенона [Neurophysiological follow-up of the procedure of correction of the functional state by inhalation of human therapeutic doses of medical xenon]. *Tekhnologiya zhivyykh sistem.* 2010, vol. 7, No. 8, pp. 58–63.

10. Schmidt M., Marx T., Armbruster S., Reinelt H., Schirmer U. Effect of xenon on elevated intracranial pressure as compared with nitrous oxide and total intravenous anesthesia in pigs. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2005, vol. 49, pp. 494–501.

11. Жирмунская Е.А., Лосев В.С. *Sistemy opisaniya i klassifikatsiya elektroentsefalogramm cheloveka* [Description and classification of human electroencephalograms]. Moscow: Nauka, 1984, pp. 51–60.

12. Yoder M. Defining human endothelial progenitor cells. *J. Thromb. Haemost.* 2009, No. 7, Suppl. 1, pp. 49–52.

13. Zhang Z., Zhang L., Jiang Q., Zhang R., Davies K., Powers C., Bruggen N., Chopp M. VEGF enhances angiogene-

sis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. *J. Clin. Invest.* 2000, vol. 106, pp. 829-838.

14. Akhtar M.S., Kousar F., Fatmi S., Jabeen K., Akhtar K. Quality of life and symptoms control in brain metastasis after palliative whole brain radiotherapy using two different protocols. *J. Coll. Physicians Surg. Pak.* 2012, vol. 22 (5), pp. 311-316.

15. Michenfelder J. The interdependency of cerebral function and metabolic effects following massive doses of thiopental in the dog. *Anesthesiology.* 1974, No. 41 (3), pp. 231-236.

16. Wilson J.X., Gelb A.W. Free radicals, antioxidants, and neurologic injury: possible relationship to cerebral protection by anesthetics. *J. Neurosurg. Anesthesiol.* 2002, No. 14 (1), pp. 66-79.

17. Petrosyan L.G. *Otsenka neiroprotektivnykh svoistv ksenona pri operatsiyakh u bol'nykh s ob'emnymi obrazovaniyami golovnogo mozga: dis. ... kand. med. nauk* [Evaluation of the neuroprotective properties of xenon in operations in patients with volumetric cerebral formations]. Moscow, 2014, 116 p.

18. Dingley J., Tooley J., Porter H., Thoresen M. Xenon provides short-term neuroprotection in neonatal rats when administered after hypoxia-ischemia. *Stroke.* 2006, vol. 37, pp. 501-506.

19. Horn P., Vajkoczy P., Thome C., Muench E., Schilling L., Schmiedek P. Xenon-induced flow activation in patients with cerebral insult who undergo xenon-enhanced CT blood flow studies. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2001, vol. 22, pp. 1543-1549.

Поступила в редакцию / Received

6 сентября 2017 г. / September 6, 2017

УДК 616.33-006.6-099:612.015

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-119-127

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ АДЕНОКАРЦИНОМ ЖЕЛУДКА

© 2017 г. Е.И. Сурикова¹, О.И. Кит¹, И.А. Горошинская¹, Е.М. Франциянц¹, А.А. Маслов¹,
Д.Е. Медведева¹, Е.В. Шалашная¹, П.С. Качесова¹, Л.А. Немайкалова¹, И.В. Нескубина¹,
А.В. Чудилова¹, Ю.А. Геворкян¹, Д.С. Петров¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

FUNCTION OF GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYME SYSTEM IN TISSUES OF GASTRIC ADENOCARCINOMA

E.I. Surikova¹, O.I. Kit¹, I.A. Goroshinskaya¹, E.M. Frantsiyants¹, A.A. Maslov¹, D.E. Medvedeva¹,
E.V. Shalashnaya¹, P.S. Kachesova¹, L.A. Nemashkalova¹, I.V. Neskubina¹,
A.V. Chudilova¹, Yu.A. Gevorkyan¹, D.S. Petrov¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Сурикова Екатерина Игоревна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: sunsur2000@mail.ru

Кит Олег Иванович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор Ростовского научно-исследовательского онкологического института, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rni oi@list.ru

Горошинская Ирина Александровна – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: iagor17@mail.ru

Франциянц Елена Михайловна – доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Маслов Андрей Александрович – доктор медицинских наук, профессор, главный врач, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: maslov.36@mail.ru

Медведева Дарья Евгеньевна – аспирант, врач-онколог, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: dashenka.medvedeva91@mail.ru

Шалашная Елена Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rni oi.biochem@gmail.com

Ekaterina I. Surikova - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: sunsur2000@mail.ru

Oleg I. Kit - Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member, RAS, General Director, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rni oi@list.ru

Irina A. Goroshinskaya - Doctor of Biological Sciences, Professor, Main Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: iagor17@mail.ru

Elena M. Frantsiyants - Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy General Director for Science, Head of Laboratory Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Andrey A. Maslov - Doctor of Medicine, Professor, Chief Physician, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: maslov.36@mail.ru

Dar'ya E. Medvedeva - Postgraduate, Oncologist, Rostov Research Oncology Institute, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: dashenka.medvedeva91@mail.ru

Elena V. Shalashnaya - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rni oi.biochem@gmail.com

Качесова Полина Сергеевна – научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: vnp61@yandex.ru

Немайкалова Людмила Анатольевна – научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rniol.biochem@gmail.com

Нескубина Ирина Валерьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: neskubina.irina@mail.ru

Чудилова Анастасия Викторовна – младший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: nasta706@mail.ru

Геворкян Юрий Артушевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 2, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: gevorgyan.000@mail.ru

Петров Дмитрий Сергеевич – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по хирургии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия

Polina S. Kachesova - Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: vnp61@yandex.ru

Ljudmila A. Nemashkalova - Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rniol.biochem@gmail.com

Irina V. Neskubina - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: neskubina.irina@mail.ru

Anastasija V. Chudilova - Junior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: nasta706@mail.ru

Yuriy A. Gevorgyan - Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Abdominal Oncology No. 2, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: gevorgyan.000@mail.ru

Dmitriy S. Petrov - Candidate of Medicine, Deputy Chief Physician on Surgery, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia

Аденокарцинома (АК) желудка – злокачественная опухоль, происходящая из железистых клеток эпителия стенки желудка. Является одним из самых распространенных опухолевых заболеваний в России. Этиология опухолей желудка сложна, включает взаимодействие генетических и экологических влияний. Восстановленный глутатион (ВГ) и глутатионзависимые ферменты имеют большое значение для нормального функционирования интестинального эпителия желудка. Цель работы – изучение динамики системы ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионзависимых ферментов в тканях аденокарциномы желудка разной степени дифференцировки, перитуморальной зоны и условно здоровой ткани для выяснения особенностей патогенеза данного заболевания. Содержание ВГ и активность глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ), СОД, каталазы определяли в образцах опухоли, перитуморальной зоны и условно здоровой ткани (взятой по линии резекции), полученных во время операции у 29 первичных больных раком желудка (13 больных АК G1 и G2 degree (T₃₋₄N₀₋₁M₀, II-III st.), 16 – АК G3 (T₃₋₄N₁₋₃M₀, II-III st.)). Также была исследована ткань здорового желудка (интактный желудок) 12 случайно погибших людей. Не было выявлено значимых различий между исследованными показателями в здоровой ткани при АК G1-G2 и интактным желудком. Найдено только значимое снижение активности каталазы на 27 % в ткани опухоли и увеличение активности ГТ в 2,6 раза в ткани перитуморальной зоны по сравнению с условно здоровой тканью (p<0,05). При АК G3 в условно здоровой ткани по сравнению с интактным желудком были значимо увеличены активность ГТ в 2,7 раза (p<0,01) и содержание ВГ в 2,3 раза (p<0,05). В ткани опухоли выявлено значимое снижение активности СОД, ГР и ГТ на 24–44 % (p<0,05) и содержания ВГ в 2,0 раза (p<0,05), а также увеличение активности ГПО на 26 % (p<0,05) по сравнению с перитуморальной зоной, которая характеризовалась снижением активности СОД на 44 %, ГР – на 30 % (p<0,05) и каталазы – на 34 % (p<0,01), а также более низким (в 1,9 раза (p<0,05)) содержанием ВГ по сравнению с соответствующей условно здоровой тканью. При этом активность ГТ в условно здоровой ткани в 3,0 раза выше по сравнению с АК G1-G2 (p<0,01). Результаты показали, что при высоко- и умеренно дифференцированной АК желудка изменения происходят в перитуморальной зоне – значительное усиление активности ГТ. При снижении степени дифференцировки и усилении агрессивности неоплазмы происходят снижение активности антиоксидантных ферментов в тканях опухоли и перитуморальной зоны и изменение метаболизма глутатионзависимой системы в условно здоровой ткани. При этом сама условно здоровая ткань приобретает некоторые черты сходства с малигнизированной тканью.

Ключевые слова: аденокарцинома желудка, степень дифференцировки, глутатионзависимые ферменты, восстановленный глутатион, антиоксидантные ферменты.

Gastric adenocarcinoma (AC) is a malignant tumor originating from glandular cells of the epithelium of the stomach wall and is one of the most common cancers in Russia. Etiology of gastric tumors is complicated and involves an interaction of genetic and environmental influences. Reduced glutathione and glutathione-dependent enzymes are of much importance for the normal function of intestinal epithelium of the stomach. Our aim was to study the dynamics of the system of SOD enzymes, catalase and glutathione-dependent en-

zymes in tissues of gastric adenocarcinoma of various grades, in the peritumoral zone and in intact tissues to reveal characteristics of the disease pathogenesis. Content of reduced glutathione (GSH) and activity of glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), glutathione transferase (GST), as well as superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were determined in samples of tumor, peritumoral zone and healthy tissue taken from the resection line during surgery in patients with primary stomach cancer: 13 with G1-G2 AC (T3-4N0-1M0, st. II-III) and 16 with G3 AC (T3-4N1-3M0, II-III st). Intact cadaver stomach tissue was studied as well (n=12). We found no difference between the studied parameters in healthy tissue in G1-G2 AC and in intact gastric tissues, except for the significant decrease in CAT activity by 27 % in tumor tissue and increased GST activity by 2.6 times in the peritumoral zone, compared to the healthy tissues (p<0.05). Healthy tissues in G3 AC, compared to intact tissues, showed significant increase in the GST activity by 2.7 times (p<0.01) and in the GSH content by 2.3 times (p<0.05); tumor tissue demonstrated significant decrease in the activity of SOD, GR and GST by 24-44 % (p<0.05) and in the GSH content by 2.0 times (p<0.05), as well as increased by 26 % GPx activity (p<0.05) compared to the peritumoral area. The peritumoral area was characterized by decreased SOD activity by 44 %, GR by 30% (p<0.05) and CAT by 34 % (p<0.01), as well as lower by 1.9 times (p<0.05) levels of GSH, compared to the corresponding healthy tissues. The GST activity in healthy tissues was 3.0 times higher than in G1-G2 AC (p<0.01). The results showed that changes in well- and moderately-differentiated gastric AC took place in the peritumoral zone - significant increase of the GST activity. Higher tumor grades and increased aggressiveness were accompanied by decreased activity of antioxidant enzymes in tumor and peritumoral tissues and by changes in the metabolism of the GSH-dependent system in conditionally healthy tissue. The conditionally healthy tissue itself acquired some similarities to malignant tissues.

Keywords: gastric adenocarcinoma, tumor grade, glutathione-dependent enzyme, reduced glutathione, antioxidant enzymes.

Аденокарцинома желудка – злокачественная опухоль, происходящая из железистых клеток эпителия стенки желудка. Это заболевание составляет подавляющее большинство случаев рака желудка, который занимает одно из ведущих мест по заболеваемости во многих странах, в том числе в России, странах Скандинавии, Украине, Японии [1]. В России рак желудка занимает 4-е место по заболеваемости злокачественными новообразованиями у мужчин и 5-е – у женщин, а по смертности – на 2-м месте после рака легкого у мужчин и рака молочной железы у женщин [2]. Это связано с увеличением доли больных распространенным раком желудка и сложностью его лечения [3, 4].

Этиология опухолей желудка сложна, включает взаимодействие генетических и экологических влияний. Опухоль является весьма полиморфной – имеет свою особенность роста, строения, формы, локализации. Патогенез различных заболеваний желудочно-кишечного тракта, включая пептические язвы, рак желудочно-кишечного тракта и воспалительные заболевания кишечника, в большой мере обусловлен окислительным стрессом. Активные формы кислорода (АФК) в значительном количестве производятся в желудочно-кишечном тракте, несмотря на защитный барьер, обеспечиваемый слизистой оболочкой. Экзогенные вещества и микробные патогены могут вызывать окислительное повреждение и воспалительные реакции с участием эпителия и иммунокомпетентных клеток [5].

Восстановленный глутатион (ВГ) и глутатионзависимые ферменты имеют большое значение для нормального функционирования интестинального эпителия желудка, относящегося к тканям, которым свойственно непрерывное клеточное обновление: постоянство структуры эпителия обеспечивается только при координации фаз пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Редокс-гомеостаз очень важен для функционирования клеток; его нарушение может приводить к повышению уровня АФК, он

играет существенную роль в процессах синтеза ДНК, экспрессии генов, ферментативной активности и т.д. Изменение редокс-состояния внутриклеточного содержимого и отдельных молекул из-за стрессовых воздействий или активности самих клеток влияет на регуляцию всех основных клеточных процессов. При нарушении баланса осуществляются инициация злокачественной трансформации и прогрессирование неоплазии. Как правило, внеклеточная среда характеризуется окислительными условиями, внутриклеточная – восстановительными [6, 7].

Понимание биологии редокс-процессов, лежащих в основе развития онкологической патологии, и механизмов их функционирования имеет большое значение для разработки новых терапевтических подходов, основанных на изменении редокс-состояния неоплазмы и окружающих ее тканей, к воздействию на устойчивые опухоли [8, 9]. Это обуславливает актуальность изучения окислительно-восстановительных характеристик конкретной опухоли и ее окружения, особенно в опухолях желудка.

В связи с вышесказанным целью данного исследования было изучение системы ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионзависимых ферментов в ткани опухоли, перитуморальной зоне и условно здоровой ткани у больных аденокарциномой желудка разной степени дифференцировки.

