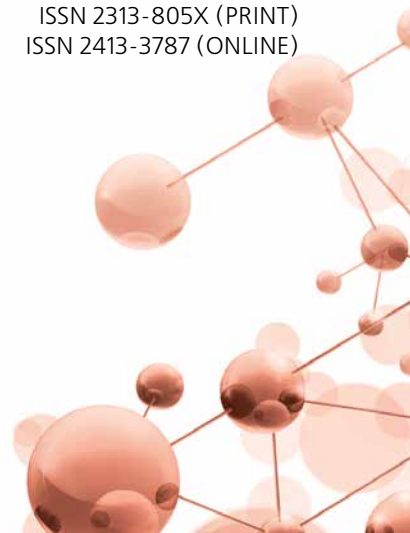


УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
ЖУРНАЛ



*Защита нормальных тканей при
химиотерапии злокачественных
опухолей*

*Молекулярные механизмы
резистентности к платиносодержащей
химиотерапии при серозном раке
яичников*

*Эпигенетическая регуляция
канцерогенеза рака молочной железы*

*Влияние нокдауна гена EРНВ6 на
миграцию, инвазию и туморогенность
клеток рака полости рта in vitro*



Журнал «Успехи молекулярной онкологии» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук.

Журнал включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор, зарегистрирован в базе данных Scopus, в CrossRef, статьи индексируются с помощью идентификатора цифрового объекта (DOI).

Электронная версия журнала представлена в DOAJ.

ФГБУ «НМИЦ ОНКОЛОГИИ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА» МИНЗДРАВА РОССИИ

УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ



Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Национальный медицинский
исследовательский центр
онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России

Онлайн-версия журнала
доступна по адресу:
<http://umo.abvpress.ru/jour>

Е Ж Е К В А Р Т А Л Ы Й Н А У Ч Н О - П Р А К Т И Ч Е С К И Й Р Е Ц Е Н З И Р У Е М Ы Й Ж У Р Н А Л

Главная задача журнала «Успехи молекулярной онкологии» – публикация современной информации о проведенных фундаментальных и клинико-экспериментальных исследованиях в области молекулярной онкологии.

Цель издания – дать читателям представление об актуальных направлениях современной молекулярной онкологии, ознакомить с наиболее значимыми работами отечественных и зарубежных исследователей в этой области, создать общую площадку, на которой специалисты разных областей, включая онкологов, молекулярных биологов, генетиков, биохимиков, вирусологов, химиотерапевтов, смогут поделиться результатами своих научных исследований.

О С Н О В А Н В 2 0 1 4 Г .

3 ^{ТОМ 13}
'26

Учредители:
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
ООО «ИД «АБВ-пресс»

Издатель:
ООО «ИД «АБВ-пресс»
115478 Москва,
Каширское шоссе, 24, стр. 15

Адрес редакции:
115478 Москва, Каширское шоссе, 24,
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел.: +7 (499) 929-96-19
E-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Прием статей:
онлайн на сайте
<http://umo.abvpress.ru/jour>
или по адресу
adv.mol.onc@ronc.ru

Выпускающий редактор
И.В. Пучкова
Корректор Т.Н. Помилуйко
Дизайн: Е.В. Степанова

Верстка: Е.В. Степанова
Служба подписки и распространения
info@abvpress.ru

*Журнал зарегистрирован в Федеральной
службе по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых
коммуникаций (ПИ № ФС77-57560
от 08.04.2014)*

**При полной или частичной перепечатке
материалов ссылка на журнал «Успехи
молекулярной онкологии» обязательна.
Редакция не несет ответственности
за содержание публикуемых рекламных
материалов. В статьях представлена
точка зрения авторов, которая может
не совпадать с мнением редакции.**

ISSN 2313-805X (Print)
ISSN 2413-3787 (Online)
Успехи молекулярной онкологии.
2026. Том 13. № 3. 1–112.

© Оформление, верстка.
ООО «ИД «АБВ-пресс», 2026

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 93562.
Отпечатано в типографии
«Лайдер принт».
105082 Москва, Переведеновский
пер., 13, стр. 16.

Тираж 1000 экз. Бесплатно.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Красильников Михаил Александрович, д.б.н., профессор, директор Научно-исследовательского института канцерогенеза (НИИ канцерогенеза) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующий отделом экспериментальной биологии опухолей (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Якубовская Марианна Геннадиевна, д.м.н., заведующая отделом химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Гудкова Маргарита Владимировна, к.б.н., ученый секретарь НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Александрова Антонина Юрьевна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Барлев Николай Анатольевич, д.б.н., профессор РАН, руководитель лаборатории регуляции экспрессии генов ФГБУ «Институт цитологии РАН» (Санкт-Петербург, Россия)

Боженко Владимир Константинович, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории биохимии отдела патоморфологии и лабораторной диагностики, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России, заслуженный врач РФ (Москва, Россия)

Бойчук Сергей Васильевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей патологии, декан медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, Россия)

Глушанкова Наталья Александровна, д.б.н., заведующая лабораторией механизмов канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Григорьева Эльвира Витальевна, д.б.н., руководитель лаборатории гликобиологии Института молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск, Россия)

Гудков Андрей Владимирович, д.б.н., профессор, старший вице-президент по фундаментальной науке и заведующий отделом биологии клеточного стресса Института онкологии им. Розвелла Парка (Баффало, Нью-Йорк, США)

Животовский Борис Давидович, д.б.н., профессор, лауреат Государственной премии СССР, заведующий лабораторией исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», профессор Каролинского института (Стокгольм, Швеция)

Имянитов Евгений Наумович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Казанский Дмитрий Борисович, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Карамышева Аида Фуадовна, д.б.н., главный научный консультант лаборатории генетики опухолевых клеток отдела молекулярной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кжышковская Юлия Георгиевна, д.б.н., профессор, руководитель отдела врожденного иммунитета и толерантности Института трансфузионной медицины и иммунологии медицинского факультета Мангейма университета Гейдельберга (Гейдельберг, Германия)

Кирсанов Кирилл Игоревич, д.б.н., заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, доцент кафедры общей врачебной практики ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Ковалева Ольга Владимировна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Лазаревич Наталья Леонидовна, д.б.н., профессор, заведующая отделом иммунохимии НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Лихтенштейн Анатолий Владимирович, д.б.н., главный научный консультант отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Мазуренко Наталья Николаевна, д.б.н., профессор, главный научный консультант лаборатории онкогеномики НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Миркин Сергей Моисеевич, именной профессор биологии Университета Тафтса (Медфорд, Орегон, США)

Монсоте Фидальго Лианет, д. фарм. н., старший научный сотрудник Института тропической медицины им. Педро Кури, профессор Гаванского университета (Гавана, Республика Куба)

Мустафин Ильшат Ганиевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, Россия)

Наседкина Татьяна Васильевна, д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических микрочипов ФГБНУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН» (Москва, Россия)

Немцова Марина Вячеславовна, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией медицинской генетики института молекулярной медицины ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), главный научный сотрудник лаборатории эпигенетики ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова, эксперт по онкогенетике лаборатории «Эвоген» (Москва, Россия)

Сергеева Наталья Сергеевна, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории прогноза эффективности консервативного лечения Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена — филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Степанова Евгения Владиславовна, д.м.н., директор Департамента комплексных программ и проектов Минобрнауки России (Москва, Россия)

Чевкина Елена Максимовна, д.б.н., заведующая лабораторией регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Чердынцева Надежда Викторовна, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (Томск, Россия)

Чещевик Виталий Тадеушевич, к.б.н., доцент, декан биотехнологического факультета Полесского государственного университета (Пинск, Беларусь)

Щербakov Александр Михайлович, заведующий лабораторией онкопротеомики отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Юришич Владимир, профессор факультета медицинских наук Университета Крагуеваца (Крагуевац, Сербия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Белицкий Геннадий Алтерович, д.м.н., профессор, главный научный консультант лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Гурцевич Владимир Эдуардович, д.м.н., профессор, главный научный консультант лаборатории вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Заридзе Давид Георгиевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий отделом эпидемиологии и профилактики опухолей НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заслуженный деятель науки РФ (Москва, Россия)

Кубасова Ирина Юрьевна, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кушлинский Николай Евгеньевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Тюляндин Сергей Алексеевич, д.м.н., профессор, заведующий отделением клинической фармакологии и химиотерапии, заместитель директора по научной работе НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

The journal "Advances in Molecular Oncology" is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of leading peer-reviewed scientific periodicals recommended to publish the basic research results of candidate's and doctor's theses.

The journal is included in the Scientific Electronic Library and the Russian Index of Science Citation (RISC) and has an impact factor; it is registered in the Scopus data base, CrossRef, its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

The journal's electronic version is available in the DOAJ.

N.N. BLOKHIN NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTER OF ONCOLOGY, MINISTRY OF HEALTH OF RUSSIA

ADVANCES in MOLECULAR ONCOLOGY



N.N. Blokhin National Medical
Research Center of Oncology,
Ministry of Health of Russia

Online version of the journal
is available at:
<http://umo.abvpress.ru/jour>

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL

The main objective of the journal "Advances in Molecular Oncology" is publication of current information on basic, clinical and experimental research in molecular oncology.

The publication aim to provide insight into currently important areas of modern molecular oncology; present the most significant studies from Russian and foreign specialists in this field; create a forum for various researchers, including oncologists, molecular biologists, geneticists, biochemists, virologists, chemotherapists to share the results of their scientific research.

FOUNDED IN 2014

3^{VOL. 13}
'26

Founders:

N.N. Blokhin National Medical
Research Center of Oncology,
Ministry of Health of Russia;
PH "ABV-press"

Publisher

PH "ABV-Press" 24 Kashirskoe
Shosse, Bld. 15, Moscow 115478

Editorial Office:

Research Institute of Carcino-
genesis, Floor 3, 24 Kashirskoye
Shosse, Bld. 15, Moscow 115478.
Tel.: +7 (499) 929-96-19

E-mail: abv@abvpress.ru

www.abvpress.ru

Article submission:

on-line at <http://umo.abvpress.ru/jour>
or by e-mail to adv.mol.onc@ronc.ru

Managing editor I.V. Puchkova
Proofreader T.N. Pomilukho

Designer E.V. Stepanova
Maker-up E.V. Stepanova

Subscription & Distribution Service
info@abvpress.ru

*The journal was registered at the Federal
Service for Surveillance of Communications,
Information Technologies, and Mass Media
(PII No. ФЦ77-57560 dated 08 April 2014).*

**If materials are reprinted in whole
or in part, reference must necessarily
be made to the journal "Uspekhi mole-
kulyarnoy onkologii".**

**The editorial board is not responsible
for advertising content. The authors, point
of view given in the articles may not coincide
with the opinion of the editorial board.**

ISSN 2313-805X (Print)
ISSN 2413-3787 (Online)

Uspekhi molekulyarnoy onkologii.
2026. Vol. 13 No. 3. 1–112.

© Design, layout PH "ABV-Press",
2026
Pressa Rossii catalogue index: 93562.

Printed at the Leader Print Ltd
Bld. 16, 13 Perevedenovsky lane,
Moscow 105082.
1000 copies.
Free distribution.

EDITOR-IN-CHIEF

Krasil'nikov, Mikhail A., DSc, PhD, Professor, Director of the Research Institute of Carcinogenesis, Head of Department of Experimental Biology of Tumors (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Yakubovskaya, Marianna G., MD, PhD, Head of the Department of Chemical Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Gudkova, Margarita V., PhD, Scientific Secretary of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Alexandrova, Antonina Yu., DSci, PhD, Leading Scientist of the Laboratory of Carcinogenesis Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Barlev, Nikolay A., DSc, PhD, Head of the Laboratory of Gene Expression Regulation at the Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences (Saint Petersburg, Russia)

Bozhenko, Vladimir K., MD, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Biochemistry of the Department of Pathomorphology and the Laboratory Diagnostics of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Health of Russia, Honored Doctor of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Boichuk, Sergey V., MD, PhD, Professor, Head of the Department of General Pathology, Dean of the Faculty of Medicine and Biology, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia)

Gloushankova, Natalia A., DSc, PhD, Head of the Laboratory of Carcinogenesis Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Gudkov, Andrey V., DSc, PhD, Professor, Sr. Vice-President for Basic Science and Head of the Department of Cell Stress Biology of the Roswell Park Cancer Institute (Buffalo, New York, USA)

Grigorieva, Elvira V., DSc, Head of the Laboratory of Glycobiology of the Institute of Molecular Biology and Biophysics of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk, Russia)

Zhivotovskiy, Boris D., DSc, PhD, Professor, Laureate of the State Award of the USSR, Head of the Department of Apoptosis Mechanisms, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Professor of the Karolinska Institute (Stockholm, Sweden)

Imyanitov, Eugeny N., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, N.N. Petrov National Medical Research Oncology Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia)

Kazansky, Dmitry B., DSc, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Immune Regulation Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Karamysheva, Aida F., DSci, PhD, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of the Genetics of Tumor Cells of the Department of Molecular Biology of Tumors of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kirsanov, Kirill I., DSc, Head of the Laboratory of Carcinogenic Compounds, Department of Chemical carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Associate Professor of the Department of General Medical Practice of the Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

Kovaleva, Olga V., DSc, Sr. Researcher of the Laboratory of Regulation of Cellular and Viral Oncogenes of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kzhyskovska, Juliya G., DSc, PhD, Professor, Head of Department of Innate Immunity and Tolerance, Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, Heidelberg University (Heidelberg, Germany)

Lichtenstein, Anatoly V., DSc, PhD, Chief Scientific Consultant of the Tumor Biochemistry Group, Department of Experimental Tumor Biology of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Lazarevich, Natalia L., DSc, PhD, Professor, Head of the Department of the Immunochemistry of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Mazurenko, Natalia N., DSc, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Oncogenomics of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Mirkin, Sergey M., Professor, White Family Department of Biology, Head in Biology Tufts University (Medford, Oregon, USA)

Monzote Fidalgo Lianet, DSc, Senior Research of Institute of Tropical Medicine Pedro Kouri, Professor at the University of Havana (Havana, Republic of Cuba)

Mustafin, Ilshat G., MD, Professor, Head of the Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics of Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia)

Nasedkina, Tatiana V., PhD, DSc, Professor, Leading Researcher of the Laboratory for Biological Microchips of Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences

Nemtsova, Marina V., PhD, Head of the Laboratory of Medical Genetics of the Institute of Molecular Medicine of the Sechenov University of the Ministry of Health of Russia, Chief Researcher at the Epigenetics Laboratory of the N.P. Bochkov Medical and Genetic Research Center, Oncogenetics Expert of the Laboratory "Evogen" (Moscow, Russia)

Sergeeva, Natalia S., DSc, PhD, Professor, Head of the Prognostics of the Efficacy of Conservative Treatment Laboratory of the P.A. Herzen Moscow Oncology Research Center – branch of National Medical Research Radiology Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Shcherbakov, Alexander M., Head of the Laboratory of Oncoproteomics of the Department of Experimental Biology of Tumors of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Stepanova, Evgenia V., MD, PhD, Director of the Department of Complex Programs and Projects, Ministry of Science and Higher Education of Russia (Moscow, Russia)

Tchevkina, Elena M., DSc, PhD, Head of the Laboratory of the Regulation of Cell and Viral Oncogenes of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Tcherdyntseva, Nadezhda V., DSc, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Deputy Director for Research Work, Head of the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (Tomsk, Russia)

Juricic, Vladimir, Professor of the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (Kragujevac, Serbia)

Cheshchevik, Vitaly T., PhD, Associate Professor, Dean of the Biotechnology Faculty at Polesie State University (Pinsk, Belarus)

EDITORIAL COUNCIL

Belitsky, Gennady A., MD, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Chemical Carcinogenesis Mechanisms of the Department of Chemical Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Gurtsevitch, Vladimir E., MD, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Viral Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Zaridze, David G., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Department of Epidemiology and Prevention of Tumors of the N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Honored Scientist of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Kubasova, Irina Yu., PhD, Scientific Secretary of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kushlinskii, Nikolay E., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Clinical Biochemistry Laboratory, N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Tjulandin, Sergey A., MD, PhD, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, Deputy Director for Scientific Research, N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

При направлении статьи в редакцию журнала «Успехи молекулярной онкологии» авторам необходимо руководствоваться следующими правилами.

1. Общие правила

При первичном направлении рукописи в редакцию в копии электронного письма должны быть указаны все авторы данной статьи. Обратную связь с редакцией будет поддерживать ответственный автор, обозначенный в статье (см. пункт 2).

Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

2. Оформление данных о статье и авторах

Первая страница должна содержать:

- название статьи,
- инициалы и фамилии всех авторов,
- ученые степени, звания, должности, место работы каждого из авторов, а также их ORCID (при наличии),
- полное название учреждения (учреждений), в котором (которых) выполнена работа,
- адрес учреждения (учреждений) с указанием индекса.

Последняя страница должна содержать сведения об авторе, ответственном за связь с редакцией:

- фамилия, имя, отчество полностью,
- занимаемая должность,
- ученая степень, ученое звание,
- персональный международный идентификатор ORCID (подробнее: <http://orcid.org/>),
- персональный идентификатор в РИНЦ (подробнее: http://elibrary.ru/projects/science_index/author_tutorial.asp),
- контактный телефон,
- адрес электронной почты.

3. Оформление текста

Статьи принимаются в форматах doc, docx, rtf.

Шрифт – Times New Roman, кегль 14, межстрочный интервал 1,5. Все страницы должны быть пронумерованы. Текст статьи начинается со второй страницы.

4. Объем статей (без учета иллюстраций и списка литературы)

Оригинальная статья – не более 12 страниц (большой объем допускается в индивидуальном порядке, по решению редакции).

Описание клинических случаев – не более 8 страниц.

Обзор литературы – не более 20 страниц.

Краткие сообщения и письма в редакцию – 3 страницы.

5. Резюме

Ко всем видам статей на отдельной странице должно быть приложено резюме на русском и английском (по возможности) языках. Резюме должно кратко повторять структуру статьи, независимо от ее тематики.

Объем резюме – не более 2500 знаков, включая пробелы. Резюме не должно содержать ссылки на источники литературы и иллюстративный материал.

На этой же странице помещаются ключевые слова на русском и английском (по возможности) языках в количестве от 3 до 10.

6. Структура статей

Оригинальная статья должна содержать следующие разделы:

- введение,
- цель,
- материалы и методы,
- результаты,
- обсуждение,
- заключение (выводы),
- вклад всех авторов в работу,
- конфликт интересов для всех авторов (в случае его отсутствия необходимо указать: «Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов»),
- одобрение протокола исследования комитетом по биоэтике (с указанием номера и даты протокола),
- информированное согласие пациентов (для статей с авторскими исследованиями и описаниями клинических случаев),

– при наличии финансирования исследования – указать его источник (грант и т. д.),

– благодарности (раздел не является обязательным).

7. Иллюстративный материал

Иллюстративный материал должен быть представлен в виде отдельных файлов и не фигурировать в тексте статьи. Данные таблиц не должны повторять данные рисунков и текста и наоборот.

Фотографии представляются в форматах TIFF, JPG с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм).

Рисунки, графики, схемы, диаграммы должны быть редактируемыми, выполненными средствами Microsoft Office Excel или Office Word.

Все **рисунки** должны быть пронумерованы и снабжены подписочными подписями. Фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита – «а», «б» и т. д. Все сокращения, обозначения в виде кривых, букв, цифр и т. д., использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подписочной подписи. Подписи к рисункам даются на отдельном листе после текста статьи в одном с ней файле.

Таблицы должны быть наглядными, иметь название и порядковый номер. Заголовки граф должны соответствовать их содержанию. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице.

8. Единицы измерения и сокращения

Единицы измерения даются в Международной системе единиц (СИ).

Сокращения слов не допускаются, кроме общепринятых. Все аббревиатуры в тексте статьи должны быть полностью расшифрованы при первом упоминании (например, онкогематология (ОГ)).

9. Список литературы

На следующей после текста странице статьи должен располагаться список цитируемой литературы.

Все источники должны быть пронумерованы, нумерация осуществляется строго по порядку цитирования в тексте статьи, не в алфавитном порядке. Все ссылки на источники литературы в тексте статьи обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках начиная с 1 (например, [5]). Количество цитируемых работ: в оригинальных статьях – не более 20–25, в обзорах литературы – не более 60.

Ссылки должны даваться на первоисточники, цитирование одного автора по работе другого недопустимо.

Включение в список литературы тезисов возможно исключительно при ссылке на иностранные (англоязычные) источники.

Ссылки на диссертации и авторефераты, неопубликованные работы, а также на данные, полученные из неофициальных интернет-источников, не допускаются.

Для каждого источника необходимо указать: фамилии и инициалы авторов (если авторов более 4, указываются первые 3 автора, затем ставится «и др.» в русском или «et al.» в английском в тексте). Авторы цитируемых источников должны быть указаны в том же порядке, что и в первоисточнике.

При ссылке на **статьи из журналов** после авторов указывают название статьи, название журнала, год, том, номер выпуска, страницы, DOI статьи (при наличии). При ссылке на **монографии** указывают также полное название книги, место издания, название издательства, год издания, число страниц.

Статьи, не соответствующие данным требованиям, к рассмотрению не принимаются.

Общие положения:

- Рассмотрение статьи на предмет публикации занимает не менее 8 недель.
- Все поступающие статьи рецензируются. Рецензия является анонимной.
- Редакция оставляет за собой право на редактирование статей, представленных к публикации.
- Редакция не предоставляет авторские экземпляры журнала. Номер журнала можно получить на общих основаниях (см. информацию на сайте).

Материалы для публикации принимаются по адресу онлайн на сайте <http://umo.abvpress.ru/jour>.

Полная версия требований представлена на сайте журнала.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Д.С. Кутилин, Е.М. Франциянц, И.В. Нескубина, А.И. Шихлярова, В.А. Бандовкина,
П.С. Качесова, Н.Д. Черярина, И.А. Удаленкова, А.П. Меньшенина, Е.А. Озеркова,
Ю.С. Шатова, А.А. Овсянникова
Особенности копийности генов в плазме крови у больных раком тела матки и прогноз заболевания 8
- В.В. Мелехин, М.Д. Тохтуева, Е.И. Андреева, А.В. Парамонова, В.М. Абрамов,
О.С. Ельцов, О.Г. Макеев
**Различия в чувствительности линий глиобластомы A172 и T98G к митохондриальному разобщению,
вызываемому карбенсодержащими комплексами платины (II) 20**
- М.С. Третьякова, Е.С. Колегова, Е.А. Простакишина, И.К. Федорова, Р.С. Воробьев,
Д.Е. Кульбакин, Е.Л. Чойнзонов, Е.В. Денисов
**Влияние нокдауна гена *EPHB6* на миграцию, инвазию и туморогенность клеток
рака полости рта *in vitro* 27**

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

- Э.Р. Асанова, Л.Д. Хакимова, И.О. Головкин, Т.П. Макашиш, Е.Ю. Зяблицкая
Эпигенетическая регуляция канцерогенеза рака молочной железы 36
- Г.А. Белицкий, К.И. Кирсанов, Т.И. Фетисов, С.Г. Соленова, М.Г. Якубовская
Защита нормальных тканей при химиотерапии злокачественных опухолей. 52
- А.А. Королёва, Д.И. Кибалина
Роль ингибитора активатора плазминогена 1-го типа в онкогенезе. 68
- В.Е. Шевченко, Т.И. Кушнир, М.В. Гудкова, А.В. Польшовский, Н.Е. Арноцкая
**Клональный гемопоэз неопределенного потенциала при метастатическом колоректальном раке:
двунаправленная регуляция, системная селекция и трансляционные стратегии 80**
- К.В. Субботина, А.В. Тархов, У.А. Боярских, Н.Е. Кушлинский, М.Л. Филипенко
**Молекулярные механизмы резистентности к платиносодержащей химиотерапии
при серозном раке яичников: роль генетического полиморфизма 92**

EXPERIMENTAL REPORTS

- D.S. Kutilin, E.M. Frantsiyants, I.V. Neskubina, A.I. Shikhlyarova, V.A. Bandovkina, P.S. Kachesova, N.D. Cheryarina, I.A. Udalenkova, A.P. Menshenina, E.A. Ozerkova, Yu.S. Shatova, A.A. Ovsyannikova*
The genes copy number variation features in blood plasma of uterine cancer patients and disease prognosis8
- V.V. Melekhin, M.D. Tokhtueva, E.I. Andreeva, A.V. Paramonova, V.M. Abramov, O.S. Yeltsov, O.G. Makeyev*
Differences in the sensitivity of glioblastoma cell lines A172 and T98G to mitochondrial uncoupling induced by carbene-containing platinum(II) complexes.20
- M.S. Tretyakova, E.S. Kolegova, E.A. Prostakishina, I.K. Fedorova, R.S. Vorobey, D.E. Kulbakin, E.L. Choinzonov, E.V. Denisov*
Effect of *EPHB6* knockdown on migration, invasion, and tumorigenicity of oral cancer cells *in vitro*27

REVIEWS

- E.R. Asanova, L.D. Khakimova, I.O. Golovkin, T.P. Makalish, E.Yu. Zyablitskaya*
Epigenetic regulation of breast cancer carcinogenesis36
- G.A. Belitsky, K.I. Kirsanov, T.I. Fetisov, L.V. Solenova, M.G. Yakubovskaya*
Prospects for protecting normal tissues during chemotherapy of malignant tumors52
- A.A. Korolyova, D.I. Kibalina*
The role of the plasminogen activator inhibitor type 1 in oncogenesis68
- V.E. Shevchenko, T.I. Kushnir, M.V. Gudkova, A.V. Polynovskiy, N.E. Arnotskaya*
Clonal hematopoiesis of indeterminate potential in metastatic colorectal cancer: bidirectional regulation, systemic selection, and translational strategies80
- K.V. Subbotina, A.V. Tarkhov, U.A. Boyarskikh, N.E. Kushlinskii, M.L. Filipenko*
Molecular mechanisms of resistance to platinum based chemotherapy in serous ovarian cancer: the role of genetic polymorphism.92

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-8-19>

Особенности копийности генов в плазме крови у больных раком тела матки и прогноз заболевания

Д.С. Кутилин, Е.М. Франциянц, И.В. Нескубина, А.И. Шихлярова, В.А. Бандовкина, П.С. Качесова, Н.Д. Черярина, И.А. Удаленкова, А.П. Меньшенина, Е.А. Озеркова, Ю.С. Шатова, А.А. Овсянникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России; Россия, 344037 Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

Контакты: Денис Сергеевич Кутилин k.denees@yandex.ru

Введение. Рак тела матки занимает лидирующие позиции в структуре онкогинекологической заболеваемости. Раннее прогнозирование метастатического поражения имеет критическое значение для выбора тактики лечения, поэтому поиск малоинвазивных молекулярных маркеров данной патологии является актуальной задачей. Перспективными биомаркерами могут служить показатели копийности генов (copy number variation) в циркулирующей внеклеточной ДНК (внДНК) плазмы крови.

Цель исследования – анализ относительной копийности генов, регулирующих функционирование митохондрий, в плазме крови у больных раком тела матки для разработки малоинвазивного метода прогнозирования метастазирования.

Материалы и методы. На биоинформационном этапе исследования выявлены гены, ассоциированные с митохондриальной дисфункцией и аномальной копийностью при раке тела матки. В исследование включены 98 больных с аденокарциномой тела матки G_1 ($n = 43$), G_2 ($n = 35$) и G_3 ($n = 20$), 15 пациенток с миомой матки и 20 условно-здоровых доноров. Относительная копийность 13 генов определялась методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени на образцах внДНК плазмы крови. Для отбора маркеров применяли ROC-анализ и LASSO-пенализированную (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) логистическую регрессию.

Результаты. Выявлено значительное снижение относительной копийности генов *mtSSB*, *MT-RNR2*, *NRF1*, *MGME1* и *MT-CO1* в плазме крови больных раком тела матки ($p < 0,005$) с метастазированием, при этом степень изменения копийности возрастала от G_1 к G_3 . LASSO-регрессионный анализ позволил отобрать 3 гена – *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1*, – комбинированная панель которых при прогнозировании метастазов имела следующие показатели: площадь под кривой (AUC) = 0,98 (95 % доверительный интервал 0,96–1,00), чувствительность 95 %, специфичность 92 %.

Заключение. Таким образом, определение копийности генов *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1* в плазме крови можно использовать в малоинвазивном прогнозировании метастатического поражения при раке тела матки.

Ключевые слова: рак тела матки, внеклеточная ДНК, копийность генов, LASSO-регрессия, митохондриальная дисфункция, прогнозирование метастазирования

Для цитирования: Кутилин Д.С., Франциянц Е.М., Нескубина И.В. и др. Особенности копийности генов в плазме крови у больных раком тела матки и прогноз заболевания. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(3):8–19.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-8-19>

The genes copy number variation features in blood plasma of uterine cancer patients and disease prognosis

D.S. Kutilin, E.M. Frantsiyants, I.V. Neskubina, A.I. Shikhlyarova, V.A. Bandovkina, P.S. Kachesova, N.D. Cheryarina, I.A. Udalenkova, A.P. Menshenina, E.A. Ozerkova, Yu.S. Shatova, A.A. Ovsyannikova

National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 63 14th Line St., Rostov-on-Don 344037, Russia

Contacts: Denis Sergeyevich Kutilin k.denees@yandex.ru

Introduction. Uterine cancer is a leading gynecologic oncology morbidity. Early prediction of metastatic disease is critical for treatment decisions. Therefore, the search for minimally invasive molecular markers for predicting metastasis is a pressing issue. Promising biomarkers in this regard include gene copy number values in circulating cell-free DNA (cfDNA) in plasma.

Aim. To analyze the relative copy number of genes regulating mitochondrial function in plasma of uterine cancer patients to develop a minimally invasive method for predicting metastasis.

Materials and methods. The bioinformatics phase of the study identified a list of genes associated with mitochondrial dysfunction and abnormal copy number in uterine cancer. The study included 98 patients diagnosed with adenocarcinoma of the corpus uteri (G_1 ($n = 43$), G_2 ($n = 35$) and G_3 ($n = 20$)), 15 patients with uterine myoma and 20 conditionally healthy donors. The relative copy number of 13 genes was determined by quantitative real-time polymerase chain reaction on cfDNA samples from blood plasma. ROC analysis and LASSO-penalized (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) logistic regression were used to select markers.

Results. A significant decrease in relative copy number of *mtSSB*, *MT-RNR2*, *NRF1*, *MGME1*, and *MT-CO1* in plasma was revealed in uterine cancer patients ($p < 0.005$) with a metastatic course of the disease, moreover, the degree of change in copy number increased from G_1 to G_3 . LASSO regression analysis enabled the selection of three genes: *mtSSB*, *MT-RNR2*, and *MGME1*. The combined panel achieved an area under the curve (AUC) of 0.98 (95 % confidence interval 0.96–1.00), a sensitivity of 95 %, and a specificity of 92 % for predicting metastases.

Conclusion. Thus, determination of the copy number of the *mtSSB*, *MT-RNR2* and *MGME1* genes in blood plasma has potential for use in minimally invasive prediction of metastatic lesions in uterine cancer.

Keywords: endometrial cancer, cell-free DNA, gene copy number, LASSO regression, mitochondrial dysfunction, metastasis prediction

For citation: Kutilin D.S., Frantsiyants E.M., Neskubina I.V. et al. The genes copy number variation features in blood plasma of uterine cancer patients and disease prognosis. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = Advances in Molecular Oncology 2026;13(3):8–19. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-8-19>

ВВЕДЕНИЕ

Рак тела матки (РТМ) занимает лидирующие позиции в структуре онкогинекологической заболеваемости, при этом частота метастазирования достигает 15–25 % даже при ранних стадиях [1]. Метастатическое поражение является одним из наиболее значимых прогностических факторов при РТМ, оно определяет стадию заболевания и тактику лечения. Традиционные методы диагностики метастазов включают компьютерную томографию (КТ), магнитно-резонансную томографию (МРТ) и гистологическое исследование, однако они имеют ограничения в чувствительности на ранних стадиях заболевания [2]. При этом молекулярное прогнозирование риска развития метастазов остается сложной задачей. В последние годы внимание исследователей привлекает анализ копийности генов (copy number variation, CNV) в внеклеточной ДНК (внДНК) плазмы крови [3]. Копийность является важным молекулярным механизмом, влияющим на функционирование митохондрий [4]. Результаты исследований показывают, что вариации числа копий генов широко распространены в геноме человека и ассоциированы с различными заболеваниями, включая онкологические [5].

Митохондриальная дисфункция является важным звеном патогенеза РТМ, она влияет на энергетический метаболизм, апоптоз и метастатический потенциал [6]. Изменения копийности митохондриальных и ядерных генов, регулирующих функционирование митохондрий, могут отражаться на циркулирующей ДНК. Показатель копийности митохондриальных локусов в качестве маркера исследуется при различных онкологических заболеваниях, включая рак желудка [7], легкого [8], кишечника [9] и яичников [10]. Ранее мы идентифицировали ключевые гены (*MT-CO1*, *mtSSB*, *MT-RNR2*, *MGME1*), копийность которых изменяется в ткани опухоли тела матки [11]. Использование этих

маркеров в жидкостной биопсии открывает перспективы неинвазивного прогнозирования метастазирования при РТМ.

Цель исследования — анализ относительной CNV генов, регулирующих функционирование митохондрий, в плазме крови больных РТМ для разработки малоинвазивного метода прогнозирования метастазирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биоинформационный этап исследования. На биоинформационном этапе исследования выполнен анализ данных проекта «Атлас ракового генома» (The Cancer Genome Atlas, TCGA; <https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>) для выявления аномальной CNV при РТМ, ассоциированных с митохондриальной дисфункцией. Данные о числе копий генов получены из Genomic Data Commons Data Portal (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) с помощью TCGAbiolinks (R v. 4.0.0, Rstudio). Для обнаружения областей генома, размер которых значимо изменялся в ряде опухолевых образцов, использовали алгоритм GISTIC [10, 11]. Для разделения генов по функциональным модулям применяли алгоритм Functional module detection (FMD), основанный на методе k-ближайших соседей (KNN) и методе определения множества Лувена для кластеризации тесно связанных генетических локусов, их группировки в отдельные модули [3].

Характеристика пациенток и получение биоматериала. В исследование включены 98 больных с морфологически верифицированной аденокарциномой тела матки, 15 пациенток с миомой матки и 20 условно-здоровых женщин. Пациентки получали лечение в период с 2023 по 2025 г. в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии (г. Ростов-на-Дону). Средний возраст больных РТМ составил $58,3 \pm 8,7$ года (медиана 59 лет; межквартильный размах — 52–65 лет),

пациенток с миомой матки — $49,6 \pm 6,4$ года, условно-здоровых доноров — $51,4 \pm 7,2$ года.

В зависимости от степени дифференцировки опухоли пациентки с аденокарциномой матки были разделены на 3 группы: G_1 ($n = 43$), G_2 ($n = 35$) и G_3 ($n = 20$). У 30 больных выявлены регионарные или отдаленные метастазы: в группе G_1 — 10 (23,3 %) случаев, в группе G_2 — 10 (28,6 %), в группе G_3 — 10 (50 %). Образцы крови (8 мл) собирали в вакутейнеры с этилендиаминтетрауксусной кислотой. Плазму крови выделяли центрифугированием в течение 10 мин при 600 г и 2°C .

Характеристика пациенток с аденокарциномой тела матки представлена в табл. 1.

Стадирование проводилось согласно классификации Международной федерации акушеров и гинекологов (International Federation of Gynaecology and Obstetrics, FIGO) 2018 г. Наличие регионарных (в тазовых и парааортальных лимфатических узлах) и отдаленных метастазов подтверждалось данными инструментальных методов (КТ, МРТ и при необходимости позитронной эмиссионной томографии, совмещенной с КТ) и гистологическим исследованием удаленных тканей. У всех пациенток с метастазами диагноз верифицирован морфологически. У 12 (40 %) из 30 больных с метастатическим поражением выявлены отдаленные метастазы (в легких, печени, костях), у остальных

Таблица 1. Характеристика пациенток с аденокарциномой тела матки ($n = 98$)

Table 1. Characteristics of patients with adenocarcinoma of the uterine body ($n = 98$)

Показатель Parameter	G_1 ($n = 43$)	G_2 ($n = 35$)	G_3 ($n = 20$)	Всего Total
Возраст, лет, $M \pm SD$ Age, years, $M \pm SD$	$56,2 \pm 8,1$	$59,4 \pm 9,0$	$60,1 \pm 8,5$	$58,3 \pm 8,7$
Стадия по классификации FIGO, n (%): FIGO stage, n (%):				
I	28 (65,1)	16 (45,7)	4 (20,0)	48 (49,0)
II	8 (18,6)	9 (25,7)	4 (20,0)	21 (21,4)
III	7 (16,3)	8 (22,9)	9 (45,0)	24 (24,5)
IV	0	2 (5,7)	3 (15,0)	5 (5,1)
Метастазы, n (%): Metastases, n (%):				
нет (N0) no (N0)	33 (76,7)	25 (71,4)	10 (50,0)	68 (69,4)
регионарные (N1) regional (N1)	8 (18,6)	7 (20,0)	3 (15,0)	18 (18,4)
отдаленные (M1) distant (M1)	2 (4,7)	3 (8,6)	7 (35,0)	12 (12,2)
Гистологический тип опухоли, n (%): Tumor histological type, n (%):				
эндометриоидный endometrioid	41 (95,3)	31 (88,6)	14 (70,0)	86 (87,8)
серозный/светлоклеточный serous/clear cell	2 (4,7)	4 (11,4)	6 (30,0)	12 (12,2)
Инвазия миометрия, n (%): Myometrial invasion, n (%):				
<50 %	30 (69,8)	18 (51,4)	6 (30,0)	54 (55,1)
≥ 50 %	13 (30,2)	17 (48,6)	14 (70,0)	44 (44,9)
Лимфоваскулярная инвазия, n (%): Lymphovascular invasion, n (%):				
нет no	35 (81,4)	24 (68,6)	9 (45,0)	68 (69,4)
есть yes	8 (18,6)	11 (31,4)	11 (55,0)	30 (30,6)

Примечание. Распределение по стадиям, глубине инвазии и лимфоваскулярной инвазией ожидаемо ассоциировано со степенью дифференцировки (χ^2 -критерий, $p < 0,05$ для всех стадий, что подтверждает репрезентативность выборки относительно известных клинических закономерностей рака тела матки. M — среднее значение; SD — стандартное отклонение; FIGO — International Federation of Gynaecology and Obstetrics, Международная федерация акушеров и гинекологов.

Note. The distribution by stage, depth of invasion and lymphovascular invasion is expectedly associated with the degree of differentiation (χ^2 test, $p < 0.05$ for all stages), which confirms the representativeness of the sample with respect to known clinical patterns of UC. M — mean; SD — standard deviation; FIGO — International Federation of Gynaecology and Obstetrics.

18 (60 %) — только регионарные. Сопутствующая патология: у 22 (22,4 %) пациенток — сахарный диабет 2-го типа, у 41 (41,8 %) — артериальная гипертензия, у 36 (36,7 %) — ожирение (индекс массы тела ≥ 30 кг/м²). Распределение больных с сопутствующими заболеваниями в зависимости от степени дифференцировки опухоли было сбалансированным ($p > 0,05$ для всех сравнений).

Выделение внеклеточной ДНК и полимеразная цепная реакция в реальном времени. Внеклеточную ДНК плазмы крови выделяли методом фенол-хлороформной экстракции в модификации. К плазме крови добавляли равный объем лизирующего буфера (10 mM TrisHCl; pH = 8,0; 1 mM этилендиаминтетрауксусной кислоты; 2 % SDS; 1,5 % меркаптоэтанол) и 50 мкл протеиназы К, инкубировали в термостате при 58 °C 30 мин. К полученному лизату добавляли равный объем щелочного фенола и хлороформа (1:1) и центрифугировали 30 мин (3000 об/мин) при 5 °C [12]. Также использовали коммерческий набор «ДНК-сорб-В» (Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Россия) с модифицированным протоколом. Концентрацию ДНК нормализовали до 0,6 нг/мкл.

Относительную CNV (*MT-CO1*, *mtTFB*, *mtSSB*, *ATAD3*, *TFAM*, *POLG*, *POLRMT*, *TOP1MT*, *MGME1*, *TEFM*, *MT-RNR2*, *GCAT*, *NRF1*) определяли методом

количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Реакцию амплификации проводили на термоциклере CFX96 (Bio-Rad, США) в 20 мкл ПЦР-смеси (внДНК не менее 0,5 нг; 0,2 mM dNTP; 0,4 мкМ праймеров; 2,5 mM MgCl₂, 1X ПЦР-буфер с интеркалирующим красителем EvaGreen и 0,1 е. а./мкл SynTaq ДНК-полимеразы) по следующей программе: 95 °C 4 мин, 40 циклов (95 °C 10 с, 58 °C 30 с — чтение оптического сигнала по каналу FAM) и 72 °C 15 с. Относительную копиюность (rC) рассчитывали по формуле: $rC = E^{-\Delta\Delta Ct}$ [13].

С использованием базы данных NCBI GenBank Overview (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) и онлайн-инструмента Primer-BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) разработаны последовательности синтетических олигонуклеотидов, в том числе для референсного локуса (*GAPDH*) (табл. 2).

Работа выполнена с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Национального медицинского исследовательского центра онкологии (г. Ростов-на-Дону) (<https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742>).

Статистический анализ. Статистическую обработку данных проводили с помощью R v.4.3.1. Нормальность распределения оценивали с использованием критерия Колмогорова—Смирнова. Для межгрупповых сравне-

Таблица 2. Последовательности олигонуклеотидных праймеров для полимеразной цепной реакции в реальном времени

Table 2. Sequences of oligonucleotide primers for real-time polymerase chain reaction

Ген Gene	Прямой праймер (5' → 3') Forward primer (5' → 3')	Обратный праймер (5' → 3') Reverse primer (5' → 3')
<i>MT-CO1</i>	CCTACTCCTGCTCGCATCTG	AGAATGGGGTCTCCTCCTCC
<i>mtSSB</i>	AAGTGCTGGAGTCGTGTGT	GGCGCCACCACCTGAAA
<i>MT-RNR2</i>	GCACACCCGTCTATGTAGCA	ACAACCAGCTATCACCAGGC
<i>MGME1</i>	GGATGGTTCCTCGGACCTA	GCCACAAAGGTCTCTGCAT
<i>NRF1</i>	GGAACACGGAGTGACCCAAA	AGGCGAGTCTTCATCAGCAC
<i>TFAM</i>	AGCAGCAGTGGAGGAAGAGG	CCAGTCTCCTCAGCTTCACC
<i>GCAT</i>	GAGGTAGGAGCGATGTGGC	GATGACCCGCTCACTCTTCC
<i>ATAD3</i>	CTTGTGGGGTGGGGTTGG	TAGTGTGTGCAGCAGGTTTCA
<i>POLG</i>	CTACCCCGAGGCTGCGTA	GGTCCTCACGGTGCTTCC
<i>mtTFB</i>	GCCAGGGGGAATCACAAG	CGAGTGTCTTTTCAACCAC
<i>POLRMT</i>	GGAGCGGCGTGCGTAA	GCCGCAAGGCCGTAG
<i>TOP1MT</i>	CTCTGACGCTGCTCGG	CTGGCTCCACTGCCCTT
<i>TEFM</i>	TTCCGATTGCTTCGTGGAAGA	TTTCCCGTCCAGTCTTTGGA
<i>GAPDH</i>	GCTGAACGGGAAGCTCACC	GGTTTTTCTAGACGGCAG

Таблица 3. Функции генов и их клиническая значимость при патологиях матки

Table 3. Gene functions and their clinical significance in uterine pathologies

Ген Gene	Локализация Location	Основная функция Main function	Роль в онкогенезе рака тела матки Role in the oncogenesis of uterine cancer
<i>MT-CO1</i>	Митохондрии Mitochondria	Кодирование субъединицы цитохром-с-оксидазы Encoding of the cytochrome-c-oxidase subunit	Снижение → нарушение OXPHOS → активация HIF-1α Decrease → disruption of OXPHOS → HIF-1α activation
<i>mtSSB</i>	Митохондрии Mitochondria	Связывание одноцепочечной мтДНК Single-stranded mtDNA binding	Снижение → дестабилизация мтДНК Decrease → mtDNA destabilization
<i>MT-RNR2</i>	Митохондрии Mitochondria	Кодирование 16S рибосомной РНК Encoding of 16S ribosomal RNA	Снижение → подавление синтеза мито- хондриальных белков Decrease → suppression of mitochondrial protein synthesis
<i>MGME1</i>	Ядро/митохондрии Nucleus/mitochondria	Эндонуклеаза репарации мтДНК mtDNA repair endonuclease	Бифазная динамика при прогрессии Biphasic dynamics during progression
<i>TFAM</i>	Ядро Nucleus	Фактор транскрипции мтДНК mtDNA transcription factor	Сохранение биогенеза мтДНК Preservation of mtDNA biogenesis
<i>NRF1</i>	Ядро Nucleus	Регуляция экспрессии митохондриальных генов Regulation of mitochondrial gene expression	Дисбаланс синтеза субъединиц электрон-транспортной сети Synthesis imbalance of electron transport network subunits

Примечание. мтДНК – митохондриальная ДНК; HIF-1α – фактор, индуцируемый гипоксией 1α.

Note. mtDNA – mitochondrial DNA; HIF-1α – hypoxia-inducible factor 1α.

ний применяли U-критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для оценки возможного влияния клинико-демографических факторов (возраст, стадия по классификации FIGO, наличие сопутствующих заболеваний (сахарного диабета 2-го типа, артериальной гипертензии, ожирения) на гС исследуемых генов проводили многофакторный дисперсионный анализ (ANCOVA) с включением этих переменных как ковариат.

Диагностическую точность панели определяли с помощью ROC-анализа (пакет pROC) с расчетом площади под кривой (AUC), чувствительности и специфичности. Для оценки диагностической точности рассчитывали 95 % доверительные интервалы (ДИ) для чувствительности и специфичности с использованием метода Уилсона (пакет PropCIs). Для отбора наиболее информативных маркеров применяли LASSO-пенализованную (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) логистическую регрессию (пакет glmnet). Переменные стандартизовали, выбор оптимального параметра регуляризации λ проводили по 10-кратной перекрестной проверке с минимизацией бинарной кросс-энтропии. Для внутренней валидации модели и оценки ее стабильности применяли процедуру bootstrap с 1000 повторных выборок (с замещением). На каждой итерации выполнялась полная последовательность: LASSO-отбор предикторов с по-

следующей логистической регрессией на отобранных генах. Для каждой bootstrap-выборки рассчитывали AUC, чувствительность и специфичность при фиксированных порогах, определенных по индексу Юдена на исходной выборке.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты биоинформационного анализа открытых баз данных и предыдущих исследований, проведенных в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии [11], позволили выявить ряд генетических локусов, изменение копийности которых ассоциировано с митохондриальной дисфункцией при PTM (*MT-CO1*, *mtTFB*, *mtSSB*, *ATAD3*, *TFAM*, *POLG*, *POLRMT*, *TOP1MT*, *MGME1*, *TEFM*, *MT-RNR2*, *GCAT* и *NRF1*). Информация о функциях некоторых локусов представлена в табл. 3.

Показатель копийности данных генетических локусов был валидирован методом ПЦР в реальном времени на образцах вДНК плазмы крови 98 больных с аденокарциномой тела матки, 15 пациенток с миомой и 20 условно-здоровых доноров (рис. 1).

У пациенток с аденокарциномой тела матки выявлено статистически значимое снижение гС *mtSSB*, *MT-RNR2*, *NRF1*, *MT-CO1* и *mtTFB* по сравнению с группой здоровых доноров и пациенток с миомой ($p < 0,005$). Степень уменьшения этого показателя коррелировала с увеличением злокачественности опухоли

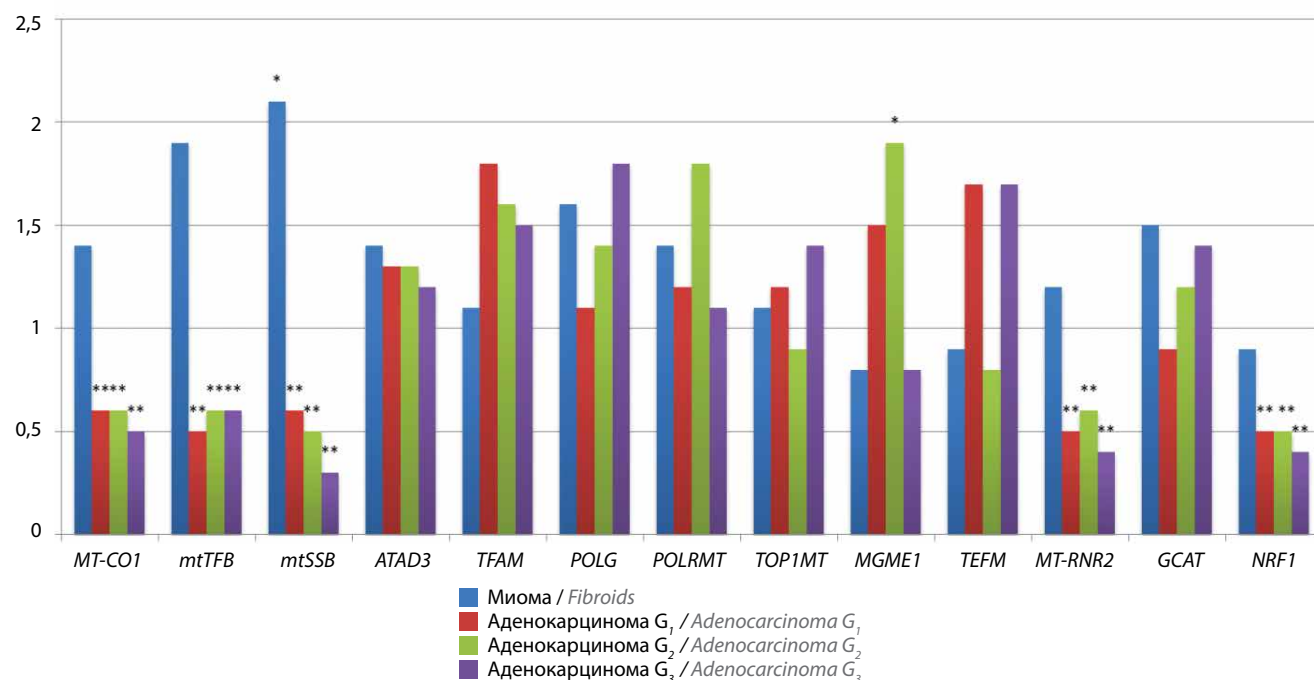


Рис. 1. Копийность генов в плазме крови пациенток с аденокарциномой G₁₋₃. * — статистически значимые различия между этой группой и группой условно-здоровых доноров; ** — статистически значимые различия между группами пациенток с миомой и условно-здоровых доноров
Fig. 1. Gene copy number in the blood plasma of patients with adenocarcinoma G₁₋₃. * — statistically significant differences between this group and the group from conditionally healthy donors; ** — statistically significant differences between the groups of patients with fibroids and conditionally healthy donors

(от G₁ к G₃). Анализ данных также выявил статистически значимое повышение копийности гена *mtSSB* у пациенток с миомой матки по сравнению с условно-здоровыми донорами ($p < 0,005$). При этом отмечено прогрессирование снижения копийности этого гена при переходе от G₁ к G₃, что может отражать нарушение репликации и репарации митохондриальной ДНК (мтДНК) при прогрессии злокачественного процесса. Для гена *MGME1* продемонстрирована бифазная динамика: повышение CNV при опухоли G₁/G₂ (компенсаторный механизм) и значимое снижение при G₃ (коллапс мтДНК).

Для визуализации распределения показателей CNV построены диаграммы box-plot для каждого исследуемого гена в разных группах (рис. 2).

Для оценки возможного влияния клинико-демографических факторов на гС исследуемых генов мы провели многофакторный дисперсионный анализ (ANCOVA). Ни один из указанных факторов не оказывал статистически значимого влияния на гС генов ($p > 0,05$ для всех генов и факторов после поправки на множественные сравнения; метод Холма). Кроме того, мы выполнили стратифицированный анализ внутри подгрупп пациенток без сопутствующей патологии ($n = 46$) и с ее наличием ($n = 52$). Различия в уровнях гС между группами G₁, G₂ и G₃ и метастатическим статусом сохранялись во всех стратах ($p < 0,01$). Таким образом, выявленные ассоциации копийности с метастатическим поражением незави-

симы от возраста, стадии заболевания и сопутствующей патологии.

Для определения диагностической значимости показателя копийности этих генов проведен анализ их способности классифицировать пациенток на группы метастатического поражения и без него с помощью ROC-кривых. Формирование панели маркеров прогнозирования РТМ проводили на основе 10 пар генов. Количество пар рассчитано по стандартной формуле математической комбинаторики. ROC-кривые с AUC не менее 0,70 представлены на рис. 3.

Для формирования оптимальной панели маркеров, информативных в отношении наличия метастазов (регионарных или отдаленных), проведен LASSO-пенализованный регрессионный анализ. Данный метод позволяет отобрать наиболее информативные предикторы путем пенализации коэффициентов регрессии и обнуления менее значимых переменных.

Важность переменных рассчитывали путем определения доли bootstrap-моделей с ненулевым коэффициентом (1000 итераций) (табл. 4). Ненулевые коэффициенты сохранили 3 гена: *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1* (рис. 4).

На основании bootstrap-моделей получена финальная панель генов, в которую вошли *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1*. Такое сочетание генов обеспечивает прогностическую чувствительность на уровне 95 % (AUC = 0,98; 95 % ДИ 0,94–1,00) и специфичность 92 % (95 % ДИ 83,5–96,5 %) (рис. 5).

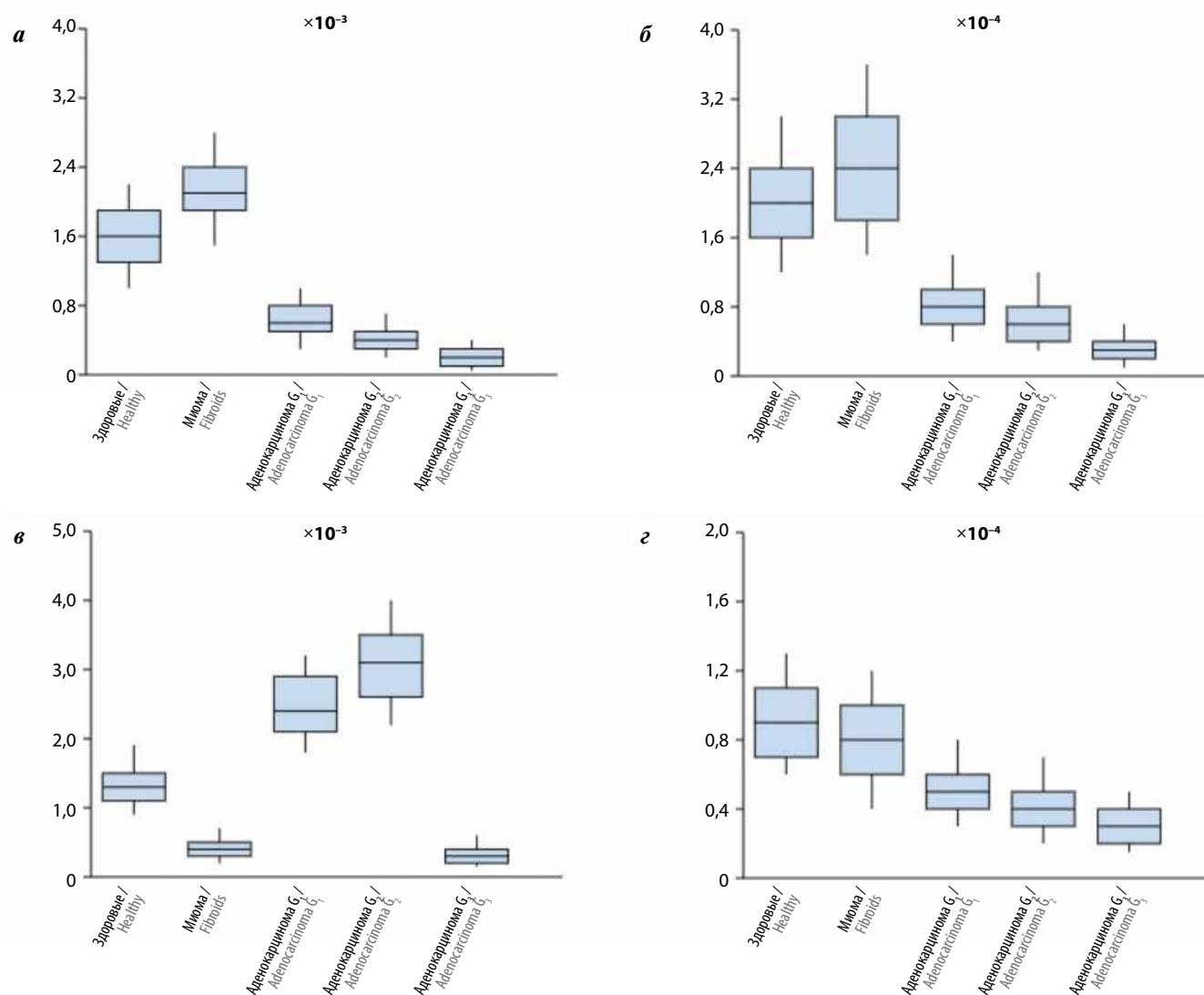


Рис. 2. Box-plot-диаграммы распределения относительной копии генов *mtSSB* (а), *MT-RNR2* (б), *NRF1* (в) и *MGME1* (г) в плазме крови пациенток с различными патологиями тела матки

Fig. 2. Box plot diagrams showing the distribution of relative copy number of *mtSSB* (a), *MT-RNR2* (б), *NRF1* (в), and *MGME1* (г) genes in the blood plasma of patients with various uterine pathologies

На рис. 5 показаны значения коэффициентов LASSO-регрессии в зависимости от изменения параметра регуляризации λ .

На основании полученных данных установлены прогностические пороговые значения CNV для прогнозирования метастатического поражения при РТМ (табл. 5). Оптимальные пороговые значения rC , определенные по индексу Юдена, составили: $rC_{mtSSB} < 0,2 \times 10^{-3}$, $rC_{MT-RNR2} < 0,2 \times 10^{-4}$, $rC_{MGME1} < 0,3 \times 10^{-3}$. При одновременном выполнении всех трех условий прогнозируется высокий риск развития метастазирования. Комбинированный алгоритм, основанный на логистической функции с включением 3 генов — *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1*, обеспечивал чувствительность 95 % и специфичность 92 %.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что изменение копии генов, ассоциированных с митохондриальной дисфункцией, в плазме крови отражает ключевые особенности опухолевого процесса при РТМ. Универсальное снижение копии *mtSSB* во всех образцах аденокарциномы (100 %) и ее прогрессирующее уменьшение при переходе от G₁ к G₃ указывают на важность этого гена как маркера злокачественной прогрессии. Ген *mtSSB* кодирует митохондриальный белок, связывающий одноцепочечную ДНК и необходимый для стабильности и репликации мтДНК. Снижение копии этого гена может привести к дестабилизации мтДНК, что нарушает энергетический метаболизм в опухолевых клетках и способствует ее прогрессии [14, 15].

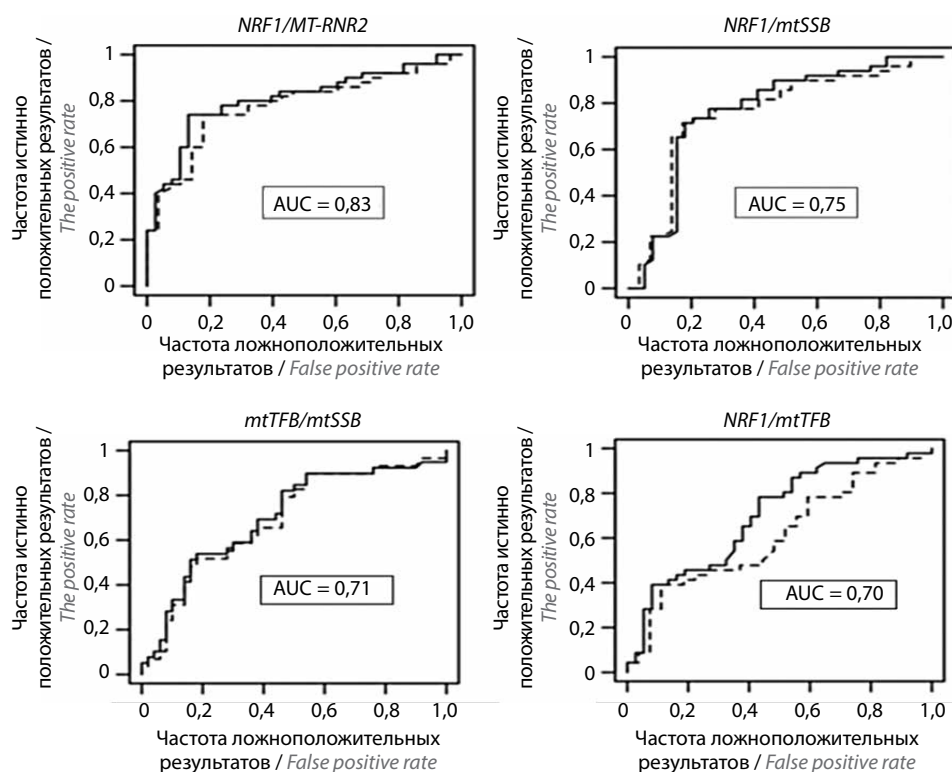


Рис. 3. Показатели копийности генов у больных раком тела матки (сплошная линия) с метастазами и без них (пунктирная линия). ROC-кривые. AUC — площадь под кривой

Fig. 3. Gene copy number values in patients with uterine corpus cancer) with (solid line and without (dashed line) metastases. ROC curves. AUC — area under the curve

Таблица 4. Результаты LASSO-регрессионного (LASSO — Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) анализа для прогнозирования метастазов

Table 4. Results of LASSO (LASSO — Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) regression analysis for predicting metastases

Ген Gene	Коэффициент β Coefficient β	Стандартная ошибка Standard error	Важность, % Importance, %	p	Статус Status
mtSSB	-2,847	0,423	98,5	<0,001	Включен в модель Included in the model
MT-RNR2	-2,156	0,387	96,2	<0,001	Включен в модель Included in the model
MGME1	1,923	0,351	94,8	<0,001	Включен в модель Included in the model
MT-CO1	-0,845	0,512	67,3	0,098	Исключен из модели Excluded from the model
TFAM	-0,623	0,489	58,4	0,201	Исключен из модели Excluded from the model
NRF1	-0,512	0,467	52,1	0,273	Исключен из модели Excluded from the model
mtTFB	-0,387	0,523	45,6	0,458	Исключен из модели Excluded from the model
TOP1MT	0,234	0,498	38,2	0,639	Исключен из модели Excluded from the model
POLRMT	0,156	0,534	31,5	0,770	Исключен из модели Excluded from the model
ATAD3	0,089	0,512	24,7	0,863	Исключен из модели Excluded from the model

Примечание. Стандартная ошибка приведена для коэффициента логистической регрессии (коэффициента β) после LASSO-пенализации. Важность — доля bootstrap-моделей, в которых коэффициент для данного гена был ненулевым.

Note. The standard error is given for the coefficient of the logistic regression (coefficient β) after LASSO-penalization. Importance is the proportion of bootstrap models in which the coefficient for a given gene was non-zero.

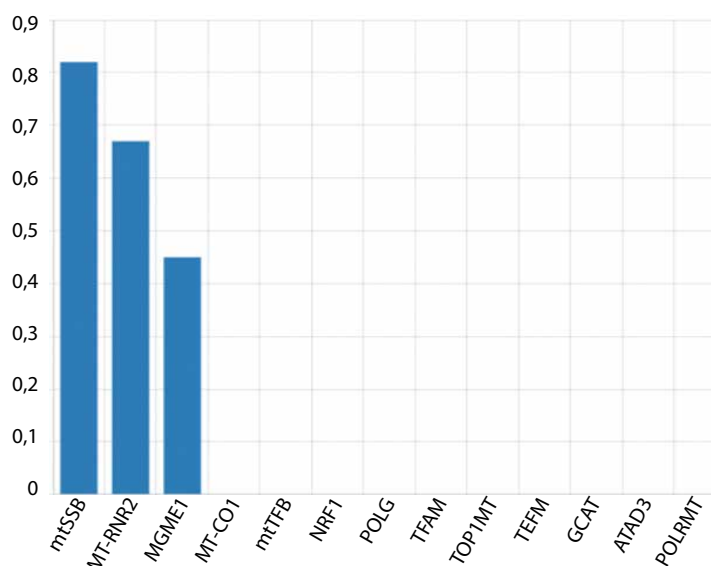


Рис. 4. Коэффициенты LASSO-модели при $\lambda_{\min}$ (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator)

Fig. 4. Coefficients of the LASSO model at $\lambda_{\min}$ (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator)

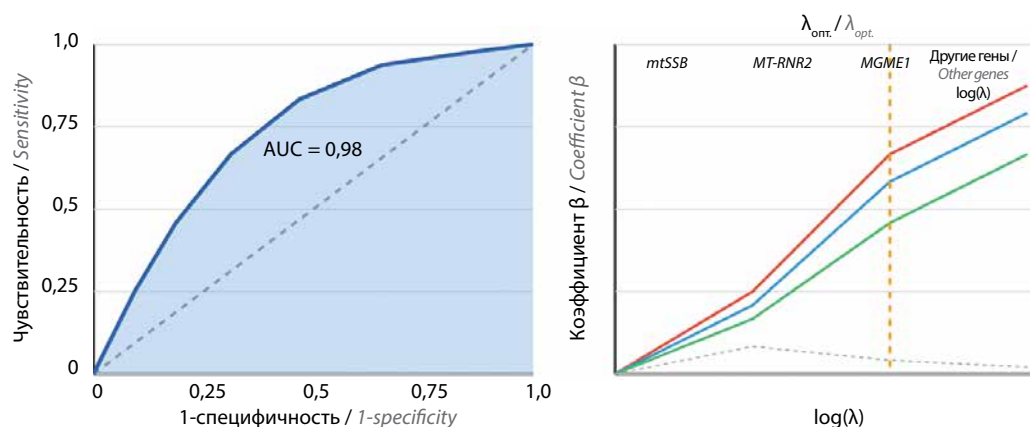


Рис. 5. Прогностическая значимость панели из 3 генов – *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1* – для выявления метастатического поражения при раке тела матки: а – ROC-кривая модели, основанной на комбинации относительной копии генов *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1* (площадь под кривой (AUC) = 0,98); б – зависимости коэффициентов β LASSO-регрессии от параметра регуляризации λ . Красная линия – траектория коэффициента β для гена *mtSSB*, синяя – для гена *MT-RNR2*, зеленая линия – для гена *MGME1*, серая пунктирная – для остальных генов, вертикальная пунктирная линия – оптимальное значение λ .

Fig. 5. Prognostic value of a panel of three genes – *mtSSB*, *MT-RNR2* and *MGME1* – for detecting metastatic lesions in endometrial cancer: а – ROC curve of the model based on a combination of the relative copy number of the *mtSSB*, *MT-RNR2* and *MGME1* genes (area under the curve (AUC) = 0.98); б – dependences of the β LASSO regression coefficients on the regularization parameter λ , where the red line is the trajectory of the coefficient β for the *mtSSB* gene; the blue line is for the *MT-RNR2* gene; the green line is for the *MGME1* gene, the gray dotted line is for the remaining genes, the vertical dotted line is the optimal value of λ .

Таблица 5. Прогностические пороговые значения коэффициентов копииности генов (rC) для прогнозирования развития метастазов

Table 5. Prognostic thresholds of gene copy number coefficients for predicting metastases

Ген Gene	rC (нет метастазов) rC (no metastases)	rC (есть метастазы) rC (with metastases)	Пороговое значение Threshold value	Чувствитель- ность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %
<i>mtSSB</i>	$>0,6 \times 10^{-3}$	$<0,2 \times 10^{-3}$	$0,4 \times 10^{-3}$	92	88
<i>MT-RNR2</i>	$>0,3 \times 10^{-4}$	$<0,2 \times 10^{-4}$	$0,25 \times 10^{-4}$	90	85
<i>MGME1</i>	$>2,0 \times 10^{-3}$	$<0,3 \times 10^{-3}$	$1,15 \times 10^{-3}$	88	90

Ген *MT-RNR2* кодирует 16S рибосомную РНК (16S рРНК), которая является частью митохондриальной рибосомы и участвует в синтезе митохондриальных белков. Также при РТМ выявлено стабильное снижение копийности гена *MT-RNR2* (16S рРНК), что согласуется с данными о нарушении синтеза митохондриальных белков при этом заболевании [16, 17].

Ген *MGME1* (эндонуклеаза репарации мтДНК) решает структуры flap мтДНК при репарации. Нарушения в работе *MGME1* могут привести к накоплению дефектной мтДНК, что приводит к развитию митохондриальных дисфункций, влияющих на энергетический метаболизм, апоптоз и устойчивость опухоли к терапии [18]. *MGME1* продемонстрировал бифазную динамику: увеличение CNV этого гена на ранних стадиях (G_{1-2}), вероятно, является компенсаторным механизмом, направленным на репарацию поврежденной мтДНК, а резкое ее снижение при G_3 ассоциируется с истощением репарационных резервов и коллапсом митохондриального генома, что способствует агрессивному метастазированию [18].

Полученные данные согласуются с результатами других исследований, которые продемонстрировали роль *mtSSB* и *MT-RNR2* в стабильности митохондриального генома и их связь с агрессивностью РТМ [14, 16]. Применение LASSO-регрессии позволило минимизировать переобучение и выделить именно те маркеры, которые несут независимую прогностическую информацию. Значение AUC для панели из 3 генов (0,98) превышает значения AUC, описанные для ранее предложенных способов прогнозирования, основанных на единичных маркерах или клинических параметрах. Так, ранее был предложен способ дооперационного прогнозирования вероятности риска рецидива у больных раком эндометрия T1 стадии (патент РФ № 2762493), но он основан на клинических параметрах и уступает разработанной панели по прогностической способности.

Исследование имело ряд ограничений: 1) не проводилась валидация на независимой выборке; 2) исследование выполнено на относительно небольшой выборке и имело одноцентровый характер; 3) не проводился анализ выживаемости пациенток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нестабильность митохондриального генома, особенно выявленное во всех образцах аденокарциномы снижение копийности *MT-RNR2*, бифазная дисрегуляция *MGME1* и уменьшение копийности *mtSSB*, определяет патогенез аденокарциномы тела матки. При этом анализ копийности генов *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1* в плазме крови имеет перспективу для использования в малоинвазивном прогнозировании метастатического поражения при РТМ с чувствительностью 95 %. Данные, полученные в ходе LASSO-регрессионного анализа, подтвердили прогностическую значимость панели, состоящей из 3 генов (*mtSSB*, *MT-RNR2*, *MGME1*), для прогнозирования метастатического поражения при РТМ по вДНК плазмы крови. Построенные прогностические модели количественно описывают ассоциацию аномальной копийности ядерных и митохондриальных генов с метастазированием и после дальнейшей клинической валидации могут быть применены для определения течения данного заболевания.

Полученные данные обосновывают необходимость разработки персонализированных подходов к терапии РТМ с учетом молекулярного статуса пациенток. Перспективными направлениями дальнейших исследований являются изучение влияния обнаруженных изменений CNV на эффективность различных вариантов лечения данного заболевания и оценка возможности коррекции митохондриальной дисфункции как потенциального терапевтического подхода.

Л и т е р а т у р а / References

1. Crosbie E.J., Kitson S.J., McAlpine J.N. et al. Endometrial cancer. *Lancet* 2022;399(10333):1412–28. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00323-3
2. Concin N., Matias-Guiu X., Vergote I. et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Radiother Oncol* 2021;154:327–53. DOI: 10.1016/j.radonc.2020.11.018
3. Маслов А.А., Чалхакян Л.Х., Малинин С.А. и др. Показатель копийности генов у больных колоректальным раком как маркер клинического исхода заболевания и ответа на терапию. *Южно-российский онкологический журнал* 2022;3(2):52–64. Maslov A.A., Chalkhakhian L.H., Malinin S.A. et al. Gene copy number in patients with colorectal cancer as a marker of clinical outcome of the disease and response to therapy. *Yuzhno-rossiyskiy onkologicheskii zhurnal = South Russian Journal of Oncology* 2022;3(2):52–64. (In Russ.).
4. Hastings P.J., Lupski J.R., Rosenberg S.M., Ira G. Mechanisms of change in gene copy number. *Nat Rev Genet* 2009;10(8):551–64. DOI: 10.1038/nrg2593
5. Steele C.D., Abbasi A., Islam S.M.A. et al. Signatures of copy number alterations in human cancer. *Nature* 2022;606(7916):984–91. DOI: 10.1038/s41586-022-04738-6
6. Wallace D.C. Mitochondria and cancer. *Nat Rev Cancer* 2012;12(10):685–98. DOI: 10.1038/nrc3365
7. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С. и др. Копийность генов *GSTP1*, *NFKB1* и локуса HV2 митохондриальной ДНК при некоторых гистологических типах рака желудка. *Успехи современного естествознания* 2015;1–6:918–21. Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Kutilin D.S. et al. Copy number of *GSTP1*, *NFKB1* genes and mitochondrial DNA HV2 locus in some histological types of stomach cancer. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Advances in Modern Natural Sciences* 2015;1–6:918–21. (In Russ.).
8. Кутилин Д.С., Айрапетова Т.Г., Анистратов П.А. и др. Изменение относительной копийности генетических локусов во внеклеточной ДНК у пациентов с аденокарциномой легкого. *Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки* 2017;3:74–83.

- Kutilin D.S., Airapetova T.G., Anistratov P.A. et al. Changes in the relative copy number of genetic loci in extracellular DNA in patients with adenocarcinoma of the lung. *Izvestiya vuzov. Severo-Kavkazskiy region. Estestvennye nauki* = University News. North Caucasus Region. *Natural Sciences* 2017;3:74–83. (In Russ.).
9. Xu Y., Zhou J., Yuan Q. et al. Quantitative detection of circulating MT-ND1 as a potential biomarker for colorectal cancer. *Bosn J Basic Med Sci* 2021;21(5):577–86. DOI: 10.17305/bjbm.2021.5576
 10. Цандекова М.Р., Порханова Н.В., Кутилин Д.С. Молекулярные подтипы серозной аденокарциномы яичника и выживаемость пациенток. *Онкогинекология* 2022;4(44):14–24. DOI: 10.52313/22278710_2022_4_4
Tsandekova M.R., Porkhanova N.V., Kutilin D.S. Molecular subtypes of ovarian serous adenocarcinoma and patient survival. *Onkoginekologiya* = *Oncogynecology* 2022;4(44):14–24. (In Russ.). DOI: 10.52313/22278710_2022_4_4
 11. Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В. и др. Особенности копийности митохондриальных генов и транскриптов микроРНК в плазме крови больных аденокарциномой эндометрия и миомой. *Успехи молекулярной онкологии* 2025;12(1):76–83. DOI: 10.17650/2313-805X-2025-12-1-76-8
Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V. et al. Features of mitochondrial genes copy numbers and microRNA transcripts in endometrial adenocarcinoma and fibroids patients blood plasma. *uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2025;12(1):76–83. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2025-12-1-76-8
 12. Кутилин Д.С., Франциянц Е.М., Нескубина И.В. и др. Особенности копийности генов, регулирующих функционирование митохондрий, у больных раком тела матки с сахарным диабетом 2 типа. *Современные проблемы науки и образования* 2025;5. DOI: 10.17513/spno.34316
 - Kutilin D.S., Frantsians E.M., Neskubina I.V. et al. Features of gene copy number regulating the functioning of mitochondria in patients with uterine body cancer with type 2 diabetes mellitus. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* = *Modern Problems of Science and Education* 2025;5. (In Russ.). DOI: 10.17513/spno.34316
 13. Кутилин Д.С., Кечерюкова М.М. От биоинформационного скрининга генетических маркеров к малоинвазивной диагностике метастазов в лимфатических узлах у пациенток с раком шейки матки. *Казанский медицинский журнал* 2022;103(5):725–36. DOI: 10.17816/KMJ2022-725
Kutilin D.S., Kecheryukova M.M. From bioinformatics screening of genetic markers to minimally invasive diagnosis of lymph node metastases in patients with cervical cancer. *Kazanskiy medicinskiy zhurnal* = *Kazan Medical Journal* 2022;103(5):725–36. DOI: 10.17816/KMJ2022-725
 14. Xu Y.C., Su J., Zhou J.J. et al. Roles of *MT-ND1* in cancer. *Curr Med Sci* 2023;43(5):869–78. DOI: 10.1007/s11596-023-2771-0
 15. Cameron S.L., Yoshizawa K., Mizukoshi A. et al. Mitochondrial genome deletions and minicircles are common in lice (Insecta: Phthiraptera). *BMC Genomics* 2011;12:394. DOI: 10.1186/1471-2164-12-394
 16. Kang S., Kim Y. Current unveiling key research trends in endometrial cancer. *Healthcare* 2025;13(13):1567. DOI: 10.3390/healthcare13131567
 17. Njomen E., Evans H.G., Gedara S.H., Heyl D.L. Humanin peptide binds to insulin-like growth factor-binding protein 3 (IGFBP3) and regulates its interaction with importin-β. *Protein Pept Lett* 2015;22(10):869–76. DOI: 10.2174/0929866522666150728114955
 18. Uhler J.P., Thörn C., Nicholls T.J. et al. MGME1 processes flaps into ligatable nicks in concert with DNA polymerase γ during mtDNA replication. *Nucleic Acids Res* 2016;44(12):5861–71. DOI: 10.1093/nar/gkw468

Благодарность. Исследование выполнено с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (регистрационный номер 3554742; <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).

Acknowledgment. The study was performed using scientific equipment from the Center for Collective Use of the the National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (registration number 3554742; <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).

Вклад авторов

Д.С. Кутилин: выполнение полимеразной цепной реакции, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи;
Е.М. Франциянц: идея, разработка методологии и дизайна исследования;
И.В. Нескубина: сбор, анализ и интерпретация данных;
А.И. Шихлярова, В.А. Бандовкина: разработка дизайна исследования, научное редактирование;
П.С. Качесова: первичная обработка данных, выделение нуклеиновых кислот, научное редактирование;
Н.Д. Черярина: поиск и анализ литературы, подготовка аналитического обзора, анализ данных;
И.А. Удаленкова, А.П. Меньшенина, Е.А. Озеркова, Ю.С. Шатова, А.А. Овсянникова: сбор, анализ и интерпретация данных.