Материалы и методы

В работе исследовали активность СОД, каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ) и содержание ВГ в образцах опухоли, перитуморальной зоны и условно здоровой ткани, взятой по линии резекции во время операции у 29 первичных больных раком желудка (13 больных аденокарциномой G1 и G2 степени дифференцировки (T₃₋₄N₀₋₁M₀, II-III st.) и 16 больных аденокарциномой G3 степени диффе-

ренцировки ($T_{3-4}N_{1-3}M_0$, II-III st.). Среди больных женщины составили 24 % (7 чел.), мужчины – 76 (22 чел.). Дизайн исследования одобрен этическим комитетом ФГБУ «РНИОИ». У всех больных получено добровольное информированное согласие на использование биологического материала для научных исследований. Также использованы результаты изучения ткани здорового желудка (интактный желудок) у 12 случайно погибших людей, полученные в предыдущих исследованиях.

Активность Cu/Zn-СОД, каталазы, ГПО, ГР, ГТ и содержание ВГ определяли в 10%-х (масса/объем) гомогенатах тканей (0,04 моль Tris-HCl буфер, pH 7,4) общепринятыми спектрофотометрическими методами, содержание белка – биуретовым, активность СОД (КФ 1.15.1.1) – по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразолия в присутствии супероксидного радикала, генерируемого в реакции восстановления молекулярного кислорода адреналином в щелочной среде при 545 нм [10]. За единицу активности принимали количество фермента, вызывавшее 50%-е торможение реакции, и выражали в усл. ед./г белка. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6.) определяли с использованием молибдата аммония [11] и выражали в мкмоль H_2O_2 /мин·г белка. Содержание ВГ – по реакции с 5,5-дителибис(2-нитробензойной кислотой) при 412 нм, выражали в мкмоль/мг белка. Активность ГР (КФ 1.6.4.2.) – по скорости окисления NADPH в присутствии окисленного глутатиона при

340 нм. Активность выражали в микромольх окисленного глутатиона / мин·мг белка; активность ГПО (КФ 1.11.1.9.) – в реакции расщепления гидроперекиси третичного бутила, используя в качестве субстрата ВГ, при 412 нм. Активность фермента выражали в микромоль ВГ/мин·мг белка. Активность ГТ (КФ 2.1.5.18) определяли по скорости образования конъюгатов с 1-хлор-2,4-динитробензолом в присутствии ВГ при 340 нм [12] и выражали в микромоль ВГ/мин·мг белка.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы STATISTICA 6.0. Все данные представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего. Соответствие распределения полученных данных нормальному распределению оценивали, используя критерий Шапиро – Уилка. В зависимости от результата значимость различий двух независимых выборок оценивали с помощью критериев Стьюдента или Манна – Уитни. Различия оценивали как статистически значимые при $p < 0,05$, при $0,1 > p > 0,05$ считали, что различия обнаружены на уровне статистической тенденции.

Результаты

Результаты исследования активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты, глутатион-зависимой системы и содержания ВГ приведены в таблице.

Активность ферментов каскада СОД-каталаза, глутатион-зависимой системы и содержание ВГ в ткани аденокарциномы желудка, ее перитуморальной зоне и здоровой ткани желудка / The activity of SOD catalase cascade enzymes, the glutathione-dependent system and the content of reduced glutathione in the gastric adenocarcinoma tissue, its peritumoral zone and conditionally healthy stomach tissue

Ткань	СОД	Каталаза	ГПО	ВГ	ГР	ГТ
Интактный желудок						
n=12	1,108±0,112	6,32±0,46	317,6±42,8	36,8±7,2	16,3±1,8	70,9±8,0
Аденокарцинома G1-G2						
Опухоли, n=13	0,892±0,136	4,99±0,52 $p < 0,05$	291,1±50,1	27,5±6,6	16,2±2,1	82,6±14,6
Перитуморальной зоны, n=13	0,948±0,125	5,49±0,67	213,5±37,2	42,1±7,5	16,3±2,4	161,0±22,4 $p < 0,05$ $p_3 < 0,01$
Условно здоровая, n=10	1,116±0,164	6,85±0,53	253,2±34,3	35,1±5,8	16,8±2,1	62,6±9,9
Аденокарцинома G3						
Опухоли, n=16	0,849±0,078 $p < 0,05$	5,27±0,53	384,1±43,3 $p_1 < 0,05$	42,4±7,5 $p < 0,05$	15,9±1,0 $p < 0,05$	105,9±15,2 $p < 0,05$ $0,1 > p_3 > 0,05$
Перитуморальной зоны, n=16	0,753±0,105 $p < 0,05$	4,61±0,37 $p < 0,01$	283,6±35,1	44,2±6,4 $p < 0,05$	14,6±1,5 $p < 0,05$	141,3±20,2
Условно здоровая, n=10	1,344±0,269	7,03±0,83	353,9±43,1 $0,1 > p_2 > 0,05$	83,8±15,1 $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	20,8±2,0	189,8±26,8 $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$

Примечание. Уровень значимости различий по сравнению: p – с условно здоровой тканью желудка; p_1 – с перитуморальной зоной аденокарциномы; p_2 – с условно здоровой тканью желудка при аденокарциноме G1- G2; p_3 – с тканью интактного желудка.

Предварительно проведенный статистический анализ результатов показал отсутствие значимых гендерных различий в содержании ВГ и активности ферментов в опухолевой ткани, перитуморальной зоне и здоровой ткани.

При анализе полученных результатов не было выявлено статистически значимых различий между изученными показателями в условно здоровой ткани при аденокарциноме G1-G2 и интактным желудком. Обнаружено только статистически значимое снижение активности каталазы на 27,2 % ($p < 0,05$) в ткани опухоли по сравнению с соответствующей условно здоровой тканью и увеличение активности ГТ в 2,6 раза ($p < 0,05$) в ткани перитуморальной зоны по сравнению с условно здоровой тканью желудка.

В группе с аденокарциномой G3 выявлено статистически значимое увеличение активности ГТ в 2,7 раза и содержания ВГ в 2,3 раза в условно здоровой ткани по сравнению с интактным желудком ($p < 0,05$). При этом в ткани опухоли отмечалось статистически значимое снижение активности ферментов СОД на 36,8 % ($p < 0,05$), ГР – 23,6 ($p < 0,05$), ГТ – 44,2 % ($p < 0,05$), содержания ВГ – в 2,0 раза ($p < 0,05$) по сравнению с условно здоровой тканью желудка, а также увеличение активности ГПО на 26,2 % ($p < 0,05$) по сравнению с перитуморальной зоной, которая характеризовалась снижением активности СОД на 44 %, ГР – 29,8 ($p < 0,05$), каталазы – 34,4 % ($p < 0,01$), а также более низким (в 1,9 раза ($p < 0,05$)) содержанием ВГ по сравнению с соответствующей условно здоровой тканью.

При сравнении состояния изученной системы ферментов между двумя группами можно отметить, что в ткани опухоли и перитуморальной зоны не было выявлено статистически значимых различий. Однако обращает на себя внимание более высокая активность ГТ в условно здоровой ткани в группе с аденокарциномой G3 – активность фермента была выше в 3,0 раза ($p < 0,01$) по сравнению с активностью в условно здоровой ткани в группе с аденокарциномой G1-G2, а также тенденция к увеличению активности ГПО на 39,7 %. Такое увеличение активности ферментов сопровождалось более высоким уровнем ВГ – в 2,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем в условно здоровой ткани в группе с аденокарциномой G1-G2.

Таким образом, можно отметить, что в случае высоко- и умеренно дифференцированных аденокарцином желудка активность изученной системы ферментов в ткани самой опухоли и в ее перитуморальной зоне мало отличалась от активности в условно здоровой ткани желудка (за исключением значительного увеличения активности ГТ в ткани

перитуморальной зоны). Иная картина наблюдалась в группе с низкодифференцированными аденокарциномами, где были выявлены более выраженные изменения в активности ферментов изученной системы – в ткани опухоли и в ее перитуморальной зоне по сравнению с соответствующей условно здоровой тканью наблюдалась более низкая активность ферментов, утилизирующих такие АФК, как супероксидный анион-радикал и H_2O_2 , а также фермента ГР, осуществляющего восстановление окисленного глутатиона. Обнаружен также более низкий уровень ВГ по сравнению с условно здоровой тканью желудка. При этом в перитуморальной зоне аденокарциномы G3 изменения были более выражены, чем в ткани опухоли. Кроме того, содержание ВГ, активность ферментов ГПО и ГТ в условно здоровой ткани при аденокарциноме G3 были выше, чем в группе с аденокарциномой G1-G2 и в ткани интактного желудка.

Известно, что слизистая желудочно-кишечного тракта подвержена атакам АФК, поскольку контактирует как с факторами питания, так и с резидентными иммунными клетками и кишечной флорой, т.е. всеми потенциальными источниками АФК. Желудочно-кишечный тракт имеет самую высокую концентрацию ксантиноксидазы в организме, которая наряду с многочисленными фагоцитирующими клетками в совокупности генерирует большие количества супероксид-анион-радикала [5]. Избыток АФК индуцирует воспаление, тем самым вызывая повреждение ткани. На наш взгляд, следует обратить внимание на то, что как при высоко-, так и при низкодифференцированной аденокарциноме активность антиоксидантных ферментов СОД и каталазы в условно здоровой ткани не отличалась от активности в тканях интактного желудка. Возможно, это свидетельствует о сохранности барьерных функций слизистой оболочки желудка. Однако в ткани самой опухоли и близлежащей зоны наблюдается снижение активности этих ферментов, особенно выраженное в случае низкодифференцированной аденокарциномы и особенно ее перитуморальной зоны. Можно предположить, что создаются условия для накопления супероксида и H_2O_2 , при этом возможное накопление H_2O_2 может быть отмечено даже в тканях высоко- и умеренно дифференцированных аденокарцином.

В настоящее время известно, что АФК, в частности, супероксидный анион-радикал и H_2O_2 , очень важны для функционирования опухолевых клеток. В высоких концентрациях АФК вызывают повреждение макромолекул ДНК, белков, липидов, что способствует изменению мембранной проницаемости, повреждению ДНК и развитию геномной нестабильности (а следовательно, и опухолевой гете-

рогенности), окислительной модификации белков и изменению ферментативной активности или их чувствительности к протеолитической деградации. Низкие уровни АФК участвуют в регуляции экспрессии генов, синтезе ряда биологически активных соединений (простагландинов, эйкозаноидов, факторов роста), стимулировании пролиферации опухолевых клеток, их распространении и выживании [13, 14]. Действуя как первичные мессенджеры, АФК модулируют многие внутриклеточные сигнальные каскады, вовлеченные в опухолевую прогрессию (МАРК, фосфатидилинозитол-3-киназный PI3K/Akt, фосфолипазный PLC γ 1, ядерный фактор- κ B (NF- κ B) и Jak/Stat) [15, 16]. Важную роль АФК играют в процессе контроля за прохождением клеточного цикла, убиквитинировании и деградации белков в протеасоме, (ре-)организации цитоскелета [17, 18].

В ряде работ в тканях аденокарциномы желудка, плоскоклеточного рака пищевода, а также в ткани колоректального рака показан схожий либо несколько сниженный уровень экспрессии Cu/Zn-СОД, при этом уровень экспрессии Mn-СОД был значительно более высоким по сравнению с тканью нормальной слизистой оболочки [19, 20]. Являются ли эти изменения патогенетическими или они просто отражают измененное состояние гомеостаза, пока не установлено.

Однако в настоящее время считается, что АФК играют более сложную роль в опухолях: низкие уровни свободных радикалов и уровни устойчивого состояния антиоксидантных ферментов ответственны за модулирование редокс-статуса внутри клеток, изменение которого является способом изменения физиологического состояния клетки [21, 22].

Фермент ГТ, помимо детоксикационной и антиоксидантной функций, участвует в осуществлении процесса S-глутатионилирования – присоединении ВГ к тиоловым группам белков. Предполагается, что одна из функций этого процесса состоит в защите SH-групп белков от необратимого окисления. Кроме того, выявлено несколько метаболических путей и регуляторных факторов, активность которых модулируется глутатионилированием (транскрипционные факторы AP1 и NF κ B, убиквитинзависимая протеолитическая деградация белков, цАМФ, цАМФ-зависимая протеинкиназа и др.). Предполагается, что повышенный уровень ВГ и активности ГТ согласуется с усилением процессов S-глутатионилирования [23–25].

В связи с этим обращает на себя внимание изменение активности ГТ – существенное увеличение в перитуморальной зоне при аденокарциноме G1-G2 по сравнению с величиной в условно здоровой ткани, а также значительное ее увеличение в

условно здоровой ткани при аденокарциноме G3 по сравнению с тканью интактного желудка. Возможно, такие изменения могут отражать усиление процесса регуляторного S-глутатионилирования в результате взаимодействия опухоли с неопухолевым окружением для формирования условий, способствующих дальнейшему распространению опухоли и опухолевой прогрессии.

Гены изоформ ГТ по-разному экспрессируются в нормальной и опухолевой тканях. Наблюдаемый высокий уровень экспрессии гена GSTP1-1 в опухолевых тканях яичников, легких, молочных желез, толстого кишечника, желудка и при пролиферативных заболеваниях крови часто коррелирует с лекарственной устойчивостью [26]. В [27] с помощью двумерного дифференциального гель-электрофореза (2D-DIGE) и иммуногистохимии показано, что в тканях рака желудка была значительно повышена экспрессия GST π .

Приведенные в [28, 29] данные по содержанию ВГ в тканях опухолей различной локализации и гистологической структуры свидетельствуют о том, что нет единой направленности изменений по сравнению с его уровнем в немалигнизированных тканях. Для различных опухолей желудочно-кишечного тракта имеются противоречивые данные, но в целом опухоли желудка проявляют тенденцию к более низкому уровню ВГ по сравнению с немалигнизированными тканями. В противоположность этому при раке яичников, раке вульвы, раке молочной железы, опухолях орофарингеальной зоны обнаруживается, как правило, более высокий уровень глутатиона в опухолевой ткани.

Среди ферментов, участвующих в обмене глутатиона в опухолевой ткани, особая роль отводится семейству ГП, играющему важную роль в регуляции перекисного гомеостаза, выполняя антиоксидантную функцию. В последние годы для некоторых представителей этого семейства установлена неоднозначная роль на разных этапах формирования и развития опухолей [30]. Признание того, что органические гидроперекиси являются медиаторами в различных физиологических процессах, приводит к пересмотру роли ГП в качестве только антиоксидантных, защитных ферментов. Регулируя концентрацию органических гидропероксидов, ГП участвуют в путях регуляции клеточной пролиферации, выживания клеток, апоптоза. В последние годы активно обсуждается роль фермента ГПО 2 (GPx2), который в основном экспрессируется в эпителии желудочно-кишечного тракта и препятствует поглощению экзогенных гидроперекисей. Обнаружена его активация в клетках колоректального рака, рака желудка [30, 31]. Экспрессия этого фермента находится под

регулирующим влиянием нескольких транскрипционных факторов, в том числе фактора Nrf2, который играет важную роль в активации клеточных систем защиты, обеспечивая выживание клеток [32]. В ряде исследований установлено, что сверхэкспрессия фермента ГПО1 (GPx1) обеспечивает защиту опухолевых клеток от окисляющих соединений, образующихся в результате метаболизма противоопухолевых препаратов [33].