Authors' contributions

D.S. Kutilin: performing polymerase chain reaction, data analysis and interpretation, article writing;
E.M. Frantsiyants: the idea, development of methodology and design of research;
I.V. Neskubina: collection, analysis and interpretation of data;
A.I. Shikhlyarova, V.A. Bandovkina: research design development, scientific editing;
P.S. Kachesova: primary data processing, nucleic acid extraction, scientific editing;
N.D. Cheryarina: literature search and analysis, preparation of an analytical review, data analysis;
I.A. Udalenkova, A.P. Menshenina, E.A. Ozerkova, Yu.S. Shatov, A.A. Ovsyannikova: data collection, analysis and interpretation.

ORCID авторов / ORCID of authors

Д.С. Кутилин / D.S. Kutilin: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>
Е.М. Франциянц / E.M. Frantsiyants: <https://orcid.org/0000-0003-3618-6890>
И.В. Нескубина / I.V. Neskubina: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>
А.И. Шихлярова / A.I. Shikhlyarova: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>
В.А. Бандовкина / V.A. Bandovkina: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>
П.С. Качесова / P.S. Kachesova: <https://orcid.org/0000-0001-6928-5014>
Н.Д. Черярина / N.D. Cheryarina: <https://orcid.org/0000-0002-3711-8155>
И.А. Удаленкова / I.A. Udalenkova: <https://orcid.org/0000-0003-0075-6935>
А.П. Меньшенина / A.P. Menshenina: <https://orcid.org/0000-0002-7968-5078>
Е.А. Озеркова / E.A. Ozerkova: <https://orcid.org/0009-0005-8658-8902>
Ю.С. Шатова / Yu.S. Shatova: <https://orcid.org/0000-0002-1748-9186>
А.А. Овсянникова / A.A. Ovsyannikova: <https://orcid.org/0009-0000-3473-7770>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. This research was conducted without sponsorship.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (протокол № 22 от 05.09.2023).

Пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The protocol of the study was approved by the committee on biomedical ethics of the National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (protocol No. 22 dated 05.09.2023).

The patients signed an informed consent to participate in the study.

18. Kubota N., Okada S., Inada T. et al. Wortmannin sensitizes human glioblastoma cell lines carrying mutant and wild type TP53 gene to radiation. *Cancer Lett* 2000;161(2):141–7. DOI: 10.1016/S0304-3835(00)00614-5
19. Yabo Y.A., Niclou S.P., Golebiewska A. Cancer cell heterogeneity and plasticity: A paradigm shift in glioblastoma. *Neuro Oncol* 2022;24(5):669–82. DOI: 10.1093/neuonc/noab269
20. Ritz C., Baty F., Streibig J.C., Gerhard D. Dose-response analysis using R. *PloS One* 2015;10(12):e0146021. DOI: 10.1371/journal.pone.0146021
21. Shrestha R., Johnson E., Byrne F.L. Exploring the therapeutic potential of mitochondrial uncouplers in cancer. *Mol Metab* 2021;51:101222. DOI: 10.1016/j.molmet.2021.101222
22. Han Y.H., Kim S.W., Kim S.H. et al. 2,4-dinitrophenol induces G1 phase arrest and apoptosis in human pulmonary adenocarcinoma Calu-6 cells. *Toxicol In Vitro* 2008;22(3):659–70. DOI: 10.1016/j.tiv.2007.12.005
23. Han Y.H., Moon H.J., You B.R. et al. Effects of carbonyl cyanide p-(trifluoromethoxy) phenylhydrazone on the growth inhibition in human pulmonary adenocarcinoma Calu-6 cells. *Toxicology* 2009;265(3):101–7. DOI: 10.1016/j.tox.2009.10.001
24. Weng S., Zhou L., Deng Q. et al. Niclosamide induced cell apoptosis via upregulation of ATF3 and activation of PERK in hepatocellular carcinoma cells. *BMC Gastroenterol* 2016;16(1):25. DOI: 10.1186/s12876-016-0442-3

Вклад авторов

В.В. Мелехин: разработка концепции и дизайна исследования, руководство исследованием, статистическая обработка данных, написание текста статьи;

М.Д. Тохтуева: разработка дизайна исследования, проведение экспериментов, сбор и обработка данных, написание текста статьи, подготовка иллюстративного материала;

Е.И. Андреева, А.В. Парамонова: проведение экспериментов;

В.М. Абрамов: проведение химических экспериментов, подтверждение структуры исследуемого вещества;

О.С. Ельцов: разработка концепции исследования, руководство химическими экспериментами, редактирование;

О.Г. Makeev: разработка дизайна исследования, редактирование.

Authors' contributions

V.V. Melekhin: development of the research concept and design, study management, statistical data processing, article writing;

M.D. Tokhtueva: development of research design, conducting experiments, data collection and processing, article writing, preparation of illustrative material;

E.I. Andreeva, A.V. Paramonova: conducting experiments;

V.M. Abramov: conducting chemical experiments, confirming the structure of the substance under study;

O.S. Yeltsov: development of the research concept, management of chemical experiments, editing;

O.G. Makeev: development of research design, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.В. Мелехин / V.V. Melekhin: <https://orcid.org/0000-0003-3107-8532>

М.Д. Тохтуева / M.D. Tokhtueva: <https://orcid.org/0000-0002-2895-336X>

Е.И. Андреева / E.I. Andreeva: <https://orcid.org/0000-0002-1536-3838>

А.В. Парамонова / A.V. Paramonova: <https://orcid.org/0009-0007-4268-8113>

В.М. Абрамов / V.M. Abramov: <https://orcid.org/0000-0002-9763-6093>

О.С. Ельцов / O.S. Yeltsov: <https://orcid.org/0000-0002-4681-2616>

О.Г. Makeev / O.G. Makeev: <https://orcid.org/0000-0001-6819-3185>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (грант № 26-25-20154; <https://rscf.ru/project/26-25-20154/>).

Funding. The study was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation (grant No. 26-25-20154; <https://rscf.ru/project/26-25-20154/>).

Статья поступила: 16.04.2026. Принята к публикации: 22.06.2026. Опубликовано онлайн: 18.09.2026.

Article submitted: 16.04.2026. Accepted for publication: 22.06.2026. Published online: 18.09.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-27-35>

Влияние нокдауна гена *EPHB6* на миграцию, инвазию и туморогенность клеток рака полости рта *in vitro*

М.С. Третьякова, Е.С. Колегова, Е.А. Простакишина, И.К. Федорова, Р.С. Воробьев, Д.Е. Кульбакин, Е.Л. Чойнзонов, Е.В. Денисов

Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; Россия, 634009 Томск, пер. Кооперативный, 5

Контакты: Мария Сергеевна Третьякова trremar@mail.ru

Введение. В последние годы отмечается рост заболеваемости раком полости рта (РПР) среди молодых пациентов без традиционных факторов риска (курение, употребление алкоголя, инфицирование вирусом папилломы человека), для которого характерны более агрессивное течение и повышенная частота развития рецидивов. В связи с этим актуальным становится поиск новых молекулярных особенностей, которые могли бы прояснить механизмы агрессивного течения заболевания у больных данной возрастной группы. Ранее нами обнаружены мутации в гене *EPHB6*, ассоциированные с развитием рецидивов РПР у пациентов молодого возраста.

Цель исследования – оценить влияние нокдауна гена *EPHB6* на функциональные характеристики клеток РПР *in vitro*.

Материалы и методы. В работе использовали клеточную линию РПР Cal-27. Нокдаун гена индуцировали с помощью малых интерферирующих РНК.

Результаты. Нокдаун *EPHB6* обеспечивал снижение экспрессии гена на 90 % относительно контроля, что сопровождалось изменением функциональных свойств клеток: ингибированием миграции и инвазии, а также снижением туморогенной способности в трехмерных культурах.

Заключение. Полученные результаты проливают свет на возможные механизмы участия *EPHB6* в прогрессировании РПР у пациентов молодого возраста.

Ключевые слова: рак полости рта, молодой возраст, прогрессия опухоли, рецидив, модель *in vitro*, малые интерферирующие РНК

Для цитирования: Третьякова М.С., Колегова Е.С., Простакишина Е.А. и др. Влияние нокдауна гена *EPHB6* на миграцию, инвазию и туморогенность клеток рака полости рта *in vitro*. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(3):27–35. DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-27-35>

Effect of *EPHB6* knockdown on migration, invasion, and tumorigenicity of oral cancer cells *in vitro*

M.S. Tretyakova, E.S. Kolegova, E.A. Prostakishina, I.K. Fedorova, R.S. Vorobev, D.E. Kulbakin, E.L. Choinzonov, E.V. Denisov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; 5 Kooperativny Lane, Tomsk 634009, Russia

Contacts: Maria Sergeevna Tretyakova trremar@mail.ru

Introduction. In recent years, a rising incidence of oral cancer (OC) has been observed among young adults without traditional risk factors (smoking, alcohol consumption, and human papillomavirus infection). An aggressive clinical course and a high recurrence rate are observed in patients of this age group. Therefore, there is a growing need to identify novel molecular alterations that could elucidate the mechanisms driving the disease progression. Previously, we identified mutations in the *EPHB6* gene associated with early-onset OC recurrence.

Aim. To evaluate the effect of *EPHB6* knockdown on the functional characteristics of OC cells *in vitro*.

Materials and methods. The OC cell line Cal-27 was used in this study. Gene knockdown was induced using small interfering RNAs.

Results. *EPHB6* knockdown resulted in a 90 % reduction in gene expression relative to the control, which was accompanied by alterations in cellular functional properties, including inhibition of migration and invasion, as well as reduced tumorigenic capacity in three-dimensional cultures.

Conclusion. These findings shed light on the potential mechanisms by which *EPHB6* contributes to early-onset OC progression.

Keywords: oral cancer, young adults, tumor progression, recurrence, *in vitro* model, small interfering RNA

For citation: Tretyakova M.S., Kolegova E.S., Prostakishina E.A. et al. Effect of *EPHB6* knockdown on migration, invasion, and tumorigenicity of oral cancer cells *in vitro*. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(3):27–35. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-27-35>

ВВЕДЕНИЕ

Рак полости рта (РПР) — одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований головы и шеи: ежегодно в мире регистрируется 380 тыс. новых случаев [1]. Традиционно РПР рассматривался как заболевание лиц старшего возраста, ассоциированное с хорошо известными факторами риска — курением, употреблением алкоголя и инфицированием ВПЧ [2]. Однако в последние годы отмечается устойчивая тенденция к «омоложению» заболевания, проявляющаяся ростом заболеваемости среди лиц моложе 45 лет, у которых классические факторы риска, как правило, отсутствуют [3].

Клинически РПР у молодых пациентов характеризуется агрессивным течением, диагностикой на поздних стадиях и низкой эффективностью стандартных терапевтических подходов [4]. Традиционные представления о факторах и механизмах онкогенеза преимущественно основаны на данных пациентов старшего возраста (60 лет и старше), что обуславливает пробел в понимании биологии рака у молодых людей. Ранее нами изучены особенности мутационного профиля, милома, транскриптома, протеома и микробиома РПР [5–7]. У молодых пациентов с РПР в тканях рецидива выявлена мутация гена рецептора эфрина типа B6 (*EPHB6*), отсутствовавшая в первичной опухоли [7]. Ген *EPHB6* кодирует рецепторную тирозинкиназу семейства Eph, участвующую в регуляции клеточной адгезии, миграции и эпителиально-мезенхимального перехода [8, 9]. Потеря или изменение функции данного рецептора вследствие мутации, вероятно, нарушает межклеточные контакты и напрямую влияет на поведение клеток. Для экспериментальной проверки данной гипотезы в настоящем исследовании применен подход нокдаун экспрессии гена с помощью малых интерферирующих РНК (миРНК).

Цель исследования — оценить влияние нокдаун гена *EPHB6* на функциональные характеристики клеток РПР *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подбор миРНК и трансфекция клеточных культур.

Трансфекцию миРНК проводили на иммортализованных клеточных линиях эмбриональной почки человека 293FT (Hek-293) и карциномы языка Cal-27. Клетки были получены из Российской коллекции клеточных культур (Институт цитологии, г. Санкт-Петербург).

Клетки культивировали в смеси 1:1 модифицированной среды Игла Дульбекко и среды Хэма F12 (DMEM/F12; Gibco, США), дополненной 10 % фетальной бычьей сывороткой (FBS; Globe Kang, Китай), пируватом натрия, GlutaMAX и пенициллином/стрептомицином (Gibco, США) при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂. Все клеточные линии прошли тестирование на отсутствие микоплазменной контаминации с помощью набора для детекции микоплазм методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Servicebio, Китай).

Нуклеотидные последовательности миРНК подбирали с помощью онлайн-программ siDirect version 2.1 [10], InvivoGen's siRNA Wizard Software [11] и базы данных Nucleotide database (NCBI) [12]. Олигонуклеотиды (АО «ГенТерра», Россия) разводили водой до концентрации 100 пмоль/мкл. Далее комплементарные олигонуклеотиды смешивали, инкубировали в термостате при 95 °C в течение 2 мин и охлаждали до комнатной температуры. Последовательности олигонуклеотидов представлены в табл. 1.

Трансфекцию миРНК проводили с использованием реагента Lipomaster 3000 (Vazyme, Китай) в 24-луночных планшетах (Corning, США) при достижении 80–90 % конфлюэнтности клеток. Комплексы миРНК с трансфекционным реагентом готовили в бессывороточной среде по протоколу производителя.

Оценка эффективности нокдауна. В качестве отрицательного контроля использовали клетки, трансфицированные неспецифической миРНК («скрембл»), не направленной на целевой ген. С помощью количественной ПЦР выявлено, что неспецифическая миРНК не влияла на уровень экспрессии гена *EPHB6* (рис. 1, а). Эффективность доставки оценивали с использованием неспецифической миРНК, меченной флуоресцентным красителем FAM (см. рис. 1, б). Через 24 ч после трансфекции >90 % клеток демонстрировали цитоплазматическую флуоресценцию. Для исключения неспецифического влияния в эксперимент была включена группа mock-контроля (mock transfection). Клетки подвергали всем этапам трансфекции, кроме добавления миРНК. Условия культивирования, объемы реагентов, время инкубации и плотность посева были полностью идентичны экспериментальным группам. Группа mock-контроля использовалась для оценки неспецифического влияния процедуры трансфекции на миграцию, инвазию и туморогенность. В качестве положительного контроля применяли миРНК, наце-

Таблица 1. Последовательности олигонуклеотидов

Table 1. Oligonucleotide sequences

Малые интерферирующие РНК (миРНК) Small interfering RNA (siRNA)	Праймеры Primers	Последовательность Sequence
миРНК экспериментальной группы 1 miRNA of experimental group 1	EPHB6_1_pas	5'-rCrUrGrCrUrUrArUrArUrCrArArGrArUrUrGrArGrGTT-3'
	EPHB6_1_guide	5'-rUmCmAmArUrCrUmUrGrArUrArUrArArGrCrArGrGrATT-3'
миРНК экспериментальной группы 2 miRNA of experimental group 2	EPHB6_2_pas	5'-rCrArUrGrGrArArArGrCrArUrArCrArCrArUrUrCrCTT-3'
	EPHB6_2_guide	5'-rArUrGrUrUrGrUrArUrGrCrUrUrUrCrCrArUrGrUrGTT-3'
миРНК экспериментальной группы 3 miRNA of experimental group 3	EPHB6_3_pas	5'-rCrUrGrGrArUrUrArCrArUrCrUrArCrUrUrArUrGrUTT-3'
	EPHB6_3_guide	5'-rArUrArArGrUrArGrArUrGrUrArArUrCrCrArGrGrATT-3'
миРНК экспериментальной группы 4 miRNA of experimental group 4	EPHB6_4_pas	5'-rCrUrGrCrArUrUrUrGrArCrArArGrArUrGrArUrCrCTT-3'
	EPHB6_4_guide	5'-rArUmCmAmUmCrUmUrGrUrCrArArArUrGrCrArGrCTT-3'
Неспецифический контроль «скрембл» Scrambled control	SCR_pas_1	5'-rGrCrArTrTrCrTrCrArCrGrArGrCrTrArArTrTrGrATT-3'
	SCR_guide_1	5'-rGrTrArTrCrTrCrCrTrCrGrArArGrCrCrArTrArTrATT-3'
Контроль трансфекции Transfection control	GFP_pas_1	5'-rGrCrArArGrCrUrGrArCrCrUrGrArArGrUrUrCrArUTT-3'
	GFP_guide_1	5'-rGrArArCrUrUrCrArGrGrUrCrArGrCrUrUrGrCrCrGTT-3'
Положительный контроль Positive control	GAPDH_pas_1	5'-rGrUrGrGrArGrArUrUrGrUrUrGrCrCrArUrCrATT-3'
	GAPDH_guide_1	5'-rUrGrArUrGrGrCrArArCrArArUrCrUrCrCrArCrTT-3'

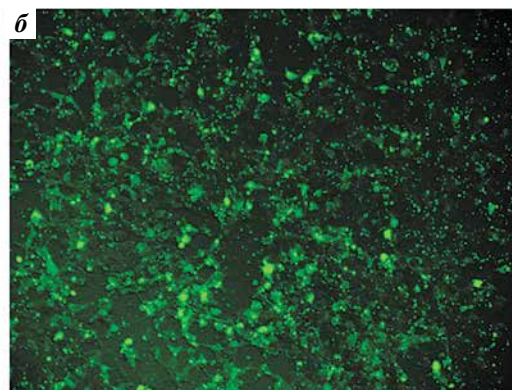
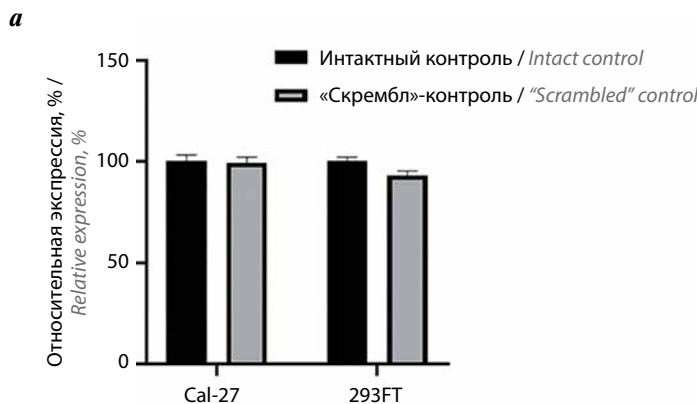


Рис. 1. Валидация контролей малых интерферирующих РНК: а – оценка экспрессии гена *EPHB6* в группах интактного контроля и неспецифической малой интерферирующей РНК («скрембл»); б – флуоресцентная микроскопия клеточной линии 293FT в группе неспецифической малой интерферирующей РНК, меченной FAM

Fig. 1. Validation of siRNA controls: a – *EPHB6* gene expression analysis in the intact control group and the non-specific small interfering RNA group ("scrambled"); b – fluorescence microscopy of the 293FT cell line transfected with FAM-labeled non-specific small interfering RNA

ленную на *GAPDH*. Подавление экспрессии этого гена вызывало метаболический стресс и снижало жизнеспособность клеток.

После оптимизации условий трансфекции и валидации системы РНК-интерференции экспериментальные миРНК в комплексе с трансфекционным реагентом добавляли к клеточным культурам Cal-27 и 293FT.

Тест на жизнеспособность. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью микротитрационного теста

(МТТ-тест). Для МТТ-теста клеточную суспензию засеивали в 96-луночные планшеты с плоским дном (Corning, США) и инкубировали в течение 24 ч при 37 °C и 5 % CO₂. Затем добавляли тетразолиевый краситель (Acros Organics, США) и инкубировали в течение 4 ч; в качестве растворителя использовали диметилсульфоксид (PANREAC, Испания). Измерение оптического поглощения проводили на планшетном спектрофотометре Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США)

на 2 длинах волн: 570 (рабочая) и 620 (сравнение) нм. Относительную жизнеспособность клеток рассчитывали по формуле:

$$\text{Жизнеспособность, \%} = \frac{(O_{570-620}) - (\Phi_{570-620})}{(K_{570-620}) - (\Phi_{570-620})} \times 100 \%,$$

где O — оптическая плотность опытного образца, Φ — фоновые значения, K — оптическая плотность контрольного образца.

Жизнеспособность клеток после трансфекции перед функциональными тестами (и во время — через 24, 48, 72 и 96 ч) в экспериментальных группах оценивали с использованием трипанового синего (ООО «Биолот», Россия) с помощью автоматического счетчика клеток LUNA-II (Logos Biosystems, Корея). Жизнеспособность клеток, рассчитанная как процент живых клеток от общего количества, варьировалась от 83 до 95 %.

Полимеразная цепная реакция в реальном времени.

Через 48 ч после трансфекции оценивали уровень экспрессии исследуемого гена с помощью количественной ПЦР с использованием технологии TaqMan на амплификаторе QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США). ПЦР ставили в 3 повторах. Последовательность праймеров, используемых для постановки ПЦР, представлена в табл. 2. В качестве гена-рефери применяли ген *GAPDH*; уровень экспрессии целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии гена-рефери в группе контроля — неизменной клеточной линии. Относительная экспрессия гена *EPHB6* оценена с помощью метода $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ (Livak). Отношение экспрессии между образцом и калибратором определяли по формулам:

$$\begin{aligned}\Delta Ct_{(\text{target})} &= Ct_{(\text{target})} - Ct_{(\text{ref})}, \\ \Delta Ct_{(\text{control})} &= Ct_{(\text{target, control})} - Ct_{(\text{ref, control})}, \\ \Delta\Delta Ct &= \Delta Ct_{(\text{target})} - \Delta Ct_{(\text{control})}, \\ 2^{-(\Delta\Delta Ct)} &= \text{нормализованный коэффициент экспрессии,}\end{aligned}$$

где Ct — пороговый цикл, $Ct_{(\text{target})}$ — пороговый цикл для гена-мишени, $Ct_{(\text{ref})}$ — пороговый цикл для гена-рефери, $Ct_{(\text{control})}$ — пороговый цикл для контрольного образца.

Вестерн-блоттинг. Оценку снижения уровня белка EPHB6 проводили с помощью вестерн-блоттинга. Клетки лизированы в буфере RIPA (Servicebio, Китай) с использованием коктейля ингибиторов протеаз (Abcam, Великобритания). Полученные лизаты использованы для проведения белкового электрофореза с дальнейшим электропереносом белков на поливинилиденфторидную мембрану (Servicebio, Китай). Мембрану блокировали 1X раствором iBind (Invitrogen, США). Окрашивание первичными и вторичными ан-

тителами выполнено с использованием устройства iBind Western Device (Thermo Fisher Scientific, США) в течение 2,5 ч. В работе использовали следующие антитела: к EPHB6 (Invitrogen, США; разведение 1:1000), к β -актину (ABclonal, Китай; разведение 1:1000) и HRP-конъюгированные антителами к антимышинным и антикроличьим антителам (ABclonal, Китай; разведение 1:2000). Далее мембрану инкубировали с системой детектирования Ultra-Sensitive ECL для хемилюминисцентной детекции (Servicebio, Китай). Визуализацию осуществляли на системе ChemiDoc Touch (Bio-Rad, США). Плотность полос оценивали с помощью компьютерной программы ImageLab. Полученные результаты стандартизировали по уровню β -актина. В качестве стандарта молекулярной массы использовали маркер Rav-11 (ООО «Биолабмикс», Россия).

Анализ миграции и инвазии клеток. Анализ миграции и инвазии клеток *in vitro* проводили с использованием камеры Бойдена (Jet Biofil, Китай) с фильтрующей мембраной из полиэтилентерефталата с размером пор 8 мкм. Для анализа инвазии клеток верхние фильтрующие мембраны дополнительно покрывали Matrigel (Corning, США). Клетки в концентрации 10^4 , суспендированные в 100 мкл бессывороточной среды, высевали в верхний отсек камеры. В качестве хемоаттрактанта использовали среду DMEM/F12 с 20 % FBS (Globe Kang, Китай), которую помещали в нижний отсек. Через 72 ч клетки, расположенные на нижней стороне мембраны, окрашивали витальным красителем Hoechst 33258 (ООО «Люмипроб РУС», Россия). Флуоресцентные изображения клеток получали с помощью системы визуализации EVOS (Thermo Fisher Scientific, США). Случайным образом выбирали 3 поля зрения, в которых подсчитывали количество клеток.

Анализ туморогенной способности. Сфероиды выращивали в среде MammoCult Human Medium Kit (STEMCELL Technologies, Канада). Клетки высевали в 96-луночные планшеты с низкоадгезивным покрытием (Thermo Fisher Scientific, США) из расчета 1×10^4 клеток на лунку в объеме 100 мкл культуральной среды. На 5-й день клетки образовали сфероиды, которые

Таблица 2. Последовательности праймеров для постановки количественной полимеразной цепной реакции

Table 2. Primer sequences used for quantitative polymerase chain reaction

Ген Gene	Последовательность Sequence
<i>EPHB6</i>	F 5'-CGCTACTATGACCAGGCAGA-3' R 5'-GTCACGGTGGCAGTGTG-3' Probe FAM 5'-CGAATCCCACTCCTTCA CCCTGAC-3'BHQ1
<i>GAPDH</i>	F 5'-GCCAGCCGAGCCACATC-3' R 5'-GGCAACAATATCCACTTTACCAGA-3' Probe FAM 5'-CGCCCAATACGACCAAT CCG-3'BHQ1

визуализировали с помощью системы EVOS (Thermo Fisher Scientific, США) и оценивали морфологические параметры — размер, степень округлости, компактность и наличие агрегатов в окружении.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программного обеспечения Statistica 6.0 и GraphPad Prism 9.0. Все данные обрабатывали с использованием методов описательной статистики с расчетами среднего арифметического (М) и стандартного отклонения (SD). Различия данных в экспериментальных группах оценивали с помощью теста ANOVA и U-критерия Манна–Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ уровней экспрессии гена *EPHB6* в клеточных линиях 293FT и Cal-27 выявил различия между ними (рис. 2, а). В клетках линии Cal-27 уровень экспрессии исследуемого гена был несколько выше по сравнению с линией 293FT. Несмотря на исходные различия в базовой экспрессии *EPHB6* между линиями, миРНК демонстрировали сопоставимую эффективность в подавлении экспрессии *EPHB6* в обеих культурах. Уровень экспрессии *EPHB6* в экспериментальных группах 1 и 2 был значительно ниже, чем в экспериментальных группах 3 и 4 ($>40\%$), и на 90% ниже относительно контроля (см. рис. 2, б). После подтверждения эффективного уменьшения экспрессии гена *EPHB6* клетки из экспериментальных групп 1 и 2 были использованы для проведения функциональных тестов.

По результатам МТТ-теста жизнеспособность клеток после трансфекции в группе токс-контроля варь-

ировалась от 90 до 82% (рис. 3, а). Жизнеспособность клеток в группе с нокдауном *GAPDH* снизилась до $38 \pm 5\%$ по сравнению с токс-контролем, который условно принимался за 100% (см. рис. 3, б). При оценке жизнеспособности клеток Cal-27 и 293FT с помощью МТТ-теста после трансфекции не было выявлено статистически значимых различий между контрольной и экспериментальными группами (см. рис. 3, в).

В модельных системах оценки миграции показано, что нокдаун гена *EPHB6* приводит к значимому снижению миграционной активности более чем на 40% в клеточных линиях Cal-27 и 293FT по сравнению с контролем (рис. 4). При оценке инвазивного потенциала клетки 293FT продемонстрировали значительно более высокую способность к проникновению через матриксный барьер по сравнению с контролем и с линией Cal-27 (рис. 4). Инвазивная активность клеток Cal-27 была ингибирована на 90% по сравнению с контрольной группой (рис. 5).

При оценке способности клеток линии 293FT к формированию сфероидов после нокдауна гена *EPHB6* значимых различий в морфологии трехмерных структур экспериментальных миРНК 1 и 2 по сравнению с контрольной группой выявлено не было: клетки формировали плотный округлый сфероид с ровными контурами и четкими краями (рис. 6). Клетки Cal-27 с нокдауном *EPHB6* в экспериментальных группах 1 и 2 образовывали сфероиды меньшего размера с неровными контурами по сравнению с контрольной группой (см. рис. 6). Наблюдаемая морфология указывает на слабую межклеточную адгезию и низкую туморогенную способность: сфероиды характеризовались рыхлой структурой, легко распадались, рядом с мелкими основными сфероидами наблюдались мелкие агрегаты.

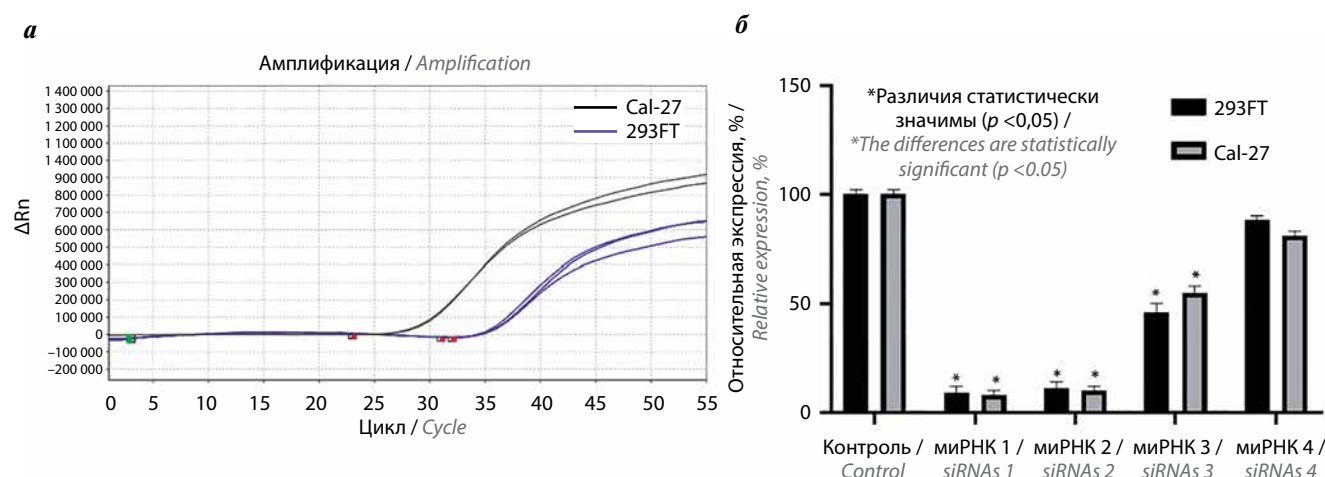


Рис. 2. Экспрессия гена *EPHB6*: а — в контрольных образцах; б — в экспериментальных группах малых интерферирующих РНК (миРНК). ΔRn — величина нормализованного флуоресцентного сигнала за вычетом фонового шума; миРНК 1 — малые интерферирующие РНК (миРНК) экспериментальной группы 1; миРНК 2 — миРНК экспериментальной группы 2; миРНК 3 — миРНК экспериментальной группы 3; миРНК 4 — миРНК экспериментальной группы 4

Fig. 2. *EPHB6* gene expression: а — in control samples; б — in experimental groups. ΔRn — value of the normalized fluorescent signal minus background noise; siRNAs 1 — experimental group 1 small interfering RNAs (siRNAs); siRNAs 2 — experimental group 2 siRNAs; siRNA 3 — experimental group 3 siRNAs; siRNAs 4 — experimental group 4 siRNAs

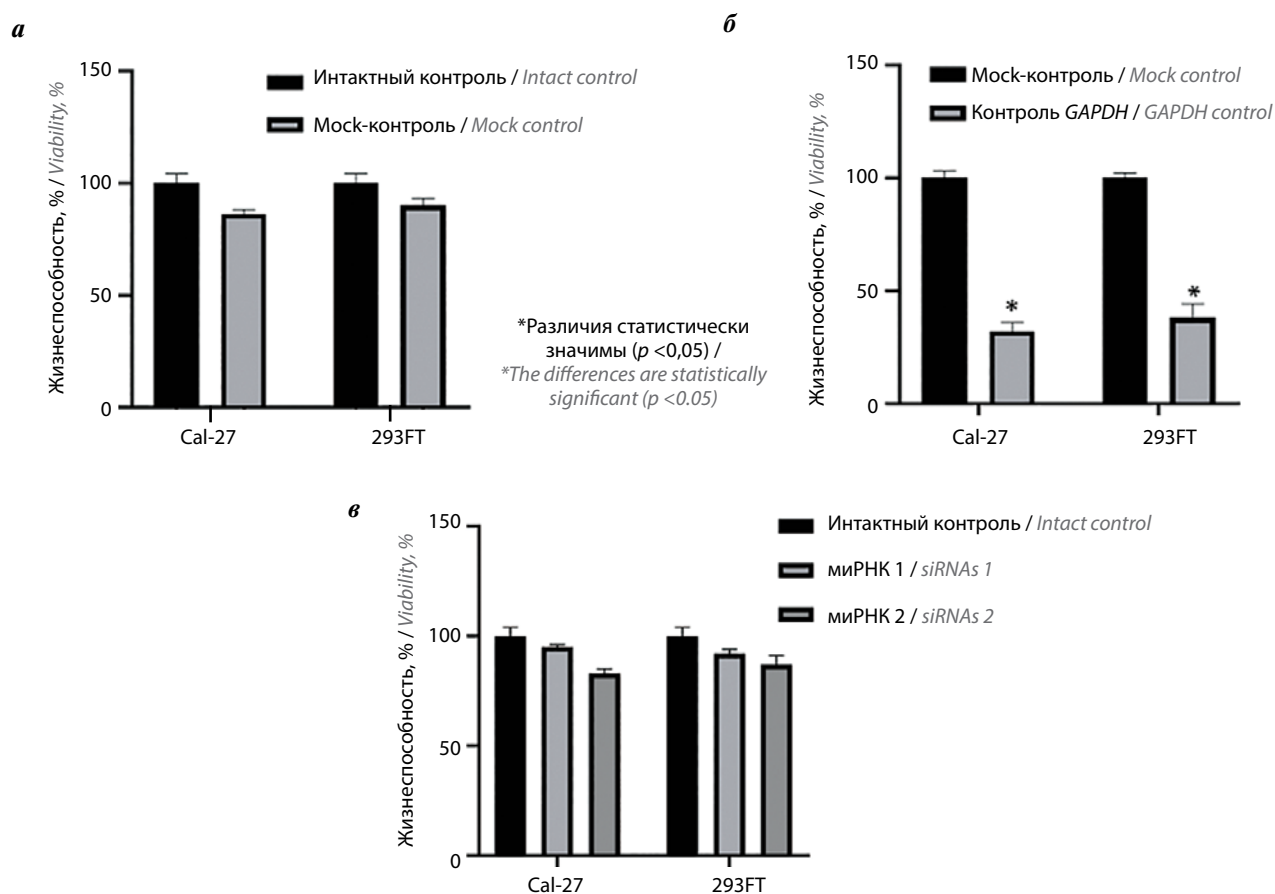


Рис. 3. Жизнеспособность клеток: а – группа интактного контроля и контроля трансфекции (mock-контроль); б – группа контроля трансфекции (mock-контроль) и контроля GAPDH; в – малые интерферирующие РНК (миРНК) экспериментальных групп. миРНК 1 – миРНК экспериментальной группы 1; миРНК 2 – миРНК экспериментальной группы 2

Fig. 3. Cell viability: а – intact control and transfection control (mock control); б – transfection control (mock control) and GAPDH control; в – small interfering RNAs (siRNAs) of experimental groups. siRNA 1 – experimental group 1 siRNAs; siRNA 2 – experimental group 2 siRNAs

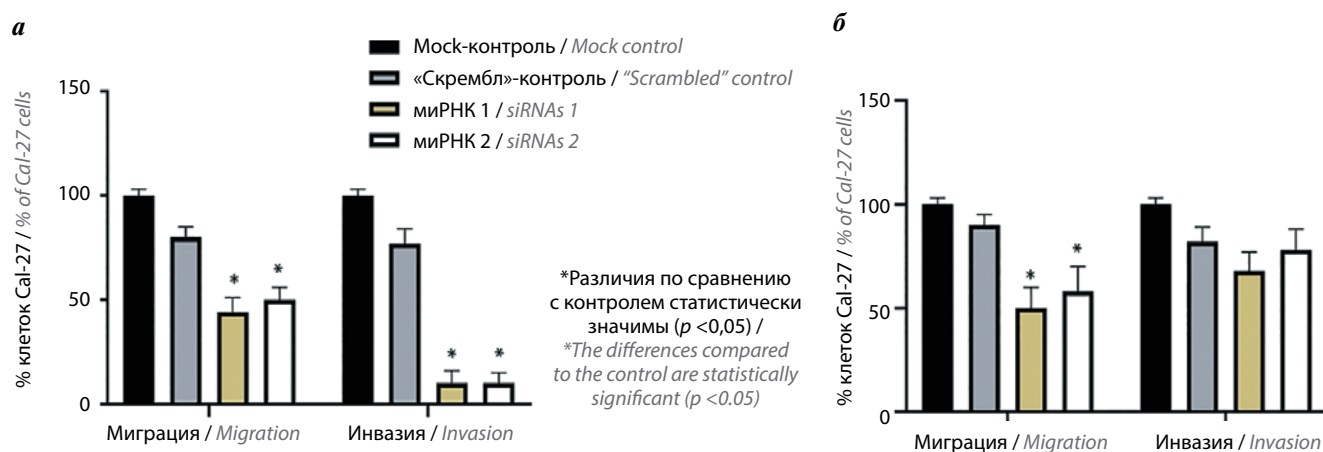


Рис. 4. Результаты анализа миграции и инвазии клеток: а – Cal-27; б – 293FT. миРНК 1 – малые интерферирующие РНК экспериментальной группы 1; миРНК 2 – малые интерферирующие РНК экспериментальной группы 2

Fig. 4. Results of cell migration and invasion analysis expressed as percentage: а – Cal-27; б – 293FT. siRNAs 1 – experimental group 1 small interfering RNAs; siRNAs 2 – experimental group 2 small interfering RNAs

Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что *EPHB6* влияет на миграционную активность, однако его вклад в поддержание инвазивного

потенциала и структурной целостности сфероидов варьирует в зависимости от типа клеток. Если в клетках карциномы языка Cal-27 *EPHB6* также оказывает

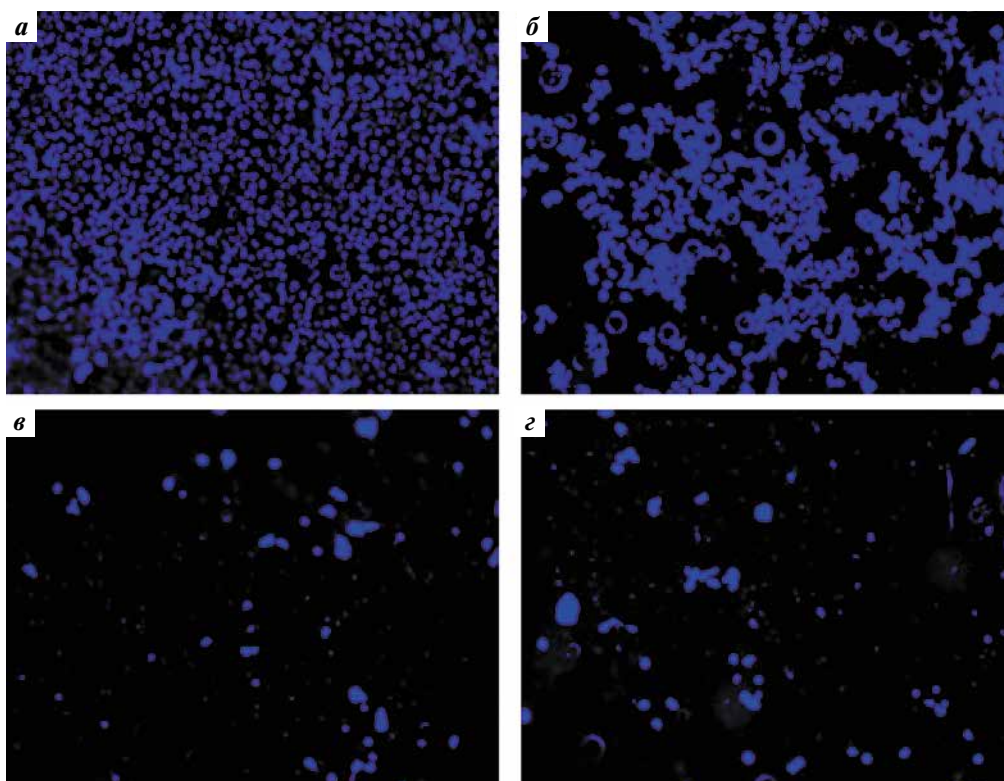


Рис. 5. Флуоресцентная микроскопия клеточной линии Cal-27 при оценке инвазивной способности: а – группа тоск-контроля; б – группа неспецифической малой интерферирующей РНК (миРНК) «скрембл»; в – миРНК экспериментальной группы 1; г – миРНК экспериментальной группы 2
Fig. 5. Fluorescence microscopy of the Cal-27 cell line in the assessment of invasive potential: а – mock control group; б – non-specific scrambled small interfering RNA (siRNA) group; в – experimental group 1 siRNA; г – experimental group 2 siRNA

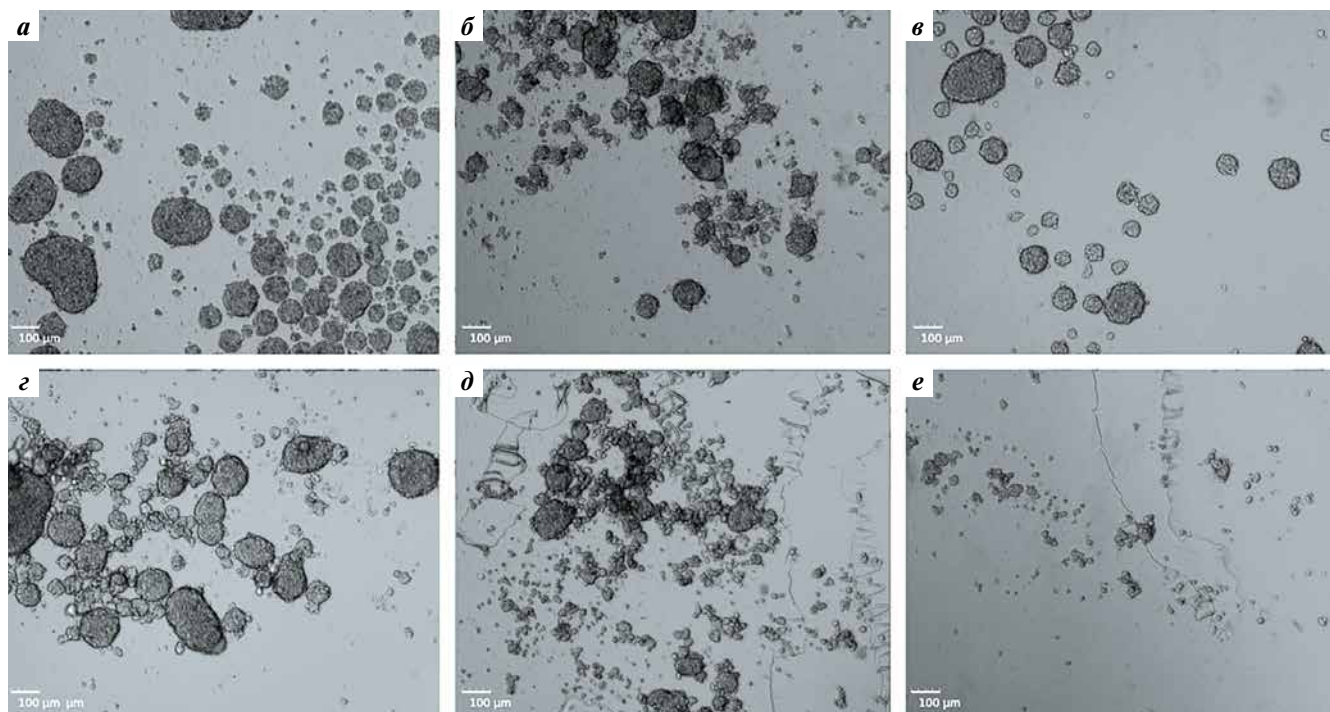


Рис. 6. Микроскопия клеточных линий при оценке опухолевой способности: а – группа тоск-контроля 293FT; б – группа неспецифической малой интерферирующей РНК (миРНК) «скрембл» 293FT; в – экспериментальная группа миРНК 293FT; г – группа тоск-контроля Cal-27; д – группа неспецифической миРНК «скрембл» Cal-27; е – миРНК экспериментальной группы 1 Cal-27
Fig. 6. Microscopy of cell lines in the assessment of tumorigenic potential: а – 293FT, mock control; б – 293FT, scrambled siRNA; в – 293FT, experimental small interfering RNA (siRNA); г – Cal-27, mock control; д – Cal-27, scrambled siRNA; е – Cal-27, experimental group 1 siRNA

влияние на туморогенность и инвазию, то в линии 293FT его подавление не оказывает значимого влияния на данные процессы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные функциональных тестов свидетельствуют о том, что *EPHB6* играет ключевую роль в поддержании инвазивного и миграционного фенотипов клеток. Эти результаты коррелируют с данными многочисленных исследований, подчеркивающих фундаментальное значение рецепторов семейства Eph в контроле над клеточной подвижностью, пространственной полярностью и динамикой клеточно-матриксных взаимодействий [13–15].

Наблюдаемые изменения морфологии сфероидов Cal-27 с нокдауном *EPHB6* свидетельствуют о нарушении трехмерной организации клеток, что также согласуется с данными литературы, по которым сигнальный путь Eph/ephrin регулирует клеточную адгезию и экспрессию транскрипционных факторов эпителиально-мезенхимального перехода [16, 17]. С учетом регуляторной роли *EPHB6* можно предположить, что генетические изменения в этом гене непосредственно влияют на клеточный фенотип. Согласно результатам наших предыдущих исследований, мутации в *EPHB6* (сдвиг рамки считывания, точковые несинонимичные замены) влияют на функцию белка (согласно оценке с использованием биоинформатических инструментов (Sorting Intolerant From Tolerant и Polymorphism

Phenotyping), и ассоциированы с повышенным риском рецидивирования у пациентов [7]. Вероятно, выявленные мутации модулируют межклеточную адгезию и подвижность, хотя точные молекулярные механизмы, лежащие в основе этих изменений, требуют дальнейшего изучения.

Несмотря на убедительность полученных данных, их интерпретацию следует проводить с учетом ряда ограничений. Двухмерные и трехмерные модели *in vitro* не полностью воспроизводят сложное микроокружение опухоли. Валидация полученных данных на ортотопических моделях *in vivo* может использоваться для проверки выдвинутой гипотезы о влиянии нокдауна *EPHB6* на клеточные функции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что подавление экспрессии *EPHB6* не только ингибирует миграцию и инвазию, но и снижает способность клеток РПП к поддержанию туморогенного потенциала *in vitro*. Предполагается, что подавление миграции, инвазии и туморогенности клеток опосредовано участием сигнального каскада Eph/ephrin в контроле ремоделирования цитоскелета, клеточной адгезии и экспрессии регуляторов эпителиально-мезенхимального перехода. Полученные данные обосновывают целесообразность дальнейшего изучения функциональной значимости мутаций в гене *EPHB6*, обнаруженных при рецидивах РПП у молодых пациентов.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e s

1. Lenoci D., Moresco E., Cavalieri S. et al. Oral cancer in young adults: incidence, risk factors, prognosis, and molecular biomarkers. *Front Oncol* 2024;20;14:1452909. DOI: 10.3389/fonc.2024.1452909
2. Da Silva Souto A.C., da Silva B.N.M., Heimlich F.V. et al. Epidemiological landscape of tongue cancer in younger patients in a National Cancer Center in Brazil. *Sci Rep* 2024;14(1);30573. DOI: 10.1038/s41598-024-83470-9
3. Kolegova E.S., Patysheva M.R., Larionova I.V. et al. Early-onset oral cancer as a clinical entity: aetiology and pathogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2022;51(12):1497–509. DOI: 10.1016/j.ijom.2022.04.005
4. Hong X., Quimby A.E., Mavedatnia D. et al. Oral cavity squamous cell carcinoma in young patients: a multi-institutional study of the Canadian Head & Neck Collaborative Research Initiative. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2025;54:19160216251351562. DOI: 10.1177/19160216251351562
5. Простакишина Е.А., Дампилова Т.Д., Кононова Л.А. и др. Молекулярный ландшафт рака полости рта у молодых пациентов. *Генетика* 2023;59(11):1290–302. DOI: 10.31857/S0016675823110103
Prostakishina E.A., Dampilova T.D., Kononova L.A. et al. The molecular landscape of oral cancer in young patients. *Genetika = Russian Journal of Genetics* 2023;59(11):1290–302. DOI: 10.31857/S0016675823110103
6. Patysheva M.R., Kolegova E.S., Khozyainova A.A. et al. Revealing molecular mechanisms of early-onset tongue cancer by spatial transcriptomics. *Sci Rep* 2024;14:26255. DOI: 10.1038/s41598-024-76044-2
7. Колегова Е.С., Коробейникова А.А., Воробьев Р.С. и др. Генетические нарушения рака полости рта, ассоциированные с прогрессированием заболевания в молодом возрасте. *Генетика* 2025;61(5):67–77. DOI: 10.31857/S0016675825050064
Kolegova E.S., Korobeinikova A.A., Vorobev R.S. et al. Genetic alterations of oral cancer associated with progression in young adult. *Genetika = Russian Journal of Genetics* 2025;61(5):67–77. (In Russ.). DOI: 10.31857/S0016675825050064
8. Liang L.Y., Geoghegan N.D., Mlodzianoski M. et al. Co-clustering of EphB6 and ephrinB1 in trans restrains cancer cell invasion. *Commun Biol* 2024;7(1):461. DOI: 10.1038/s42003-024-06118-4
9. Strozen T.G., Sharpe J.C., Harris E.D. et al. The EphB6 receptor: kinase-dead but very much alive. *Int J Mol Sci* 2021;22(15):8211. DOI: 10.3390/ijms22158211
10. Naito Y., Yoshimura J., Morishita S., Ui-Tei K. siDirect 2.0: updated software for designing functional siRNA with reduced seed-dependent off-target effect. Available at: <https://sidirect2.rnai.jp/doc>
11. National Center for Biotechnology Information. NCBI resource coordinator. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

12. InvivoGen. siRNA Wizard: Online Tool to Choose and Design short hairpin RNAs. Available at: <https://www.invivogen.com/sirnazard/>
13. Shi J., Lyu C. The role of eph/ephrin-driven actomyosin contractility in promoting cell segregation and boundary formation. *Int J Mol Sci* 2026;27(7):3250. DOI: 10.3390/ijms27073250
14. Poliakov A., Cotrina M., Wilkinson D.G. Diverse roles of eph receptors and ephrins in the regulation of cell migration and tissue assembly. *Dev Cell* 2004;7(4):465–80. DOI: 10.1016/j.devcel.2004.09.006
15. Darling T.K., Lamb T.J. Emerging roles for eph receptors and ephrin ligands in immunity. *Front Immunol* 2019;10:1473. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01473
16. Pasquale E.B. Eph receptors and ephrins in cancer: bidirectional signalling and beyond. *Nat Rev Cancer* 2010;10(3):165–80. DOI: 10.1038/nrc2806
17. Cho H.J., Hwang Y.S., Yoon J. et al. EphrinB1 promotes cancer cell migration and invasion through the interaction with RhoGDI1. *Oncogene* 2018;37(7):861–72. DOI: 10.1038/onc.2017.386

Вклад авторов

М.С. Третьякова: разработка концепции и дизайна исследования, руководство исследованием, статистическая обработка данных, написание текста статьи;

Е.С. Колегова, Р.С. Воробьев: сбор и обработка данных, написание текста статьи;

Е.А. Простакишина: сбор и обработка данных, подготовка иллюстративного материала;

И.К. Федорова, Д.Е. Кульбакин, Е.Л. Чойнзон, Е.В. Денисов: написание текста статьи, редактирование.

Authors' contributions

M.S. Tretyakova: development of the research concept and design, research management, statistical data processing, article writing;

E.S. Kolegova, R.S. Vorobyov: data collection and processing, article writing;

E.A. Prostakishina: data collection and processing, preparation of illustrative material;

I.K. Fedorova, D.E. Kulbakin, E.L. Choinzonov, E.V. Denisov: article writing, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.С. Третьякова / M.S. Tretyakova: <https://orcid.org/0000-0002-5040-931X>

Е.С. Колегова / E.S. Kolegova: <https://orcid.org/0000-0001-9122-3274>

Е.А. Простакишина / E.A. Prostakishina: <https://orcid.org/0000-0002-1405-3723>

И.К. Федорова / I.K. Fedorova: <https://orcid.org/0000-0002-7540-8532>

Р.С. Воробьев / R.S. Vorobev: <https://orcid.org/0000-0002-5705-8479>

Д.Е. Кульбакин / D.E. Kulbakin: <https://orcid.org/0000-0003-3089-5047>

Е.Л. Чойнзон / E.L. Choinzonov: <https://orcid.org/0000-0002-3651-0665>

Е.В. Денисов / E.V. Denisov: <https://orcid.org/0000-0003-2923-9755>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FGWM-2022-0015 (регистрационный номер темы 122020200182-8) и с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Funding. The study was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. FGWM-2022-0015 (state registration number 122020200182-8) and using the equipment of the Core facility “Medical genomics” of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences.

Статья поступила: 28.05.2026. Принята к публикации: 03.08.2026. Опубликовано онлайн: 18.09.2026.

Article submitted: 28.05.2026. Accepted for publication: 03.08.2026. Published online: 18.09.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-36-51>

Эпигенетическая регуляция канцерогенеза рака молочной железы

Э.Р. Асанова, Л.Д. Хакимова, И.О. Головкин, Т.П. Макалиш, Е.Ю. Зяблицкая

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»; Россия, 295051 Симферополь, б-р Ленина, 5/7

Контакты: Евгения Юрьевна Зяблицкая evgu79@mail.ru

Эпигенетические механизмы играют большую роль в патогенезе рака молочной железы (РМЖ), а также участвуют в прогрессировании, метастазировании и резистентности опухоли к терапии. Гетерогенность РМЖ во многом определяется уникальным эпигенетическим ландшафтом, формирующимся под влиянием разнообразных факторов. Однако, несмотря на очевидную гетерогенность, современные терапевтические подходы при данном заболевании ограничены оценкой гистологического подтипа, рецепторного статуса (рецепторы эстрогена, прогестерона, рецептор эпидермального фактора роста 2) и пролиферативной активности (Ki-67). Поскольку под эпигенетическим контролем находятся все важные онкогены и гены-супрессоры опухоли, а также ее микроокружения, изучение механизмов контроля и определение клинически значимых эпигенетических биомаркеров является актуальной задачей. На сегодняшний день существуют тысячи исследований, посвященных эпигенетической регуляции РМЖ, систематизация результатов которых поможет глубже понять сложные сверхгенетические механизмы канцерогенеза. В данном обзоре рассмотрены основные эпигенетические механизмы, включающие метилирование ДНК и РНК, пост-трансляционные модификации гистонов и регуляторную активность некодирующих РНК. Проанализированы особенности эпигенетической регуляции при разных молекулярно-биологических подтипах РМЖ с учетом новых диагностических и прогностических биомаркеров, оценены потенциальные терапевтические мишени. В статье также рассматриваются сигнальные пути, которые подвергаются регуляции со стороны эпигенетических модуляторов.

Ключевые слова: рак молочной железы, эпигенетика, онкогенез, метилирование ДНК, модификации гистонов, длинная некодирующая РНК, микроРНК, опухолевое микроокружение

Для цитирования: Асанова Э.Р., Хакимова Л.Д., Головкин И.О. и др. Эпигенетическая регуляция канцерогенеза рака молочной железы. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(3):36–51.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-36-51>

Epigenetic regulation of breast cancer carcinogenesis

E.R. Asanova, L.D. Khakimova, I.O. Golovkin, T.P. Makalish, E.Yu. Zyablitskaya

Order of the Red Banner of Labor S.I. Georgievsky Medical Institute, V.I. Vernadsky Crimean Federal University; 5/7 Lenina Boulevard, Simferopol 295051, Russia

Contacts: Evgeniya Yurievna Zyablitskaya evgu79@mail.ru

Epigenetic mechanisms play a significant role in breast cancer (BC) pathogenesis and contribute to the tumor's progression, metastasis and resistance to therapy. BC heterogeneity in large part is determined by unique epigenetic landscape created by various factors. However, despite obvious heterogeneity, modern therapeutic approaches in this disease are limited to evaluation of histological subtype, receptor status (estrogen, progesterone, human epidermal growth factor 2 receptors), and proliferative activity (Ki-67). All important oncogenes and tumor suppressor genes, as well as tumor microenvironment, are controlled by epigenetic factors, and study of these control mechanisms and identification of clinically significant epigenetic biomarkers is an important problem. Currently, there are thousands of studies on epigenetic regulation in BC, systematization of which will help to better understand complex mechanisms of carcinogenesis.

This review describes the main epigenetic mechanisms including DNA and RNA methylation, histone post-translational modification, and regulatory activity of non-coding RNAs. Characteristics of epigenetic regulation of various molecular and biological BC subtypes taking into account diagnostic and prognostic markers are analyzed, potential therapeutic targets are evaluated. The article also considers signaling pathways regulated by epigenetic modulators.

Keywords: breast cancer, epigenetics, oncogenesis, DNA methylation, histone modification, long noncoding RNA, microRNA, tumor microenvironment

For citation: Asanova E.R., Khakimova L.D., Golovkin I.O. et al. Epigenetic regulation of breast cancer carcinogenesis. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(3):36–51. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-36-51>

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) представляет собой гетерогенную группу опухолей и занимает лидирующую позицию в структуре онкологических заболеваний у женщин. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире регистрируют около 2 млн новых случаев данной патологии. Несмотря на значительный прогресс в лечении РМЖ, проблема терапии агрессивных форм этого заболевания, характеризующихся резистентностью к лечению, остается нерешенной.

Считается, что РМЖ отличается уникальным молекулярным профилем, поэтому совершенствование персонализированных подходов к его диагностике и лечению и расширение возможностей таргетной терапии имеют многообещающие прогнозы. Канцерогенез — сложный многоэтапный путь онкотрансформации, в котором участвуют различные молекулярно-генетические механизмы. Результаты многочисленных исследований показали, что помимо генетических изменений существенный вклад в развитие РМЖ вносят эпигенетические механизмы, которые осуществляют регуляцию экспрессии генов без изменения последовательности ДНК [1]. Эпигенетическая дисрегуляция, являясь ранним патогенетическим событием при опухолевой трансформации клетки, может служить биомаркером как для ранней диагностики, так и для оценки прогноза и реакции на терапию.

Уникальный эпигенетический ландшафт клеточных компонентов микроокружения опухоли считается одним из основных факторов, способствующих онкогенезу и развитию лекарственной резистентности при РМЖ [2]. Поскольку эпигенетические механизмы обратимы и доступны для управления низкомолекулярными соединениями, они представляют ценность для разработки эффективных лекарственных препаратов, что дает новые возможности для адъювантной терапии. Существуют различные виды эпигенетической регуляции, включающие метилирование ДНК и РНК, посттрансляционные модификации гистонов, регуляторную активность некодирующих РНК (нкРНК) и химические модификации РНК [3]. Эпигенетический контроль может затрагивать ключевые гены, отвечающие за процессы пролиферации, апоптоза, подвижности клеток, инвазии и другие жизненно важные функции.

Цель работы — анализ и систематизация основных эпигенетических механизмов, участвующих в патогенезе РМЖ, а также оценка современных тенденций

в их изучении с акцентом на новые диагностические, прогностические и терапевтические эпигенетические маркеры.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И РНК

Метилирование ДНК является важным механизмом поддержания нормальных функций и физиологии клеток путем регуляции экспрессии различных генов; его нарушение связано с онкогенезом. В основе метилирования лежит процесс присоединения метильной группы ($-\text{CH}_3$) к положению С5 цитозина на цитозин-гуаниновых (СрG) динуклеотидах промоторных участков генов. Метилирование ДНК катализируется ферментами ДНК-метилтрансферазами (DNMT), а деметилирование — ТЕТ-диоксигеназами (ТЕТ) и ДНК-метиладениндеметиلاзами (DMAD) [4]. Изменения в генах, кодирующих эти ферменты, приводят к нарушению равновесия между процессами метилирования-деметилирования и могут являться пусковыми механизмами канцерогенеза и нестабильности генома, дисрегуляции экспрессии генов и отклонения от иммунного ответа. Гипо- или гиперэкспрессия ферментов, участвующих в метилировании, характерна как для РМЖ, так и для других злокачественных новообразований (ЗНО). Также отмечена корреляция с подтипом опухоли, стадией и общей выживаемостью. Так, при трижды негативном РМЖ установлено повышение экспрессии *DNMT1* и *DNMT3a*, а гиперэкспрессия *DNMT3b* связана с худшим прогнозом течения заболевания [5]. Семейство ферментов DNMT — главная терапевтическая мишень при разработке препаратов, основанных на регуляции эпигенетических механизмов. На сегодняшний день существуют ингибиторы DNMT (DNMTi), которые одобрены для клинического применения в ряде стран, однако в России такие препараты применяются лишь в области онкогематологии и не используются для лечения солидных опухолей, в том числе РМЖ. Также показано, что примерно у 40 % женщин с трижды негативным РМЖ отмечается сверхэкспрессия ТЕТ1 вследствие гипометилирования СрG-островков гена, что коррелирует с низкой ОВ [6].

Аномальный эпигенетический профиль, вызванный нарушением баланса процессов метилирования, может быть представлен локальным гиперметилированием промоторных участков различных генов или глобальным гипометилированием генома в целом [7]. Гипометилирование ассоциировано с нестабильностью генома и аномальной экспрессией протоонко-

генов, а гиперметилирование чаще затрагивает гены-супрессоры опухолей, а также гены апоптоза, клеточного цикла, роста, адгезии и т. д.

На сегодняшний день изучен широкий спектр эпигенетических маркеров, связанных с РМЖ, в основе которых лежат определенные паттерны метилирования генов. Наиболее часто в литературе изучалось метилирование ДНК таких генов, как *RASSF1A*, *RARβ2* и *MGMT* в связи с РМЖ [8, 9]. Эти гены выполняют роль супрессоров опухоли, а их гиперметилирование связано с прогрессированием онкологических заболеваний. *RASSF1A* и *RARβ2* участвуют в регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток. Отмечено, что метилированные *RASSF1A* и *RARβ2* могут служить ранними маркерами РМЖ, поскольку их гиперметилирование обнаруживается еще на доклинической стадии развития опухоли, а его уровень достоверно выше в опухолевой ткани, чем в нормальной [8]. *MGMT* — это ключевой элемент системы прямой репарации ДНК. Получены противоречивые результаты относительно уровня его метилирования при ЗНО, однако показано, что гиперметилирование этого гена значимо коррелирует с высоким Ki-67 при люминальных подтипах РМЖ [9]. С помощью GLAD-ПЦР-анализа (ПЦР — полимеразная цепная реакция) составлена панель аномально метилированных генов *CCND2*, *BMP2*, *GALR1*, *SOX17*, *HMX2* и *HS3ST2*, которая показала высокую дифференциально-диагностическую ценность при анализе нормальной и опухолевой тканей у пациенток с РМЖ [10].

Результаты исследований продемонстрировали, что профиль метилирования генов показывает дифференциальные различия между молекулярно-биологическими подтипами РМЖ. Так, Z. Li и соавт. изучили статус метилирования 48 генов-кандидатов для диагностики и стратификации РМЖ и определили 13 эффективных прогностических генов (*CST6*, *DBC1*, *EGFR*, *GREM1*, *GSTP1*, *IGFBP3*, *PDGFRB*, *PPM1E*, *SFRP1*, *SFRP2*, *SOX17*, *TNFRSF10D*, *WRN*) и 6 генов, наиболее подходящих для дифференциальной диагностики подтипов РМЖ (*ACADL*, *ADAMTSL1*, *CAV1*, *NPY*, *PTGS2* и *RUNX3*) [11]. Впервые в исследовании 2019 г. показана диагностическая и прогностическая ценность гиперметилирования 3 генов *PRAC2*, *TDR10* и *TMEM132C* при РМЖ, о которых ранее не упоминалось в данном контексте [12]. Интересно, что экспрессия *TMEM132C* была снижена не только в здоровой ткани, но и в опухолях других локализаций, что позволяет отнести его к высокоспецифическим маркерам РМЖ. Однако эти данные требуют подтверждения. Отмечены значимые различия в уровне метилирования супрессорных генов *RASSF1A*, *CDO1* и *MEST* между РМЖ без метастазирования и метастазирующим РМЖ люминального В подтипа, а в уровне метилирования *WIF1* — между РМЖ без метастазирования и метастазирующим РМЖ люминального А подтипа [13]. А.И. Калинин и соавт. разработали молекулярно-генетические панели, име-

ющие прогностическую ценность для оценки выживаемости при разных подтипах РМЖ путем подбора сигнатур ДНК-метилирования из открытых данных проекта The Cancer Genome Atlas Breast Cancer [14]. Особое значение авторы отводят таким маркерам, как гены *BIRC5*, *PKNOX1*, *SPAG5*, *HDAC9*, *PSMA6*, повышенная экспрессия которых связана с худшими показателями выживаемости при РМЖ. При этом *SPAG5* является прогностическим маркером для ER+/-РМЖ (ER — рецептор эстрогена), а *HDAC9* — для ER-. Показано, что при гормональной терапии высокий уровень экспрессии гена *SPAG5* может достоверно предсказывать неблагоприятный прогноз у пациенток с ER+/-РМЖ, но улучшает выживаемость при применении антрациклинов [15]. В ER+-опухолях гиперметилирование гена *ESR1*, кодирующего ER, приводит к подавлению его экспрессии, что связано с развитием устойчивости к гормонотерапии. При HER2+/ER+-опухолях (HER2 — рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа) назначают терапию трастузумабом [16, 17]. KEAP1 — белок, регулирующий выживаемость клеток и процесс апоптоза в условиях окислительного стресса. Согласно данным исследований, гиперметилирование *KEAP1* чаще встречается в ER+/-РМЖ, а также связано с прогрессией опухоли и устойчивостью к химиотерапии, в том числе с использованием таксанов [18]. При трижды негативном РМЖ гиперметилирование *KEAP1* также связано с худшим прогнозом течения заболевания, однако при последовательной терапии эфиребицином/циклофосфамидом и таксанами прогноз значительно улучшается.

Глобальные изменения в метилировании ДНК отмечены при *BRCA1/2*-ассоциированных опухолях молочной железы, для которых характерен механизм сайт-специфического гиперметилирования [19]. При этом эпигенетические механизмы могут выступать регуляторами канцерогенеза как при спорадических, так и при наследственных формах РМЖ. Отмечено, что метилирование промотора гена *BRCA1* при спорадическом РМЖ обнаруживается почти в 1/3 случаев и может привести к таким же функциональным последствиям, как и при наличии мутации в этом гене при наследственном РМЖ [20]. Интерес представляют обнаруженные различия в ответах опухолей на химиотерапию в зависимости от того, каким механизмом «отключаются» гены (мутация или гиперметилирование), а также опухолей с *BRCA1/2* дикого типа [21]. Так, сообщается, что гиперметилирование *BRCA1* приводит к резистентности трижды негативного РМЖ к препаратам платины. Вероятно, детальное изучение этих механизмов может способствовать выделению клинико-терапевтических групп внутри популяции пациенток с трижды негативным РМЖ, что позволит скорректировать схемы химиотерапии и значительно улучшить ее эффективность.

В одном из последних исследований оценена роль гена-супрессора опухолей *ZNF662*, который препятст-

вует пролиферации, миграции и инвазии раковых стволовых клеток (РСК). Отмечено, что функционирование этого гена при трижды негативном РМЖ часто подавляется механизмом гиперметилирования его промотора и ведет к нарушениям в сигнальных путях PI3K/АКТ и STAT3 [22]. Также показано, что кислород-зависимые эпигенетические модификации, связанные с перепрограммированием фибробластов, ассоциированных с раком, приводят к прогрессированию РМЖ путем гипометилирования в промоторах *HIF-1α*, *PKM*, *LDHA* и гиперметилирования промотора *FBP1* [23].

Большой интерес в области эпигенетики РМЖ представляет исследование, посвященное абберантному метилированию генов системы апоптоза (*APAF1*, *BAK1*, *BAX*, *BCL2*, *BIM* и *DAPK1*), а также их кометилированию [24]. Впервые обнаруженное кометилирование генов системы апоптоза дает нам новое представление о механизмах эпигеномной регуляции в онкогенезе. Возможно, в основе такой регуляции лежит активация определенных сигнальных путей, что представляется перспективным для дальнейшего изучения.

Как было упомянуто выше, гипометилированию чаще подвергаются протоонкогены. Сообщается, что глобальное гипометилирование ДНК, в котором задействован фермент ТЕТ1, приводит к повышенной экспрессии таких онкогенов, как *Rad9*, *c-Fos*, *Ha-Ras*, *c-Myc* и другие, и служит причиной несбалансированных хромосомных транслокаций (разрывы ДНК,

делеции, дупликации) [19, 25, 26]. Сверхэкспрессия фермента TSTD1, вызванная гипометилированием промотора соответствующего гена, ассоциирована с пролиферацией опухоли и худшим ответом на терапию [27]. В исследовании D.A. Skaag и соавт. показана эпигенетическая дисрегуляция в 63 % случаев трижды негативного РМЖ, связанная с гипометилированием дифференциально метилированной области (DMR) белка калиевого канала TASK3 в сочетании с гиперэкспрессией кодирующего данный белок гена *KNCK9* [28]. Металлопептидаза ADAM12 является потенциальной терапевтической мишенью, а гипометилирование кодирующего гена может быть биомаркером неблагоприятного исхода при этом заболевании [29]. Недавно обнаружен еще один прогностический эпигенетический маркер, ассоциированный с худшими показателями выживаемости — гипометилированный ген *ATP1A1*, который приводит к сверхэкспрессии трансмембранного белка ATP1A1, регулирующего электрохимические градиенты ионов натрия и калия [30].

Механизм регуляции экспрессии генов посредством метилирования ДНК при канцерогенезе представлен на рис. 1.

На сегодняшний день известно около 200 различных модификаций РНК, играющих значимую роль в канцерогенезе [31]. Современные исследования подчеркивают роль метилирования РНК как наиболее распространенной посттранскрипционной модификации

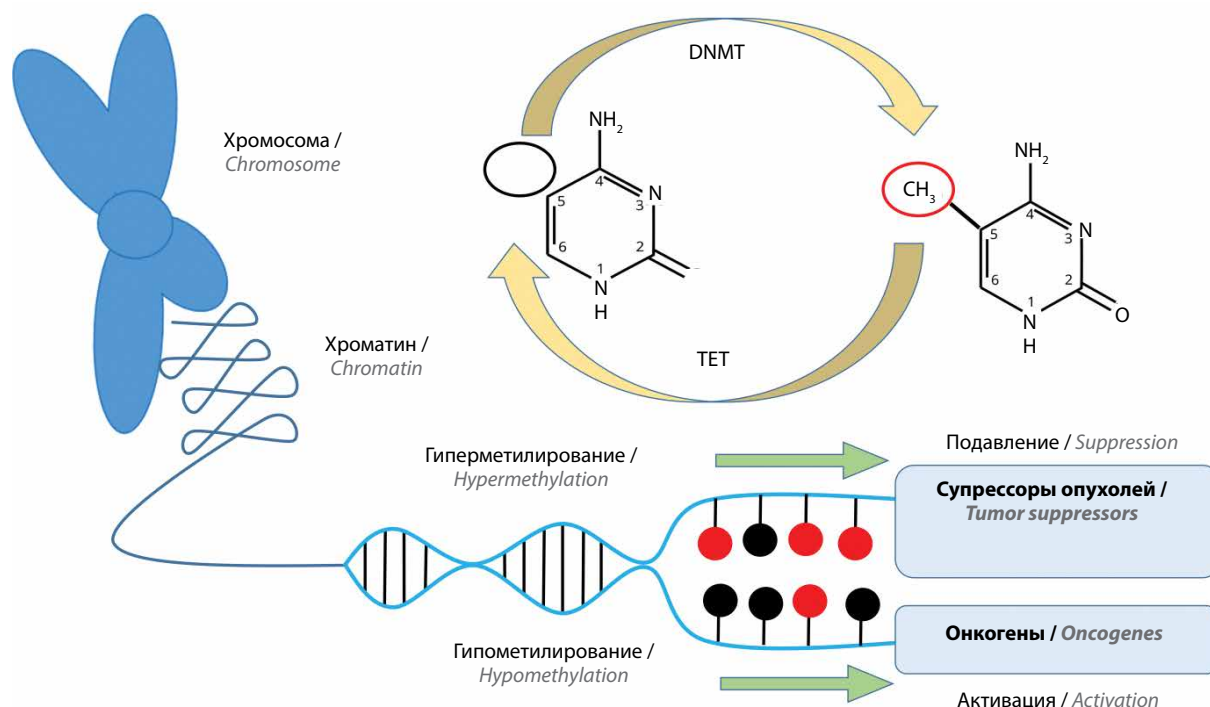


Рис. 1. Механизм регуляции экспрессии генов посредством метилирования ДНК при канцерогенезе
Fig. 1. Mechanism of gene expression regulation through DNA methylation in carcinogenesis

в биологии РМЖ. Метилирование РНК регулирует многие ключевые клеточные функции (такие как сплайсинг, стабильность и трансляция РНК) и считается важным механизмом модуляции иммунитета опухоли и регуляции процессов пролиферации, инвазии, метастазирования и т. д. [32]. Этот процесс заключается в присоединении метильных групп к различным остаткам в молекуле РНК с формированием специфических сайтов, например N6-метиладенозина (m6A). Процессы метилирования/деметиления РНК, как и ДНК, осуществляются с помощью специальных ферментов — метилтрансфераз, деметилаз, а также подвергаются регуляции особыми белками-«считывателями» [33]. Так, обнаружено, что сверхэкспрессия РНК-метилтрансфераз METTL3, METTL14 и РНК-деметилазы FTO способствует пролиферации и инвазии опухолевых клеток при РМЖ [34]. Z. Shi и соавт. выявили, что РНК-метилтрансфераза METTL16 влияет на посттранскрипционные модификации и эффективность процесса трансляции [35]. Согласно результатам исследований ключевая роль при РМЖ отводится метилированию m6A, N7-метилгуанозина (m7G), 5-метилцитозина (m5C), N1-метиладенозина (m1A) и N3-метилцитидина (m3C) [36]. Также показано, что метилирование РНК подавляется в адаптивных иммунных клетках во время метастазирования РМЖ, что подчеркивает его роль в иммунном ответе [37]. Совсем недавно выявлена роль метилирования рибосомальной РНК (рРНК) в экспрессии генов при РМЖ. Исследования включали оценку ландшафта 2'-О-метилирования рРНК в 195 образцах первичных опухолей молочной железы. Показана вариабельность метилирования рРНК у пациенток в зависимости от стадии и молекулярно-биологического подтипа опухоли [38]. При РМЖ химические модификации матричной РНК (мРНК) обеспечивают посттранскрипционную регуляцию более широкого эпигенетического ландшафта и могут способствовать активации онкогенных сигнальных путей [39].

Хотя о модификациях РНК стало известно еще несколько десятилетий назад, развитие более чувствительных и точных технологий, таких как высокопроизводительное секвенирование и усовершенствованная масс-спектрометрия, позволило к настоящему времени более детально изучить эти механизмы и их роль в онкогенезе.

МОДИФИКАЦИИ ГИСТОНОВ

Модификации гистонов — посттрансляционные динамические механизмы эпигенетической регуляции транскрипции генов, в основе которых лежит ремоделирование хроматина, обеспечивающее прохождение различных физиологических процессов в клетке [40]. Известны 5 основных гистоновых белков (H2A, H2B, H1, H3, H4), боковые цепи или «хвосты» которых содержат большое количество положительно заряженных остатков лизина и аргинина. Благодаря этому они

легко связываются с отрицательно заряженной ДНК и формируют нуклеосомы. Посттрансляционные модификации гистоновых «хвостов», такие как ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, рибозилирование и другие, приводят к изменению соотношения гетерохроматина и эухроматина в молекулах ДНК [41]. Как показывают многочисленные исследования, нарушение этих процессов тесно связано с канцерогенезом, в том числе при РМЖ [42–44]. Согласно данным недавних исследований, список известных модификаций гистонов быстро расширяется, что требует детального изучения их особенностей. Наиболее значимыми и изученными являются процессы метилирования и ацетилирования гистонов, при дисрегуляции которых формируются абберантные паттерны экспрессии онкогенов.

Механизм ацетилирования заключается в переносе ацетильной группы ($-\text{COCH}_3$) на остатки лизина боковых цепей гистонов ферментами гистонацетилаз (НАТ), в результате чего происходит декомпактизация нуклеосом и активация транскрипции. Обратный процесс — деацетилирование — осуществляется гистондеацетилазами (HDAC) и состоит в удалении ацетильной группы; хроматин становится более компактным и недоступным для транскрипции [45]. Дисбаланс этих процессов является ключевым фактором эпигенетически обусловленного онкогенеза.

Существует тесная связь между ацетилированием гистонов и РМЖ. Семейство ферментов НАТ включает 3 основных подсемейства: MYST, GNAT и p300/CBP [46]. В ходе ряда исследований выявлена повышенная экспрессия p300 при РМЖ, а также показана ее связь с активацией некоторых онкогенов [47, 48]. Помимо этого, известно, что p300 может влиять на скорость метаболизма эстрогена путем регуляции активности фермента COMT, снижая эстрогензависимую пролиферацию клеток РМЖ [49].

Механизм действия HDAC связан с «выключением» генов-супрессоров опухолей через блокирование их транскрипции. Во многих исследованиях показана связь аномальной сверхэкспрессии HDAC с агрессивным течением и худшей выживаемостью при РМЖ [50–52]. В ряде работ изучалась роль HDAC в прогрессировании РМЖ. Авторы пришли к выводу, что гиперэкспрессия изоформ HDAC 1, 6, 7, 8, 9 поддерживает инвазию опухолевых клеток [53–56]. Y. Su и соавт. продемонстрировали противоопухолевый эффект ингибиторов DNMT и HDAC на клеточных культурах трижды негативного РМЖ, показав, что эпигенетическое перепрограммирование подавляет рост клеток с фенотипом эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) [57]. Именно на этих эффектах основано применение противоопухолевых препаратов — ингибиторов ферментов.