Подытоживая полученные результаты и данные литературы, можно предположить, что наблюдаемые изменения в функционировании редокс-регулирующей системы глутатиона и антиоксидантного каскада СОД – каталаза в ткани аденокарциномы желудка могут определяться не только особенностями исследуемых популяций больных раком желудка (характеризующихся определенным укладом жизни, особенностями характера питания, возможно, особенностями психологического статуса), но и, вероятно, изменением некоторых биохимических характеристик самих опухолей желудка, обусловленных изменением свойств внешних факторов (качество продуктов питания, воды, принимаемые лекарственные препараты и т.п.), воздействующих на слизистую оболочку желудка.

Заключение

В настоящее время существует понимание того, что злокачественная опухоль является сложной динамической системой, а опухолевые клетки, находясь под влиянием различных клеточных и гуморальных факторов со стороны организма, в свою очередь, воздействуют на свое окружение.

Результаты показали, что при высоко- и умеренно дифференцированной аденокарциноме желудка изменения происходят в перитуморальной зоне (значительное усиление активности ГТ). При снижении степени дифференцировки и усилении агрессивности неоплазмы происходят снижение активности антиоксидантных ферментов в тканях опухоли и перитуморальной зоны и изменение метаболизма глутатионзависимой системы в условно здоровой ткани. При этом сама условно здоровая ткань приобретает некоторые черты сходства с малигнизированной тканью.

Литература

1. *Stewart B.W., Wild C.P.* World cancer report 2014. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2014. URL: <http://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-2014> (дата обращения: 10.10.2016).
2. *Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В.* Злокачественные новообразования в России в 2014 г. (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. 250 с.

3. *Мерабишвили В.М.* Динамика наблюдаемой и относительной выживаемости больных раком желудка (популяционное исследование) // Вопросы онкологии. 2013. Т. 59 (6). P. 701–707.

4. *Касаткин В.Ф., Кум О.И., Захарова Н.П., Скрипниченко О.В.* Хирургическая интраоперационная химиотерапия на аутосредах организма как компонент паллиативного лечения распространенного рака желудка: обоснование и экспериментальная разработка метода // Паллиативная медицина и реабилитация. 2004. № 1. С. 14–18.

5. *Martin H.M., Hancock J.T., Salisbury V., Harrison R.* Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent // Infection and immunity. 2004. Vol. 72 (9). P. 4933–4939.

6. *Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В.* Редокс-регуляция клеточных функций // Биохимия. 2007. № 72. С. 158–174.

7. *Dawane J.S., Pandit V.A.* Understanding Redox Homeostasis and its Role in Cancer // J. Clin. Diagnos. Res. 2012. Vol. 6. P. 1796–1802.

8. *Policastro L.L., Ibañez I.L., Notcovich C., Duran H.A., Podhajcer O.L.* The Tumor Microenvironment: Characterization, Redox Considerations, and Novel Approaches for Reactive Oxygen Species-Targeted Gene Therapy // Antiox. & Redox Sign. 2013. Vol. 19. P. 854–895.

9. *Castaldo S.A., Freitas J.R., Conchinha N.V., Madureira P.A.* The Tumorigenic Roles of the Cellular REDOX Regulatory Systems // Oxid. Med. Cell. Longev. 2015. Article ID 8413032. DOI 10.1155/2016/8413032.

10. *Стальная И.Д., Горешвили Т.Г.* Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. 392 с.

11. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.

12. *Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н.* Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рекомендации. СПб.: Фолиант, 2000. 104 с.

13. *Liou G.Y., Storz P.* Reactive oxygen species in cancer // Free radical research. 2010. Vol. 44 (5). P. 479–496.

14. *Sosa V., Moliné T., Somoza R., Paciucci R., Kondoh H., Leonart M.E.* Oxidative stress and cancer: an overview // Ageing research reviews. 2013. Vol. 12 (1). P. 376–390.

15. *Martindale J.L., Holbrook N.J.* Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival // J. of Cellular Physiology. 2002. Vol. 192 (1). P. 1–15.

16. *Benhar M., Engelberg D., Levitzki A.* ROS, stressactivated kinases and stress signaling in cancer // EMBO Reports. 2002. Vol. 3 (5). P. 420–425.

17. *Boonstra J., Post J.A.* Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells // Gene. 2004. Vol. 337. P. 1–13.

18. *Havens C.G., Ho A., Yoshioka N., Dowdy S.F.* Regulation of late G1/S phase transition and APC^{Cdh1} by reactive oxygen species // Molecular and Cellular Biology. 2006. Vol. 26 (12). P. 4701–4711.

19. *Janssen A.M., Bosman C.B., van Duijn W., Oostendorp-van de Ruit M.M., Kubben F.J., Griffioen G., Lamers C.B., van Krieken J.H., van de Velde C.J., Verspaget H.W.* Superoxide dismutases in gastric and esophageal cancer and the prognostic impact in gastric cancer // Clin. Cancer Res. 2000. Vol. 6 (8). P. 3183–3192.

20. *Hwang T.S., Choi H.K., Han H.S.* Differential expression of manganese superoxide dismutase, copper/zinc superox-

ide dismutase, and catalase in gastric adenocarcinoma and normal gastric mucosa // *European J. of Surgical Oncology (EJSO)*. 2007. Vol. 33 (4). P. 474–479.

21. Buettner R.G. Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*. 2011. Vol. 11 (4). P. 341–346.

22. Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress // *Redox Biology*. 2017. Vol. 11. P. 613–619.

23. Lindahl M., Mata-Cabana A., Kieselbach T. The disulfide proteome and other reactive cysteine proteomes: analysis and functional significance // *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011. Vol. 14. P. 2581–2642.

24. Tikhanovich I., Cox J., Weinman S.A. Forkhead box class O transcription factors in liver function and disease // *J. of Gastroenterology and Hepatology*. 2013. Vol. 28 (1). P. 125–131.

25. Klaus A., Zorman S., Berthier A., Polge C., Ramirez S., Michelland S., Sève M., Vertommen D., Rider M., Lentze N., Auerbach D., Schlattner U. Glutathione S-transferases interact with AMP-activated protein kinase: evidence for S-glutathionylation and activation in vitro // *PLoS One*. 2013. Vol. 8. P. e62497.

26. Board P.G., Menon D. Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2013. Vol. 1830. P. 3267–3288.

27. Wu J.-Y., Cheng C.-C., Wang J.-Y., Wu D.-C., Hsieh J.-S., Lee S.-C., Wang W.M. Discovery of Tumor Markers for Gastric Cancer by Proteomics // *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9 (1). P. e84158. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084158> (дата обращения: 15.10. 2015).

28. Gamcsik M.P., Kasibhatla M.S., Teeter S.D., Colvin O.M. Glutathione Levels in Human Tumors // *Biomarkers*. 2012. Vol. 17 (8). P. 671–691.

29. Сурикова Е.И., Горошинская И.А., Неродо Г.А., Францианц Е.М., Малейко М.Л., Шалашина Е.В., Качесова П.С., Немашкалова Л.А., Леонова А.В. Активность редокс-регулирующих систем в опухоли и окружающих её тканях при различных гистологических вариантах // *Биомед. химия*. 2016. Т. 62, № 2. С. 187–192.

30. Brigelius-Flohe R., Maiorino M. Glutathione peroxidases // *Biochim. Biophys. Acta*. 2013. Vol. 1830 (5). P. 3289–303. DOI 10.1016/j.bbagen.2012.11.020.

31. Komatsu H., Okayasu I., Mitomi H., Imai H., Nakagawa Y., Obata F. Immunohistochemical detection of human gastrointestinal glutathione peroxidase in normal tissues and cultured cells with novel mouse monoclonal antibodies // *J. of Histochemistry & Cytochemistry*. 2001. Vol. 49 (6). P. 759–766.

32. Itoh K., Mimura J., Yamamoto M. Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: a historical overview // *Antioxid. Redox Signal*. 2010. Vol. 13 (11). P. 1665–1678. DOI 10.1089/ars.2010.3222.

33. Vibet S., Goupille C., Bougnoux P., Steghens J.P., Gore J., Maheo K. Sensitization by docosahexaenoic acid (DHA) of breast cancer cells to anthracyclines through loss of glutathione peroxidase (GPx1) response // *Free Radic. Biol. Med.* 2008. Vol. 44 (7). P. 1483–1491. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2008.01.009.

References

1. Stewart B.W., Wild C.P. *World cancer report 2014*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2014. Available at: <http://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/>

World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-2014 (accessed 10.10. 2016).

2. Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. *Zloka- chestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2014 g. (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2014 (morbidity and mortality)]. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena - filial FGBU «NMIRTs» Minzdrava Rossii, 2016, 250 p.

3. Merabishvili V.M. Dinamika nablyudaemoi i otositel'noi vyzhivaemosti bol'nykh rakom zheludka (populyatsionnoe issledovanie) [Dynamics of the observed and relative survival of patients with gastric cancer (population-based study)]. *Voprosy onkologii*. 2013, vol. 59 (6), pp. 701-707.

4. Kasatkin V.F., Kit O.I., Zakharova N.P., Skripnichenko O.V. Khirurgicheskaya intraoperatsionnaya khimioterapiya na autosredakh organizma kak komponent palliativnogo lecheniya rasprostrannogo raka zheludka: obosnovanie i eksperimental'naya razrabotka metoda [Surgical intraoperative chemotherapy on the autoperms of the body as a component of palliative treatment of advanced stomach cancer: the rationale and experimental development of the method]. *Palliativnaya meditsina i reabilitatsiya*. 2004, No. 1, pp. 14-18.

5. Martin H.M., Hancock J.T., Salisbury V., Harrison R. Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent. *Infection and immunity*. 2004, vol. 72 (9), pp. 4933-4939.

6. Oktyabr'skii O.N., Smirnova G.V. Redoks-regulyatsiya kletochnykh funktsii [Redox-regulation of cellular functions]. *Biokhimiya*. 2007, No. 72, pp. 158-174.

7. Dawane J.S., Pandit V.A. Understanding Redox Homeostasis and its Role in Cancer. *J. Clin. Diagnos. Res.* 2012, vol. 6, pp. 1796-1802.

8. Policastro L.L., Ibañez I.L., Notcovich C., Duran H.A., Podhajcer O.L. The Tumor Microenvironment: Characterization, Redox Considerations, and Novel Approaches for Reactive Oxygen Species-Targeted Gene Therapy. *Antiox. & Redox Sign.* 2013, vol. 19, pp. 854-895.

9. Castaldo S.A., Freitas J.R., Conchinha N.V., Madureira P.A. The Tumorigenic Roles of the Cellular REDOX Regulatory Systems. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015. Article ID 8413032. DOI 10.1155/2016/8413032.

10. Stal'naya I.D., Goreshevili T.G. *Sovremennye metody v biokhimi* [Modern methods in biochemistry]. Moscow: Meditsina, 1977, 392 p.

11. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Maiorova I.G., Tokarev V.E. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method for determination of catalase activity]. *Lab. delo*. 1988, No. 1, pp. 16-19.

12. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybina N.N. *Metody otsenki svobodnoradikal'nogo okisleniya i antioksidantnoi sistemy organizma* [Methods for assessing free radical oxidation and the body's antioxidant system]. Method. Recommendations. Saint Petersburg: Foliant, 2000, 104 p.

13. Liou G.Y., Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free radical research*. 2010, vol. 44 (5), pp. 479-496.

14. Sosa V., Moliné T., Somoza R., Paciucci R., Kondoh H., Leonart M.E. Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing Research Reviews*. 2013, vol. 12 (1), pp. 376-390.

15. Martindale J.L., Holbrook N.J. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J. of Cellular Physiology*. 2002, vol. 192 (1), pp. 1-15.

16. Benhar M., Engelberg D., Levitzki A. ROS, stressactivated kinases and stress signaling in cancer. *EMBO Reports*. 2002, vol. 3 (5), pp. 420-425.

17. Boonstra J., Post J.A. Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene*. 2004, vol. 337, pp. 1-13.

18. Havens C.G., Ho A., Yoshioka N., Dowdy S.F. Regulation of late G1/S phase transition and APCCdh1 by reactive oxygen species. *Molecular and Cellular Biology*. 2006, vol. 26 (12), pp. 4701-4711.
19. Janssen A.M., Bosman C.B., van Duijn W., Oostendorp-van de Ruit M.M., Kubben F.J., Griffioen G., Lamers C.B., van Krieken J.H., van de Velde C.J., Verspaget H.W. Superoxide dismutases in gastric and esophageal cancer and the prognostic impact in gastric cancer. *Clin. Cancer Res*. 2000, vol. 6 (8), pp. 3183-3192.
20. Hwang T.S., Choi H.K., Han H.S. Differential expression of manganese superoxide dismutase, copper/zinc superoxide dismutase, and catalase in gastric adenocarcinoma and normal gastric mucosa. *European J. of Surgical Oncology (EJSO)*. 2007, vol. 33 (4), pp. 474-479.
21. Buettner R.G. Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*. 2011, vol. 11 (4), pp. 341-346.
22. Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology*. 2017, vol. 11, pp. 613-619.
23. Lindahl M., Mata-Cabana A., Kieselbach T. The disulfide proteome and other reactive cysteine proteomes: analysis and functional significance. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011, vol. 14, pp. 2581-2642.
24. Tikhanovich I., Cox J., Weinman S.A. Forkhead box class O transcription factors in liver function and disease. *J. of Gastroenterology and Hepatology*. 2013, vol. 28 (1), pp. 125-131.
25. Klaus A., Zorman S., Berthier A., Polge C., Ramirez S., Michelland S., Sève M., Vertommen D., Rider M., Lentze N., Auerbach D., Schlattner U. Glutathione S-transferases interact with AMP-activated protein kinase: evidence for S-glutathionylation and activation in vitro. *PLoS One*. 2013, vol. 8, p. e62497.
26. Board P.G., Menon D. Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2013, vol. 1830, pp. 3267-3288.
27. Wu J.-Y., Cheng C.-C., Wang J.-Y., Wu D.-C., Hsieh J.-S., Lee S.-C., Wang W.M. Discovery of Tumor Markers for Gastric Cancer by Proteomics. *PLoS ONE*. 2014, vol. 9 (1), p. e84158. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084158> (accessed 15.10.2015).
28. Gamcsik M.R., Kasibhatla M.S., Teeter S.D., Colvin O.M. Glutathione Levels in Human Tumors. *Biomarkers*. 2012, vol. 17 (8), pp. 671-691.
29. Surikova E.I., Goroshinskaya I.A., Nerodo G.A., Frantsiyants E.M., Maleiko M.L., Shalashnaya E.V., Kachesova P.S., Nemashkalova L.A., Leonova A.V. Aktivnost' redoks-reguliruyushchikh sistem v opukholy i okruzhayushchikh ee tkanyakh pri razlichnykh gistologicheskikh variantakh [Activity of redox-regulating systems in a tumor and surrounding tissues at various histological variants]. *Biomed. khimiya*. 2016, vol. 62, No. 2, pp. 187-192.
30. Brigelius-Flohe R., Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim. Biophys. Acta*. 2013, vol. 1830 (5), pp. 3289-3303. DOI 10.1016/j.bbagen.2012.11.020.
31. Komatsu H., Okayasu I., Mitomi H., Imai H., Nakagawa Y., Obata F. Immunohistochemical detection of human gastrointestinal glutathione peroxidase in normal tissues and cultured cells with novel mouse monoclonal antibodies. *J. of Histochemistry & Cytochemistry*. 2001, vol. 49 (6), pp. 759-766.
32. Itoh K., Mimura J., Yamamoto M. Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: a historical overview. *Antioxid. Redox Signal*. 2010, vol. 13 (11), pp. 1665-1678. DOI 10.1089/ars.2010.3222.
33. Vibet S., Goupille C., Bougnoux P., Steghens J.P., Gore J., Maheo K. Sensitization by docosahexaenoic acid (DHA) of breast cancer cells to anthracyclines through loss of glutathione peroxidase (GPx1) response. *Free Radic. Biol. Med*. 2008, vol. 44 (7), pp. 1483-1491. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2008.01.009.

УДК 615.831:616-006-092.4

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-128-133

ИЗМЕНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПОД ВЛИЯНИЕМ ОПТИЧЕСКИХ ИЗЛУЧЕНИЙ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ IN VITRO

© 2017 г. Е.А. Шейко¹, А.И. Шихлярова¹, Т.А. Бартенева¹, Т.А. Куркина¹, С.М. Бабиева¹,
Д.П. Атмачиди¹, Т.Г. Айрапетова¹, Н.В. Николаева¹, П.В. Светицкий¹

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

CHANGES OF THE VIABILITY OF TUMOR CELLS UNDER INFLUENCE OF OPTICAL RADIATION: EXPERIMENTAL STUDIES IN VITRO

E.A. Sheiko¹, A.I. Shikhlyarova¹, T.A. Barteneva¹, T.A. Kurkina¹, S.M. Babieva¹, D.P. Atmachidi¹,
T.G. Airapetova¹, N.V. Nikolaeva¹, P.V. Svetitskiy¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Шейко Елена Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: esheiko@inbox.ru

Elena A. Sheiko - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: esheiko@inbox.ru

Шихлярова Алла Ивановна – доктор биологических наук, профессор, руководитель испытательного лабораторного центра, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Alla I. Shikhlyarova - Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Бартенева Татьяна Альбертовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: tabart1504@yandex.ru

Tatjana A. Barteneva - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: tabart1504@yandex.ru

Куркина Татьяна Анатольевна – научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: ta.kurkina@yandex.ru

Tatjana A. Kurkina – Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: ta.kurkina@yandex.ru

Бабиева Стелла Михайловна – кандидат медицинских наук, врач-онколог, научный сотрудник, отделение опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Stella M. Babieva - Candidate of Medicine, Oncologist, Researcher, Department of Bone, Skin, Soft Tissue and Breast Tumors No. 1, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Атмачиди Дмитрий Панайотович – кандидат медицинских наук, врач-нейрохирург, отделение нейроонкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: atmachidi1@yandex.ru

Dmitrii P. Atmachidi - Candidate of Medicine, Neurosurgeon, Department of Neurooncology, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: atmachidi1@yandex.ru

Айрапетова Тамара Георгиевна – кандидат медицинских наук, врач-онколог, научный сотрудник, отделение торакальной хирургии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnioi@list.ru

Tamara G. Airapetova - Candidate of Medicine, Oncologist, Researcher, Department of Thoracic Surgery, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Николаева Надежда Владимировна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, отдел лекарственного лечения опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnoi@list.ru

Nadezhda V. Nikolaeva - Doctor of Medicine, Leading Researcher, Department of Drug Therapy, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnoi@list.ru

Светицкий Павел Викторович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела опухолей головы и шеи, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rnoi@list.ru

Pavel V. Svetitskiy - Doctor of Medicine, Professor, Head of Department of Head and Neck Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rnoi@list.ru

Цель исследования – изучение влияния различных полос видимого спектра, подаваемого в одинаковой энергетической дозе на опухолевые клетки культуры опухоли саркомы 45. Электромагнитное излучение оптического диапазона получали от лазерно-светодиодного аппарата «Спектр-ЛЦ». Изучали действие красного спектра с $\lambda=0,67$ мкм, оранжевого – с $\lambda=0,59$, зеленого – с $\lambda=0,56$, синего – с $\lambda=0,47$, фиолетового – с $\lambda=0,40$. Излучение подавалось в непрерывном режиме с одинаковой для всех режимов энергетической дозой: 1-й опыт – $W=0,3$ Дж/см², 2-й – $W=3$. Затем пробы помещали в термостат на 24 и 48 ч при 37 °С. Оценивали состояние клеток. Было показано, что длина волны, а не общая энергетическая доза, является значимым фактором для активации путей гибели клеток опухоли.

Ключевые слова: культура клеток саркомы 45, оптические излучения видимого спектра, апоптоз, некроз.

To study the influence of the different bands of the visible spectrum wavelength, the energy supplied to the same dose on tumor cells culture of carcinoma 45 was the main aim of this study. Electromagnetic radiation in the optical range was obtained from laser-LED device "Spectrum-LC". The effects of the red spectrum with $\lambda = 0,67$ m, orange with $\lambda = 0,59$ m, green with $\lambda = 0,56$ m, blue with $\lambda = 0,47$ m, purple with $\lambda = 0,40$ m on cells culture were investigated. The radiation was supplied continuously with the same energy for all dosage regimes: first experiment – $W = 0,3$ J/cm², second experiment – $W = 3$ J/cm². Then the samples were placed in an incubator at 24 and 48 hours at a temperature of 37 °C. Cytological characteristics were studied. The results obtained has shown that the total energy dose is not a significant factor in the activation of cell death pathways tumors such factor is the wavelength.

Keywords: cell culture carcinoma 45, optical radiation in the visible range, apoptosis, necrosis.

Введение

Развитие передовых технологий лечения онкологических заболеваний, подтвержденных экспериментальными исследованиями последних лет, свидетельствует об актуальности использования физических факторов (электромагнитное излучение оптического диапазона) в качестве средств и методов, усиливающих эффективность базовой противоопухолевой терапии, обладающих в определенных режимах ингибирующим воздействием на опухоль, процессы метастазирования и рецидивирования и способных купировать возможные осложнения [1–4]. В настоящий момент активно разрабатываются методы с использованием различных физических факторов с механизмами действия, направленными на активацию различных систем противоопухолевой защиты, способных блокировать процессы пролиферации и индуцировать апоптоз опухолевых клеток, стимулировать цитотоксичность естественных киллеров [5–9]. Актуальность использования оптических излучений связана с тем, что для получения выраженной ответной реакции достаточно небольших доз таких излучений [1, 10, 11]. С этих позиций интересно

исследовать прямое действие электромагнитных колебаний оптического диапазона на опухолевые клетки. Цель настоящего исследования – изучение влияния различных полос видимого спектра с фиксированной одинаковой энергетической дозой на жизнеспособность опухолевых клеток культуры саркомы 45 (С45).

Материал и методы

Объектом исследования служили опухолевые клетки С45. Для получения культуры клеток брали кусочек опухоли 0,5×0,5 см С45. Опухолевые клетки трижды отмывали средой 199, взвесь клеток разводили полной питательной средой до $4 \cdot 10^6$ и распределяли по пенициллиновым флаконам, после чего не раньше чем через 2 ч осуществляли воздействия на клетки культуры опухоли. Электромагнитные излучения оптического диапазона получали от лазерно-светодиодного аппарата «Спектр-ЛЦ». Исследовали красный спектр с длиной волны $\lambda=0,67$ мкм, оранжевый – $\lambda=0,65$, желтый – $\lambda=0,59$, зеленый – $\lambda=0,56$, синий – $\lambda=0,47$, фиолетовый – $\lambda=0,40$ мкм. Излучение подавалось в непрерывном режиме с одинаковой для всех режимов энергетической

ческой дозой: 1-й опыт – $W=0,3$ Дж/см², 2-й – $W=3,0$. Затем пробы помещали в термостат на 24 и 48 ч при 37 °С. Контрольные пробы инкубировали в аналогичных условиях без облучения. Было проведено 4 серии таких экспериментов.

Количество клеток культуры С45 определяли с использованием камеры Горяева, процент погибших клеток контрольной и опытных проб оценивали по общепринятому тесту с 0,1%-м трипановым синим (Sigma, США). Цитотоксический индекс (ЦТИ) вычисляли по формуле $ЦТИ = (O - K) / K \times 100 \%$, где O – количество погибших клеток в опытной пробе; K – в контрольной пробе. Одновременно готовили мазки, фиксировали, окрашивали по Романовскому – Гимзе, микроскопировали и проводили оценку цитологического состояния С45, рассчитывали индекс апоптоза [12, 13]. Достоверность различий средних величин определяли с применением t-критерия Стьюдента и непараметрическими методами.

Результаты и их обсуждение

На контрольных цитологических препаратах культура С45 была представлена однотипными клетками, плотно прилегающими друг к другу, с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением (выше 1). Цитоплазма отчетливо базофильна. Ядро округлое, гомогенное, базофильное с наличием 2÷3 ядрышек. Типичным являлось наличие в поле зрения значительного количества клеток с митотическими фигурами деления. Регистрировался низкий индекс апоптоза (ИА) ($5,3 \pm 0,7 \%$). В единичных клетках отмечались патологические фигуры деления. После воздействия на клетки культуры С45 оптическим излучением различного спектрального диапазона были получены однонаправленные изменения клеток культуры различной степени выраженности, но сходные между собой. Отмечена остановка клеточного деления, отсутствие фигур деления в большинстве проб. Культура была представлена полиморфными клетками атипичной формы. Усиление клеточного полиморфизма происходило за счет сморщивания и пикноза одних клеток и набухания с увеличением размеров других. Отмечалась оксифилия цитоплазмы, отсутствие ядрышек в ядрах. Наблюдались поля «голых» одиночно лежащих клеток. Ядерно-цитоплазматическое отношение было меньше 1. Такие изменения в литературе трактуются как морфологические признаки апоптоза [11, 13–15].

Следует отметить, что при действии оранжевого спектра (как при малой, так и при большой энергетической дозе) наравне с перечисленными

выше морфологическими характеристиками клеток были обнаружены большие массивы некротизированных, с поврежденными мембранами, лизированных клеток С45. Значения ИА были относительно низкими (при действии малой дозы через 24 ч – $19,7 \pm 9,0 \%$, 48 ч – $12,4 \pm 6,6$ – отличия недостоверны; при большой дозе – $15,1 \pm 7,4 \%$, через 48 ч – $8,1 \pm 6,8$ – отличия недостоверны). Отмеченные изменения могут свидетельствовать о прямом цитотоксическом, разрушительном действии этого спектра на клетки культуры [11]. В пробах после воздействия красного света (как при малой, так и при большой энергетической дозе) отмечались массивы изолированно лежащих друг от друга сморщенных клеток с конденсированным хроматином, который располагался по периферии ядер. Определялись поля ядер, в которых четко дифференцировались глыбки хроматина с четкими правильными краями. Значения ИА были высокие: при малой и большой дозах через 24 ч – $41,3 \pm 1,2$ и $22,1 \pm 3,3 \%$ ($p < 0,01$); через 48 ч – $67,7 \pm 6,4$ и $88,8 \pm 4,1 \%$ ($p < 0,01$).

Как видно из таблицы, различные длины волн неодинаково влияют на гибель клеток С45. При воздействии низкой энергетической дозой во всех изученных пробах число погибших клеток по сравнению с контролем было статистически достоверно выше ($p < 0,01$).

Действие малой дозы видимой части спектра приводит к повышению количества погибших клеток культуры через 24 и 48 ч. При облучении оранжевым спектром гибель клеток достигала 100 %. Судя по цитологическим изменениям, она происходила преимущественно за счет некроза, хотя в части клеток были обнаружены и изменения, характерные для апоптоза; ИА после 24-часовой экспозиции составлял $19,7 \pm 9,0 \%$, после 48-часовой – $12,4 \pm 6,6$ (различия статистически недостоверны между собой, но достоверно выше контроля – $3,2 \pm 0,1$). Интересно, что после воздействия красным спектром ИА был выше, составляя через 24 ч $41,3 \pm 1,2 \%$, а через 48 – $67,7 \pm 6,4$ (различия достоверны ($p < 0,01$) как между собой, так и по сравнению с контролем, а также с ИА оранжевого спектра). Полученные данные позволяют предположить, что вклад апоптоза в общую гибель клеток оказался более существенным при действии красного спектра по сравнению с оранжевым, несмотря на близость их спектральных характеристик.

После воздействия малыми дозами облучения желтым, зеленым, синим, фиолетовым и инфракрасным спектрами показатели ИА через 24 ч не имели статистически достоверных отличий от контрольных проб.

Влияние электромагнитных колебаний оптического диапазона с различной длиной волны на гибель клеток культуры C45, % / Effect of electromagnetic oscillations in the optical range with different wavelengths for the death of C45 cells, %

Спектр	W, Дж/см ²							
	0,3				3			
	Время нахождения проб в термостате, ч							
	24		48		24		48	
Показатель, %								
	Гибель	ЦТИ	Гибель	ЦТИ	Гибель	ЦТИ	Гибель	ЦТИ
Красный	36±0,8*	6,4±0,3	51±0,6*	3,6±0,1	4±0,3*	8,4±0,4	91±2,2*	7,2±0,1
Оранжевый	54±0,7*	9,8±0,1	100±0,0*	8,1±0,4	95±1,3*	18±0,3	96±4,1*	7,7±0,5
Желтый	40±0,8*	7,0±0,3	42±3,3*	2,8±0,4	74±3,7*	13,8±2,4	36±7,1*	2,3±0,1
Зеленый	42±0,4*	7,4±0,1	68±0,7*	5,2±0,1	70±0,6*	13±0,3	34±0,8*	2,1±0,2
Синий	28±0,2*	4,0±1,2	98±1,3*	7,9±2,5	36±4,3*	6,2±0,9	82±6,1*	6,5±0,3
Фиолетовый	45±5,3*	8,4±2,1	86±11,7*	6,7±2,3	39±12,3*	6,8±0,8	92±23,3*	7,4±0,7
Контроль	5±0,1	–	11±0,4	–	5±0,1	–	11±0,4	–

Примечание. * – отличия достоверны по отношению к контролю при $p \leq 0,05$.