Метилирование и деметилирование гистонов также являются ключевыми эпигенетическими механизмами, которые регулируют экспрессию генов через

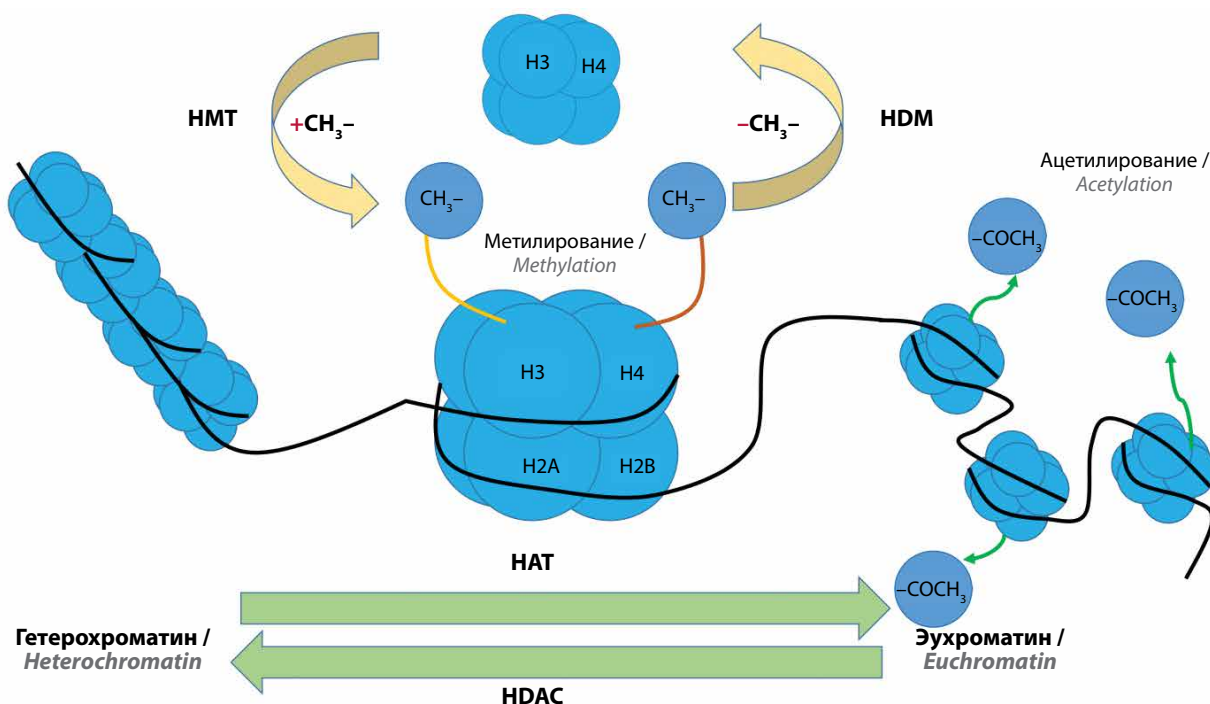


Рис. 2. Модификация гистонов как эпигенетический механизм регуляции активности генов. HDAC — гистондеацетилазы; HAT — гистонацетилазотрансферазы; HDM — гистоновые деметилазы; HMT — гистоновые метилтрансферазы

Fig. 2. Histone modification as an epigenetic mechanism for regulating gene activity. HDAC — histone deacetylases; HAT — histone acetyltransferases; HDM — histone demethylases; HMT — histone methyltransferases

активацию или подавление транскрипции в зависимости от метилированных аминокислот. Метилируются обычно остатки лизина и аргинина в «хвостах» гистонов H3 и H4 с помощью гистоновых метилтрансфераз (HMT). Обратный процесс (деметилирование) катализируется гистоновыми деметилазами (HDM). Также регуляторами модификаций являются белки, считывающие метилирование гистонов — HMRP, однако данные об их роли ограничены. В ходе исследования Y.N. Cao и соавт. определена панель из 8 регуляторов модификации гистонов (HMMR) для прогнозирования течения болезни при *BRCA*-положительном РМЖ [58]. Очевидно, что полученные данные дают большие возможности для разработки системы оценки прогноза течения *BRCA*-зависимого РМЖ, а также его устойчивости к лекарственной терапии.

Имеются данные об эпигенетических дестабилизирующих эффектах на ферменты HMT и HDM в опухолях молочной железы [59, 60]. При РМЖ часто наблюдаются амплификация и сверхэкспрессия гистоновой метилтрансферазы EZH2, которая приводит к подавлению транскрипции различных генов, катализируя метилирование H3K27, следствиями чего являются активация ЭМП и образование РСК [61]. Также обнаружено, что гиперметилирование H3K79, осуществляемое метилтрансферазой DOT1L, связано с высокой инвазивностью опухоли при трижды негативном РМЖ [62]. Гиперэкспрессия гистоновой лизин-специфической

деметилазы 1 (LSD1) коррелирует с ранним прогрессированием РМЖ, о чем сообщается в разных исследованиях [63]. Аргинин-метилтрансферазы белков, а именно PRMT1 и PRMT5, регулируют важные сигнальные пути, участвующие в онкогенезе РМЖ [64].

Относительно недавно был обнаружен еще один вид модификации гистонов, участвующий в развитии трижды негативного РМЖ — лактирование H4K12, индуцированное лактатом [65]. Исследователи отметили, что в результате этого подавляется экспрессия гена *SLFN5*, участвующего в иммунном ответе и клеточном цикле, что ведет к нарушению апоптоза в опухолевых клетках.

Из вышеизложенного следует, что модификации гистонов можно считать важным звеном в эпигенетически обусловленных механизмах канцерогенеза РМЖ. Количество исследований в этой области продолжает расти с каждым годом, появляются новые перспективные мишени для лекарственной терапии.

Модификация гистонов как эпигенетический механизм регуляции активности генов представлена на рис. 2.

РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Известно, что в геноме человека лишь 2 % РНК участвуют в трансляции, а остальные 98 % представлены нкРНК. Эпигенетические изменения при РМЖ могут

регулироваться этими РНК. Особый интерес представляют 2 основных класса нкРНК: короткие некодирующие микроРНК (miR) и длинные нкРНК (днРНК).

МикроРНК — это короткие некодирующие молекулы РНК длиной около 20–30 пар нуклеотидов, которые циркулируют в биологических жидкостях организма в составе везикул и могут действовать как межклеточные сигнальные молекулы. Они не только сами подвергаются эпигенетической регуляции, но и влияют на эпигенетический ландшафт, регулирующий экспрессию генов, таким образом, участвуют во всех основных физиологических процессах, включая клеточный цикл, апоптоз, дифференцировку клеток и межклеточные взаимодействия [66]. На сегодняшний день накоплено много данных об эффектах микроРНК при РМЖ. Они могут выступать как положительными, так и отрицательными регуляторами миграции и инвазии опухолевых клеток, действуя как супрессоры опухоли или приводя к ее прогрессии, регулируя сигнальные пути и клетки микроокружения, участвуя в ремоделировании внеклеточного матрикса. Некоторые микроРНК могут ингибировать экспрессию онкогенов, способствующих развитию опухолей молочной железы. Известно, что онкосупрессорные свойства при РМЖ способны проявлять miR-22-3p, -30, -31, -34a, -195, -200, -203, -219, -483, -10b, -148, -149, -335-5, -449a и ряд других микроРНК. Так, показано, что miR-203 ингибирует экспрессию онкогенов *BIRC5* и *LASP1* при трижды негативном РМЖ [67]. В прогрессировании РМЖ участвуют miR-9, -17-5p, -15a, -16, -21, -221/222, -10b, -29a-3p, -155, -181, -218-5p, -342 и др. [66]. Стоит отметить, что для разных молекулярно-биологических подтипов РМЖ характерны свои паттерны и уровень экспрессии микроРНК.

На примере разработанной исследователями панели, включающей гиперметилованные гены апоптоза (*APAF1*, *BAX*, *BIM/BCL2L11*, *DAPK1*) в сочетании с гиперметилованным геном *MIRG125bG1*, показаны высокие диагностические чувствительность и специфичность правильно подобранных комбинаций биомаркеров для ранней диагностики РМЖ [68]. Так, выявлено, что уровни метилирования генов, кодирующих miR-34b/c, -193a, -9-1, -9-2 и -129-2, в злокачественных опухолях молочной железы значимо выше, чем в прилежащей неопухолевой ткани [69]. Аномальное гипометилирование генов микроРНК, связанных с онкогенезом, и повышение экспрессии соответствующих белков является более редким событием, но имеет доказанную связь с химиорезистентностью. Так, известно, что деметилирование промоторов генов, кодирующих miR-663, -200c и -93, ассоциировано с устойчивостью опухолей к химиотерапии, в том числе с использованием доксорубина, доцетаксела и циклофосфамида [70, 71]. МикроРНК могут как прямо влиять на гены-супрессоры опухолей, так и воздействовать на микроокружение опухоли. Например, miR-10 оказывает дестабилизирующее действие

на ген-супрессор опухоли *HOXD10*, регулирующий межклеточную адгезию [72]. Также описано онкогенное действие микроРНК путем воздействия на различные сигнальные пути. В исследовании L. Ren и соавт. MiR-454 идентифицирована как молекула, модулирующая сигнальный путь Wnt/ β -катенин, поддерживающий метастазирование РМЖ [73]. Примером действия микроРНК на микроокружение опухоли может служить влияние miR-21 на экспрессию антиангиогенных факторов, таких как PTEN, что приводит к усилению ангиогенеза опухоли [74]. Также многие микроРНК служат прогностическими маркерами лимфогенного метастазирования и рецидива РМЖ. В частности, панель, состоящая из miR-191-5p, -214-3p, -451a и -489, была создана для прогнозирования метастазирования РМЖ в лимфатические узлы, а включающая hsa-miR-155-5p — для оценки риска развития рецидива [75].

На протяжении последних лет стала активно изучаться онкогенная роль днРНК, длина которых превышает 200 нуклеотидов. Они участвуют во многих биологических процессах, регулируя экспрессию генов механизмами ремоделирования хромосом, транскрипционных и посттранскрипционных модификаций, в том числе через взаимодействие с микроРНК [76]. Показано, что днРНК могут разнонаправленно регулировать цикл Кребса, подавляя или стимулируя перераспределение энергетических потоков при РМЖ [77]. Нарушение регуляции днРНК не только приводит к развитию РМЖ, но и влияет на клиническое течение и прогноз заболевания [78, 79]. Так, днРНК, ассоциированная с уротелиальной карциномой 1 (UCA1), которая aberrантно экспрессируется вследствие эпигенетической регуляции белком — организатором хроматина SATB1 при ЗНО, участвует в метастазировании при агрессивных формах РМЖ [80]. Резистентность ER+ -опухолей к ингибиторам ароматазы также может быть связана с дисрегуляцией днРНК. В частности, показано, что гиперэкспрессия DIO3OS усиливает аэробный гликолиз и способствует независимой от эстрогена пролиферации клеток *in vitro* и *in vivo* [81]. В последние годы доказана роль днРНК SOX9-AS1 в развитии метастазов при агрессивных формах BRCA-ассоциированного РМЖ посредством эпигенетической регуляции гена *GFRAL*, кодирующего белок семейства рецепторов нейротрофического фактора глиальных клеток [82]. Обнаружено, что прогрессия опухолевого роста при трижды негативном РМЖ сопровождается повышенной экспрессией днРНК FAISL (Fas-associated RNA for IL-11), регулирующей протеолиз фокальной киназы адгезии (FAK) [83]. MALAT1 — это хорошо известная днРНК, участвующая в процессинге РНК и эпигенетической регуляции генов. Отрицательная роль MALAT1 показана в патогенезе многих заболеваний человека, включая РМЖ [84].

Помимо участия в канцерогенезе, днРНК могут оказывать и супрессорные эффекты на опухоль.

Например, днРНК GAS5 является эпигенетическим регулятором, подавляющим развитие и распространение РМЖ [85]. Сообщается о супрессорном влиянии MEG3 на опухолевые клетки при РМЖ, что осуществляется посредством воздействия данной днРНК на экспрессию miR-182 и miR-29 [86]. Также отмечена роль днРНК BC069792, которая действует на микроРНК (hsa-miR-658 и hsa-miR-4739) как молекулярная губка, тем самым подавляя прогрессию опухолей молочной железы [87].

Благодаря исследованиям последних лет, стали известны эффекты нкРНК, зависящие от их уникальной молекулярной структуры, а также показана большая роль этих молекул в эпигенетической регуляции как онкогенов, так и генов-супрессоров опухоли при РМЖ.

Механизм действия микроРНК при РМЖ представлен на рис. 3.

СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ В ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Эпигенетические механизмы, которые были рассмотрены выше, также играют большую роль в регуляции экспрессии множества звеньев сигнальных путей, связанных со стимуляцией РСК. К ним относятся пути Wnt/ β -катенин, Notch, Hedgehog (Hh), Hippo/YAP и трансформирующего фактора роста β (TGF- β) [88].

Сигнальный путь Wnt/ β -катенин регулирует процессы клеточного развития и дифференцировки, пролиферации, апоптоза и поддержания плюрипотентности клеток путем модуляции экспрессии генов-мишеней

фактором транскрипции β -катенином [89]. При РМЖ, как и при других ЗНО, отмечается гиперактивация данного пути в популяции опухолевых клеток. Эпигенетически обусловленная дисфункция включает метилирование ДНК, модификации гистонов и модуляции нкРНК [90–92]. При этом метилирование ДНК может затрагивать как гены-мишени (*CCND1* и *MYC*), так и гены-антагонисты (*SFRP-1*, *DKK1*, *WIF-1* и *AXIN2*) данного сигнального пути [93, 94]. Его аномальная активация пути связана с дестабилизацией цитозольной формы β -катенина [95]. Показано, что при инвазивной протоковой карциноме экспрессия этого белка стабильно повышена как в мембранах, так и в ядрах опухолевых клеток и имеет положительную корреляцию с экспрессией Ki-67 [96, 97]. Также существуют данные, что β -катенин, стимулируя экспрессию цитоплазматических металлопротеиназ (MMP) MMP-9 и MMP-12, приводит к возникновению инвазивных свойств опухоли [97]. Отметим, что при инвазивной дольковой карциноме данные об экспрессии β -катенина и Е-кадгерина довольно противоречивы [98–100]. Возможно, это связано с гетерогенностью данной опухоли. В то же время гиперметилирование генов-ингибиторов сигнального пути Wnt/ β -катенин *WIF1*, *SFRP2*, *SFRP5*, *DKK*, *WNT5a* и *APC* приводит к подавлению их экспрессии, что играет ключевую роль в формировании лекарственной устойчивости РСК [101].

Hedgehog является консервативным сигнальным путем регуляции эмбрионального развития клеток. Известны 2 основных механизма канцерогенеза, связанных с активацией данного пути: независимая от

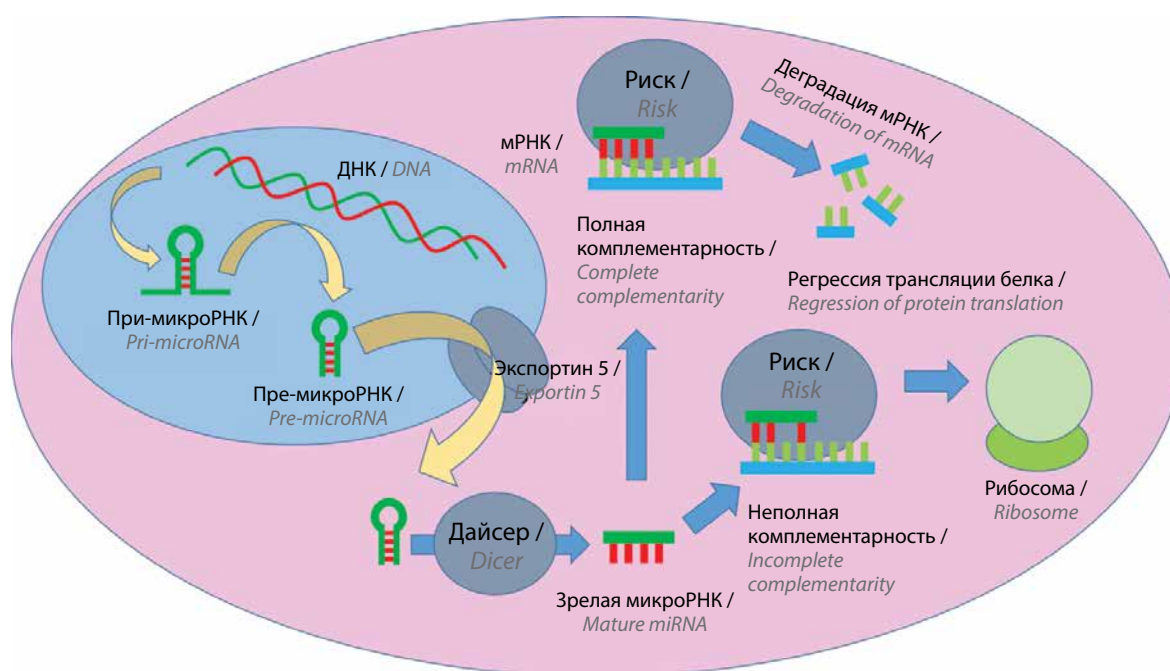


Рис. 3. Механизм действия микроРНК при раке молочной железы. мРНК — матричная РНК
Fig. 3. Mechanism of action of miRNA in breast cancer. mRNA — messenger RNA

лигандов активация компонентов Hh и лигандзависимая избыточная экспрессия. Гипометилирование промотора важного онкогена *SHH* с сопутствующей активацией транскрипционного ядерного фактора κ -би (NF- κ B) способствует гиперэкспрессии лиганда SHH, что запускает каскад активации нижестоящих звеньев сигнального пути Hh [102, 103]. Интересно, что избыточная экспрессия лигандов Hh связана с базально-клеточным РМЖ [104]. Белки семейства GLI, действуя как факторы транскрипции в ядре клетки, также могут активировать транскрипцию генов-мишеней. В ряде исследований показано, что экспрессия GLI1 связана с подавлением экспрессии Е-кадгерина в тканях молочной железы мышей во время беременности [105]. Таким образом, путь Hh ассоциирован с ЭМП при РМЖ. В патогенезе ряда злокачественных опухолей показаны и другие механизмы эпигенетической регуляции Hh-пути, однако они менее изучены при РМЖ.

Внутриклеточный сигнальный путь Notch — это уникальный эволюционно-консервативный регулятор межклеточных взаимодействий, определяющий дифференцировку клеток. Дисрегуляция Notch является одним из патогенетических механизмов развития злокачественных опухолей молочной железы, предстательной железы, мочевого пузыря, легких и др. Гиперактивация Notch, поддерживающая метастазирование РМЖ, связана с действием ключевого фермента модификации гистонов EZH2 и ряда других ферментов и может обеспечиваться метилированием генов и регуляцией нКРНК [106–108]. С помощью биоинформатических методов было выявлено, что при РМЖ микроРНК и днРНК модулируют сигнальный путь Notch через влияние на гены-мишени [109]. Кроме того, устойчивость опухолевых клеток к химиотерапии также может быть обусловлена усиленной экспрессией лекарственных АТФ-связывающих (АТФ — аденозинтрифосфат) переносчиков и белков множественной лекарственной устойчивости (MDR1 и MRP1), вызванной аномальными эпигенетическими влияниями на Notch и другие сигнальные пути [110, 111]. В исследованиях сообщается, что экспрессия рецепторов и лигандов сигнального пути Notch при РМЖ связана с подтипом, степенью злокачественности и стадией опухоли, а также зависит от скорости метилирования [112, 113]. Так, в одной из недавних работ приводятся профили эпигенетически экспрессируемых белков для разных подтипов РМЖ [109]. Исследователи обнаружили, что для люминального А подтипа характерна экспрессия WNT5A, ARRB1, HES1, JAG1 и HEYL, для люминального В подтипа — экспрессия SKP1, APH1A, CCND1, FBXW11, KAT2A, RBX1, PSEN2 и PSENEN, HER2-положительный подтип характеризуется гиперэкспрессией WNT2, NOTCH3, PPARD, DTX2, DTX4, LFNG, а трижды негативный РМЖ связан с повышением экспрессии NOTCH2, MAML2, DLL1, DTX1, FZD1, FZD5 и FZD7. Что касается эпи-

генетической регуляции Notch в канцерогенезе РМЖ, остается еще много аспектов, которые предстоит изучить, поскольку существуют данные, что рецепторы и лиганды этого сигнального пути способны оказывать супрессорное влияние на опухоль при других видах рака путем различных механизмов [114].

Аналогично эпигенетическая регуляция сигнального пути Hippo/YAP, принимающего участие в гомеостазе тканей и регуляции пролиферации и апоптоза, также может иметь онкогенный или противоопухолевый эффект. Результаты исследований в этой области противоречивы. Однако, согласно данным метаанализа L. Li и соавт., активация основного эффектора сигнального пути Hippo YAP (Yes-ассоциированный белок) при трижды негативном РМЖ ассоциирована с худшими характеристиками опухоли, в то время как при других подтипах РМЖ YAP может действовать как супрессор опухоли [115]. Из этого следует, что при изучении эффектов звеньев сигнального пути необходимо учитывать молекулярно-генетический подтип и других характеристик опухоли.

Еще одним ключевым сигнальным каскадом в канцерогенезе РМЖ является путь TGF- β , поддерживающий популяцию РСК. Этот фактор играет большую роль в регуляции множества биологических процессов, включая поддержание клеточного гомеостаза, контроль над клеточным ростом, а также процессы дифференцировки и программируемой клеточной гибели. HDAC, DNMT и днРНК могут осуществлять эпигенетическую регуляцию в сигнальном пути TGF- β /BMP, активируя его гены-мишени [116]. Также доказано, что TGF- β влияет на сигнальный путь Wnt/ β -катенин в ходе канцерогенеза. Однако результаты оценки пути TGF- β как прогностического фактора при РМЖ противоречивы, поскольку в зависимости от стадии заболевания он может функционировать в качестве как супрессора опухоли, так и протоонкогена [117].

Таким образом, эпигенетическая модуляция вышеперечисленных сигнальных путей играет большую роль в канцерогенезе РМЖ, его распространении и резистентности к лекарственной терапии. Проанализированные данные свидетельствуют о прогностической ценности картирования экспрессии генов, связанных с активацией сигнальных путей, а не только с идентификацией конкретных маркеров.

РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДУЛЯЦИИ КЛЕТОК ОПУХОЛИ И ЕЕ МИКРООКРУЖЕНИЯ В МЕТАСТАЗИРОВАНИИ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Прогноз и успехи лечения РМЖ в значительной степени определяются метастатическим потенциалом опухоли и устойчивостью опухолевых клеток к лекарственной терапии.

Метастазирование РМЖ не происходит случайным образом и зависит от фенотипа опухолевых клеток,

их взаимодействия со стромальной средой и метастатической нишей в отдаленных органах. Результаты многочисленных исследований показывают большую роль эпигенетических механизмов в формировании РСК — популяции клеток, обладающих значительным потенциалом для пролиферации и самообновления, составляющих основу для клональной эволюции опухоли. Они способны подавлять иммунный ответ путем влияния на микроокружение опухоли, обеспечивая лекарственную устойчивость, а также играют ключевую роль в развитии рецидива и распространении РМЖ [118].

Одной из точек приложения эпигенетических механизмов в патогенезе РМЖ является модуляция ЭМП как ключевого события образования РСК и развития резистентности эпителиальных опухолей. Суть ЭМП заключается в трансформации эпителиальных клеток в эпителиально-мезенхимальный или мезенхимальный фенотип посредством утраты адгезивных свойств клеток с приобретением способности к инвазии [119]. Эпигенетическая регуляция экспрессии генов, участвующих в ЭМП, может осуществляться посредством вышеперечисленных основных механизмов. Главной причиной утраты межклеточной адгезии считается подавление экспрессии мембранного белка-супрессора опухолей Е-кадгерина. Ключевая роль в этом принадлежит взаимодействию факторов роста (TGF- β , фактора роста фибробластов, эпидермального фактора роста и др.) с факторами транскрипции ЭМП (TWIST1, ZEB, SNAIL), что приводит к подавлению транскрипции в промоторе *CDH1*, кодирующего Е-кадгерин [120]. В ряде исследований при РМЖ выявлен аномально высокий уровень метилирования *CDH1* [121]. В литературе можно встретить и множество других данных об онкогенной роли метилирования *CDH1*. Однако, по мнению L. Bücker и U. Lehmann, она сильно преувеличена, поскольку использование не количественных методов, не учитывающих тип клеток, часто приводит к завышению количества ложных сигналов метилирования (в том числе от популяций нормальных клеток), таким образом высока доля ложноположительных результатов [122].

Значительная роль в процессах ЭМП принадлежит и другим белкам трансмембранных рецепторов и экстрацеллюлярного матрикса, таким как интегрины, ламинины, матриксные металлопротеиназы, коллаген и т. д. Нарушение экспрессии генов, кодирующих эти белки, происходит посредством эпигенетических механизмов, которые имеют свои особенности в разных молекулярно-биологических подтипах РМЖ [123]. Так, гиперэкспрессию мембранных молекул интегринов, связанную с метилированием промоторных областей генов-регуляторов, некоторые исследователи ассоциируют с метастатической активностью клеток РМЖ [124]. Гиперэкспрессия циклина D1 (белка — регулятора клеточного цикла) при ЭМП связана с другим эпигенетическим механизмом — регуляцией miR-373 и может служить маркером прогрессирования РМЖ

[125]. Помимо этого, регуляторами ЭМП являются miR-10b и miR-29a [126, 127]. Получены данные о том, что совместная гиперэкспрессия Е-кадгерина, интегрин β и циклина D1 как маркеров активации ЭМП может быть признаком малигнизации доброкачественных новообразований молочной железы и более агрессивных характеристик опухоли [128]. Результаты исследований показывают, что пул клеток, имеющих фенотип ЭМП или обладающих свойствами РСК, проявляют резистентность к химиотерапии [129, 130].

Согласно теории поля организации ткани, распространению опухоли способствуют сложные перестройки в микроокружении опухоли [131]. Клетки микроокружения опухоли так же, как и сами опухолевые клетки, могут подвергаться эпигенетическому перепрограммированию. Микроокружение опухоли можно представить как сложно организованную систему различных функциональных молекул, которая реорганизуется согласно потребностям опухоли. К элементам опухолевого микроокружения относят иммунные клетки (Т- и В-лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки и др.), клетки стромы (фибробласты, эндотелиоциты, адипоциты), а также множество везикул и экзосом с транспортируемыми или сигнальными молекулами [132]. Как оказалось, характер метилирования ДНК в микроокружении РМЖ во многом определяет иммунные реакции и эффективность противоопухолевой терапии. Так, паттерны метилирования ДНК CD8⁺-Т-лимфоцитов, сенсibilизированных к опухолям, значительно отличаются от таковых в нормальных Т-лимфоцитах [133], а гиперметилирование промотора *PPAR γ 1* может быть связано с нарушением поляризации макрофагов [134]. Эпигенетические механизмы также контролируют выработку иммунорегуляторных медиаторов (PD-1 LAG3, CTLA4, TIGIT и др.) в клетках микроокружения опухоли, что делает их привлекательными мишенями для контроля над модуляцией иммунного противоопухолевого ответа [135, 136]. Отмечено, что miR-1270 подавляет экспрессию белка плотных контактов ZO-1 в эндотелиальных клетках, что приводит к увеличению проницаемости сосудов и способствует инвазии опухоли [137]. Этот процесс сопровождается снижением экспрессии фермента LSD1, деметилирующего гистоны. ДнРНК также играют большую роль в регуляции взаимодействия клеток с опухолевым микроокружением. Например, HIF-1 α -стабилизирующая (HIF-1 α — фактор, индуцируемый гипоксией 1 α) днРНК может транспортироваться в везикулах к опухолевым клеткам, где она блокирует взаимодействие PHD2 и HIF-1 α , препятствуя деградации этого фактора, результатом чего является усиление анаэробного гликолиза и подавление апоптоза в клетках опухоли [138].

Именно микроокружение формирует благоприятную среду для развития опухоли и определяет ее биологическое поведение. Расширение представлений о вкладе эпигенетических регуляторов в распростра-

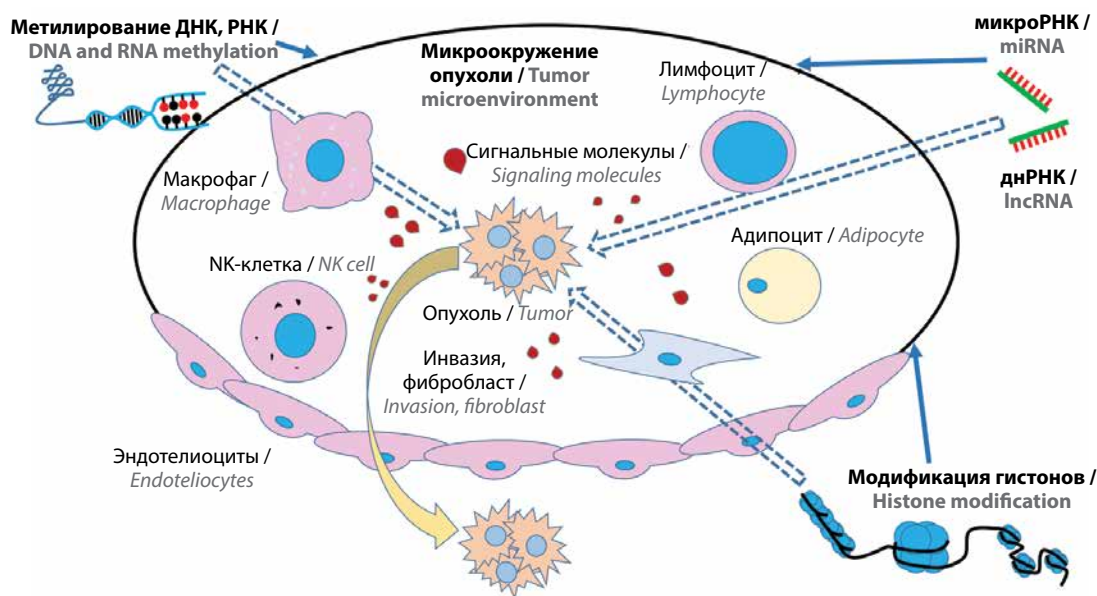


Рис. 4. Эпигенетическая модуляция микроокружения опухоли. NK — естественные киллеры; днРНК — длинные некодирующие РНК
Fig. 4. Epigenetic modulation of the tumor microenvironment. lncRNA — long non-coding RNA; NK — natural killers

нение и резистентность к терапии РМЖ является основополагающим для поиска надежных прогностических биомаркеров и терапевтических мишеней.

Эпигенетическая модуляция микроокружения опухоли представлена на рис. 4.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эпигенетическая регуляция генома как один из основных способов контроля над транскрипцией и иерархии развития клеток вносит неоспоримый вклад в канцерогенез, что подтверждается многочисленными исследованиями. Сигнальные пути и их звенья, участвующие в патогенезе РМЖ, заслуживают особого внимания при поиске терапевтических мишеней, поскольку целенаправленное точечное воздействие позволяет контролировать биологические процессы с минимальными побочными эффектами. Описанные для опухолей уникальные эпигенетические ландшафты еще раз подтверждают гетерогенность РМЖ. Эпигенетические механизмы потери экспрессии ER, обнаруженные в ER⁺-опухолях, а также пути ЭМП при трижды негативном РМЖ особенно важны для понимания стратегии преодоления резистентности опухолей к терапии. Различия в эпигенетическом профиле молекулярно-биологических подтипов РМЖ обнаружены не только между подтипами, но и внутри каждого из них. Возможно, в будущем именно благодаря этим знаниям будут выделены клинические группы в пределах каждого молекулярно-биологического подтипа,

что значительно улучшит эффективность терапии даже агрессивных форм рака.

Регуляторные механизмы и их звенья, участвующие в развитии РМЖ, безусловно, не ограничиваются теми, которые обсуждались выше. Количество исследований в области эпигенетики РМЖ стремительно растет, описываются не только новые молекулы, но и механизмы регуляции. Взаимодействие эпигенетических механизмов между собой и с генетическими перестройками (что является частым событием в канцерогенезе) представляет большой интерес для дальнейших исследований. Изучение обнаруженных недавно эффектов кометилирования генов особенно актуально. Современные исследования направлены на оценку роли эпигенетической модуляции клеток микроокружения опухоли. Уже получены многообещающие данные о регуляторной роли нкРНК. В ряде стран существуют одобренные для клинического применения при РМЖ или эпигенетические препараты, в настоящее время проводятся клинические испытания десятков молекул-кандидатов, многие молекулы находятся на стадии доклинических исследований. Однако, несмотря на очевидную гетерогенность РМЖ, современные терапевтические подходы все еще ограничены оценкой гистологического подтипа, рецепторного статуса (ER, PR, HER2) и пролиферативной активности (Ki-67) опухолей. Многообразие обнаруженных за последнее десятилетие механизмов онкогенеза свидетельствует о наступлении новой эры эпигенетических открытий в области диагностики и лечения РМЖ.

Л и т е р а т у р а / References

- Kang Z., Wang J., Liu J. et al. Epigenetic modifications in breast cancer: from immune escape mechanisms to therapeutic target discovery. *Front Immunol* 2025;16:1584087. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1584087
- Trnkova L., Buocikova V., Mego M. et al. Epigenetic deregulation in breast cancer microenvironment: Implications for tumor progression and therapeutic strategies. *Biomed Pharmacother* 2024;174:116559. DOI: 10.1016/j.biopha.2024.116559
- Sarkar S., Venkatesh D., Kandasamy T. et al. Epigenetic Modulations in Breast Cancer: An Emerging Paradigm in Therapeutic Implications. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2024;29(8):287. DOI: 10.31083/j.fbi2908287
- Пендина А.А., Гринкевич В.В., Кузнецова Т.В. и др. Метилирование ДНК — универсальный механизм регуляции активности генов. *Экологическая генетика* 2014;2(1):27–37. Pendina A.A., Grinkevich V.V., Kuznetsova T.V. et al. DNA methylation is a universal mechanism for regulating gene activity. *Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics* 2014;2(1):27–37. (In Russ.).
- Максимова В.П., Усалка О.Г., Макусъ Ю.В. и др. Нарушение метилирования ДНК при злокачественных новообразованиях. *Успехи молекулярной онкологии* 2022;9(4):24–40. DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-4-24-40 Maksimova V.P., Usalka O.G., Makus J.V. et al. Aberrations of DNA methylation in cancer. *Uspekhi molekulyar-noy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2022;9(4):24–40. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-4-24-40
- Wong K.K. DNMT1: a key drug target in triple-negative breast cancer. *Seminars in Cancer Biology* 2021;72:198–213. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.05.010
- Kanwal R., Gupta S. Epigenetic modifications in cancer. *Clin Genet* 2012;81(4):303–11. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2011.01809.x
- Казубская Т.П., Логинов В.И., Ходырев Д.С. и др. Метилирование генов *RASSF1A*, *RARβ2*, *SEMA3B* в эпителиальных опухолях молочной железы, яичников и при полинеоплазии. *Опухоль женской репродуктивной системы* 2012;1:61–9. Kazubskaya T.P., Loginov V.I., Khodyrev D.S. et al. Methylation of the *RASSF1A*, *RARβ2*, and *SEMA3B* genes in epithelial breast and ovarian tumors, and in patients with polynoeplasia. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy = Tumors of Female Reproductive System* 2012;1:61–9. (In Russ.).
- Рябчиков Д.А., Воротников И.К., Казубская Т.П. и др. Клиническая оценка профиля метилирования промоторных областей 8 генов хромосомы 3 и гена *MGMT* при люминальном типе рака молочной железы. *Российский биотерапевтический журнал* 2017;16(4):38–45. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-4-38-45 Ryabchikov D.A., Vorotnikov I.K., Kazubskaya T.P. et al. Clinical assessment of the methylation profile of the promoter regions of 8 genes of chromosome 3 and the *MGMT* gene in luminal type of breast cancer. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Biotherapeutic Journal* 2017;16(4):38–45. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-4-38-45
- Сметанникова Н.А., Абдурашитов М.А., Акишев А.Г. и др. Применение GLAD-ПЦР-анализа для изучения метилирования ДНК в регуляторных областях генов-онкосупрессоров при раке молочной железы. *Сибирский онкологический журнал* 2021;20(6):41–54. DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-6-41-54 Smetannikova N.A., Abdurashitov M.A., Akishev A.G. et al. The use of GLAD-PCR analysis to study DNA methylation in the regulatory regions of oncosuppressor genes in breast cancer. *Sibirskiy onkologicheskij zhurnal = Siberian Journal of Oncology* 2021;20(6):41–54. (In Russ.). DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-6-41-54
- Li Z., Guo X., Wu Y. et al. Methylation profiling of 48 candidate genes in tumor and matched normal tissues from breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2015;149(3):767–79. DOI: 10.1007/s10549-015-3276-8
- De Almeida B.P., Apolônio J.D., Binnie A. et al. Roadmap of DNA methylation in breast cancer identifies novel prognostic biomarkers. *BMC Cancer* 2019;19(1):219. DOI: 10.1186/s12885-019-5403-0
- Красный А.М., Куревлев С.В., Садекова А.А. и др. Профиль метилирования генов первичной опухоли у больных люминальным HER2-негативным раком молочной железы при метастазировании в регионарные лимфатические узлы. *Биомедицинская химия* 2021;67(1):88–94. DOI: 10.18097/PBMC20216701088 Krasny A.M., Kurevlev S.V., Sadekova A.A. et al. The profile of primary tumor gene methylation in patients with luminal HER2-negative breast cancer with metastasis to regional lymph nodes. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry* 2021;67(1):88–94. (In Russ.). DOI: 10.18097/PBMC20216701088
- Калинкин А.И., Сигин В.О., Немцова М.В. и др. Определение прогностически значимой сигнатуры ДНК-метилирования у пациенток с различными типами рака молочной железы. *Вестник Российского государственного медицинского университета* 2022;6:26–35. DOI: 10.24075/brsmu.2022.056 Kalinkin A.I., Sign V.O., Nemtsova M.V. et al. Determination of a prognostically significant DNA methylation signature in patients with various types of breast cancer. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Russian State Medical University* 2022;6:26–35. (In Russ.). DOI: 10.24075/brsmu.2022.056
- Zhu C., Menyhart O., Györfi B. et al. The prognostic association of *SPAG5* gene expression in breast cancer patients with systematic therapy. *BMC Cancer* 2019;19(1):1046. DOI: 10.1186/s12885-019-6260-6
- Dowling G.P., Daly G.R., Hegarty A. Neoadjuvant HER2 inhibition induces ESR1 DNA methylation alterations resulting in clinically relevant ER expression changes in breast cancers. *Cancer Communications* 2025;45(2):198–202. DOI: 10.1002/cac2.12640
- Pirouzpanah S., Taleban F.A., Mehdipour P. et al. Hypermethylation pattern of ESR and PgR genes and lacking estrogen and progesterone receptors in human breast cancer tumors: ER/PR subtypes. *Cancer Biomarkers* 2018;21(3):621–38. DOI: 10.3233/CBM-170697
- Barbano R., Muscarella L.A., Pasculli B. et al. Aberrant Keap1 methylation in breast cancer and association with clinicopathological features. *Epigenetics* 2013;8(1):105–12. DOI: 10.4161/epi.23319
- Shukla V., Coumoul X., Lahusen T. et al. BRCA1 affects global DNA methylation through regulation of DNMT1. *Cell Res* 2010;20(11):1201–15. DOI: 10.1038/cr.2010.128
- Turner N.C., Reis-Filho J.A., Russell A.M. et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene* 2007;26(14):2126–32. DOI: 10.1038/sj.onc.1210014
- Menghi F., Banda K., Kumar P. et al. Genomic and epigenomic BRCA alterations predict adaptive resistance and response to platinum-based therapy in patients with triple-negative breast and ovarian carcinomas. *Sci Transl Med* 2022;14(652):eabn1926. DOI: 10.1126/scitranslmed.abn1926
- Yu R., Peng X., Cheng Z. et al. Promoter Hyper-methylation of ZNF662 restrains its tumor suppressing function in triple-negative breast cancer through regulating NGF signaling axis. *Int J Biol Sci* 2025;21(9):4081–97. DOI: 10.7150/ijbs.102940
- Becker L.M., O'Connell J.T., Vo A.P. et al. Epigenetic Reprogramming of cancer-associated fibroblasts deregulates glucose metabolism and facilitates progression of breast. *Cancer Cell Rep* 2020;31(9):107701. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.107701
- Филиппова Е.А., Лукина С.С., Бурдённый А.М. и др. Ко-метилирование в согласованной регуляции группы генов