При действии низкой дозы желтого спектра не наблюдалось увеличения процента погибших клеток по мере повышения экспозиции, а ЦТИ снижался, видимо, за счет повышения гибели клеток в контрольной пробе через 48 ч по сравнению с 24-часовой экспозицией. Облучение той же дозой зеленого спектра вызывало повышение процента погибших клеток через 48 ч при снижении ЦТИ, возможно, по той же причине. Следует отметить, что при применении малой дозы желтого и зеленого спектров ИА не менялся по сравнению с контролем ни через 24, ни через 48 ч экспозиции, из чего можно заключить, что отмеченная гибель клеток, по-видимому, не является апоптотической.

Действие малой дозы синего и фиолетового спектров демонстрировало выраженные отличия от описанных выше и индуцировало максимальную гибель клеток через 48 ч. Судя по показателям ИА, в ее реализации задействованы апоптотические механизмы.

При воздействии большой энергетической дозой число погибших клеток также было достоверно выше, чем в контроле. Большая энергетическая доза по сравнению с малой через 24 ч вызывает в пробах достоверное повышение числа погибших клеток, за исключением фиолетового спектра, где эти значения достоверно не отличаются от контроля. При межгрупповом сравнении установлено, что меньше всего клеток погибает при воздействии синим и фиолетовым светом, больше – оранжевым (самые высокие значения ЦТИ). Через 48 ч после действия синего и фиолетового света число погибших клеток увеличивалось в 2,4 раза; при действии оранжевого и инфракрасного спектров – не менялось. Самые низкие значения ЦТИ получены при действии желтого и зеленого спектров.

Применение высокой дозы облучения исследованными длинами волн отличается от действия малой дозы, что укладывается в представления о дозозависимости эффекта различных воздействий. Так, в отличие от результата применения малой дозы, гибель клеток при 24-часовой экспозиции высокой дозой оранжевого, желтого, зеленого спектров оказалась максимальной (таблица). При 48-часовой экспозиции уровни погибших клеток при действии оранжевого спектра сохраняются на высоких значениях, а при действии желтого и зеленого спектров снижаются в 2 раза.

При этом значения ИА не совпадают с общим количеством погибших клеток: для оранжевого спектра они составляют 15,1±7,4 % через 24 ч и 8,1±6,8 % – 48 ч, не имея статистически значимых различий; для желтого и зеленого статистически достоверно возрастают с 17,3±2,2 до 27,4±0,5 и с 18,1±0,1 до 36,1±0,6 % (в обоих случаях $p < 0,01$).

Отмеченная дозовая зависимость оказалась не характерна для действия синего и фиолетового спектров, которые оказывают сходный эффект как при высокой, так и при низкой дозах; при этом процент погибших клеток связан скорее со свойствами длины волны, чем с дозой. При применении излучений этих частей спектра также происходит нарастание значений ИА по мере увеличения экспозиции: для синего спектра – с 15,8±3,7 до 31,3±2,4 %, для фиолетового – с 16,3±2,5 до 23,7±1,7 % (в обоих случаях $p < 0,01$).

При воздействии больших доз вне зависимости от сроков (24 и 48 ч) показатели ИА были статистически значимо выше по сравнению с контролем. Так, облучение желтым спектром привело к повышению ИА в 3,3 и 5,2 раза, зеленым – в 3,4 и 6,8, синим – в 2,9 и 5,9, фиолетовым – в 3,1 и 4,5, а инфракрасным – в 10,1 и 14,7 раза.

Выявлена особенность эффекта красного спектра: после применения высокой дозы ИА через 48 ч возрастает в 4 раза по сравнению с ИА через 24 ч, что находится в соответствии с выраженным повышением общей гибели клеток С45 через 48 ч после облучения высокой дозой (таблица).

Значения ИА, полученные в пробах, подвергавшихся действию больших доз, через 48 ч были статистически достоверно выше по сравнению со значениями ИА, полученными через 24 ч после воздействия. Для желтого спектра показатели составили $27,4 \pm 0,5$ % против $17,3 \pm 2,2$ ($p < 0,01$); для зеленого – $36,1 \pm 0,6$ против $18,1 \pm 0,1$ ($p < 0,01$); для синего – $31,3 \pm 2,4$ против $15,8 \pm 3,7$ ($p < 0,01$), для фиолетового – $23,7 \pm 1,7$ против $16,3 \pm 2,5$ ($p < 0,5$).

Таким образом, после проведения воздействия оптическим излучением в одних и тех же энергетических дозах, но различными полосами спектра на клетки культуры С45 были получены различные результаты. Оранжевый спектр вызывал непосредственную гибель клеток путем некроза, в других случаях, как видно из полученных данных, были запущены механизмы апоптоза. Апоптоз, или программированная клеточная гибель, – генетически детерминированный процесс, который может протекать в нормальных клетках и тканях организма на определенных стадиях его развития, либо может быть индуцирован в тех же самых клетках и тканях организма *in vivo* и полученных из них клеток и клеточных линий *in vitro* [13]. Апоптотическая гибель может быть вызвана самыми разнообразными физическими, химическими и биологическими факторами, но финальные фазы процесса протекают сходным образом независимо от индуктора гибели и типа клеток [11, 14]. Нами установлено, что механизмы апоптоза были запущены с помощью некоторых электромагнитных воздействий оптического диапазона. Апоптотические клетки культуры опухоли С45 претерпевают определенные морфологические изменения, отражающие происходящие в них биохимические процессы. Морфологически апоптоз проявлялся гибелью единичных беспорядочно расположенных клеток, что сопровождалось формированием округлых, окруженных мембраной телец, получивших название апоптических [1, 13]. Наблюдаемые нами изменения: клетки сморщенные, выглядят как овальные или округлые скопления эозинофильной конденсированной цитоплазмы с плотными фрагментами ядерного хроматина.

Поскольку энергетические дозы при всех воздействиях были одинаковы (либо малая – $W=0,3$ Дж/см², либо в десять раз увеличенная – $W=3$), а результаты в пробах получены разные, мы склонны прийти к заключению, что действенным фактором, обусловившим эти различия, была длина волны оптиче-

ского излучения. Можно предположить наличие в клетках специфических акцепторов для каждой линии спектра, определение локализации которых требует дальнейших исследований. Возбуждение таких акцепторов, по-видимому, будет приводить к запуску механизмов апоптоза опухолевой клетки. Сроки проявления такого воздействия также различны, при действии $W=3$ Дж/см² апоптоз проявляется как через 24, так и через 48 ч, тогда как при дозе $W=0,3$ – только через 48 ч.

Заключение

Полученные данные представляют собой научный интерес и могут быть использованы с целью выбора оптимальных параметров оптического излучения для достижения эффекта моделирования путей гибели опухолевых клеток.

Литература

1. Москвин С.В., Хадарцев А.А. Лазерный свет – можно ли им навредить? (обзор литературы) // Вестн. мед. ин-та «РЕАВИЗ». 2016. № 3. С. 69–84.
2. Шейко Е.А., Шихлярова А.И., Марьяновская Г.Я. [и др.]. Низкоинтенсивное монохроматическое светодиодное излучение и величина противоопухолевого эффекта циклофосфана, введенного на аутокрови в эксперименте // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2011. Т. 151, № 1. С. 67–71.
3. Шейко Е.А., Родионова О.Г., Шихлярова А.И. [и др.]. Квантовая медицина при лечении лучевых поражений органов малого таза (обзор литературы) // Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 8-4. С. 542–549. URL: <http://www.applied-research.ru/ru/article/view?id=10121> (дата обращения: 07.09.2016).
4. Lanzafame R.J. Photobiomodulation and cancer and other musings // Photomedicine and Laser Surgery. 2011. Vol. 29 (1). P. 3–4.
5. Кут О.И., Златник Е.Ю., Передереева Л.В. Антипролиферативное действие наночастиц цинка и сплава металлов на моделях перевивных сарком // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2013. Т. 156, № 9. С. 367–370.
6. Шейко Е.А., Златник Е.Ю., Загора Г.И. Влияние электромагнитных излучений оптического диапазона на культуру клеток лимфосаркомы Плисса // Современные подходы к терапии больных распространенным раком, отдельных локализаций. М., 2005. С. 661–668.
7. Шейко Е.А., Златник Е.Ю., Загора Г.И. Монохромное излучение красного спектра как фактор, стимулирующий естественные механизмы гибели опухолевых клеток *in vitro* // Лазерная медицина. 2008. Т. 12, № 1. С. 15–18.
8. Шейко Е.А., Белан О.С. Влияние монохромного светодиодного излучения красной и синей полос спектра на кровь больных раком легкого в экспериментальных исследованиях *in vitro* // Лазерная медицина. 2009. Т. 13, № 2. С. 35–38.
9. Karu T.I., Kalendo G.S., Letokhov V.S., Lobko V.V. Biostimulation of HeLa cells by low intensity visible light. I. Stimulation of DNA and RNA synthesis in a wide spectral range // Il Nuovo Cimento D. 1984. Vol. 3. P. 309–318.

10. Шейко Е.А., Златник Е.Ю., Шихлырова А.И. Особенности действия оптических излучений видимого и длинноволнового света на клетки культуры K562: экспериментальные исследования in vitro // *Международ. журн. прикладных и фундаментальных исследований*. 2014. № 8 (3). С. 86–90.

11. Шейко Е.А. Влияние действия оптического излучения зеленого и оранжевого спектра на жизнеспособность культуры С45 // *Международ. журн. прикладных и фундаментальных исследований*. 2015. № 2. С. 83–87.

12. Фролов В.В., Дроздова Г.А., Риегер П., Благодравов М.Л. Начальные механизмы формирования «гипертонического сердца» // *БЭБиМ*. 2004. Т. 137, № 6. С. 249–252.

13. Широкова А.В. Апоптоз. Сигнальные пути и изменение ионного и водного баланса клетки // *Цитология*. 2007. Т. 40, № 5. С. 385–394.

14. Friis M.B., Friborg C.R., Shneider L. [et al.]. Cell Shrinkage as the signal to apoptosis in NIH 3T3 fibroblasts // *J. Physiol*. 2005. Vol. 567. P. 427–443.

15. Vermeulen K., Bockstaele D.R., Berneman Z.N. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer // *Ann. Hematol*. 2005. Vol. 84. P. 627–639.

References

1. Moskvina S.V., Khadartsev A.A. Lazernyi svet – možno li im navredit' (obzor literatury) [Laser light - can they hurt? (review of the literature)]. *Vestn. med. in-ta «REAVIZ»*. 2016, No. 3, pp. 69-84.

2. Sheiko E.A., Shikhlyarova A.I., Mar'yanovskaya G.Ya. [i dr.]. Nizkointensivnoe monokhromaticheskoe svetodiodnoe izluchenie i velichina protivopukhlevogo effekta tsiklofosfana, vvedennogo na autokrovi v eksperimente [Low-intensity monochromatic light-emitting diode radiation and the magnitude of the antitumor effect of cyclophosphamide introduced into autoblood in the experiment]. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny*. 2011, vol. 151, No. 1, pp. 67-71.

3. Sheiko E.A., Rodionova O.G., Shikhlyarova A.I. [i dr.]. Kvantovaya meditsina pri lechenii luchevykh porazhenii organov malogo taza (obzor literatury) [Quantum medicine in the treatment of radiation lesions of pelvic organs (review of the literature)]. *Mezhdunar. zhurn. prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2016, No. 8-4, pp. 542-549. Available at: <http://www.applied-research.ru/ru/article/view?id=10121> (accessed 07.09.2016).

4. Lanzafame R.J. Photobiomodulation and cancer and other musings. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2011, vol. 29 (1), pp. 3-4.

5. Kit O.I., Zlatnik E.Yu., Peredreeva L.V. Antiproliferativnoe deistvie nanochastits tsinka i splava metallov na modelyakh perevivnykh sarkom [Antiproliferative action of zinc and metal alloy nanoparticles on sarcomed models]. *Byul.*

eksperim. biologii i meditsiny. 2013, vol. 156, No. 9, pp. 367-370.

6. Sheiko E.A., Zlatnik E.Yu., Zakora G.I. [Influence of electromagnetic radiation of the optical range on the culture of Pless lymphosarcoma cells]. *Sovremennye podkhody k terapii bol'nykh rasprostranennym rakom, otdel'nykh lokalizatsii* [Modern approaches to therapy of patients with advanced cancer, separate localizations]. Moscow, 2005, pp. 661-668.

7. Sheiko E.A., Zlatnik E.Yu., Zakora G.I. Monokhromnoe izluchenie krasnogo spektra kak faktor, stimuliruyushchii estestvennye mekhanizmy gibeli opukhlevykh kletok in vitro [Monochrome radiation of the red spectrum as a factor stimulating the natural mechanisms of death of tumor cells in vitro]. *Lazernaya meditsina*. 2008, vol. 12, No. 1, pp. 15-18.

8. Sheiko E.A., Belan O.S. Vliyanie monokhromnogo svetodiodnogo izlucheniya krasnoi i sinei polos spektra na krov' bol'nykh rakom legkogo v eksperimental'nykh issledovaniy in vitro [Influence of monochromatic red and blue radiation of the red and blue bands of the spectrum on the blood of patients with lung cancer in experimental studies in vitro]. *Lazernaya meditsina*. 2009, vol. 13, No. 2, pp. 35-38.

9. Karu T.I., Kalendo G.S., Letokhov V.S., Lobko V.V. Biostimulation of HeLa cells by low intensity visible light. I. Stimulation of DNA and RNA synthesis in a wide spectral range. *Il Nuovo Cimento D*. 1984, vol. 3, pp. 309-318.

10. Sheiko E.A., Zlatnik E.Yu., Shikhlyarova A.I. Osobnosti deistviya opticheskikh izlucheniy vidimogo i dlinnovolnovogo sveta na kletki kul'tury K562: eksperimental'nye issledovaniya in vitro [Peculiarities of the effect of optical radiation from visible and long-wave light on the K562 culture cells: experimental in vitro studies]. *Mezhdunar. zhurn. prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2014, No. 8 (3), pp. 86-90.