- апоптоза при раке молочной железы. Патологическая физиология и экспериментальная терапия 2024;68(3):4–14. DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2024.03.4-14
- Filippova E.A., Lukina S.S., Burdenny A.M. et al. Co-methylation in the coordinated regulation of a group of apoptosis genes in breast cancer. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal* 2024;68(3):4–14. (In Russ.). DOI:10.25557/0031-2991.2024.03.4-14
25. Qu G.Z., Grundy P.E., Narayan A. Frequent hypomethylation in Wilms tumors of pericentromeric DNA in chromosomes 1 and 16. *Cancer Genet Cytogenet* 1999;109(1):34–39. DOI: 10.1016/s0165-4608(98)00143-5
 26. Downs B., Wang S.M. Epigenetic changes in BRCA1-mutated familial breast cancer. *Cancer Genet* 2015;208(5):237–40. DOI: 10.1016/j.cancergen.2015.02.001
 27. Ansar M., Thu L.T.A., Hung C.S. et al. Promoter hypomethylation and overexpression of TSTD1 mediate poor treatment response in breast cancer. *Front Oncol* 2022;12:1004261. DOI: 10.3389/fonc.2022.1004261
 28. Skaar D.A., Dietze E.C., Alva-Ornelas J.A. et al. Epigenetic dysregulation of knkn9 imprinting and triple-negative breast cancer. *Cancers (Basel)* 2021;13(23):6031. DOI: 10.3390/cancers13236031
 29. Mendaza S., Ulazia-Garmendia A., Monreal-Santesteban I. et al. ADAM12 is a potential therapeutic target regulated by hypomethylation in triple-negative breast cancer. *Int J Mol Sci* 2020;21(3):903. DOI: 10.3390/ijms21030903
 30. Kim Y., Ko J.Y., Kong H.K. et al. Hypomethylation of ATP1A1 is associated with poor prognosis and cancer progression in triple-negative breast cancer. *Cancers (Basel)* 2024;16(9):1666. DOI: 10.3390/cancers16091666
 31. Ranga S., Yadav R., Chauhan M. et al. Modifications of RNA in cancer: a comprehensive review. *Mol Biol Rep* 2025;52(1):321. DOI: 10.1007/s11033-025-10419-0
 32. Li Y., Jin H., Li Q. et al. The role of RNA methylation in tumor immunity and its potential in immunotherapy. *Mol Cancer* 2024;23(1):130. DOI: 10.1186/s12943-024-02041-8
 33. Roundtree I.A., Evans M.E., Pan T., He C. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation. *Cell* 2017;169:1187–200. DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.045
 34. Yang L., Wu S., Ma C. et al. RNA m⁶A methylation regulators subclassify luminal subtype in breast cancer. *Front Oncol* 2021;10:611191. DOI: 10.3389/fonc.2020.611191
 35. Shi Z., Cao X., Ma Y. et al. RNA methyltransferase METTL16: from molecular mechanisms to therapeutic prospects in cancers. *Cancer Lett* 2025;624:217698. DOI: 10.1016/j.canlet.2025.217698
 36. Dai Y., Zhao S., Chen H. et al. RNA methylation and breast cancer: insights into m⁶A, m⁷G and m⁵C. *Mol Biol Rep* 2024;52(1):27. DOI: 10.1007/s11033-024-10138-y
 37. Huang S., Lin Y., Liu X. et al. Single-cell analysis reveal cell-type-specific RNA methylation patterns in breast cancer. *J Int Med Res* 2025;53(12):3000605251405638. DOI: 10.1177/03000605251405638
 38. Marcel V., Kielbassa J., Marchand V. et al. Ribosomal RNA 2'O-methylation as a novel layer of inter-tumour heterogeneity in breast cancer. *NAR Cancer* 2020;2(4):zcaa036. DOI: 10.1093/narcan/zcaa036
 39. Xiong J., Zhou Z., Jiang Y. et al. Hypoxic stabilization of RIPOR3 mRNA via METTL3-mediated m⁶A methylation drives breast cancer progression and metastasis. *Oncogene* 2024;43(47):3426–41. DOI: 10.1038/s41388-024-03180-4
 40. Acharjee S., Chauhan S., Pal R. et al. Mechanisms of DNA methylation and histone modifications. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2023;97:51–92. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2023.01.001
 41. Zaib S., Rana N., Khan I. Histone modifications and their role in epigenetics of cancer. *Curr Med Chem* 2022;29(14):2399–411. DOI: 10.2174/0929867328666211108105214
 42. Bannister A.J., Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* 2011;21(3):381–95. DOI: 10.1038/cr.2011.22
 43. Garraway L.A., Lander E.S. Lessons from the cancer genome. *Cell* 2013;153(1):17–37. DOI: 10.1016/j.cell.2013.03.002
 44. Audia J.E., Campbell R.M. Histone modifications and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2016;8(4):a019521. DOI: 10.1101/cshperspect.a019521
 45. Spange S., Wagner T., Heinzel T. et al. Acetylation of non-histone proteins modulates cellular signalling at multiple levels. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41(1):185–98. DOI: 10.1016/j.biocel.2008.08.027
 46. Gajer J.M., Furdas S.D., Grunder A. et al. Histone acetyltransferase inhibitors block neuroblastoma cell growth *in vivo*. *Oncogenesis* 2015;4(2):e137. DOI: 10.1038/onsis.2014.51
 47. Fermento M.E., Gandini N.A., Lang C.A. et al. Intracellular distribution of p300 and its differential recruitment to aggresomes in breast cancer. *Exp Mol Pathol* 2010;88(2):256–64. DOI: 10.1016/j.yexmp.2010.01.007
 48. Yang H., Pinello C.E., Luo J. et al. Small-molecule inhibitors of acetyltransferase p300 identified by high-throughput screening are potent anticancer agents. *Mol Cancer Ther* 2013;12(5):610–20. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0930
 49. Liu Z., Luo X., Liu L. et al. Histone acetyltransferase p300 promotes MKL1-mediated transactivation of catechol-O-methyltransferase gene. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2013;45(12):1002–10. DOI: 10.1093/abbs/gmt108
 50. Shan W., Jiang Y., Yu H. et al. HDAC2 overexpression correlates with aggressive clinicopathological features and DNA-damage response pathway of breast cancer. *Am J Cancer Res* 2017;7(5):1213–26.
 51. Li Y., Seto E. HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2016;6(10):a026831. DOI: 10.1101/cshperspect.a026831
 52. Mehmood S.A., Sahu K.K., Sengupta S. et al. Recent advancement of HDAC inhibitors against breast cancer. *Med Oncol* 2023;40(7):201. DOI: 10.1007/s12032-023-02058-x
 53. Park S.Y., Jun J.A., Jeong K.J. et al. Histone deacetylases 1, 6 and 8 are critical for invasion in breast cancer. *Oncol Rep* 2011;25(6):1677–81. DOI: 10.3892/or.2011.1236
 54. Cutano V., Di Giorgio E., Minisini M. et al. HDAC7-mediated control of tumour microenvironment maintains proliferative and stemness competence of human mammary epithelial cells. *Mol Oncol* 2019;13(8):1651–68. DOI: 10.1002/1878-0261.12503
 55. Salgado E., Bian X., Feng A. et al. HDAC9 overexpression confers invasive and angiogenic potential to triple negative breast cancer cells via modulating microRNA-206. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;503(2):1087–91. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.06.120
 56. Debbarma M., Sarkar K., Sil S.K. Dissecting the epigenetic orchestra of HDAC isoforms in breast cancer development: a review. *Med Oncol* 2024;42(1):1. DOI: 10.1007/s12032-024-02553-9
 57. Su Y., Hopfinger N.R., Nguyen T.D. et al. Epigenetic reprogramming of epithelial mesenchymal transition in triple negative breast cancer cells with DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibitors. *J Exp Clin Cancer Res* 2018;37(1):314. DOI: 10.1186/s13046-018-0988-8
 58. Cao Y.N., Li X.H., Chen X.J. et al. Identification of eight histone methylation modification regulators associated with breast cancer prognosis. *IET Syst Biol* 2025;19(1):e70012. DOI: 10.1049/syb2.70012
 59. Katz T.A., Huang Y., Davidson N.E. et al. Epigenetic reprogramming in breast cancer: from new targets to new therapies. *Ann Med* 2014;46(6):397–408. DOI: 10.3109/07853890.2014.923740
 60. Michalak E.M., Visvader J.E. Dysregulation of histone methyltransferases in breast cancer - Opportunities for new targeted therapies? *Mol Oncol* 2016;10(10):1497–515. DOI: 10.1016/j.molonc.2016.09.003
 61. Adibfar S., Elveny M., Kashikova H.S. et al. The molecular mechanisms and therapeutic potential of EZH2 in breast cancer. *Life Sci* 2021;286:120047. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120047

62. Byun W.S., Kim W.K., Han H.J. et al. Targeting histone methyltransferase dot1l by a novel psammaplin a analog inhibits growth and metastasis of triple-negative breast cancer. *Mol Ther Oncolytics* 2019;15:140–52. DOI: 10.1016/j.omto.2019.09.005
63. Serce N., Gnatzy A., Steiner S. et al. Elevated expression of LSD1 (lysine-specific demethylase 1) during tumour progression from pre-invasive to invasive ductal carcinoma of the breast. *BMC Clin Pathol* 2012;12:13. DOI: 10.1186/1472-6890-12-13
64. Martinez S., Sentis S., Poulard C. et al. Role of PRMT1 and PRMT5 in breast cancer. *Int J Mol Sci* 2024;25(16):8854. DOI: 10.3390/ijms25168854
65. Li J., Chen Z., Jin M. et al. Histone H4K12 lactylation promotes malignancy progression in triple-negative breast cancer through SLFN5 downregulation. *Cell Signal* 2024;124:111468. DOI: 10.1016/j.cellsig.2024.111468
66. Nair M.G., Somashekariah V.M., Ramamurthy V. et al. miRNAs: critical mediators of breast cancer metastatic programming. *Exp Cell Res* 2021;401(1):112518. DOI: 10.1016/j.yexcr.2021.112518
67. Wang C., Zheng X., Shen C. et al. MicroRNA-203 suppresses cell proliferation and migration by targeting BIRC5 and LASP1 in human triple-negative breast cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res* 2012;31(1):58. DOI: 10.1186/1756-9966-31-58
68. Braga E.A., Burdenny A.M., Pronina I.V. et al. System of markers based on the methylation of a group of proapoptotic genes in combination with microRNA in the diagnosis of breast cancer. *Bull Exp Biol Med* 2020;168(3):366–70. DOI: 10.1007/s10517-020-04710-2
69. Рябчиков Д.А., Дудина И.А., Воротников И.К. и др. Роль метилирования генов микроРНК в различных молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы. Злокачественные опухоли 2018;8(1):5–11. DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-1-5-11
- Ryabchikov D.A., Dudina I.A., Vorotnikov I.K. et al. The role of microRNA genes methylation in different molecular-biological subtypes of breast cancer. *Zlokachestvennye opukholi = Malignant Tumours* 2018;8(1):5–11. (In Russ.). DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-1-5-11
70. Hu H., Li S., Cui X. et al. The overexpression of hypomethylated MiR-663 induces chemotherapy resistance in human breast cancer cells by targeting heparin sulfate proteoglycan 2 (HSPG2). *J Biol Chem* 2013;288(16):10973–85. DOI: 10.1074/jbc.M112.434340
71. Hu J., Yi T., Chu S. et al. DNA methylation of miR-93: an important event in acquiring drug resistance in breast cancer cells. *Int J Clin Exp Med* 2019;12(5):4697–706.
72. Kim J., Siverly A.N., Chen D. et al. Ablation of miR-10b suppresses oncogene-induced mammary tumorigenesis and metastasis and reactivates tumor-suppressive pathways. *Cancer Res* 2016;76(21):6424–35. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1571
73. Ren L., Chen H., Song J. et al. MiR-454-3p-mediated Wnt/ β -catenin signaling antagonists suppression promotes breast cancer metastasis. *Theranostics* 2019;9(2):449–65. DOI: 10.7150/thno.29055
74. Liu L.Z., Li C., Chen Q. et al. MiR-21 induced angiogenesis through AKT and ERK activation and HIF-1 α expression. *PLoS One* 2011;6(4):e19139. DOI: 10.1371/journal.pone.0019139
75. Koyama Y., Muguruma M., Horimoto Y. et al. Hsa-miR-155-5p expression in primary breast tissue may have the potential for prediction of breast cancer brain recurrence: results from the multi-institutional exploratory cohort study. *Breast Cancer Res* 2025;27(1):169. DOI: 10.1186/s13058-025-02123-5
76. Балашенко Н.А., Дромашко С.Е. Длинные некодирующие РНК и их функции. Весті Національної академії наук України. Сер. біологічних наук 2017;4:110–19. Balashenko N.A., Dromashko S.E. Long non-coding RNAs and their functions. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series* 2017;4:110–19. (In Russ.).
77. Zheng X., Zhang S., Ma H. et al. Replenishment of TCA cycle intermediates and long-noncoding RNAs regulation in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2024;592:112321. DOI: 10.1016/j.mce.2024.112321
78. Ghafouri-Fard S., Tamizkar K.H., Hussien B.M., Taheri M. An update on the role of long non-coding RNAs in the pathogenesis of breast cancer. *Pathol Res Pract* 2021;219:153373. DOI: 10.1016/j.prp.2021.153373
79. Kansara S., Pandey V., Lobie P.E. et al. Mechanistic involvement of long non-coding RNAs in oncotherapeutics resistance in triple-negative breast. *Cancer Cells* 2020;9(6):1511. DOI: 10.3390/cells9061511
80. Lee J.J., Kim M., Kim H.P. Epigenetic regulation of long noncoding RNA UCA1 by SATB1 in breast cancer. *BMB Rep* 2016;49(10):578–83. DOI: 10.5483/bmbrep.2016.49.10.156
81. Chen X., Luo R., Zhang Y. et al. Long noncoding RNA DIO3OS induces glycolytic-dominant metabolic reprogramming to promote aromatase inhibitor resistance in breast cancer. *Nat Commun* 2022;13(1):7160. DOI: 10.1038/s41467-022-34702-x
82. Bai Z., Zhang Y., Li J. et al. Epigenetic regulation of GFRA1 by extracellular vesicle lncRNA SOX9-AS1 facilitates breast cancer metastasis. *FASEB J* 2025;39(12):e70642. DOI: 10.1096/fj.202403246R
83. Zhang Y., Wei S., Chen Z. et al. LncRNA FAISL Inhibits calpain 2-mediated proteolysis of FAK to promote progression and metastasis of triple negative breast cancer. *Adv Sci (Weinh)* 2024;11(42):e2407493. DOI: 10.1002/adv.202407493
84. Farzaneh M., Najafi S., Dari M.A.G. et al. Functional roles of long noncoding RNA MALAT1 in gynecologic cancers. *Clin Transl Oncol* 2023;25(1):48–65. DOI: 10.1007/s12094-022-02914-8
85. Filippova E.A., Fridman M.V., Burdenny A.M. et al. Long noncoding RNA GAS5 in breast cancer: epigenetic mechanisms and biological functions. *Int J Mol Sci* 2021;22(13):6810. DOI: 10.3390/ijms22136810
86. Hussain M.S., Majami A.A., Ali H. et al. The complex role of MEG3: an emerging long non-coding RNA in breast cancer. *Pathol Res Pract* 2023;251:154850. DOI: 10.1016/j.prp.2023.154850
87. Zhang Y., Dong X., Guo X. et al. LncRNA-BC069792 suppresses tumor progression by targeting KCNQ4 in breast cancer. *Mol Cancer* 2023;22(1):41. DOI: 10.1186/s12943-023-01747-5
88. Keyvani-Ghamsari S., Khorsandi K., Rasul A. et al. Current understanding of epigenetics mechanism as a novel target in reducing cancer stem cells resistance. *Clin Epigenetics* 2021;13(1):120. DOI: 10.1186/s13148-021-01107-4
89. Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. и др. Канонический сигнальный путь Wnt/ β -катенин: от истории открытия до клинического применения. Терапевтический архив 2016;88(10):74–81. Grebennikova T.A., Belaya Zh.E., Rozhinskaya L.Ya. et al. The canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway: from the history of discovery to clinical application. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Therapeutic Archive* 2016;88(10):74–81. (In Russ.).
90. Klarmann G.J., Decker A., Farrar W.L. Epigenetic gene silencing in the Wnt pathway in breast cancer. *Epigenetics* 2008;3(2):59–63. DOI: 10.4161/epi.3.2.5899
91. Jang G.B., Kim J.Y., Cho S.D. et al. Blockade of Wnt/ β -catenin signaling suppresses breast cancer metastasis by inhibiting CSC-like phenotype. *Sci Rep* 2015;5:12465. DOI: 10.1038/srep12465
92. Wang Y., He L., Du Y. et al. The long noncoding RNA lncTCF7 promotes self-renewal of human liver cancer stem cells through activation of Wnt signaling. *Cell Stem Cell* 2015;16(4):413–25. DOI: 10.1016/j.stem.2015.03.003
93. Wils L.J., Bijlsma M.F. Epigenetic regulation of the Hedgehog and Wnt pathways in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018;121:23–44. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2017.11.013

94. Lindvall C., Bu W., Williams B.O. et al. Wnt signaling, stem cells, and the cellular origin of breast cancer. *Stem Cell Rev* 2007;3(2):157–68. DOI: 10.1007/s12015-007-0025-3
95. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Роль кадгерина в норме и при развитии рака молочной железы. *Архив патологии* 2015;77(3):57–64. DOI: 10.17116/patol201577357-64. Zasadkevich Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. The role of cadherins in the norm and in the development of breast cancer. *Arkhiv patologii* = *Archive of Pathology* 2015;77(3):57–64. (In Russ.). DOI: 10.17116/patol201577357-64
96. Geyer F.C., Lacroix-Triki M., Savage K. et al. β -catenin pathway activation in breast cancer is associated with triple-negative phenotype but not with CTNNB1 mutation. *Mod Pathol* 2011;24(2):209–31. DOI: 10.1038/modpathol.2010.205
97. Cui J., Li P., Liu X. et al. Abnormal expression of the Notch and Wnt/ β -catenin signaling pathways in stem-like ALDH^{hi}CD44⁺ cells correlates highly with Ki-67 expression in breast cancer. *Oncol Lett* 2015;9(4):1600–6. DOI: 10.3892/ol.2015.2942
98. Hashizume R., Koizumi H., Ihara A. et al. Expression of β -catenin in normal breast tissue and breast carcinoma: a comparative study with epithelial cadherin and α -catenin. *Histopathology* 1996;29(2):139–46. DOI: 10.1046/j.1365-2559.1996.d01-499.x
99. Qureshi H.S., Linden M.D., Divine G. et al. E-cadherin status in breast cancer correlates with histologic type but does not correlate with established prognostic parameters. *Am J Clin Pathol* 2006;125(3):377–85. DOI: 10.1309/wmx7drwtfvqp2lqt
100. Shi Y., Liu X., Sun Y. et al. Decreased expression and prognostic role of EHD2 in human breast carcinoma: correlation with E-cadherin. *J Mol Histol* 2015;46(2):221–31. DOI: 10.1007/s10735-015-9614-7
101. Crea F., Danesi R., Farrar W.L. Cancer stem cell epigenetics and chemoresistance. *Epigenomics* 2009;1(1):63–79. DOI: 10.2217/epi.09.4.
102. Duan Z.H., Wang H.C., Zhao D.M. et al. Cooperatively transcriptional and epigenetic regulation of sonic hedgehog overexpression drives malignant potential of breast cancer. *Cancer Sci* 2015;106(8):1084–91. DOI: 10.1111/cas.12697
103. Samadani A.A., Norollahi S.E., Rashidy-Pour A. et al. Cancer signaling pathways with a therapeutic approach: An overview in epigenetic regulations of cancer stem cells. *Biomed Pharmacother* 2018;108:590–9. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.048
104. Hui M., Cazet A., Nair R. et al. The Hedgehog signalling pathway in breast development, carcinogenesis and cancer therapy. *Breast Cancer Res* 2013;15(2):203. DOI: 10.1186/bcr3401
105. Fiaschi M., Rozell B., Bergström A. et al. Targeted expression of GLI1 in the mammary gland disrupts pregnancy-induced maturation and causes lactation failure. *J Biol Chem* 2007;282(49):36090–101. DOI: 10.1074/jbc.M704280200
106. Keyvani-Ghamsari S., Khorsandi K., Rasul A. et al. Current understanding of epigenetics mechanism as a novel target in reducing cancer stem cells resistance. *Clin Epigenetics* 2021;13(1):120. DOI: 10.1186/s13148-021-01107-4
107. Ponnusamy L., Mahalingaiah P.K.S., Chang Y.W. et al. Role of cellular reprogramming and epigenetic dysregulation in acquired chemoresistance in breast cancer. *Cancer Drug Resist* 2019;2(2):297–312. DOI: 10.20517/cdr.2018.11
108. Brabletz S., Bajdak K., Meidhof S. et al. The ZEB1/miR-200 feedback loop controls Notch signalling in cancer cells. *EMBO J* 2011;30(4):770–82. DOI: 10.1038/emboj.2010.349
109. Yousefi H., Bahramy A., Zafari N. et al. Notch signaling pathway: a comprehensive prognostic and gene expression profile analysis in breast cancer. *BMC Cancer* 2022;22(1):1282. DOI: 10.1186/s12885-022-10383-z
110. Chow E.K., Fan L.L., Chen X. et al. Oncogene-specific formation of chemoresistant murine hepatic cancer stem cells. *Hepatology* 2012;56(4):1331–41. DOI: 10.1002/hep.25776
111. Wang X., Low X.C., Hou W. et al. Epirubicin-adsorbed nanodiamonds kill chemoresistant hepatic cancer stem cells. *ACS Nano* 2014;8(12):12151–66. DOI: 10.1021/nn503491e
112. Wang K., Zhang Q., Li D. et al. PEST domain mutations in Notch receptors comprise an oncogenic driver segment in triple-negative breast cancer sensitive to a γ -secretase inhibitor. *Clin Cancer Res* 2015;21(6):1487–96. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1348
113. Stylianou S., Clarke R.B., Brennan K. Aberrant activation of notch signaling in human breast cancer. *Cancer Res* 2006;66(3):1517–25. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3054
114. Nandi A., Chakrabarti R. The many facets of Notch signaling in breast cancer: toward overcoming therapeutic resistance. *Genes Dev* 2020;34(21–22):1422–38. DOI: 10.1101/gad.342287.120
115. Li L., Luo J., Fang J.Y. et al. Expression characteristics of the yes-associated protein in breast cancer: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2022;101(34):e30176. DOI: 10.1097/MD.00000000000030176
116. Bai J., Xi Q. Crosstalk between TGF- β signaling and epigenome. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2018;50(1):60–7. DOI: 10.1093/abbs/gmx122
117. Wiercinska E., Naber H.P., Pardali E. et al. The TGF- β /Smad pathway induces breast cancer cell invasion through the up-regulation of matrix metalloproteinase 2 and 9 in a spheroid invasion model system. *Breast Cancer Res Treat* 2011;128(3):657–66. DOI: 10.1007/s10549-010-1147-x
118. Zhang X., Powell K., Li L. Breast cancer stem cells: biomarkers, identification and isolation methods, regulating mechanisms, cellular origin, and beyond. *Cancers (Basel)* 2020;12(12):3765. DOI: 10.3390/cancers12123765
119. Subhadarshini S., Markus J., Sahoo S. et al. Dynamics of epithelial-mesenchymal plasticity: what have single-cell investigations elucidated so far? *ACS Omega* 2023;8(13):1166–73. DOI: 10.1021/acsomega.2c07989
120. Cho M.H., Park J.H., Choi H.J. et al. DOT1L cooperates with the c-Myc-p300 complex to epigenetically derepress CDH1 transcription factors in breast cancer progression. *Nat Commun* 2015;6:7821. DOI: 10.1038/ncomms8821
121. Liu J., Sun X., Qin S. et al. CDH1 promoter methylation correlates with decreased gene expression and poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncol Lett* 2016;11(4):2635–43. DOI: 10.3892/ol.2016.4274
122. Bücker L., Lehmann U. CDH1 (E-cadherin) gene methylation in human breast cancer: critical appraisal of a long and twisted story. *Cancers (Basel)* 2022;14(18):4377. DOI: 10.3390/cancers14184377
123. Симонова О.А., Кузнецова Е.Б., Танас А.С. и др. Метилирование генов белков внеклеточного матрикса и трансмембранных рецепторов в норме и при раке молочной железы. *Медицинская генетика* 2020;19(6):24–5. Simonova O.A., Kuznetsova E.B., Tanas A.S. et al. Methylation of genes of extracellular matrix proteins and transmembrane receptors is normal and in breast cancer. *Meditsinskaya genetika* = *Medical Genetics* 2020;19(6):24–5. (In Russ.).
124. Zuo X.X., Yang Y., Zhang Y. et al. Platelets promote breast cancer cell MCF-7 metastasis by direct interaction: surface integrin $\alpha 2\beta 1$ -contacting-mediated activation of Wnt- β -catenin pathway. *Cell Commun Signal* 2019;17(1):142. DOI: 10.1186/s12964-019-0464-x
125. Bakr N.M., Mahmoud M.S., Nabil R. et al. Impact of circulating miRNA-373 on breast cancer diagnosis through targeting VEGF and cyclin D1 genes. *J Genet Eng Biotechnol* 2021;19(1):84. DOI: 10.1186/s43141-021-00174-7
126. Peng F., Xiong L., Tang H. et al. Regulation of epithelial-mesenchymal transition through microRNAs: clinical and biological significance of microRNAs in breast cancer. *Tumour Biol* 2016;37(11):14463–77. DOI: 10.1007/s13277-016-5334-1
127. Zhao M., Ang L., Huang J. et al. MicroRNAs regulate the epithelial-mesenchymal transition and influence breast cancer invasion and metastasis. *Tumour Biol* 2017;39(2):1010428317691682. DOI: 10.1177/1010428317691682
128. Студеникина А.А., Архипов С.А., Журавковский И.П. и др. Экспрессия маркеров эпителиально-мезенхимального перехода при раке молочной железы. *Архив патологии* 2023;85(4):12–7.

- Studenikina A.A., Arkhipov S.A., Zhurakovsky I.P. et al. Expression of markers of the epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *Arkiv patologii* = *Archive of Pathology* 2023;85(4):12–7. (In Russ.).
129. Wang Z., Li Y., Kong D. et al. Acquisition of epithelial-mesenchymal transition phenotype of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells is linked with activation of the notch signaling pathway. *Cancer Res* 2009;69(6):2400–7. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4312
 130. Shukla S., Meeran S.M. Epigenetics of cancer stem cells: Pathways and therapeutics. *Biochim Biophys Acta* 2014;1840(12):3494–502. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.09.017
 131. Smythies J. Intercellular signaling in cancer-the SMT and TOFT hypotheses, exosomes, telocytes and metastases: is the messenger in the message? *J Cancer* 2015;6(7):604–9. DOI: 10.7150/jca.12372
 132. Anderson N.M., Simon M.C. The tumor microenvironment. *Curr Biol* 2020;30(16):R921–5. DOI: 10.1016/j.cub.2020.06.081
 133. Wong W.K., Yin B., Lam C.Y.K. et al. The Interplay between epigenetic regulation and CD8+ T cell differentiation/exhaustion for T Cell Immunotherapy. *Front Cell Dev Biol* 2022;9:783227. DOI: 10.3389/fcell.2021.783227
 134. Yang X., Wang X., Liu D. et al. Epigenetic regulation of macrophage polarization by DNA methyltransferase 3b. *Mol Endocrinol* 2014;28(4):565–74. DOI: 10.1210/me.2013-1293
 135. Saleh R., Toor S.M., Sasidharan Nair V. et al. Role of epigenetic modifications in inhibitory immune checkpoints in cancer development and progression. *Front Immunol* 2020;11:1469. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01469
 136. Dai E., Zhu Z., Wahed S. et al. Epigenetic modulation of antitumor immunity for improved cancer immunotherapy. *Mol Cancer* 2021;20(1):171. DOI: 10.1186/s12943-021-01464-x
 137. Yao Y., Qian R., Gao H. et al. LSD1 deficiency in breast cancer cells promotes the formation of pre-metastatic niches. *NPJ Precis Oncol* 2024;8(1):260. DOI: 10.1038/s41698-024-00751-2
 138. Liu X., Wu X., Ding J. et al. Advances in the epigenetic regulation of breast cancer. *Chin Med J (Engl)* 2025;138(24):3302–16. DOI: 10.1097/CM9.0000000000003890

Вклад авторов

Э.Р. Асанова: разработка концепции обзора, анализ данных литературы, написание текста статьи;
Л.Д. Хакимова: поиск и подбор источников литературы, редактирование;
И.О. Головкин: работа с базами данных, подготовка иллюстративного материала;
Т.П. Макалиш: координация работы коллектива авторов, написание текста статьи;
Е.Ю. Зяблицкая: разработка концепции обзора, редактирование.

Authors' contributions

E.R. Asanova: development of the review concept, analysis of literature data, article writing;
L.D. Khakimova: search and selection of literary sources, editing;
I.O. Golovkin: working with databases, preparing illustrative material;
T.P. Makalish: coordinating the work of the team of authors, editing;
E.Yu. Zyablitskaya: development of the review concept, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Э.Р. Асанова / E.R. Asanova: <https://orcid.org/0009-0001-0409-3297>
Л.Д. Хакимова / L.D. Khakimova: <https://orcid.org/0009-0002-7528-7598>
И.О. Головкин / I.O. Golovkin: <https://orcid.org/0000-0002-3578-5130>
Т.П. Макалиш / T.P. Makalish: <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>
Е.Ю. Зяблицкая / E.Yu. Zyablitskaya: <https://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа поддержана проектом Минобрнауки России FZEG-2026-0008 «Исследование фундаментальных механизмов развития злокачественных новообразований для совершенствования молекулярно-генетических методов персонализированной диагностики путем выявления новых точек приложения таргетной терапии, предикторов резистентности и клинически значимых молекулярно-биологических маркеров в патоморфологии».

Funding. The study was carried out with the support of the Ministry of Education and Science of Russia has approved the project FZEG-2026-0008 “Research of the fundamental mechanisms of malignant neoplasms development to improve molecular and genetic methods of personalized diagnostics by identifying new targets for targeted therapy, predictors of resistance, and clinically significant molecular and biological markers in pathomorphology”.

Статья поступила: 19.01.2026. Принята к публикации: 04.06.2026. Опубликовано онлайн: 18.09.2026.

Article submitted: 19.01.2026. Accepted for publication: 04.06.2026. Published online: 18.09.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-52-67>

Защита нормальных тканей при химиотерапии злокачественных опухолей

Г.А. Белицкий¹, К.И. Кирсанов^{1,2}, Т.И. Фетисов¹, С.Г. Соленова¹, М.Г. Якубовская¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Контакты: Марианна Геннадьевна Якубовская mgyakubovskaya@mail.ru

В статье представлены данные исследований, направленных на использование в химиотерапии злокачественных опухолей преимуществ нормальных клеток, интегрированных в систему организма, перед опухолевыми, утрачивающими в ходе прогрессии связь с его регулируемыми системами. Проанализированы результаты работ из информационных баз биомедицинской литературы SciVerse Scopus, PubMed, Web of Science, Российский индекс научного цитирования. Использована информация 70 статей, включающих данные экспериментов *in vitro* и *in vivo*, а также клинических исследований, 22 из которых опубликованы в течение 5 последних лет. Рассмотрена возможность использования фагоцитарной активности резидентных макрофагов путем перенасыщения их фагоцитируемыми частицами с адсорбированным защитным препаратом, например фолиевой кислотой, которая является антитоксом метотрексата. В результате резидентные макрофаги кроветворных органов и кишечника создают долговременное защитное депо, позволяющее использовать высокие дозы метотрексата. В случае использования инкапсулированных форм химиопрепаратов, которые захватываются макрофагами и резко снижают время их циркуляции в кровотоке, предлагается блокада фагоцитарной способности такими же нагруженными частицами. С одной стороны, это увеличит время циркуляции капсул в кровотоке, а с другой – даст возможность сочетать действие первого препарата со вторым, например с метотрексатом. Поскольку активность некоторых важных ферментных систем, метаболизирующих ксенобиотики, в частности цитохрома P450, частично или полностью утрачиваются опухолевой клеткой в процессе ее дедифференцировки, предлагается использовать транспортные формы защитных препаратов, активируемых этими системами в нормальной клетке и недоступных опухолевой клетке. Еще одно преимущество нормальных клеток состоит в том, что действие малых доз цитостатика на контрольные точки останавливает их пролиферацию в отличие от клеток опухоли, резистентных к данному цитостатику. Эти клоны будут продолжать делиться и станут избирательно доступными к действию митотических ядов. Таким образом, использование в противоопухолевой химиотерапии механизмов многоуровневой защиты нормальных тканей актуально для повышения безопасности и эффективности лечения.

Ключевые слова: злокачественная опухоль, химиотерапия, защитный препарат, фагоцитоз, нанопрепарат, цитохром P450, циклотерапия

Для цитирования: Белицкий Г.А., Кирсанов К.И., Фетисов Т.И. и др. Защита нормальных тканей при химиотерапии злокачественных опухолей. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(3):52–67.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-52-67>

Prospects for protecting normal tissues during chemotherapy of malignant tumors

G.A. Belitsky¹, K.I. Kirsanov^{1,2}, T.I. Fetisov¹, L.V. Solenova¹, M.G. Yakubovskaya¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

²RUDN University; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

Contacts: Marianna Gennadyevna Yakubovskaya mgyakubovskaya@mail.ru

This article presents research data aimed at exploiting the advantages of normal cells integrated into the body's system in chemotherapy for malignant tumors, compared to tumor cells that lose their connection with its regulatory systems during progression. Publications from the biomedical literature databases SciVerse Scopus, PubMed, Web of Science, and the Russian Science Citation Index were analyzed. Information from 70 publications, including *in vitro* and *in vivo* experimental data, as well as clinical studies, was used, 22 of which were published over the past five years. The possibility

of harnessing the phagocytic activity of resident macrophages by supersaturating them with phagocytized particles containing an adsorbed protective agent, such as folic acid, which is an antidote to methotrexate is considered. As a result, resident macrophages of the hematopoietic organs and intestines create a long-term protective depot, allowing the use of high doses of methotrexate. In cases of using encapsulated forms of chemotherapeutic agents, which are taken up by macrophages and dramatically reduce their circulation time in the bloodstream, blocking their phagocytic capacity with similarly loaded particles is proposed. This will, on the one hand, increase the capsule circulation time in the bloodstream, and, on the other, allow for the combined action of the first drug with a second, for example, methotrexate. Since the activity of some important xenobiotic-metabolizing enzymatic systems, particularly cytochrome P450, is partially or completely lost by tumor cells during their dedifferentiation, the use of transport forms of protective agents that are activated by these enzymatic systems in normal cells and inaccessible to tumor cells is proposed. Another advantage of normal cells is that the action of low doses of cytostatics on checkpoints stops their proliferation, unlike tumor clone resistant to the cytostatic agent. These clones will continue to divide and become selectively susceptible to mitotic toxins. Thus, the use of multilevel mechanisms of protection of normal tissues in antitumor chemotherapy is relevant for increasing the safety and effectiveness of treatment.

Keywords: malignant tumor, chemotherapy, protective drug, phagocytosis, nanopreparation, cytochrome P450, cyclotherapy

For citation: Belitsky G.A., Kirsanov K.I., Fetisov T.I. et al. Prospects for protecting normal tissues during chemotherapy of malignant tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(3):52–67. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-52-67>

ВВЕДЕНИЕ

Традиционная цитотоксическая химиотерапия (ХТ), являющаяся до настоящего времени одним из основных методов лечения онкологических заболеваний, по сути, неспецифична в отношении злокачественного роста, так как направлена на любые ткани с высоким уровнем пролиферации, независимо от того, нормальные они или злокачественные. В связи с этим главные усилия исследователей направлены на поиск уникальных свойств опухолевых клеток с тем, чтобы на их основе создавать новые препараты с повышенной избирательностью. Развившаяся на данной основе таргетная терапия позволила значительно улучшить результаты лечения меланомы, миелолейкоза, немелкоклеточного рака легкого и ряда других опухолей, но в целом проблемы не решила. Анализируя 20-летний опыт этой терапии, С.А. Тюлядин приходит к выводу, что она имеет ограниченный характер вследствие небольшого числа пациентов с наличием активирующей мутации и отсутствием таргетных препаратов для большинства генетических нарушений [1]. Кроме того, таргетные препараты вызывают серьезные побочные эффекты. Недостаточный терапевтический интервал, как и в случае классических цитостатиков, не позволяет использовать высокие дозы этих лекарственных средств, необходимые для подавления пролиферации опухолевых клеток, обладающих повышенной резистентностью. Не очень эффективной оказалась и регионарная ХТ, поскольку локальное насыщение сосудов, питающих опухоль, высокой концентрацией цитостатика не оказывает влияния на ее отдаленные метастазы.

В связи с вышесказанным в качестве одного из направлений повышения эффективности ХТ разрабатываются методы избирательной защиты нормальных клеток от токсического действия высоких доз противоопухолевых препаратов. Основой для этого подхода

являются, во-первых, интегрированность нормальных органов и тканей в организм, обладающий многими эволюционно возникшими защитными системами, во-вторых, более высокая упорядоченность и управляемость клеточного гомеостаза в нормальной ткани в отличие от опухолевой ткани. Возникшие в свое время интуитивно правильные проекты защиты нормальных органов от токсического действия противоопухолевых препаратов не были до конца выполнены, поскольку разрабатывались задолго до того, как был достигнут необходимый уровень развития биотехнологии, позволяющей их адекватную реализацию. Анализ перспективности этих проектов с учетом современных возможностей представляет научный и практический интерес.

Цель работы — продемонстрировать возможности использования в ХТ эволюционных механизмов защиты нормальных клеток, интегрированных в систему организма.

ЗАЩИТА НОРМАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ОТ ДЕЙСТВИЯ ЦИТОСТАТИКОВ НА ОСНОВЕ СВОЙСТВ СИСТЕМЫ ФАГОЦИТОЗА

Одной из первых попыток повысить эффективность противоопухолевой ХТ за счет функционирования систем защиты организма, явилась попытка избирательного предотвращения токсического действия метотрексата (МТ) на чувствительные к его действию нормальные органы (органы кроветворения, кишечник) путем создания в них локального депо защитного препарата. За счет этого представлялось возможным значительно повысить дозы МТ и, соответственно, эффективность действия на опухоль и отдаленные метастазы [2].

Как известно, основным механизмом цитотоксического действия МТ является ингибирование метаболизма фолатов, который играет ключевую роль

в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых оснований, необходимых для пролиферирующих клеток. Для этого фолиевая кислота с помощью дигидро- и тетрагидрофолатредуктаз превращается в восстановленную форму тетрагидрофолата (фолиновую кислоту), обозначаемую в фармакологии как лейковорин (ЛВ). Этот процесс ингибирует МТ, который активируется до МТ-полиглутаматов и связывает несколько фолатазависимых ферментов, в том числе дигидрофолатредуктазу. В результате подавляется пролиферация как опухолевых, так и нормальных клеток. В отличие от фолиевой кислоты, ЛВ может участвовать в реакциях фолатного метаболизма независимо от заблокированных редуктаз, превращаясь в необходимый для синтеза пуринов и пиримидинов 5,10-метилентетрагидрофолат и 5-метилтетрагидрофолат (рис. 1).