11. Sheiko E.A. Vliyanie deistviya opticheskogo izlucheniya zelenogo i oranzhevogo spektra na zhiznesposobnost' kul'tury S45 [Effect of the action of optical emission of the green and orange spectrum on the viability of the C45 cult]. *Mezhdunar. zhurn. prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2015, No. 2, pp. 83-87.

12. Frolov V.V., Drozdova G.A., Rieger P., Blagoravov M.L. Nachal'nye mekhanizmy formirovaniya «gipertonicheskogo serdtsa» [Initial mechanisms of formation of the "hypertonic heart"]. *BEBiM*. 2004, vol. 137, No. 6, pp. 249-252.

13. Shirokova A.V. Apoptoz. Signal'nye puti i izmenenie ionnogo i vodnogo balansa kletki [Apoptosis. Signal pathways and changes in ionic and water balance of cells]. *Tsitologiya*. 2007, vol. 40, No. 5, pp. 385-394.

14. Friis M.B., Friborg C.R., Shneider L. [et al.]. Cell Shrinkage as the signal to apoptosis in NIH 3T3 fibroblasts. *J. Physiol*. 2005, vol. 567, pp. 427-443.

15. Vermeulen K., Bockstaele D.R., Berneman Z.N. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer. *Ann. Hematol*. 2005, vol. 84, pp. 627-639.

УДК 001.5:615.277.3:612.018.2:57.05

DOI 10.23683/0321-3005-2017-4-2-134-142

СИСТЕМНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ cAMP-ИНДУЦИРОВАННОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА У КРЫС С КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА

© 2017 г. А.И. Шихлярова¹, Г.В. Жукова¹, Е.М. Франциянц¹, Н.Д. Черярина¹, Т.А. Бартенева¹,
Е.А. Ширнина¹, Т.А. Куркина¹, М.И. Брагина¹, П.В. Светицкий¹, А.А. Маслов¹
¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

SYSTEMIC MECHANISMS OF REALIZATION OF cAMP-INDUCED ANTITUMOR EFFECT IN RATS WITH HEREN'S CARCINOMA

A.I. Shikhlyarova¹, G.V. Zhukova¹, E.M. Frantsiyants¹, N.D. Cheryarina¹, T.A. Barteneva¹, E.A. Shirnina¹,
T.A. Kurkina¹, M.I. Bragina¹, P.V. Svetitskiy¹, A.A. Maslov¹
¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Шихлярова Алла Ивановна – доктор биологических наук, профессор, руководитель испытательного лабораторного центра, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Alla I. Shikhlyarova - Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Жукова Галина Витальевна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: galya_57@mail.ru

Galina V. Zhukova - Doctor of Biological Sciences, Main Researcher, Department of Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: galya_57@mail.ru

Франциянц Елена Михайловна – доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@ya.ru

Elena M. Frantsiyants - Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy General Director for Science, Head of Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@ya.ru

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: super.gormon@yandex.ru

Natalia D. Cheryarina – Doctor - Laboratory Assistant, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: super.gormon@yandex.ru

Бартенева Татьяна Альбертовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: tabart1504@yandex.ru

Tatjana A. Barteneva - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: tabart1504@yandex.ru

Ширнина Елена Алексеевна – научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: schelalex@yandex.ru

Elena A. Shirnina - Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: schelalex@yandex.ru

Куркина Татьяна Анатольевна – научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: ta.kurkina@yandex.ru

Tatjana A. Kurkina – Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: ta.kurkina@yandex.ru

Брагина Марина Игоревна – младший научный сотрудник, испытательный лабораторный центр, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: mi-bragina@yandex.ru

Marina I. Bragina - Junior Researcher, Testing Laboratory Center, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: mi-bragina@yandex.ru

Светицкий Павел Викторович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела опухолей головы и шеи, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rmioi@list.ru

Pavel V. Svetitskiy - Doctor of Medicine, Professor, Head of Department of Head and Neck Tumors, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rmioi@list.ru

Маслов Андрей Александрович – доктор медицинских наук, профессор, главный врач, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 3, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, ул. 14-я линия, 63, г. Ростов-на-Дону, 344037, Россия, e-mail: rmioi@list.ru

Andrey A. Maslov - Doctor of Medicine, Professor, Chief Physician, Head of Department of Abdominal Oncology No. 3, Rostov Research Institute of Oncology, 14-ya Liniya St., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia, e-mail: rmioi@list.ru

На модели роста карциномы Герена у белых беспородных крыс и крыс стрессоустойчивой линии Wistar была изучена эффективность противоопухолевого влияния цАМФ-модифицированной химиотерапии циклофосфаном (ЦФ). Показано, что сочетание цАМФ и ЦФ повышает частоту регрессии опухоли с 29 до 71 %. Механизм регрессии опухоли связан с активным накоплением эндогенного цАМФ в мозге, некоторых органах эндокринной (надпочечники, семенники) и иммунной систем (селезенка), легких, почках, печени, сыворотке крови. Это обеспечивало энергозатратные процессы и способствовало восстановлению нарушений, связанных с развитием опухоли. Уровень содержания цАМФ в ткани опухоли при ее рассасывании многократно снижался по сравнению с таковым при прогрессивном росте карциномы Герена. Идентификация интегральных адаптационных реакций патологического (стресс острый и хронический) и физиологического типов (тренировка, спокойная и повышенная активация) свидетельствовала о достоверном преимуществе развития реакций антистрессорного характера при использовании цАМФ как самостоятельно, так и в сочетании с ЦФ. Полученные данные указывают на интегрирующую функцию цАМФ как сигнального фактора системной самоорганизации и демонстрируют его высокую информативность и прогностическую значимость как критерия опухолевой прогрессии.

Ключевые слова: циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), химиотерапия, карцинома Герена, циклофосфан, лимфоциты, адаптационные реакции.

The antitumor effectiveness of cAMP-modified chemotherapy with cyclophosphamide (CP) was studied on a model of Heren's carcinoma in white outbred and in stress-resistant Wistar rats. Combination of cAMP and CP increased the rate of tumor regression from 29 to 71 %. The regression mechanism was associated with an active accumulation of endogenous cAMP in the brain, some organs of endocrine (adrenals, testicles) and immune (the spleen) systems, the lungs, kidneys, liver and blood serum. It provided some energy-consuming processes and contributed to the recovery of abnormalities induced by the tumor development. The cAMP level in tissues of shrinking tumors decreased manifold compared to the level in the progressing carcinoma growth. Identification of integral adaptation reactions of pathological (acute and chronic stress) and physiological (training, moderate and increased activation) types demonstrated significant predominance of the development of anti-stress reactions in cAMP administration alone or in combination with CP. The results indicated the integrating function of cAMP as a signal factor of the systemic self-organization and showed its high informativeness and prognostic significance as a criterion of the tumor progression.

Keywords: cyclic adenosine monophosphate (cAMP), chemotherapy, Heren's carcinoma, cyclophosphamide, lymphocytes, adaptation reactions.

Введение

Проблема повышения эффективности противоопухолевой терапии связана с необходимостью привлечения системного подхода, при котором использование специфических факторов ингибирования опухолевого процесса сочетается с дополнительным неспецифическим регуляторным воздействием на организм. Действительно, мишенью для профилактирования опухолевой прогрессии служат не только сама опухоль, но и гомеостатические ме-

ханизмы регуляции клеточного, тканевого, системного метаболизма и повышения неспецифической противоопухолевой резистентности организма. Реализация процессов управления неспецифической резистентностью происходит на различных иерархических уровнях, начиная с регуляторных систем мозга, органного и тканевого уровней вплоть до межклеточных и клеточных коммуникаций [1]. В основе этого лежит передача информации, носителями которой могут являться информационные молекулы ДНК и РНК, жидкие среды, в частности,

олигопептиды, а также системы молекулярных посредников – аденилциклаза, цАМФ, цГМФ, кальциевый и другие механизмы [2]. Еще недостаточно полно раскрыты ресурсы ряда биоактивных веществ, в первую очередь молекулярных посредников и проводников, обладающих доступностью к интимным механизмам пролиферации, гормонального, энергетического и адаптивного гомеостаза.

Большинство авторов считают, что содержание ДНК в опухолевых клетках является единственным достоверным показателем, позволяющим судить о прогнозе прогрессирования опухолевого процесса [3] и продолжительности жизни организма-опухоленосителя [4, 5]. Можно полагать, что использование в схеме стандартной противоопухолевой терапии цитостатиков в сочетании с сигнальным и регуляторным воздействием цАМФ будет иметь преимущество не только в снижении пролиферативной активности опухолевых клеток за счет прямого повреждающего влияния цитостатика на геном, но и опосредованно, через взаимодействие информационных молекул ДНК – цАМФ [6]. В таком случае может значительно увеличиться прогностическая ценность показателей содержания цАМФ как участника и регулятора внутриклеточных процессов в опухоли, а также в органах, обеспечивающих нейроэндокринный и иммунный статус организма. Особую актуальность приобретает изучение влияния цАМФ на интегральные формы ответа организма в условиях модифицированной химиотерапии опухолей в рамках патологических и физиологических общих адаптационных реакций как механизмов регуляции уровня противоопухолевой резистентности. Цель работы заключалась в изучении самостоятельного и сочетанного с циклофосфаном (ЦФ) влияния цАМФ на рост карциномы Герена с оценкой прогностической значимости его содержания в опухоли и органах нейроэндокринной и иммунной систем.

Материалы и методы исследования

Экспериментальная работа проводилась на 56 белых крысах-самцах (линии Wistar, $n=28$, и беспородные, $n=28$) массой 150–180 г в соответствии с правилами Европейской конвенции о защите животных (Директива 80/609 ЕЕС). В качестве опухолевой модели использовали штамм карциномы Герена, полученный в РОНЦ им. Н.Н. Блохина, РАМН, Москва. После достижения опухолью объема $0,25 \text{ см}^3$ были сформированы 4 группы (по 7 животных в каждой): контрольная (без воздействий), с введением монофакторов – ЦФ или цАМФ и с сочетанием обоих факторов – ЦФ+цАМФ. ЦФ (фирма «Бакстер Oncologi ГмбХ»,

Германия) вводили дважды с интервалом 5 дней перитуморально в дозе 50 мкг/кг в 4 симметричные точки; цАМФ (фирма Sigma-Aldrich, USA) растворяли в дистиллированной воде и вводили *per os* в 0,01%-й концентрации по 2 капли 3 раза в день с интервалом 20 мин. В течение 3 недель регистрировали динамику роста опухоли, проводя измерения и рассчитывая её объем по формуле Шрека для эллипсоида: $V = a \cdot b \cdot c \cdot \pi / 6$. Ежедневно из бедренной вены крыс брали каплю крови для исследования лейкоцитарного состава и идентификации типа адаптационной реакции по Л.Х. Гаркави. Через 3 недели лечения животных подвергали декапитации. В извлеченных органах и опухоли исследовали уровень эндогенного цАМФ методом иммунорадиометрического определения с помощью стандартных тестов – наборов «Иммунотех» (Чехия) на радиометре «Ариан» фирмы Vitaco. Результаты подвергали статистической обработке с помощью программы Microsoft Excel 2010 и оценкой достоверности по *t*-test Стьюдента.

Результаты исследования

Изучение влияния цАМФ-модифицированной химиотерапии ЦФ на беспородных крысах-самцах свидетельствовало о заметном повышении противоопухолевого эффекта сочетанного воздействия по сравнению с самостоятельным действием факторов (табл. 1). На момент окончания экспериментальной терапии межгрупповая разница у крыс с применением цАМФ в сочетании с ЦФ по сравнению с введением только ЦФ увеличилась в 1,7 раза, отражая достоверное торможение роста опухоли ($p \leq 0,05$). При сопоставлении результатов применения раздельной монофакторной терапии цАМФ и ЦФ было установлено преимущество ингибирующего эффекта ЦФ в 1,9 раза, свидетельствующее о его прямом цитостатическом действии на опухоль. Однако при экспериментальной монотерапии цАМФ объемы опухолей были меньше в 2,4 раза в сравнении с контрольной группой животных-опухоленосителей, не получавших никакого лечения ($p \leq 0,05$). Эти достоверные межгрупповые различия непосредственных результатов указывали на доступность цАМФ к механизмам опухолевого роста и возможность ингибирования опухолевой пролиферации.

Полученные в эксперименте на беспородных животных результаты подтверждены на крысах-самцах стрессоустойчивой линии Wistar. Несмотря на то что выход опухоли и динамика роста карциномы Герена у линейных крыс Wistar существенным образом отличались от беспородных животных (наблюдалось существенное сдерживание ма-

нифестации и формирования опухолевого узла), межгрупповые сравнительные данные отображали сходные тенденции противоопухолевого влияния цАМФ-модифицированной химиотерапии. При идентичных во всех группах значениях начального объема опухоли, равного 0,25 см³, четко определилась эффективная регрессионная динамика вплоть

до полного рассасывания карциномы Герена у крыс Wistar как при применении монотерапии цАМФ, так и в сочетании цАМФ с ЦФ. При проведении экспериментальной химиотерапии только ЦФ определялись опухоли объемом в 1,6 раза меньше, чем в контроле.

Таблица 1

Показатели объема карциномы Герена у линейных (Wistar) и беспородных крыс-самцов при цАМФ-модифицированной химиотерапии / Heren's carcinoma volume in linear (Wistar) and outbred male rats in cAMP-modified chemotherapy

Группа животных		Объем опухоли, см ³		Эффективность лечения опухоли, %		
		Начальный	Конечный	Регрессия	Торможение роста	Рост
Контроль (без воздействия)	Wistar, n=7	0,25±0,06	6,47±1,73	0	14	86
	Б/п, n=7	0,35±0,11	12,4±3,11	0	0	100
ЦФ	Wistar, n=7	0,25±0,9	0,31±0,12 ¹	29	57	14
	Б/п, n=7	0,37±0,12	2,75±0,8 ¹	29	42	29
цАМФ	Wistar, n=7	0,25±0,05	0,08±0,02 ¹	14	57	29
	Б/п, n=7	0,3±0,12	5,11±1,43 ^{1,2}	0	43	57
ЦФ + цАМФ	Wistar, n=7	0,25±0,08	0,08±0,02 ¹	71	29	0
	Б/п, n=7	0,25±0,08	1,61±0,48 ^{1,2}	43	57	0

Примечание. Достоверность различия: ¹ – между контролем и группами ЦФ, цАМФ и ЦФ+цАМФ, p≤0,05; ² – группой ЦФ и группами цАМФ и ЦФ+цАМФ, p<0,05.