Поскольку МТ не влияет на действие ЛВ, последний используется в лечении опухолей с помощью МТ для так называемой спасательной терапии и обычно вводится больному через 24–42 ч после МТ. За это время интенсивно делящиеся опухолевые клетки погибают, а нормальные, которые делятся менее интенсивно, не достигают необратимого уровня поражения. При этом сверхвысокие дозы МТ, необходимые для максимального подавления опухолевого роста, требуют так-

же сверхвысоких доз ЛВ, что значительно снижает терапевтический эффект. Это показано в клиническом исследовании, включавшем 445 детей с острым лимфобластным лейкозом: удвоение дозы ЛВ на фоне сверхвысокой концентрации МТ увеличило риск развития рецидива на 22 % [4].

Для решения задачи оптимального соотношения ЛВ и МТ при лечении различных опухолей разрабатываются сложные фармакокинетические схемы. Одна из них (для лечения остеосарком у детей с помощью МТ) была создана в 2024 г. путем анализа 216 курсов терапии МТ у 32 пациентов, что говорит об актуальности проблемы [5].

В то же время еще в 1960-е годы руководитель лаборатории вирусологии Института экспериментальной и клинической онкологии Г.Я. Свет-Молдавский и А.И. Павлоцкий предложили использовать для ингибирования токсического действия МТ механизм фагоцитоза органических и неорганических частиц нейтрофилами и другими моноцитами. На основе особенностей регионарного распределения фагоцитов в организме предложено депонировать фолиевую кислоту (ФК) в частицах туши, которые после внутривенного введения и поглощения макрофагами должны концентрироваться в местах резидентного нахождения

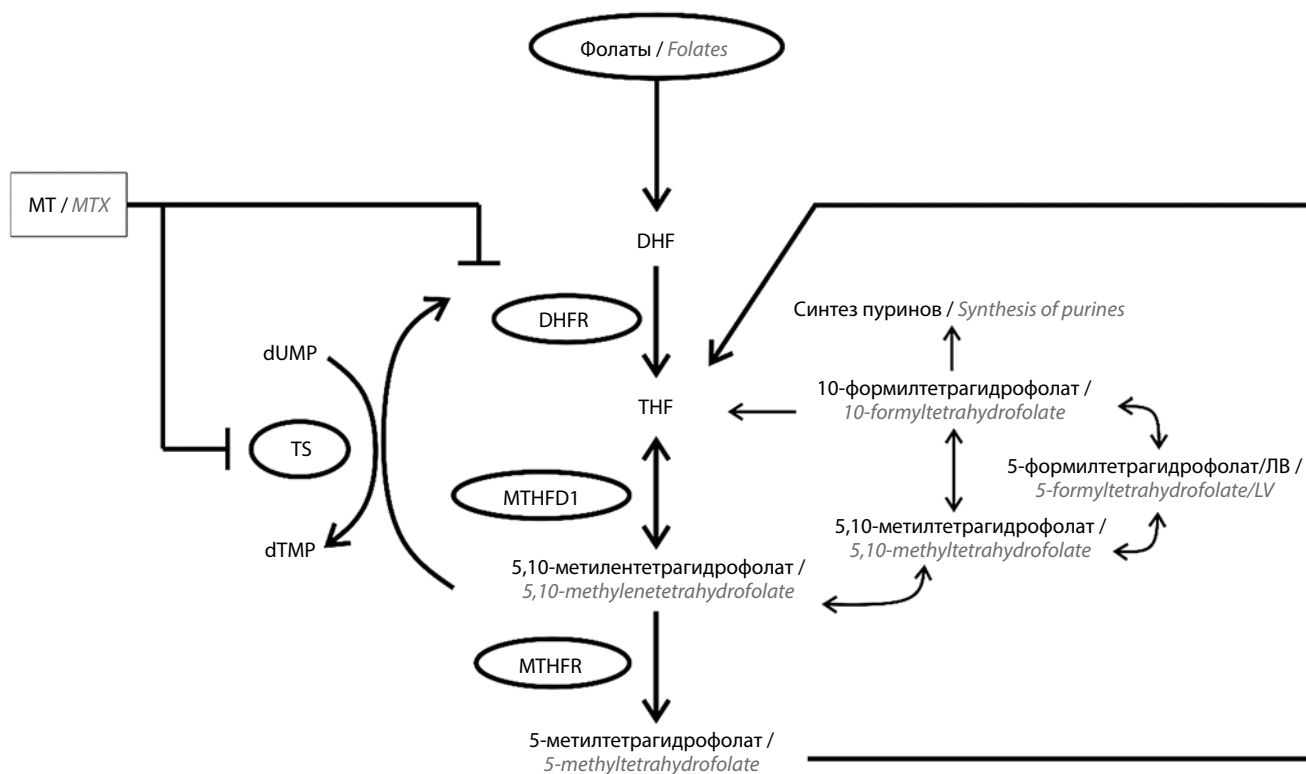


Рис. 1. Схема спасательной терапии 5-формилтетрагидрофолатом (лейковорином (ЛВ)) в обход дигидрофолатредуктазы (DHFR), блокированной метотрексатом (MT) [3]. DHF – дигидрофолат; THF – тетрагидрофолат; TS – тимидилатсинтаза; DHFR – дигидрофолатредуктаза; MTHFD1 – метилентетрагидрофолатдегидрогеназа 1; MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза; MT – метотрексат; dUMP – дезоксиуридинмонофосфат; dTMP – дезокситимидинмонофосфат

Fig. 1. Leucovorin (LV) (5-formyltetrahydrofolate) rescue therapy bypasses dihydrofolate (DHFR) [3]. THF – tetrahydrofolate; TS – thymidylate synthase; DHFR – dihydrofolate reductase; MTHFD1 – methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1; MTHFR – methylenetetrahydrofolate reductase; MTX – methotrexate; dUMP – deoxyuridine monophosphate; dTMP – deoxythymidine monophosphate

ретикулоэндотелиальных элементов, создавая там локальное депо защитного препарата без повышения его содержания в других тканях и общем кровотоке. Через 2–3 мин после внутривенного введения туши крысам с опухолью она обнаруживалась во всех сосудах, а уже спустя 2 ч депонировалась только в костном мозге, кишечнике, печени, селезенке, немного в почках и лимфатических узлах, но не в опухолевых узлах использованной в этих экспериментах лимфосаркомы Плисса. Однократное введение адсорбированной на туши ФК за сутки до первого введения МТ полностью защищало наиболее уязвимые органы крыс от последующего 9-кратного ежедневного введения МТ. При этом рост лимфосаркомы был максимально угнетен, отсутствовало метастазирование, и все животные дожили до конца эксперимента с хорошими показателями крови. Введение ФК без носителя снижало противоопухолевое действие МТ, а использованные в данном эксперименте дозы МТ без ФК приводили вместе с угнетением роста опухоли к ранней гибели всех животных от токсикоза [2].

Данный метод избирательной защиты нормальных тканей в дальнейшем был апробирован в гинекологическом отделении клиники Института экспериментальной и клинической онкологии при лечении трофобластических опухолей. Эти редкие опухоли, как доброкачественные, так и злокачественные, возникают при беременности из клеток трофобласта. Агрессивный злокачественный рост с метастазированием проявляют инвазивный пузырный занос, хориокарцинома и эпителиоидная трофобластическая опухоль. В их лечении до сих пор основным препаратом 1-й линии является МТ, однако при этом применение высоких доз данного препарата по-прежнему ограничивается у пациентов с осложнениями — энтероколитом, стоматитом, гастритом и лейкопенией [6].

Результаты пилотного исследования, направленного на определение эффективности защиты нормальных тканей пероральным введением ФК, адсорбированной на активированном угле, больным со злокачественной хорионэпителиомой были успешными [7]. Однако из-за болезни Г.Я. Свет-Молдавского дальнейшие эксперименты по использованию адсорбированной ФК не проводились.

Есть основания полагать, что данный подход к проблеме избирательной защиты нормальных тканей при химиотерапии не потерял свою актуальность и в настоящее время, поскольку может быть приложен к лечению опухолей не только с помощью МТ, но и других препаратов, имеющих свои антитоды. Идеи часто опережают возможности их претворения в жизнь. Вероятно, ингибирование токсического эффекта цитостатиков путем депонирования в клетках ретикулоэндотелия защитных препаратов не получило дальнейшего развития в 1960-е годы не только из-за отсутствия лидера и генератора идей, но и в результате ограниченности знаний об изменении функций системы мононукле-

арных фагоцитов в организме, пораженном опухолью. На основе новых знаний о роли макрофагов в опухолевом росте, которые получены за последующие 5 десятилетий, можно разработать методы избирательной и персонализированной защиты нормальных тканей и органов при химиотерапии.

В настоящее время стало известно, что макрофаги очень пластичны и проявляют различную, иногда противоположную, активность в зависимости от локальных факторов их микроокружения. В ответ на проникновение патогена или повреждение тканей макрофаги приобретают воспалительный фенотип. При этом происходят активация ряда сигнальных путей, выработка активных форм кислорода и синтез провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли α , интерлейкинов (IL) 1 и IL-6), что повышает эффективность их противомикробного и противоопухолевого действия. Кроме того, в фазе заживления раны IL-4 и IL-13 стимулируют противоположную активность макрофагов, связанную с экспрессией трансформирующего фактора роста β 1, тромбоцитарного фактора роста, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), WNT и различных матриксных металлопротеиназ, которые ускоряют заживление ран, стягивая края поврежденной области, а также укрепляют поврежденный участок с помощью отложения внеклеточных коллагеновых волокон. Первоначально считалось, что все макрофаги проявляют противоопухолевую активность. Однако в настоящее время стало известно, что, помимо этого, в разных ситуациях они способствуют возникновению опухоли, ее прогрессии и метастазированию. В частности, показано, что одним из важных факторов канцерогенеза является хроническое воспаление, которое возникает в ответ на постоянные инфекции или хроническое раздражение. Макрофаги инициируют воспаление, синтезируя провоспалительные цитокины, которые привлекают и другие иммунные клетки в воспалительный очаг.

Возникшая опухоль инфильтрируется макрофагами, часть из которых проявляет противоопухолевую активность, а часть под влиянием синтезируемого опухолевыми клетками макрофагального колониестимулирующего фактора (CSF1) и IL-4/IL-1 трансформируется в фенотипы, способствующие прогрессии опухоли и метастазированию (опухолеассоциированные макрофаги, TAM), и изменяет противоопухолевую активность на супрессорную.

Сам процесс фагоцитоза может изменять свойства макрофагов. В частности, после фагоцитирования опухолевой клетки они могут утрачивать функцию иммунного надзора и снижать экспрессию провоспалительных цитокинов [8, 9]. TAM также стимулируют миграцию опухолевых клеток, инвазивный рост опухоли, а также ангиогенез. Эти клетки изменяют профиль экспрессии протеаз, таких как матриксные металлопротеиназы и катепсины, экспрессируют рецепторы

урокиназы (uPA) и другие ферменты и ремоделируют матрикс опухоли [10, 11].

Кроме того, опухоли метастазируют в области, организация которых частично определяется макрофагами. На основе исследования глиобластом, секретирующих экзосомы, содержащие матричную РНК, микроРНК и передающие таким образом генетическую информацию окружающим тканям, изучается их способность готовить преметастатические ниши, в которые привлекаются миелоидные клетки, экспрессирующие интегрин αM (CD11b) и рецептор VEGF1. Кроме того, у онкологических пациентов часто наблюдается повышенная свертываемость крови, что может приводить к тромбозам. Это способствует фиксации циркулирующих опухолевых клеток в зонах тромбоза. Они продуцируют CCL2 для привлечения воспалительных моноцитов CCR2, которые быстро развиваются в макрофаги, ассоциированные с метастазами [12–15]. В связи с приведенными данными возникает вопрос: «Могут ли такие макрофаги защищать опухоль от токсического агента антителом, например МТ или ЛВ, депонированными на корпускулярном носителе?» [16–18].

В последние десятилетия проблема использования фагоцитарной активности элементов ретикулоэндотелия для совершенствования терапии получила еще одно новое направление, вызванное тем, что разрабатывается и выходит на рынок большое количество нанопрепаратов. Наномедицина стала перспективной областью в онкологии благодаря ее возможности повысить избирательность действия химиопрепаратов. Однако, как показали результаты исследований, только 0,7 % лекарственных наночастиц достигают опухолевых клеток [19, 20]. Остальную массу препарата поглощают макрофаги, накапливая ее в нормальных тканях и повреждая их. Поэтому для защиты нормальных тканей и увеличения пула циркуляции нанопрепаратов в кровотоке исследуется возможность использования стратегии ингибирования фагоцитоза. Например, распознаванию макрофагами наночастиц препятствуют путем снижения иммуногенности нанопрепаратов, покрывая их поверхность полимерами или маскируя сигнальными молекулами типа CD47, которые при взаимодействии с белком SIRPM1 генерируют сигнал «не ешь меня». Учитывается и то, что фагоцитоз требует значительных энергетических затрат. Для подавления генерации энергии были разработаны наночастицы, блокирующие аэробный гликолиз с помощью эффективного ингибитора транспортера глюкозы BAY-876. В результате резко уменьшалось накопление наночастиц в печени и других нормальных органах, богатых резидентными макрофагами. При этом повысилась как доставка инкапсулированного цитостатика в опухоль, так и эффективность лечебного воздействия [19, 20].

Еще одним методом временной блокады активности элементов ретикулоэндотелия является их из-

быточная нагрузка нейтральными наночастицами. В этих условиях введенные лекарственные наночастицы циркулируют в кровотоке дольше и более длительно действуют на клетки опухоли. В экспериментах A.V. Mirkasymov и соавт. наиболее эффективными блокаторами оказались частицы, покрытые карбоксиметилдекстраном, позволившие в десятки раз увеличить время циркуляции в кровотоке введенных позднее магнитных наночастиц, которые затем концентрировали в опухоли с помощью магнита [20]. При этом выяснилось, что данный эффект вариабелен у мышей различных линий, что, по мнению авторов, связано с разным содержанием макрофагов в ткани их паренхиматозных органов. Также важно, что само наличие опухоли ингибировало фагоцитоз, причем в зависимости от происхождения и морфологических особенностей опухоли. Время циркуляции лекарственных наночастиц могло увеличиваться в 5 раз у мышей с меланомой и в 2,6 раза у животных с опухолями молочной железы [21, 22]. Эти данные важны для персонализации протоколов лечения с использованием лекарственных препаратов в виде наночастиц при различных видах опухолей и у разных больных.

Одна из причин влияния опухолей на активность макрофагов связана с экспрессией на опухолевых клетках лиганда рецептора программируемой клеточной гибели 1 (PD-L1). Этот иммуноингибирующий лиганд находится на активированных Т-лимфоцитах и служит для поддержания иммунной толерантности и предотвращения аутоиммунных реакций. Клетки опухолей различного гистогенеза в разной степени экспрессируют PD-L1, что обеспечивает им уход из-под иммунного надзора. ТАМ также экспрессируют PD-L1, причем в ходе прогрессии опухоли уровень экспрессии рецептора растет. Блокада связи PD-1 — PD-L1 *in vivo* стимулирует способность макрофагов фагоцитировать опухолевые клетки и продлевает жизнь мышей с трансплантированными опухолями. Она также эффективна у больных с различными онкологическими заболеваниями, включая меланому, колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого и лимфогранулематоз. Клиническим препаратом, блокирующим взаимодействие PD-1 с его инактивирующими лигандами, является ниволумаб — человеческое моноклональное антитело IgG4, эффективное, в частности, у больных с рецидивирующей или рефрактерной формой лимфогранулематоза, которые ранее безуспешно получали интенсивное лечение. Его использование дало положительный результат в 87 % случаев в виде дополнительной отсрочки рецидива на 6 мес. и более. Стимуляция макрофагов путем блокады системы распознавания «свой — чужой» (PD-1 — PD-L1), как и остальные химиотерапевтические методы лечения, имеет относительную избирательность по отношению к ТАМ, поскольку активирует и остальные макрофаги организма. Терапевтический интервал этого метода ограничен опасностью аутоиммунных осложнений,

таких как пневмонит, колит, гепатит, нефрит, гипогипертиреоз и т.д. В связи с этим некоторые больные отказываются от дальнейшего лечения [23–26].

Таким образом, нам представляется перспективным изучение вопроса о возможности объединения этих двух разных подходов к воздействию на систему мононуклеарных фагоцитов с целью повышения эффективности и избирательности ХТ. С одной стороны, загрузка макрофагов блокирующим носителем с защитным препаратом, например ФК или ЛВ, позволит использовать высокие дозы МТ, а с другой — блокада фагоцитоза снизит захват введенных после блокады наночастиц с другим противоопухолевым препаратом. Это позволит достичь двойного воздействия на опухоль при меньшем поражении чувствительных нормальных тканей.

ЗАЩИТА НОРМАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧИЙ В ЭКСПРЕССИИ ИЗОФОРМ ЦИТОХРОМА P450

Следует иметь в виду, что ЛВ одинаково доступен как для нормальных, так и для опухолевых клеток, и только разница в их чувствительности к МТ обеспечивает клинический эффект. Таким образом, логично сделать действие защитного препарата более доступным для нормальных клеток, чем для опухолевых, путем создания соответствующей транспортной формы защитного препарата. В основу этого положены данные о различной активности в нормальных и опухолевых тканях человека изоформ цитохрома P450 (СУР), метаболизирующих широкий спектр ксенобиотиков, в том числе лекарственные препараты.

СУР является суперсемейством белков эндоплазматического ретикулума, примерно 70 % из которых в печени человека являются изоформами СУР1А2, СУР2А6, СУР2В6, СУР2С, СУР2D6, СУР2Е1 и СУР3А4. В меньшей степени они экспрессируются во внепеченочных тканях, таких как тонкий кишечник, почки и периферические клетки крови.

В опухолях различного генеза их активность по сравнению с нормой варьирует от нулевой до повышенной. Это отмечено уже в ранних работах, когда активность изоформ СУР определялась суммарно по способности микросомной фракции метаболизировать определенный субстрат. В частности, при изучении способности этой фракции, выделенной из опухолей легкого отдельных пациентов, метаболизировать бенз(а)пирен, обнаружена более чем 20-кратная разница в активности. Такой же диапазон различий был и при сравнении между собой нормальных тканей, окружающих опухоль.

В 73 случаях экспрессия СУР в тканях опухолей была ниже, в 11 — выше и только в 2 случаях оказалась одинаковой [27, 28]. Таким образом, в процессе канцерогенеза, а также прогрессирования и дедифференцировки опухолевые клетки могут полностью утрачивать некоторые изоформы. Позднее это было подтверждено при анализе экспрессии 4 основных

изоформ СУР — СУР1А1, СУР1В1, СУР2С9 и СУР3А4 — в опухолях человека наиболее частой локализации (рак желудка, молочной железы, предстательной железы, пищевода, яичника, мочевого пузыря, почек, толстого кишечника и саркомы). Так, во всех исследованных случаях аденокарцином желудка, светлоклеточного рака почки, а также рака молочной железы отсутствовала экспрессия всех изоформ семейства СУР2С, в том числе СУР2С9 и СУР2С19, играющих значительную роль в метаболизме лекарственных средств. При этом примерно у 25 % пациентов с раком пищевода и предстательной железы в опухолевых тканях обнаружена экспрессия данных изоформ СУР. Кроме того, в большинстве опухолей предстательной железы утрачивалась изоформа СУР3А5, участвующая в метаболизме тестостерона [29]. В гепатомах человека также значительно снижена экспрессия генов всего суперсемейства P450 по сравнению с окружающей нормальной тканью [30]. В большинстве плоскоклеточных бронхогенных опухолей легкого отсутствуют изоформы СУР1А1, СУР2А6, СУР2Е1 и СУР3А, а в аденокарциномах они определяются на ранней стадии развития опухоли и в наиболее дифференцированных формах [31, 32]. В то же время уровень экспрессии цитохромов СУР1А1, СУР1В1, СУР2Е1 в опухолях толстого кишечника выше, чем в клетках нормального эпителия [33].

Как упоминалось выше, у людей наблюдаются большие различия в экспрессии отдельных изоформ СУР [34]. Поскольку известно, что ферменты СУР активно участвуют в метаболизме как традиционных цитостатиков, так и таргетных препаратов (табл. 2), изучение индивидуальных профилей экспрессии генов семейства СУР может способствовать повышению эффективности ХТ с использованием ряда препаратов. Так, у некоторых пациентов отсутствует экспрессия генов изоформ семейства СУР2А6, что связано с метаболической активацией фторафура (ФФ). Это приводит к снижению ответа опухоли на лечение этим лекарственным средством [32, 35–37].

Генетические вариации в экспрессии отдельных изоформ СУР в организме человека, не совпадающие с экспрессией этих изоформ в опухоли, делают перспективным создание и использование химиопрепаратов, активируемых или детоксицируемых преимущественно отдельными изоформами. Исходя из этого, можно создавать как агенты с избирательной защитой нормальных тканей, так и с избирательным поражением опухолевых.

Как упоминалось ранее, успешное использование ФФ при опухолях толстого кишечника может быть связано с высокой экспрессией клетками этих опухолей цитохромов СУР1А1, СУР1В1, СУР2Е1 и СУР2А6, которые окисляют ФФ в тетрагидрофурановой части молекулы с последующим разрывом псевдогликозидной связи и высвобождением 5-фторурацила [38, 39]. Это показано как на клеточной культуре, так и в экспери-

Таблица 1. Уровни экспрессии изоформ семейства CYP в нормальных тканях печени и других органов (по данным The Human Protein Atlas)

Table 1. Expression levels of the CYP family enzymes in liver and other normal organ tissues (according to the The Human Protein Atlas)

CYP	Уровень экспрессии матричной РНК в ткани печени Messenger RNA expression level in liver tissue	Уровень экспрессии белка в ткани печени Protein expression in liver tissue	Уровень экспрессии в тканях других органов матричной РНК/белка Messenger RNA/protein expression levels in tissues of other organs
CYP1A2	Высокий High	Высокий High	Желчный пузырь — высокий/высокий Gallbladder: high/high
CYP2A6	Умеренный Moderate	Умеренный Moderate	Семенники — низкий/высокий Testes: low/high
CYP2B6	Низкий Low	Низкий Low	Тонкий кишечник — низкий/высокий; почки — низкий/умеренный; поджелудочная железа — низкий/умеренный; семенники — низкий/умеренный; влагалище — низкий/умеренный; лимфатические узлы и селезенка — низкий/умеренный Small intestine: low/high; kidneys: low/moderate; pancreas: low/moderate; testes: low/moderate; vagina: low/moderate; lymph nodes and spleen: low/moderate
CYP2C8	Умеренный Moderate	Умеренный Moderate	Желчный пузырь — низкий/умеренный; тонкий кишечник — низкий/умеренный; толстый кишечник — низкий/умеренный Gallbladder: low/moderate; small intestine: low/moderate; large intestine: low/moderate
CYP2C9	Высокий High	Высокий High	Двенадцатиперстная кишка — низкий/высокий; желчный пузырь — низкий/умеренный Duodenum: low/high; gallbladder: low/moderate
CYP2C19	Низкий Low	Низкий Low	Двенадцатиперстная кишка — умеренный/высокий; толстый кишечник — низкий/умеренный; желчный пузырь — низкий/умеренный Duodenum: moderate/high; large intestine: low/moderate; gallbladder: low/moderate
CYP2E1	Высокий High	Высокий High	—
CYP2D6	Низкий Low	Низкий Low	Тонкий кишечник — низкий/умеренный Small intestine: low/moderate
CYP2E1	Умеренный Moderate	Умеренный Moderate	—
CYP3A4	Высокий High	Высокий High	Тонкий кишечник — умеренный/высокий; толстый кишечник — низкий/высокий Small intestine: moderate/high; large intestine: low/high
CYP4A11	Умеренный Moderate	Низкий Low	—

менте на животных. Генно-модифицированные клетки рака толстого кишечника, экспрессирующие CYP2A6, в 2,6 раза активнее катализировали превращение ФФ в 5-фторурацил по сравнению с трансфицированными нулевой конструкцией. Соответственно, их рост ингибировался также намного сильнее [38, 39].

Предварительная индукция повышенной экспрессии CYP фенотербиталом и/или 20-метилхолантроном резко усиливала действие ФФ на лейкоз Раушера, перевитый мышам, а также его токсическое действие. Ингибитор CYP SKF 525-A отменял оба эффекта [40].

Для вариантов, когда в нормальных клетках организма активность определенных изоформ CYP выше, чем в опухолевых, логично было создать латентную форму защитного препарата, активируемую этой ферментной системой. В связи с этим по аналогии с ФФ создана латентная форма тимидина, которая должна была быть более доступной нормальным клеткам с более широким и активным спектром CYP, чем опухолевым клеткам. Поскольку 5-фторурацил превращают в транспортную форму ФФ путем присоединения к его молекуле тетрагидропиранильной защитной группы,

Таблица 2. Белки семейства CYP и их субстраты среди химиопрепаратов**Table 2.** CYP family proteins and their substrates among chemotherapeutic agents

CYP	Субстрат (химиопрепарат) Substrate (chemotherapeutic drug)
CYP3A4	Таксаны: паклитаксел, доцетаксел. Винка-алкалоиды: винкристин, винбластин, винорелбин. Эпиподофиллотоксины: этопозид, тенипозид. Ингибиторы тирозинкиназ: иматиниб, дазатиниб, nilотиниб, босутиниб, понатиниб, руксолитиниб, ибрутиниб, иделалисб, венетоклакс, сорафениб, сунитиниб, пазопаниб, кабозантиниб, вандетаниб, акситиниб, регорафениб. Ингибиторы CDK4/6: палбоциклиб, рибоциклиб, абемациклиб. PARP-ингибиторы: олапариб. Гормональная терапия: тамоксифен, анастрозол, летрозол, экземестан, фулвестрант, абиратерон, энзалутамид. Иммуномодуляторы: эверолимус, темсиролимус. Алкилирующие агенты: циклофосфамид, ифосфамид, тиотепа Taxanes: paclitaxel, docetaxel. Vinca alkaloids: vincristine, vinblastine, vinorelbine. Epipodophyllotoxins: etoposide, teniposide. Tyrosine kinase inhibitors: imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib, ponatinib, ruxolitinib, ibrutinib, idelalisib, venetoclax, sorafenib, sunitinib, pazopanib, cabozantinib, vandetanib, axitinib, regorafenib. CDK4/6 inhibitors: palbociclib, ribociclib, abemaciclib. PARP inhibitors: olaparib. Hormone therapy: tamoxifen, anastrozole, letrozole, exemestane, fulvestrant, abiraterone, enzalutamide. Immunomodulators: everolimus, temsirolimus. Alkylating agents: cyclophosphamide, ifosfamide, thiotepe
CYP2C8	Таксаны: паклитаксел. Гормональная терапия: энзалутамид Taxanes: paclitaxel. Hormone therapy: enzalutamide
CYP2B6	Алкилирующие агенты: циклофосфамид, ифосфамид Alkylating agents: cyclophosphamide, ifosfamide
CYP2C9	Алкилирующие агенты: циклофосфамид, ифосфамид. Гормональная терапия: тамоксифен Alkylating agents: cyclophosphamide, ifosfamide. Hormone therapy: tamoxifen
CYP2C19	Алкилирующие агенты: циклофосфамид, ифосфамид Alkylating agents: cyclophosphamide, ifosfamide
CYP1A2	Алкилирующие агенты: дакарбазин. Ингибиторы тирозинкиназ: иматиниб, пазопаниб. Гормональная терапия: фулвестрант Alkylating agents: dacarbazine. Tyrosine kinase inhibitors: imatinib, pazopanib. Hormone therapy: fulvestrant
CYP2A6	Гормональная терапия: летрозол, фадрозол. Антиметаболиты: тегафур Hormone therapy: letrozole, fadrozole. Antimetabolites: tegafur
CYP2E1	Алкилирующие агенты: дакарбазин. Эпиподофиллотоксины: этопозид Alkylating agents: dacarbazine. Epipodophyllotoxins: etoposide
CYP1B1	Таксаны: паклитаксел, доцетаксел. Гормональная терапия: тамоксифен, флутамид Taxanes: paclitaxel, docetaxel. Hormone therapy: tamoxifen, flutamide

по аналогии с ним созданы 2 замещенные формы тимидина 5'-О-(тетрагидрофуранил)тимидин и 3'-О-(2-тетрагидрофуранил)тимидин (рис. 2). При их ин-

кубации с микросомами печени крыс происходило отщепление защитной группы, и они превращались в тимидин (О-тетрагидрофуранильные производные

тимидина и 2-дезокситимидина). Полученные соединения были переданы для испытаний в качестве защитных препаратов от токсического действия цитостатиков, однако это перспективное направление по ряду финансово-организационных причин не получило дальнейшего развития.

В последние годы также особый интерес вызывает влияние однонуклеотидных полиморфизмов некоторых представителей семейства CYP на эффективность лечения. Так, I. Pastina и соавт. выявили, что наличие полиморфизма CYP1B1-4326C>G у пациентов с кастрационно-резистентным раком предстательной железы опосредовало как худший ответ на доцетаксел, так и более низкую общую выживаемость [41]. Схожие результаты у пациентов с трижды негативным раком молочной железы получили и другие авторы. В их исследовании было показано, что у больных с гомозиготным вариантом генотипа и вариантом аллеля полиморфизма CYP1B1 4326C>G наблюдался значительно более высокий риск развития резистентности к ХТ [42]. Это также продемонстрировано и для других членов семейства CYP, например для CYP2B6 и CYP2C19 [43]. Помимо ответа на терапию непосредственно опухоли выявлена связь генетического варианта гена и чувствительности нормальных тканей к химиотерапевтическим агентам [43].

ЗАЩИТА НОРМАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ НА ОСНОВЕ УТРАТЫ ОПУХОЛЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К РЕГУЛЯТОРНЫМ СИГНАЛАМ

Высокая упорядоченность поддержания клеточного гомеостаза в нормальной ткани обуславливает однонаправленную реакцию нормальных клеток на определенный стимул, в отличие от утратившей чувствительность к нему разбалансированной опухолевой популяции. На этом принципе строится одна из стратегий избирательной защиты наиболее уязвимых нормальных органов от высоких доз цитостатиков, необходимых для максимального подавления роста опухоли, резистентной к обычным дозам. Эта стратегия, названная стратегией двух лекарств, состоит в том, что характер действия цитостатиков на нормальные пролиферирующие клетки зависит от используемой дозы [44, 45]. Так, в терапевтических дозах они вызывают гибель клеток, а в субтоксичных — остановку клеточного цикла и активацию репарации. Опухолевые клетки, резистентные к субтоксическим дозам цитостатиков, продолжают делиться и становятся избирательно уязвимыми для второй группы цитотоксических агентов — митотических ядов, к которым у них нет перекрестной устойчивости [46–48]. Один из вариантов, при котором нормальные клетки приостанавливают цикл размножения в ответ на малую дозу цитостатика, был назван циклотерапией. В наиболее полном виде она представлена и экспериментально обоснована M. Y. Blagosklonny [49].

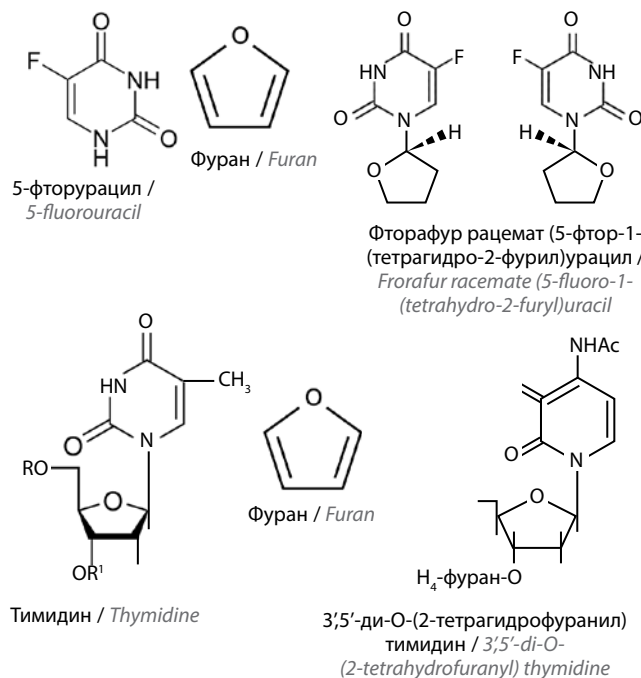


Рис. 2. Схематическое изображение синтеза транспортных форм 5-фторурацила и тимидина

Fig. 2. Schematic representation of the synthesis of transport forms of 5-fluorouracil and thymidine

Эффективность такой комбинации первоначально была продемонстрирована в эксперименте на 2 линиях клеток промиелоцитарного лейкоза человека HL60 и HL60/TX, различающихся по чувствительности к адриабластину (табл. 3). Предварительная обработка малой дозой этого цитостатика временно блокировала клеточный цикл в нормальных клетках, но не в резистентных опухолевых клетках. Другой препарат, ингибитор митотического веретена типа паклитаксела, применяемый после адриабластина, вызывал апоптоз опухолевых клеток вследствие стабилизации микротрубочек в митозе. Нормальные клетки не входили в митоз и поэтому не подвергались действию митотического яда. Очевидно, что в условиях организма, где опухоль состоит из клонов, находящихся на разных стадиях прогрессии, таким приемом будут уничтожены не все опухолевые клетки, но, по крайней мере, самые злокачественные и быстро растущие, полностью утратившие чувствительность к регуляторным сигналам.

В дальнейшем были разработаны и другие варианты избирательного поражения химиопрепаратами опухолевых клеток, утративших связь с регуляторными механизмами тканей и организма (см. табл. 3).

В случае, если резистентность опухоли связана с экспрессией эффлюксных насосов, таких как ABC-транспортёры ABCG2, MDR1 и MRP, предлагается комбинация из препарата, индуцирующего апоптоз, и его антагониста. Важно, чтобы первый не был субстратом Pgp/MRP, а второй, наоборот, должен быть им

Таблица 3. Стратегия двух лекарств в циклотерапии

Table 3. Two-drug strategy in cyclotherapy

Препарат 1 – протектор Drug 1 – protective agent	Препарат 2 – цитотоксин Drug 2 – cytotoxic agent	Механизм действия Mechanism of action
P53-зависимая циклотерапия P53-dependent cyclotherapy		
Низкие дозы доксорибуцина, актиномицина и этопозиды Low doses of doxorubicin, actinomycin and etoposide	Паклитоксел и другие ингибиторы митоза Paclitaxel and other mitotic inhibitors	В отличие от нормальных клеток (wt p53), в опухолевых клетках с мутантным p53 низкие дозы цитостатиков не блокируют митоз. В результате опухолевые клетки гибнут от действия препаратов, специфичных для S- или M-фазы цикла [44] Unlike normal cells (wt p53), low doses of cytostatics do not block mitosis in tumor cells with mutant p53. As a result, tumor cells die from the action of drugs specific to the S- or M-phase of the cycle [44]
Нутлин-3а (ингибитор Mdm-2) Nutlin-3a (Mdm-2 inhibitor)	Паклитоксел и другие ингибиторы митоза Paclitaxel and other mitotic inhibitors	Нутлин-3а останавливает пролиферацию нормальных клеток в фазах G1 и G2, но не опухолевых клетках с мутантным p53. Последние гибнут от апоптоза, вызванного паклитакселем или другими антимитогенными препаратами [45] Nutlin-3a stops the proliferation of normal cells in G1 and G2, but not tumor cells with mutant p53. The latter die from apoptosis induced by paclitaxel or other antimitogenic drugs [45]
IL-1Ra (антагонист человеческого рецептора IL-1) IL-1Ra (human IL-1 receptor antagonist)	5-фторурацил, азациитидин 5-fluorouracil, azacitidine	IL-1Ra останавливает у мышей деление нормальных клеток системы кроветворения, кишечных крипт и тимуса, защищая их от 5-фторурацила и азациитидина, но не опухолевых клеток с мутантным p53 [46] IL-1Ra stops hematopoietic, intestinal crypt, and thymus cell division in mice, protecting them from 5-fluorouracil and azacitidine, but not tumors with mutant p53 [46]
Избирательное уничтожение клеток, экспрессирующих Pgp/MRP Selective killing of cells expressing Pgp/MRP		
Ингибитор каспаз z-DEVDfmk Caspase inhibitor z-DEVDfmk	Флавопиридол, таксотер, иксабепилон Flavopiridol, taxotere, ixabepilone	Резистентные клетки опухоли, экспрессирующие Pgp/MRP1, выбрасывают введенный ингибитор каспаз z-DEVD-fmk и погибают от апоптоза, вызванного индукторами каспаз [47] Resistant tumor cells expressing Pgp/MRP1 release the administered caspase inhibitor z-DEVD-fmk and die by caspase inducer-induced apoptosis [47]
P53-независимая циклотерапия P53-independent cyclotherapy		
Низкие дозы стауроспорина и его аналога UCN-01 Low doses of staurosporine and its analogue UCN-01	Доксорибуцин, 5-фторурацил, камптотецин Doxirubicin, 5-fluorouracil, camptothecin	Низкие дозы стауроспорина останавливают пролиферацию нормальных клеток (pRb+) в фазе G1, но не опухолевых клеток pRb– [48] Low doses of staurosporine stop the proliferation of normal cells (pRb+) in G1, but not tumor pRb– [48]
AG1478-ингибитор рецепторов EGF-киназ AG1478 – EGF receptor kinase inhibitor	Паклитаксел и другие ингибиторы митоза Paclitaxel and other mitotic inhibitors	Низкие дозы AG1478 – ингибитора рецепторов EGF-киназ останавливают пролиферацию immortalized клеток молочной железы, но не EGF-независимых опухолевых клеток [49] Low doses of AG1478, an EGF receptor kinase inhibitor, stopped the proliferation of immortalized breast cells but not EGF-independent cancer cells [49]
Низкая доза флавопиридола (ингибитора пан-CDK) Low dose of flavopiridol (pan-CDK inhibitor)	Паклитаксел Paclitaxel	Флавопиридол, ингибитор пан-CDK в низких концентрациях защищает p21-чувствительные клетки [50, 51] Flavopiridol, a pan-CDK inhibitor, protects p21-sensitive cells at low concentrations [50, 51]

Окончание табл. 3

End of table 3

Препарат 1 — протектор Drug 1 — protective agent	Препарат 2 — цитотоксин Drug 2 — cytotoxic agent	Механизм действия Mechanism of action
Циклотерапия с использованием ингибиторов Cyclotherapy using inhibitors		
Ингибиторы CDK4/6 палбоци- клиб и трилациклиб CDK4/6 inhibitors palbociclib and trilaciclib	Радиоактивное излучение, карбо- платин этопозид, атезолизумаб, топотекан, препара- ты платины Radiation, carboplatin, etoposide, atezolizumab, topotecan, platinum drugs	Малые дозы ингибиторов CDK4/6 обратимо останавливают цикл размножения ранних гемопоэтических стволовых клеток костного мозга и клеток кишечника <i>in vivo</i> , в отличие от Rb-дефицитных клеток опухолей, устойчивых к этим ингибиторам. При лечении больных раком легкого трилациклиб уменьшает нейтропению и другие осложнения, не снижая эффекта химиотерапии. Препарат одобрен для этих целей Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration) [52] Low doses of CDK4/6 inhibitors reversibly stopped the proliferation cycle of early hematopoietic stem cells in bone marrow and intestinal cells <i>in vivo</i> , unlike Rb-deficient tumor cells resistant to these inhibitors. In the treatment of lung cancer patients, trilaciclib reduced neutropenia and other complications without reducing the effect of chemotherapy. Food and Drug Administration approved for this purpose [52]

Примечание. IL — интерлейкин; EGF — эпидермальный фактор роста.