Оценивая противоопухолевую эффективность экспериментальной терапии, следует отметить значительное увеличение случаев полной регрессии карциномы Герена, которая наблюдалась при сочетании ЦФ и цАМФ у крыс Wistar в 71 % случаев, а у беспородных белых крыс – в 43 %, хотя суммарный противоопухолевый эффект составил в обеих группах 100 %. Более высокая чувствительность крыс Wistar отмечалась и к монотерапии цАМФ, при которой суммарный противоопухолевый эффект (торможение роста и рассасывание опухоли) был в 1,7 раза выше, чем у беспородных крыс.

Сравнивая выраженность опухолевой прогрессии карциномы Герена при используемых видах монотерапии ЦФ и цАМФ, видно, что у беспородных животных он превышает вдвое показатели у линейных крыс. И только при сочетанном применении обоих факторов случаи прогрессивного роста опухоли у беспородных и крыс Wistar не наблюдались. Можно констатировать выраженный эффект сдерживания роста при обоих видах монотерапии, особенно у крыс Wistar при химиотерапии ЦФ и у беспородных крыс при цАМФ-модифицированной химиотерапии карциномы Герена.

Таким образом, на разных моделях линейных и нелинейных животных-опухоленосителей, отличающихся генотипическими особенностями и

связанной с ними разной устойчивостью к опухолевому росту, были установлены общие звенья повышения противоопухолевого эффекта цитостатика. Воздействие цАМФ в сочетании с ЦФ в обеих сериях экспериментов оказало наиболее выраженное противоопухолевое влияние на рост карциномы Герена, что подтверждает участие этого важного молекулярного мессенджера в механизмах повышения неспецифической противоопухолевой резистентности.

Для подтверждения этого в исследование было включено определение содержания цАМФ в некоторых органах иммунной, эндокринной системы, мозге, легком, почке, печени, сыворотке крови и опухоли (табл. 2).

Был установлен неоднозначный отклик различных систем и самой опухоли на разные варианты экспериментальной терапии. Прежде всего, это касалось опухоли ввиду различной выраженности противоопухолевого эффекта при участии эндогенных цАМФ-зависимых механизмов регуляции пролиферативной активности опухолевых клеток.

Так, у крыс с эффектом торможения роста опухоли под влиянием монофакторного воздействия цАМФ его уровень в опухоли был снижен в 1,3 раза относительно контроля. Химиотерапия ЦФ, приводящая к значимой регрессии опухоли, отлича-

чалась еще более существенным уменьшением содержания цАМФ в опухоли, которое было меньше контрольного уровня в 3,3 раза. Самый низкий уровень цАМФ отмечался в группе животных при

сочетании воздействий, имеющий значения показателей в 9,4 раза меньше, чем в контроле, а также в 7,2 и 2,8 раза ниже, чем при монотерапии цАМФ и ЦФ соответственно.

Таблица 2

Содержание цАМФ в гомогенатах органов и опухоли у крыс с карциномой Герена, нмоль/л /
 Levels of cAMP in homogenates of organs and tumors in rats with Heren's carcinoma, nmol/L

Орган крыс	Группа животных				
	Интактные	Контроль	III цАМФ	ЦФ	ЦФ+цАМФ
Печень	22,7±4,4	3,8±1,5	8,9±2,9 ^{1,2}	2,01±0,08	2,6±0,2
Почки	4,6±1,6	1,4±0,5	5,9±1,9 ²	1,28±0,3	1,6±0,3
Надпочечники	4,26±2,4	9,0±2,3	2,9±1,2 ²	1,68±0,7	2,3±1,08
Легкие	5,5±1,7	0,9±0,4	3,2±0,6 ²	1,2±0,08	1,74±0,7
Селезенка	5,15±1,6	1,7±0,08	2,8±0,5 ^{1,2}	2,5±0,8	4,2±1,0
Семенники	14,9±9,8	8,2±0,9	44,9±5,7 ^{1,2}	3,9±0,13	5,8±1,6
Мозг	4,6±1,5	1,75±0,1	5,2±1,4 ²	0,69±0,2	3,9±0,5
Опухоль	–	7,03±1,5	5,4±0,9	2,12±0,8	0,75±0,2
Сыворотка крови	1,4±0,3	1,56±0,4	2,9±0,5 ^{1,2}	0,46±0,08	1,09±0,6

Сопоставляя результаты непосредственного противоопухолевого эффекта с содержанием в опухоли цАМФ, можно увидеть четкую коррелятивную связь, отмеченную в ранее проведенных исследованиях. Ранее было показано, что включение цАМФ в схему противоопухолевой терапии ЦФ саркомы 45 способствует трансформации гетерогенных пулов опухолевых клеток из анеуплоидных в диплоидные, а также минимизирует скорость и индекс пролиферации, о чем свидетельствовали протоколы проточной цитофлуориметрии [7]. Это позволяет считать, что цАМФ значительно влияет на биологические свойства опухоли и согласуется с тем, что в регуляции пролиферативной активности клеток нормальных тканей важную роль играют цАМФ-зависимые протеинкиназы [8, 9]. Их низкая активность в конце G2-фазы является необходимым условием вхождения клеток в митоз. Можно полагать, что высокий пролиферативный потенциал клеток карциномы Герена у контрольных животных, сопровождающийся накоплением цАМФ в опухоли, демонстрирует усиление экспрессии фермента как выражение злокачественной трансформации функциональной активности с возможным проявлением свойств онкобелка [10].

С позиций регуляторного влияния цАМФ в опухоли при ее регрессии можно говорить и об истощении энергетических ресурсов. При этом активация цАМФ-зависимой протеинкиназы ведет к фосфорилированию белков-мишеней, так называемых

«заякоривающих белков», что ингибирует энергопотребляющие и активирует энергосберегающие процессы в клетке [11–13].

Анализ содержания цАМФ в контрольной группе животных с карциномой Герена без лечебных воздействий показал его значительное накопление не только в опухоли, но и в надпочечниках, превосходящее уровень у животных-опухоленосителей при монотерапии цАМФ в 3,0 раза. Подобная динамика сохраняется при терапии ЦФ в сочетании с цАМФ, однако при использовании цитостатика в монофакторном режиме наблюдается пятикратное снижение эндогенного уровня цАМФ. Можно полагать, что опухоль со свойственным ей стрессиндуцирующим влиянием и надпочечники как стрессреализующий фактор являются антагонистами в отношении стрессингибирующего влияния цАМФ. На рис. 1, отражающем эти отношения, в полной мере проявляется графический образ регуляторного влияния цАМФ на ткани печени, почек, легких, селезенки, семенников, мозга и сыворотки крови (рис. 1а).

Со всей очевидностью проявляется системообразующая роль цАМФ в сочетании с ЦФ (рис. 1б). У животных этой группы, наряду с самой высокой противоопухолевой эффективностью, наблюдается активизация накопления цАМФ в эндокринных органах (надпочечниках и семенниках), в органах выделения, дыхания, иммунитета, а также в мозге.

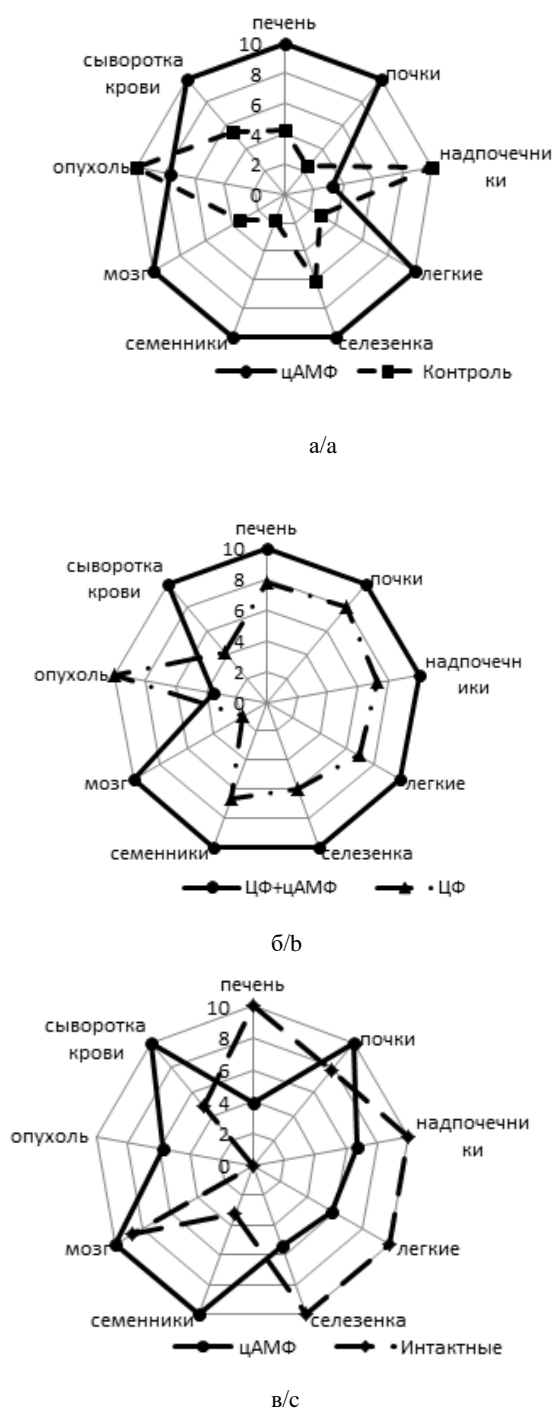


Рис. 1. Паттерн изменений уровня цАМФ в органах и опухоли у животных с карциномой Герена: а – без воздействий (контроль) и при введении цАМФ; б – при химиотерапии циклофосфаном и его сочетании с цАМФ; в – получавших цАМФ и интактных (без опухоли) животных / Fig. 1. Pattern of changes in cAMP levels in organs and tumors in animals with Heren's carcinoma: a - without treatment (control) and with cAMP administration; b - receiving chemotherapy with cyclophosphamide and its combination with cAMP; c - receiving cAMP and in intact animals (without tumors)

Сопоставление показателей содержания цАМФ в тканях органов животных без опухоли (интактные) с его уровнем у животных-опухоленосителей после монофакторной терапии цАМФ выявило ряд важных особенностей, связанных с влиянием как самой опухоли, так и цАМФ. Как видно из рис. 1, у крыс с карциномой Герена в сравнении со здоровыми животными содержание цАМФ снижалось в печени в 2,5 раза, в надпочечниках – в 1,7, легких и селезенке – в 1,9, что указывало на повреждающее действие опухоли в рамках патогенетических событий в организме (рис. 1в). Однако в почках, мозге и сыворотке крови подобных изменений отмечено не было. В случаях введения цАМФ концентрация этого вторичного посредника во всех органах характеризовалась тенденцией к увеличению. Особенно выраженные межгрупповые различия были выявлены в семенниках: содержание цАМФ оказалось в 3 раза выше, чем в норме. Этот же эффект был подтвержден результатами сопоставления уровня цАМФ в семенниках у животных с введением только ЦФ и в его сочетании с цАМФ. В последнем варианте лечения количество цАМФ возрастало в 1,7 раза. Иными словами, не только между опухолевыми и неопухолевыми животными, но и между группами крыс-опухоленосителей четко проявлялось влияние экзогенного стимула на цАМФ-зависимые механизмы активации центральных и периферических органов, демонстрируя сигнальную роль воздействия на уровне целостного организма.

Проведение анализа структуры интегральных адаптационных реакций организма стрессорного типа (острого и хронического стресса) и антистрессорных реакций (тренировки, спокойной и повышенной активации) выявило, что в динамике проводимой экспериментальной терапии с использованием цАМФ наблюдается формирование преимущественно физиологических архетипов реакций. Об этом свидетельствовало смещение соотношения антистрессорных реакций к стрессу в сторону уменьшения частоты встречаемости последнего и, следовательно, увеличения коэффициента КАС/С в сторону больших значений (рис. 2).

Величина КАС/С достигала максимальных величин в группе с монотерапией цАМФ на этапе окончания воздействий и превышала в 1,6 раза значения у интактных животных. Уровень этого интегрального показателя в группе ЦФ в сочетании с цАМФ был в пределах нормальных значений и отличался от контроля и группы с ЦФ в 4,0 и 16,0 раза соответственно. Таким образом, межгрупповые различия в характере адаптационных реакций стали важным доказательным звеном интегрирующей функции цАМФ как сигнального фактора самоорганизации.

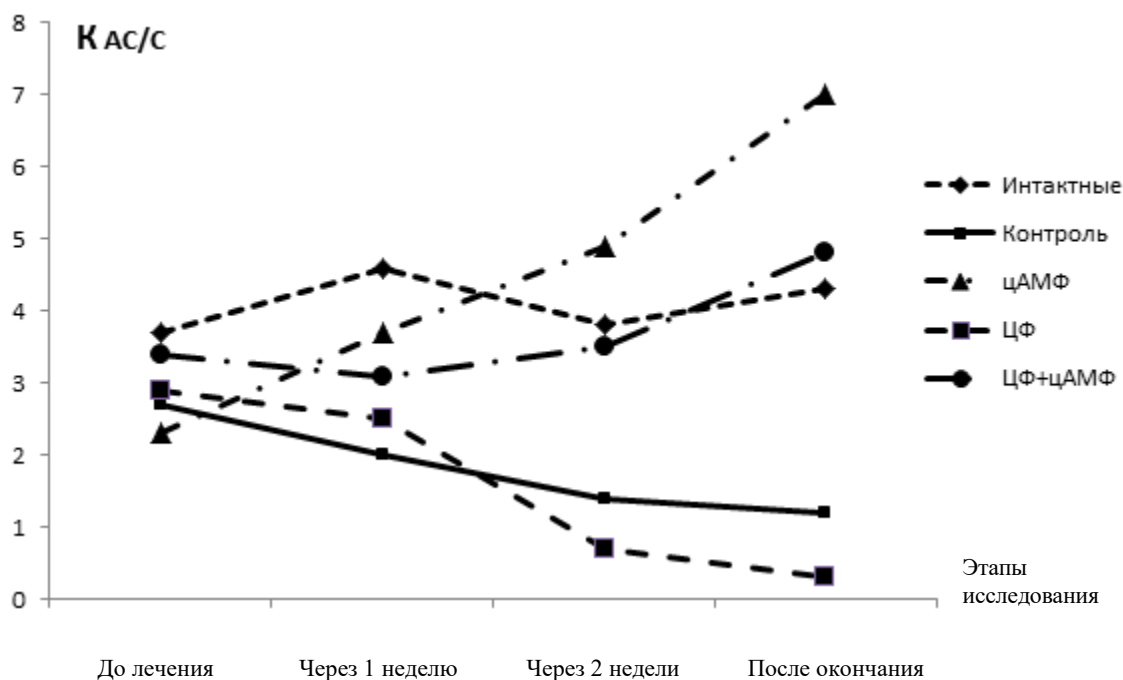


Рис. 2. Разнонаправленные изменения коэффициента соотношения антистрессорных реакций и стресса у опытных животных на этапах экспериментальной химиотерапии с включением цАМФ /

Fig. 2. Multidirectional changes in the antistress/stress reaction coefficient in experimental animals during chemotherapy with cAMP

Результирующий эффект такого влияния – ингибирование роста опухоли – связан с повышением неспецифической и противоопухолевой резистентности, что в сочетании со специфическим компонентом лечения позволяет коренным образом изменить ситуацию. Выявленное накопление цАМФ в опухоли в период её прогрессивного роста, а также значительное (десятикратное) падение уровня содержания цАМФ при регрессии опухоли могут служить иллюстрацией прогностической значимости этого показателя, обладающего высоким информационным потенциалом в отношении опухолевого статуса и состояния органов жизнеобеспечения. Пытаясь интерпретировать полученные нами эффекты торможения роста и регрессии опухоли с помощью цАМФ, мы учитывали данные о том, что, во-первых, цАМФ содержит в своей структуре необычное фосфатное кольцо с энергетически богатой 3'-связью с изменением свободной энергии при гидролизе цАМФ, составляющем около 12 ккал; во-вторых, гидролиз цАМФ осуществляется фосфодиэстеразой, которая является основным гидролизующим ферментом в нейронах и регулирует внутриклеточную концентрацию циклического нуклеотида также с помощью цГМФ-зависимого механизма контроля уровня цАМФ в мозге [14, 15]. При повышении уровня цГМФ скорость гидролиза цАМФ увеличивается в 6 раз. В свою очередь, ре-

гуляция активности фосфодиэстераз также осуществляется протеинкиназами, Ca^{2+} , кальмодулином, которые могут угнетать расщепление циклических нуклеотидов и способствовать фосфорилированию и накоплению цАМФ [16]. Эти механизмы позволяют раскрыть природу значимого повышения цАМФ в мозге, отмеченного в наших экспериментах с воздействием цАМФ самостоятельно и в сочетании с ЦФ по сравнению с монохимиотерапией и контролем.

Что касается высокоамплитудных значений уровня цАМФ в семенниках у крыс-опухоленосителей, получавших этот циклический нуклеотид в качестве монотерапии, то в основе этого феномена может иметь место активация цАМФ спермием. Известно, что в индивидуальном развитии организма важнейшее значение в регуляции реакций при оплодотворении имеет рецептор системы инозитолтрифосфат – диацилглицерол (ИФ3 – ДАГ), активирующийся спермием, с одной стороны, а с другой – цАМФ как высокоэффективный биоусилитель, преобразующий реакцию между медиатором и наружным мембранным рецептором в фосфорилирование белков клеток Сертолли, сперматогониев, сперматоцитов I и II порядков. Существуют только эти две тесно связанные регуляторные системы такого типа, как цАМФ и ИФ3 – ДАГ, способные осуществлять повышение метаболиче-

ского и функционального потенциала семенников. В таком случае становятся понятными сигнальная центральная (мозг) и периферическая роли экзогенного цАМФ в активировании эндогенного уровня цАМФ и пусковых каскадных гормонозависимых процессов в гонадах даже в условиях противоопухолевой терапии.

Таким образом, представляется перспективным изучение возможности целенаправленной регуляции биологических процессов при злокачественном росте через систему универсальных вторичных мессенджеров. Как было нами показано в экспериментах на линейных и беспородных крысах-опухоленосителях, применение цАМФ в качестве монофактора и в комплексной химиотерапии карциномы Герена является эффективным способом ингибирования роста опухоли, т.е. позволяет получить опосредованное влияние на злокачественный процесс и усилить непосредственное противоопухолевое влияние цитостатиков. При этом показано повышение адаптационного статуса организма благодаря индукции антистрессорных реакций активации и тренировки, симптомокомплексы которых детерминировали согласованный подъем активности регуляторных и исполнительных систем организма. Доказательным фактором подлинного влияния цАМФ на системный и органнй уровень стали нормализация и даже стимуляция накопления циклического нуклеотида в мозге, эндокринных и иммунных органах, сыворотке крови, что обеспечивало энергозатратные процессы и способствовало восстановлению нарушений, связанных с развитием опухоли. Определение реального уровня цАМФ в самой опухоли демонстрирует его высокую информативность и прогностическую значимость в качестве критерия оценки опухолевой прогрессии, а также эффективности лечения рака и определения уровня неспецифической противоопухолевой резистентности, включая повышение потенции жизненно важных систем организма.

Литература

1. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Екатеринбург: Филантроп, 2003. 336 с.
2. Судаков К.В. Информационный феномен жизнедеятельности. М.: РМАПО, 1999. 379 с.
3. Кут О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Треницаки Л.К., Евстратова О.Ф. Способ получения метастазов печени в эксперименте // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2014. Т. 157, № 6. С. 745–747.
4. Valverde J.J., Martin M., Garcia-Asengo J.A., Casado A., Vidard J.A., Diaz-Rubio E. Prognostic value of DNA quantification in early epithelial ovarian carcinoma // *Obstet. gynecol.* 2001. Vol. 97, iss. 3. P. 409–416.

5. Silvesrini R. Relevance of DNA-ploidy as a prognostic instrument for solid tumor // *An. Oncol.* 2000. Vol. 11, iss. 3. P. 259–261.

6. Двадненко К.В., Гусев С.А., Федоренко Г.М., Матушов Д.Г. Ультраструктурные аспекты биологии злокачественного роста саркомы 45 // Сиб. онкол. журн. 2011. № 1 (43). С. 25–28.

7. Кут О.И., Шихлярова А.И., Максимов Г.К. Особенности влияния цАМФ-модифицированной химиотерапии на биологические свойства саркомы 45 и продолжительность жизни животных-опухоленосителей // Вестн. ЮИЦ РАН. 2013. Т. 9, № 1. С. 71–76.

8. Schmirer I.I., Grozdova I.D., Kondratjev A.D. [et al.]. Immunofluorescence localization of the type II regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase in PC-12 and 3T3 cells with different proliferative states // *Molec. and Cel. Biochem.* 1990. Vol. 93. P. 47–52.

9. Lamb N.J.C., Cavadore J.-C., Labbe J.-C. [et al.]. Inhibition of cAMP-dependent protein-kinase plays a key role in the induction of mitosis and nuclear envelope breakdown in mammalian cells // *EMBO J.* 1991. Vol. 10. P. 1523–1533.

10. Reinmuth N., Brandt B., Kunze W.-P., Junker K., Thomas M., Achatzy R., Scheld H.H., Semik M. Ploidy expression of erbB1, erbB2, p53 and amplification of erbB1, erbB2 and erbB3 in non-small cell lung cancer // *Eur. Resp. J.* 2000. Vol. 16, Iss. 5. P. 991–996.

11. Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С. Механизмы внутриклеточной сигнализации. СПб., 2003. 208 с.

12. Willoughby D., Copper D.M.F. Organization and Ca2 regulation of adenylyl cyclases in cAMP microdomains // *Physiol. Rev.* 2007. Vol. 87. P. 965–1010.

13. Ашмарин И.П. Нейрохимия. М., 1996. 470 с.

14. Lucas K.A., Pitary G.M., Park J. Guanylyl cyclase and signaling by cyclic GMP // *Pharmacol. Rev.* 2000. Vol. 52. P. 375–413.

15. Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) superfamily: a new target for the development of specific therapeutic agents // *Pharmacol. Ther.* 2006. Vol. 109, № 3. P. 366–398.

16. Mehats C., Andersen C.B., Filopanti M., Jin S-L.C., Conti M. Cyclic nucleotide phosphodiesterase and their role in endocrine cell signaling // *Trends Endocrinol. Metabol.* 2002. Vol. 13, № 1. P. 29–35.

References

1. Garkavi L.Kh., Kvakina E.B., Kuz'menko T.S., Shikhlyarova A.I. *Antistressornye reaktsii i aktivatsionnaya terapiya* [Anti-stress reactions and activation therapy]. Ekaterinburg: Filantrop, 2003, 336 p.
2. Sudakov K.V. *Informatsionnyi fenomen zhiznedeyatel'nosti* [Information phenomenon of life]. Moscow: RMAPO, 1999, 379 p.
3. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Treptaki L.K., Evstratova O.F. Sposob polucheniya metastazov pecheni v eksperimente [Method of obtaining liver metastases in the experiment]. *Byul. eksperim. biologii i meditsiny.* 2014, vol. 157, No. 6, pp. 745–747.
4. Valverde J.J., Martin M., Garcia-Asengo J.A., Casado A., Vidard J.A., Diaz-Rubio E. Prognostic value of DNA quantification in early epithelial ovarian carcinoma. *Obstet. gynecol.* 2001, Vol. 97, iss. 3, pp. 409–416.
5. Silvesrini R. Relevance of DNA-ploidy as a prognostic instrument for solid tumor. *An. Oncol.* 2000, vol. 11, iss. 3, pp. 259–261.

6. Dvadenko K.V., Gusev S.A., Fedorenko G.M., Matishov D.G. Ul'trastrukturnye aspekty biologii zlokachestvennogo rosta sarkomy 45 [Ultrastructural aspects of the biology of malignant growth of sarcoma 45]. *Sib. onkol. zhurn.* 2011, No. 1 (43), pp. 25-28.

7. Kit O.I., Shikhlyarova A.I., Maksimov G.K. Osobennosti vliyaniya tsAMF-modifitsirovannoi khimioterapii na biologicheskie svoystva sarkomy 45 i prodolzhitel'nost' zhizni zhivotnykh-opukholenositelei [Features of the influence of cAMP-modified chemotherapy on the biological properties of sarcoma 45 and the life expectancy of tumor-bearing animals]. *Vestn. YuNTs RAN.* 2013, vol. 9, No. 1, pp. 71-76.

8. Schmirer I.I., Grozdova I.D., Kondratjev A.D. [et al.]. Immunofluorescence localization of the type II regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase in PC-12 and 3T3 cells with different proliferative states. *Molec. and Cel. Biochem.* 1990, vol. 93, pp. 47-52.

9. Lamb N.J.C., Cavadore J.-C., Labbe J.-C. [et al.]. Inhibition of cAMP-dependent protein-kinase plays a key role in the induction of mitosis and nuclear envelope breakdown in mammalian cells. *EMBO J.* 1991. Vol. 10. P. 1523-1533.

10. Reinmuth N., Brandt B., Kunze W-P., Junker K., Thomas M., Achatzy R., Scheld H.H., Semik M. Ploidy expres-

sion of erbB1, erbB2, p53 and amplification of erbB1, erbB2 and erbB3 in non-small cell lung cancer. *Eur. Resp. J.* 2000, vol. 16, Iss. 5, pp. 991-996.

11. Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Kurilova L.S. *Mekhanizmy vnutrikletochnoi signalizatsii* [Mechanisms of intracellular signaling]. Saint Petersburg, 2003, 208 p.

12. Willoughby D., Copper D.M.F. Organization and Ca²⁺ regulation of adenylyl cyclases in cAMP microdomains. *Physiol. Rev.* 2007, vol. 87, pp. 965-1010.

13. Ashmarin I.P. *Neirokhimiya* [Neurochemistry]. Moscow, 1996, 470 p.

14. Lucas K.A., Pitary G.M., Park J. Guanylyl cyclase and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol. Rev.* 2000, vol. 52, pp. 375-413.

15. Luginier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) superfamily: a new target for the development of specific therapeutic agents. *Pharmacol. Ther.* 2006, vol. 109, No. 3, pp. 366-398.

16. Mehats C., Andersen C.B., Filopanti M., Jin S-L.C., Conti M. Cyclic nucleotide phosphodiesterase and their role in endocrine cell signaling. *Trends Endocrinol. Metabol.* 2002, vol. 13, No. 1, pp. 29-35.

**НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ И ПРИКЛАДНОЙ ЖУРНАЛ
ИЗВЕСТИЯ ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЙ.
СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ РЕГИОН. ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ**

Журнал «Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки», имеющий статус центрального издания, включенного в перечень ВАК, продолжает прием работ по следующим отраслям науки:

1. Физико-математические науки (математика, механика).
2. Биологические науки (общая биология, физико-химическая биология).
3. Науки о Земле.

Также публикуются материалы в разделах:

- заметки о книгах;
- научная жизнь;
- штрихи к портрету.

Журнал издается с периодичностью 4 номера в год. Помимо основных номеров выходят специальные тематические выпуски, посвященные разным научным направлениям, работам отдельных организаций, а также научные труды вузов, приуроченные к юбилейным датам. С электронной версией журнала можно ознакомиться на сайте Научной электронной библиотеки http://elibrary.ru/title_about.asp?id=7362.

Публикация материалов, на которые получена положительная рецензия, оплачивается лично автором или организацией. Стоимость работ – договорная.

Оформление работ осуществляется согласно правилам:

1. Печатный и электронный вариант статьи. В начале статьи указать индекс УДК.
2. Текст должен быть набран в редакторе MicroSoft Office 98 Word 2000, 2003, 2007, 2010 через 1,5 интервала, шрифтом Times New Roman, размером 14 пт, страницы пронумерованы. Для записи формул применять только редактор формул Equation 3.0.
3. Сопроводительное или рекомендательное письмо, если статья представляется от организации.
4. Полное название организации и ее адрес на русском и английском языках.
5. Сведения об авторах с указанием адреса, по которому будет вестись переписка, на русском и английском языках.
6. Название статьи и фамилии авторов на русском и английском языках.
7. Аннотация на русском и английском языках (1000–1500 знаков/150–200 слов).
8. Ключевые слова на русском и английском языках (8–10 слов).

Журнал распространяется по подписке – через ОАО «Роспечать». Подписной индекс – 70415 (подписка на полугодие).

В неподписной период отдельные номера журнала за нынешний и прошлые годы можно приобрести в редакции.

Адрес для переписки: 344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105/42, ЮФУ, редакция журнала «Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки».

Тел./факс главной редакции (863) 218-40-00 добавочный 11-093, 11-094.

E-mail: izvestiya@sfedu.ru

Адрес в Интернете: www.izvestiya.sfedu.ru