Note. IL — interleukin; EGF — epidermal growth factor.

и вследствие этого активно удаляться из опухолевой клетки. В результате токсическое действие первого препарата нейтрализуется в нормальных клетках ингибитором, который из опухолевых клеток удаляется насосами Pgp/MRP. Этот эффект продемонстрирован на клетках лейкоза человека HL60, экспрессирующих и не экспрессирующих Pgp/MRP. Индуктором апоптоза, токсичным для обеих клеточных линий, был бензилоксикарбонил-Val-Ala-Asp-фторметилкетон (z-VAD-fmk), а ингибитором каспаз — флавопиридол, который в малой дозе защищал только нормальные клетки, но не резистентные, удалявшие этот ксенобiotик эффлюксными насосами [53].

Как правило, невосприимчивость к сигналам остановки клеточного цикла в опухолевых клетках обусловлена утратой функций p53, белка ретинобластомы (pRb) и других ингибиторов пролиферации. Соответственно, их активация может быть использована для избирательной защиты нормальных клеток при ХТ также путем временной остановки клеточного цикла. Этот эффект могут вызывать как специфические активаторы p53 типа нутлинов, которые препятствуют взаимодействию этого белка с его ингибитором — белком MDM2, так и малые дозы некоторых цитостатиков. Например, в одном из экспериментов низкие концентрации доксорубина индуцировали экспрессию p53 и вызывали остановку клеточного цикла в клетках культуры колоректальной карциномы человека HCT116-p53^{+/+}, но не в резистентной к нему колоректальной карциноме HCT116-p53^{-/-}. Последующая обработка обеих культур паклитаксолом вызывала гибель резистентной культуры, тогда как родительская была защищена в результате остановки пролиферации [44, 54, 55].

Активация p53 может быть вызвана и воздействием на ILs, поскольку их взаимодействие с p53 влияет на клеточный цикл. Показано, что рекомбинантный антагонист человеческого рецептора IL-1 (rhIL-1Ra) стимулирует фосфорилирование белков p38, p53 и p21 и обратимо блокирует продвижение по клеточному циклу стволовых и прогениторных клеток гемопоэза. Введение rhIL-1Ra до начала лечения 5-фторурацилом мышам с перевиваемой опухолью уменьшало вызываемую этим антиметаболитом нейтропению, но не снижало пролиферативный пул опухолевых клеток и, соответственно, их чувствительность к 5-фторурацилу. Такой же эффект получен и при предотвращении токсического действия 5-азациитидина на клетки тимуса мышей с помощью rhIL-1Ra [46, 56, 57].

Р53-НЕЗАВИСИМАЯ ЦИКЛОТЕРАПИЯ

Разработан ряд методов временной остановки клеточного цикла, не связанный с p53. В качестве примера p53-независимой циклотерапии M.V. Blagosklonny [49] приводит данные о действии стауроспорина, ингибирующего протеинкиназы. В культуре нормальных клеток молочной железы минимальные дозы этого агента (около 0,5–2 нМ) вызывали временную остановку цикла в фазе G0/G1 путем воздействия на сигнальный путь pRb стауроспорином, который вызывал быстрое и полное исчезновение CDK4, происходившее до полного гипофосфорилирования pRb и одновременно со снижением активности CDK2 в результате его связывания с p27. Клетки рака молочной железы, дефектные по контрольным точкам, также регулируемые pRb, не были чувствительны к сигналу остановки деления и уходили в апоптоз под действием

высоких доз доксорубина или камптотецина. Блокированные нормальные клетки переносят дозы камптотецина, более чем в 100 раз превышавшие летальные, и после отмывки агента продолжали делиться. Аналогичный защитный эффект стауроспорин проявлял и в отношении нормальных лимфоцитов [48, 58].

Результаты исследования ингибирующего действия малых доз аналога стауроспорина UCN-01 (7-гидроксистауроспорина) на пролиферацию нескольких штаммов нормальных и опухолевых клеток молочной железы человека показали, что в то время как нормальные клетки были очень чувствительны к UCN-01 и останавливали пролиферацию при действии малых доз, опухолевые клетки демонстрировали незначительное ингибирование роста или полное отсутствие реакции. UCN-01 также обратимо останавливал деление клеток эпителия кишечника мышей *in vivo*. На этом фоне животные с перевитой трижды негативной опухолью молочной железы переносят высокие дозы 5-фторурацила, которые намного более эффективно подавляли рост опухолей и значительно увеличивали продолжительность жизни мышей [59, 60]. Показано, что действие низких доз многих других цитотоксических агентов в отношении нормальных и опухолевых клеток существенно различается и может быть использовано для избирательного снижения побочного действия препаратов в химиотерапевтических схемах. Эти агенты нарушают различные сигнальные пути, контролирующие деление и выживание клеток, в том числе связанные с рецептором эпидермального фактора роста (EGFR/Erb1). Этот рецептор экспрессируется в большинстве типов клеток за исключением кроветворных. Его аберрантная активация связана с возникновением и прогрессией различных злокачественных опухолей. Повышенная экспрессия или мутация EGFR/Erb1 коррелирует с поздними стадиями развития опухолей, метастазированием и неблагоприятным клиническим исходом [61, 62].

В частности, это отмечено в патогенезе гепатоцеллюлярной карциномы. Блокирование EGFR/Erb1 тирфостином (4-(3-хлоранилино)-6,7-диметоксиназолоном) вызывает в различных линиях клеток опухолей печени остановку клеточного цикла в фазе G1, активацию каспазы-3, фрагментацию ДНК и гибель клеток. При этом повышается экспрессия проапоптотического члена семейства BCL-2 BIM и снижается экспрессия антиапоптотических белков BCL-XL и MCL1. Кроме того, уменьшаются и экспрессия ингибиторов каспаз HIAP2 и XIAP. Тирфостин также усиливает апоптоз, вызванный доксорубином. В то же время его малые дозы останавливают пролиферацию иммортализованных клеток молочной железы, что защищает их, но не EGF-независимые клетки опухоли, от токсического действия паклитаксела [49, 63, 64].

В 1958 г. W.W. Smith показал, что производное колхицина, связывающееся с тубулином микротрубочек

и вследствие этого блокирующее деление клеток на стадии метафазы, предотвращает гибель мышей от общего облучения. Введение 1 мг этого соединения за 24 ч до облучения позволило более чем 50 % мышей перенести дозу в 1100 Р, смертельную для всех животных в контроле [65]. В дальнейшем было продемонстрировано, что химические ингибиторы CDK4/CDK6, в частности палбоциклиб, увеличивают радиорезистентность линий нормальных клеток человека *in vitro* и мышей *in vivo*. В то же время они не защищают линии клеток, пролиферирующие независимо от активности этих киназ, в частности 7 линий мелкоклеточного рака легкого человека с дефицитом Rb. Блокада палбоциклибом гемопоэза у мышей с опухолями при той же эффективности лучевой терапии значительно снижает тяжесть осложнений. Кроме того, в настоящее время проводятся клинические исследования миелопротекторного эффекта трилациклиба. Так, в ходе рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых клинических исследований II фазы M. Hussein и соавт., посвященных оценке эффективности применения этого препарата перед ХТ у пациентов с распространенным мелкоклеточным раком легкого, продемонстрирован выраженный миелопротекторный и эритропротекторный эффекты трилациклиба [66]. Однако в исследовании эффективности комбинации данного лекарственного средства с гемцитабином и карбоплатином у больных метастатическим трижды негативным раком молочной железы, несмотря на безопасность такого сочетания, не были выявлены значимые различия в показателях миелосупрессии [67]. Действие ингибиторов, преимущественно нацеленных на CDK1/2 (росковитин и флавопиридол), оказалось менее эффективным и в меньшей степени предсказуемым [68–70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе эволюции значительное развитие получили механизмы, направленные на сохранение гомеостаза клетки и всего организма. Они обеспечили многоуровневую защиту, которая в большинстве случаев предотвращает его нарушение как внешними, так и внутренними факторами. Опухолевые клетки в процессе прогрессии и функционального упрощения утрачивают часть этих свойств, эволюционируя в направлении возрастающей автономности. В связи с этим для защиты нормальных клеток от действия противоопухолевых препаратов рационально использовать механизмы, утрачиваемые опухолью клеткой, такие как чувствительность к регуляторным сигналам, позволяющим, например, временно останавливать пролиферацию всех нормальных клеток для того, чтобы с помощью митотических ядов или облучения отправлять в апоптоз продолжающие пролиферировать опухолевые клетки.

На уровне организма воздействие на систему клеточного иммунитета, в частности временное отключение ее фагоцитарной активности, позволяет значительно

повысить доставку в опухоль наноразмерных форм химиопрепаратов, которые в обычных условиях перехватываются макрофагами, депонируются в нормальных тканях с последующим их повреждением. С одной стороны, нагрузка макрофагов нейтральными частицами, блокирующими фагоцитоз, защищает нормальные клетки от этого повреждения. С другой стороны, нагрузка фагоцитов частицами с адсорбированным на них защитным препаратом позволяет значительно увеличить дозу химиопрепарата, поскольку нормальные органы защищаются этим антидотом, депонированным в резидентных макрофагах.

По нашему мнению, рационально объединить 2 последних подхода — создать еще один вариант защиты путем сочетания блокады макрофагов частицами с адсорбированным защитным препаратом типа ФК или ЛВ с последующим воздействием 2 противоопухолевых препаратов, с одной стороны, наноформой избранного цитостатика, а с другой — антиметаболитом типа МТ. Токсическое действие первого агента на опухоль будет усилено в результате увеличения времени его циркуляции и концентрации в кровотоке, а токсическое действие на нормальные ткани с резидентными макрофагами блокировано в результате временного отключения фагоцитоза. В то же время адсорбированный на блокирующих частицах антидот создаст депо, защищающее чувствительные нормальные ткани от действия второго противоопухолевого агента.

Дальнейшего изучения требуют и различия в экспрессии мощной системы цитохрома Р450, активирующей и детоксицирующей основную массу лекарственных препаратов в нормальных и опухолевых клетках, поскольку это перспективно в плане повышения избирательности противоопухолевой терапии. Значительная индивидуальная вариабельность экспрессии изоформ системы СYP в человеческой популяции в сочетании с мозаикой ее экспрессии в опухолях создает возможность не только персонализировать лекарственную противоопухолевую терапию, но и создавать новые целенаправленные защитные препараты. Сегодня также проводятся клинические испытания экспериментально обоснованных методов защиты нормальных клеток с использованием дозового эффекта некоторых широко применяемых химиопрепаратов, в частности доксорубина, этопозиды, палбоциклиба, трилациклиба и ряда других ингибиторов CDK4/6, каспаз, Mdm2, мишени рапамицина млекопитающих (mTOR), а также митогенных киназ, которые в больших дозах вызывают гибель чувствительных клеток, а в малых — только временно блокируют их размножение. Поскольку наиболее злокачественные опухолевые клетки резистентны к этим препаратам и продолжают делиться, их можно избирательно элиминировать с помощью лекарственных препаратов типа митотических ядов.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e s

1. Тюляндин С.А. Таргетная терапия: двадцать лет успехов и поражений. Практическая онкология 2019;4:274–88. DOI: 10.31917/2004274
Tyulandin S.A. Targeted therapy: twenty years of successes and failures. *Prakticheskaya onkologiya* = Practical Oncology 2019;4:274–88. (In Russ.). DOI: 10.31917/2004274
2. Свет-Молдавский Г.Я., Павлоцкий А.И., Равкина Л.И. Принцип избирательной защиты при химиотерапии злокачественных опухолей. Вестник АМН СССР 1967;5:6.
Svet-Moldavsky G.Ya., Pavlotsky A.I., Ravkina L.I. The principle of selective protection in the chemotherapy of malignant tumors. *Bulletin of the USSR Academy of Medical Sciences* 1967;5:6. (In Russ.).
3. Oosterom N., de Jonge R., Smith D.E.C. et al. Changes in intracellular folate metabolism during high-dose methotrexate and Leucovorin rescue therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *PloS One* 2019;14(9):e0221591. DOI: 10.1371/journal.pone.0221591
4. Skärby T.V., Anderson H., Heldrup J. et al. High leucovorin doses during high-dose methotrexate treatment may reduce the cure rate in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2006;20(11):1955–62. DOI: 10.1038/sj.leu.2404404
5. Olivo L.B., de Oliveira Henz P., Wermann S. et al. Anticipating leucovorin rescue therapy in patients with osteosarcoma through methotrexate population pharmacokinetic model. *Pharmaceutics* 2024;16(9):1180. DOI: 10.3390/pharmaceutics16091180
6. Latif M.F., Azam F., Hassan Tirmazy S.H., Bukhari N. Treatment outcomes of gestational trophoblastic disease, experience from Saudi Arabia. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2024;36(2):289–93. DOI: 10.55519/jamc-02-12695
7. Bates T.R., Blumenthal H.P., Pieniaszek H.J. Jr. Time course of free and N4-acetylated sulfapyridine concentrations in the plasma and saliva of man after sulfasalazine (salicylazosulfapyridine) administration: preliminary findings. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1976;15(1):183–9.
8. A-Gonzalez N., Quintana J.A., García-Silva S. et al. Phagocytosis imprints heterogeneity in tissue-resident macrophages. *J Exp Med* 2016;214(5):1281–96. DOI: 10.1084/jem.20161375
9. Wang L., Hu Z., Zhang W. et al. Promoting macrophage phagocytosis of cancer cells for effective cancer immunotherapy. *Biochem Pharmacol* 2025;232:116712. DOI: 10.1016/j.bcp.2024.116712
10. Fu L.Q., Du W.L., Cai M.H. et al. The roles of tumor-associated macrophages in tumor angiogenesis and metastasis. *Cell Immunol* 2020;353:104119. DOI: 10.1016/j.cellimm.2020.104119
11. Cassetta L., Pollard J.W. A timeline of tumour-associated macrophage biology. *Nature Review Cancer* 2023;23(4):238–57. DOI: 10.1038/s41568-022-00547-1
12. Qin R., Ren W., Ya G. et al. Role of chemokines in the crosstalk between tumor and tumor-associated macrophages. *Clin Exp Med* 2023;23(5):1359–73. DOI: 10.1007/s10238-022-00888-z

13. Arora L., Kalia M., Pal D. Role of macrophages in cancer progression and targeted immunotherapies. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2023;135:281–311. DOI: 10.1016/bs.apcsb.2022.11.010
14. Wang Y., Jiang H., Luo H. et al. An IL-4/21 inverted cytokine receptor improving CAR-T cell potency in immunosuppressive solid-tumor microenvironment. *Front Immunol* 2019;10:1691. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01691
15. Zhang G., Gao Z., Guo X. et al. CAP2 promotes gastric cancer metastasis by mediating the interaction between tumor cells and tumor-associated macrophages. *J Clin Invest* 2023;133(21):e166224. DOI: 10.1172/jci166224
16. Dallavalasa S., Beeraka N.M., Basavaraju C.G. et al. The role of tumor associated macrophages (TAMs) in cancer progression, chemoresistance, angiogenesis and metastasis – current status. *Curr Med Chem* 2021;28(39):8203–36. DOI: 10.2174/0929867328666210720143721
17. Viola A., Munari F., Sánchez-Rodríguez R. et al. The metabolic signature of macrophage responses. *Front Immunol* 2019;10:1462. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01462
18. Wang H., Wang X., Zhang X., Xu W. The promising role of tumor-associated macrophages in the treatment of cancer. *Drug Resist Updat* 2024;73:101041. DOI: 10.1016/j.drug.2023.101041
19. Mirkasymov A.B., Zelepukin I.V., Nikitin P.I. et al. *In vivo* blockade of mononuclear phagocyte system with solid nanoparticles: efficiency and affecting factors. *J Control Release* 2021;330:111–8. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.12.004
20. Mirkasymov A.B., Zelepukin I.V., Ivanov I.N. et al. Macrophage blockade using nature-inspired ferrihydrite for enhanced nanoparticle delivery to tumor. *Int J Pharm* 2022;621:121795. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.121795
21. Zelepukin I.V., Shevchenko K.G., Deyev S.M. Rediscovery of mononuclear phagocyte system blockade for nanoparticle drug delivery. *Dokl Biochem Biophys* 2025;525(1):569–73. DOI: 10.1038/s41467-024-48838-5
22. Zelepukin I.V., Shipunova V.O., Mirkasymov A.B. et al. Synthesis and characterization of hybrid core-shell Fe₃O₄/SiO₂ nanoparticles for biomedical applications. *Acta Naturae* 2017;9(4):58–65.
23. Gordon S.R., Maute R.L., Dulken B.W. et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity. *Nature* 2017;545(7655):495–9. DOI: 10.1038/nature22396
24. Li Q., Han J., Yang Y., Chen Y. PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors in advanced hepatocellular carcinoma immunotherapy. *Front Immunol* 2022;13:1070961. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1070961
25. Bomstein Y., Ophir R., Harshemes H., Ben-Efraim S. Release of immunosuppressive factor(s) by MOPC-315 murine plasmacytoma cells: a possible mechanism of defence. *Anticancer Res* 1993;13(6A):2125–9.
26. Soldatos T.G., Dimitrakopoulou-Strauss A., Larribere L. et al. Retrospective side effect profiling of the metastatic melanoma combination therapy ipilimumab-nivolumab using adverse event data. *Diagnostics (Basel)* 2018;8(4):76. DOI: 10.3390/diagnostics8040076
27. Sabadie N., Richter-Reichhelm H.B., Saracci R. et al. Inter-individual differences in oxidative benzo(a)pyrene metabolism by normal and tumorous surgical lung specimens from 105 lung cancer patients. *Int J Cancer* 1981;27(4):417–25. DOI: 10.1002/ijc.2910270402
28. Patterson L.H., Murray G.I. Tumour cytochrome P450 and drug activation. *Curr Pharm Des* 2002;8(15):1335–47. DOI: 10.2174/1381612023394502
29. Leskelä S., Honrado E., Montero-Conde C. et al. Cytochrome P450 3A5 is highly expressed in normal prostate cells but absent in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2007;14(3):645–54. DOI: 10.1677/erc-07-0078
30. Nekvindova J., Mrkvicova A., Zubanova V. et al. Hepatocellular carcinoma: Gene expression profiling and regulation of xenobiotic-metabolizing cytochromes P450. *Biochem Pharmacol* 2020;177:113912. DOI: 10.1016/j.bcp.2020.113912
31. Oyama T., Sugio K., Isse T. et al. Expression of cytochrome P450 in non-small cell lung cancer. *Front Biosci* 2008 May 1;13:5787–93. DOI: 10.2741/3116
32. Işcan M., Ada A.O. Cytochrome P-450 polymorphisms and clinical outcome in patients with non-small cell lung cancer. *Turk J Pharm Sci* 2017;14(3):319–23. DOI: 10.4274/tjps.28291
33. Bulus H., Oguztuzun S., Güler Simsek G. et al. Expression of CYP and GST in human normal and colon tumor tissues. *Biotech Histochem* 2019;94(1):1–9. DOI: 10.1080/10520295.2018.1493220
34. Tornio A., Backman J.T. Cytochrome P450 in pharmacogenetics: an update. *Adv Pharmacol* 2018;83:3–32. DOI: 10.1016/bs.apha.2018.04.007
35. Raunio H., Rahnasto-Rilla M. CYP2A6: genetics, structure, regulation, and function. *Drug Metabol Drug Interact* 2012;27(2):73–88. DOI: 10.1515/dmdi-2012-0001
36. Zhao M., Ma J., Li M. et al. Cytochrome P450 enzymes and drug metabolism in humans. *Int J Mol Sci* 2021;22(23):12808. DOI: 10.3390/ijms222312808
37. El-Sherbeni A.A., El-Kadi A.O. Microsomal cytochrome P450 as a target for drug discovery and repurposing. *Drug Metab Rev* 2017;49(1):1–17. DOI: 10.1080/03602532.2016.1257021
38. Murayama N., Sai K., Nakajima Y. et al. Expression of CYP2A6 in tumor cells augments cellular sensitivity to tegafur. *Jpn J Cancer Res* 2001;92(5):524–8. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2001.tb01125.x
39. Komatsu T., Yamazaki H., Shimada N. et al. Roles of cytochromes P450 1A2, 2A6, and 2C8 in 5-fluorouracil formation from tegafur, an anticancer prodrug, in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 2000;28(12):1457–63.
40. Belitsky G.A., Bukhman V.M., Konopleva I.A. Changes in toxic and antitumor properties of flutamide by induction or inhibition of the microsomal enzymes activity. *Cancer Chemother Pharmacol* 1981;6(2):183–7. DOI: 10.1007/bf00262340
41. Pastina I., Giovannetti E., Chioni A., Sissung T.M. et al. Cytochrome 450 1B1 (CYP1B1) polymorphisms associated with response to docetaxel in castration-resistant prostate cancer (CRPC) patients. *BMC Cancer* 2010;10:511. DOI: 10.1186/1471-2407-10-511
42. Abdul Aziz A.A., Md Salleh M.S., Mohamad I. et al. Single-nucleotide polymorphisms and mRNA expression of CYP1B1 influence treatment response in triple negative breast cancer patients undergoing chemotherapy. *J Genet* 2018;97(5):1185–94.
43. Mangó K., Fekete F., Kiss Á.F. et al. Association between CYP2B6 genetic variability and cyclophosphamide therapy in pediatric patients with neuroblastoma. *Sci Rep* 2023;13(1):11770. DOI: 10.1038/s41598-023-38983-0
44. Rao B., Lain S., Thompson A.M. p53-based cyclotherapy: exploiting the ‘guardian of the genome’ to protect normal cells from cytotoxic therapy. *Br J Cancer* 2013;109(12):2954–8. DOI: 10.1038/bjc.2013.702
45. Kranz D., Döbelstein M. Nongenotoxic p53 activation protects cells against S-phase-specific chemotherapy. *Cancer Res* 2006;66(21):10274–80. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1527
46. Ye H., Qian L., Zhu S. et al. IL-1Ra protects hematopoietic cells from chemotoxicity through p53-induced quiescence. *FASEB J* 2019;33(11):12135–45. DOI: 10.1096/fj.201900788RR
47. Blagosklonny M.V., Bishop P.C., Robey R. et al. Loss of cell cycle control allows selective microtubule-active drug-induced Bcl-2 phosphorylation and cytotoxicity in autonomous cancer cells. *Cancer Res* 2000;60(13):3425–8.
48. Mull B.B., Livingston J.A., Patel N. et al. Specific, reversible G1 arrest by UCN-01 *in vivo* provides cytostatic protection of normal cells against cytotoxic chemotherapy in breast cancer. *Br J Cancer* 2020;122(6):812–22. DOI: 10.1038/s41416-019-0707-z
49. Blagosklonny M.V. Selective protection of normal cells from chemotherapy, while killing drug-resistant cancer cells. *Oncotarget* 2023;14:193–206. DOI: 10.18632/oncotarget.28382

50. George S., Kasimis B.S., Cogswell J. et al. Phase I study of flavopiridol in combination with Paclitaxel and Carboplatin in patients with non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2008;9(3):160–5. DOI: 10.3816/CLC.2008.n.024
51. Blagosklonny M.V. Treatment with inhibitors of caspases, that are substrates of drug transporters, selectively permits chemotherapy-induced apoptosis in multidrug-resistant cells but protects normal cells. *Leukemia* 2001;15(6):936–41. DOI: 10.1038/sj.leu.2402127
52. Lai A.Y., Sorrentino J.A., Dragnev K.H. et al. CDK4/6 inhibition enhances antitumor efficacy of chemotherapy and immune checkpoint inhibitor combinations in preclinical models and enhances T-cell activation in patients with SCLC receiving chemotherapy. *J Immunother Cancer* 2020;8(2):e000847. DOI: 10.1136/jitc-2020-000847
53. Huang Y., Ibrado A.M., Reed J.C. et al. Co-expression of several molecular mechanisms of multidrug resistance and their significance for paclitaxel cytotoxicity in human AML HL-60 cells. *Leukemia* 1997;11(2):253–7. DOI: 10.1038/sj.leu.2400557
54. Blagosklonny M.V., Robey R., Bates S., Fojo T. Pretreatment with DNA-damaging agents permits selective killing of checkpoint-deficient cells by microtubule-active drugs. *J Clin Invest* 2000;105(4):533–9. DOI: 10.1172/jci8625
55. Choong M.L., Yang H., Lee M.A., Lane D.P. Specific activation of the p53 pathway by low dose actinomycin D: a new route to p53 based cyclotherapy. *Cell Cycle* 2009;8(17):2810–8. DOI: 10.4161/cc.8.17.9503
56. Zhang J., Xiang D., Zhu S. et al. Interleukin 1 receptor antagonist inhibits normal hematopoiesis and reduces lethality and bone marrow toxicity of 5-fluorouracil in mouse. *Biomed Pharmacother* 2009;63(7):501–8. DOI: 10.1016/j.biopha.2008.09.014
57. Yu H., Wu M., Wen B. et al. Antagonist effect of Interleukin 1 receptor on normal thymopoiesis and thymus toxicity of 5-azacytidine in mouse. *Am J Transl Res* 2016;8(2):1237–45.
58. Chen X., Lowe M., Herliczek T. et al. Protection of normal proliferating cells against chemotherapy by staurosporine-mediated, selective, and reversible G(1) arrest. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(24):1999–2008. DOI: 10.1093/jnci/92.24.1999
59. Chen X., Lowe M., Keyomarsi K. UCN-01-mediated G1 arrest in normal but not tumor breast cells is pRb-dependent and p53-independent. *Oncogene* 1999;18(41):5691–702. DOI: 10.1038/sj.onc.1202948
60. Jackson R.C., Di Veroli G.Y., Koh S.B. et al. Modelling of the cancer cell cycle as a tool for rational drug development: A systems pharmacology approach to cyclotherapy. *PLoS Comput Biol* 2017;13(5):e1005529. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005529
61. Laskin J.J., Sandler A.B. Epidermal growth factor receptor: a promising target in solid tumours. *Cancer Treat Rev* 2004;30(1):1–17. DOI: 10.1016/j.ctrv.2003.10.002
62. Dickerson H., Diab A., Al Musaimi O. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in cancer: current use and future prospects. *Int J Mol Sci* 2024;25(18):10008. DOI: 10.3390/ijms251810008
63. Zhang Y.G., Du Q., Fang W.G. et al. Tyrphostin AG1478 suppresses proliferation and invasion of human breast cancer cells. *Int J Oncol* 2008;33(3):595–602.
64. Saleh K., Al Sakhen M., Kanaan S. et al. Antitumor activity of the new tyrphostin briva against BRAF(V600E)-mutant colorectal carcinoma cells. *Invest New Drugs* 2023;41(6):791–801. DOI: 10.1007/s10637-023-01402-2
65. Smith W.W. Protective effect of a colchicine derivative in mice exposed to x-radiation. *Science* 1958;127(3294):340–1. DOI: 10.1126/science.127.3294.340
66. Hussein M., Maglakelidze M., Richards D.A. et al. Myeloprotective effects of trilaciclib among patients with small cell lung cancer at increased risk of chemotherapy-induced myelosuppression: pooled results from three phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled studies. *Cancer Manag Res* 2021;13:6207–18. DOI: 10.2147/cmar.S313045
67. Tan A.R., Wright G.S., Thummala A.R. et al. Trilaciclib plus chemotherapy *versus* chemotherapy alone in patients with metastatic triple-negative breast cancer: a multicentre, randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2019;20(11):1587–601. DOI: 10.1016/s1470-2045(19)30616-3
68. Johnson S.M., Torrice C.D., Bell J.F. et al. Mitigation of hematologic radiation toxicity in mice through pharmacological quiescence induced by CDK4/6 inhibition. *J Clin Invest* 2010;120(7):2528–36. DOI: 10.1172/jci41402
69. Wei L., Leibowitz B.J., Wang X. et al. Inhibition of CDK4/6 protects against radiation-induced intestinal injury in mice. *J Clin Invest* 2016;126(11):4076–87. DOI: 10.1172/jci88410
70. Glaviano A., Wander S.A., Baird R.D. et al. Mechanisms of sensitivity and resistance to CDK4/CDK6 inhibitors in hormone receptor-positive breast cancer treatment. *Drug Resist Updat* 2024;76:101103. DOI: 10.1016/j.drug.2024.101103

Вклад авторов

Г.А. Белицкий: разработка концепции и структуры обзора, определение порядка изложения материала, выбор наиболее важных публикаций, написание текста статьи, редактирование;

К.И. Кирсанов: проведение системного анализа, написание текста статьи, редактирование;

Т.И. Фетисов: написание текста статьи в соответствии с требованиями к изданию журнала, подготовка иллюстративного материала;

Л.Г. Соленова: проведение системного анализа, обобщение данных;

М.Г. Якубовская: работа с литературой, обсуждение опубликованных работ, написание текста статьи, редактирование.

Authors' contributions

G.A. Belitsky: development of the concept and structure of the review, determination of the order of presentation of the material, selection of the most important publications, article writing, editing;

K.I. Kirsanov: conducting a system analysis, article writing, editing;

T.I. Fetisov: article writing in accordance with the requirements for publishing the journal, preparing illustrative material;

L.V. Solenova: conducting a system analysis, data generalization;

M.G. Yakubovskaya: working with literature, discussing published works, article writing, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Г.А. Белицкий / G.A. Belitsky: <https://orcid.org/0000-0002-3167-7204>

К.И. Кирсанов / K.I. Kirsanov: <https://orcid.org/0000-0002-8599-6833>

Т.И. Фетисов / T.I. Fetisov: <https://orcid.org/0000-0002-5082-9883>

Л.Г. Соленова / L.G. Solenova: <https://orcid.org/0000-0002-4443-8376>

М.Г. Якубовская / M.G. Yakubovskaya: <https://orcid.org/0000-0002-9710-8178>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 25-15-00432).
Funding. The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (grant No. 25-15-00432).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-80-91>

Клональный гемопоэз неопределенного потенциала при метастатическом колоректальном раке: двунаправленная регуляция, системная селекция и трансляционные стратегии

В.Е. Шевченко, Т.И. Кушнир, М.В. Гудкова, А.В. Польшовский, Н.Е. Арноцкая

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Валерий Евгеньевич Шевченко vshev2015@yandex.ru

Клональный гемопоэз неопределенного потенциала (КГНП) – возрастное состояние, характеризующееся экспансией гемопоэтических стволовых клеток соматическими мутациями в отсутствие гематологических заболеваний. Традиционно КГНП рассматривается либо как фактор, индуцирующий системное воспаление, либо как источник ложноположительных артефактов при жидкостной биопсии солидных опухолей. В настоящем обзоре представлены систематизированные данные об обратной патогенетической связи – дистантном регуляторном влиянии метастатического колоректального рака (МКРР) на костномозговое микроокружение. Мы предлагаем концептуальную модель двунаправленного интерфейса «МКРР ↔ КГНП», детально описываем молекулярные механизмы селекции мутантных клонов под давлением опухоли и определяем стратегии минимизации диагностических ошибок при анализе циркулирующей опухолевой ДНК.

Метастатический колоректальный рак выступает в роли системного регулятора гемопоэза. Хроническое системное воспаление, индуцируемое секрецией медиаторов опухолью и ее метастазами (интерлейкина (IL) 6, фактора некроза опухоли α , гранулоцитарного колониестимулирующего фактора), в сочетании с персистирующим окислительным стрессом вызывает репликативное истощение и апоптоз нормальных гемопоэтических стволовых клеток.

В этих условиях клоны КГНП с мутациями в генах эпигенетического контроля (*TET2*, *DNMT3A*) и ответа на повреждение ДНК (*TP53*, *PPM1D*) приобретают селективное преимущество (повышенную приспособленность). В рамках двунаправленной регуляции гиперреактивные миелоидные клетки, происходящие из КГНП, мигрируют в ткани кишечника и печени, где формируют преметастатические ниши, стимулируют ангиогенез (через фактор роста эндотелия сосудов и матриксную металлопротеиназу 9) и подавляют активность CD8⁺-Т-лимфоцитов (через лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1 и индоламин-2,3-диоксигеназу). Стандартная платиносодержащая химиотерапия по схеме FOLFOX (фторурацил, лейковорин, оксалиплатин) выступает дополнительным катализатором ятрогенной селекции клонов *TP53/PPM1D*, тогда как удаление первичной опухоли уменьшает воспалительное давление на костный мозг. КГНП снижает специфичность жидкостной биопсии, создавая ложноположительные сигналы для маркеров прогрессии опухоли (*TP53*) и резистентности (*RAS*). «Золотым стандартом» преодоления этой интерференции является парное секвенирование лейкоцитарного слоя (paired buffy coat sequencing) в сочетании с методами фрагментомики.

Разрыв патологической оси – двунаправленного интерфейса «МКРР ↔ КГНП» – с помощью антицитокиновой терапии (ингибиторы IL-1 β и IL-6) и внедрение онкогематологического мониторинга в прецизионную онкологию могут предотвратить уклонение опухоли от иммунного надзора, снизить риск развития вторичных лейкозов и улучшить показатели выживаемости.

Ключевые слова: колоректальный рак, клональный гемопоэз неопределенного потенциала, микроокружение опухоли, метастазирование, жидкостная биопсия

Для цитирования: Шевченко В.Е., Кушнир Т.И., Гудкова М.В. и др. Клональный гемопоэз неопределенного потенциала при метастатическом колоректальном раке: двунаправленная регуляция, системная селекция и трансляционные стратегии. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(3):80–91.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-80-91>

Clonal hematopoiesis of indeterminate potential in metastatic colorectal cancer: bidirectional regulation, systemic selection, and translational strategies

V.E. Shevchenko, T.I. Kushnir, M.V. Gudkova, A.V. Polynovskiy, N.E. Arnotskaya

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Valery Evgenievich Shevchenko vshev2015@yandex.ru

Clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP) is an age-related condition characterized by the expansion of hematopoietic stem cells harboring somatic mutations in the absence of overt hematological malignancies. Traditionally, CHIP has been viewed either as a driver of systemic inflammation or as a source of false-positive artifacts in liquid biopsy assays for solid tumors. This review systematizes the evidence for a reciprocal pathogenetic link – namely, the distant regulatory influence of metastatic colorectal cancer (mCRC) on the bone marrow microenvironment. We propose a conceptual model of a bidirectional “mCRC ↔ CHIP” interface, delineate the molecular mechanisms governing mutant clone selection under tumor-imposed pressure, and outline strategies to minimize diagnostic errors in circulating tumor DNA analysis.

Metastatic colorectal cancer acts as a systemic regulator of hematopoiesis. Chronic systemic inflammation induced by the secretion of tumor and metastasis mediators (interleukin (IL) 6, tumor necrosis factor α , granulocyte colony-stimulating factor), in combination with persistent oxidative stress, causes replicative exhaustion and apoptosis of normal hematopoietic stem cells. Under these conditions, CHIP clones carrying mutations in genes involved in epigenetic control (*TET2*, *DNMT3A*) and DNA damage response (*TP53*, *PPM1D*) acquire a selective fitness advantage. In the context of bidirectional regulation, hyperreactive myeloid cells originating from CHIP clones migrate to intestinal and hepatic tissues, where they establish pre-metastatic niches, promote angiogenesis (via vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase 9), and suppress CD8⁺ T-cell activity (through programmed death ligand 1, indoleamine-2,3-dioxygenase). Standard platinum-based chemotherapy (FOLFOX) acts as an additional catalyst for the iatrogenic selection of *TP53*/*PPM1D* clones, whereas primary tumor resection de-escalates the inflammatory pressure on the bone marrow. CHIP compromises the specificity of liquid biopsy by generating false-positive signals for progression (*TP53*) and resistance (*RAS*) markers. The gold standard for overcoming this interference is paired buffy coat sequencing combined with fragmentomics-based approaches.

Disruption of the pathological “mCRC ↔ CHIP” axis through anti-cytokine therapy (IL-1 β and IL-6 inhibitors) and the integration of onco-hematological monitoring into precision oncology may prevent tumor immune evasion, reduce the risk of secondary leukemias, and improve patient survival outcomes.

Keywords: colorectal cancer, clonal hematopoiesis of indeterminate potential, tumor microenvironment, metastasis, liquid biopsy

For citation: Shevchenko V.E., Kushnir T.I., Gudkova M.V. et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential in metastatic colorectal cancer: bidirectional regulation, systemic selection, and translational strategies. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(3):80–91. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-80-91>

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) стабильно лидирует в структуре онкологической заболеваемости и смертности во всем мире, и его терапия входит в число приоритетных проблем трансляционной онкологии [1]. Несмотря на значительные успехи в лечении этого заболевания на ранних стадиях, прогноз при метастатическом колоректальном раке (мКРР) остается неудовлетворительным, что обусловлено быстрым развитием резистентности к химио- и таргетной терапии, а также системным истощением защитных сил организма [2]. Долгое время опухолевый процесс рассматривался как локализованное явление, прогрессия которого преимущественно зависит от генетических нарушений в эпителиоцитах кишечника и пространственной организации их локального микроокружения [3]. Однако современные концепции системной онкобиологии заставляют пересмотреть эту концеп-

цию. Метастатический КРР представляет собой генерализованную патологию, способную осуществлять дистантное перепрограммирование жизненно важных систем организма, среди которых центральное место занимает система гемопоэза [4].

Одним из ключевых и клинически значимых процессов на стыке онкологии и гематологии является клональный гемопоэз неопределенного потенциала (КГНП) [1, 2]. Под этим термином понимают возрастное состояние, характеризующееся приобретением гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК) соматических мутаций (преимущественно в генах *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*, *TP53* и *PPM1D*), которые обеспечивают им селективное преимущество — повышенную приспособленность по сравнению со здоровыми ГСК в отсутствие признаков гематологических злокачественных новообразований [1]. По данным фундаментальных обзоров, в частности работы [5], наличие КГНП

находится в тесной патогенетической связи с широким спектром злокачественных новообразований солидного характера. Согласно результатам популяционных исследований, распространенность КГНП у пациентов с солидными опухолями достигает 25–30 %, причем спектр мутаций и вариантная доля аллеля (VAF) значительно зависят от возраста и предшествующей противоопухолевой терапии [6, 7].

Ранее в литературе основное внимание уделялось изучению КГНП как инициатора системного воспаления, способствующего прогрессии солидных опухолей, или как источника биологического «шума», снижающего специфичность жидкостной биопсии [8, 9]. Тем не менее накопленные экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о существовании сложной двунаправленной регуляции, включающей встречный поток сигналов от мКРР к костному мозгу [6]. Метастатический КРР обладает уникальным профилем секретируемых провоспалительных цитокинов и факторов роста, а также индуцирует хронический системный окислительный и репликативный стресс [4]. В этих условиях он выступает в роли мощного фактора отрицательного отбора для здоровых поликлональных ГСК [4, 6]. При нахождении костного мозга в экстремальных условиях предсуществующие или индуцированные субклинические мутантные клоны КГНП приобретают исключительную толерантность к сигналам апоптоза и воспалительному прессингу, что запускает их форсированную экспансию и рост VAF [10, 11].

Цель работы – систематизировать современные представления о двунаправленных патогенетических механизмах взаимодействия КГНП и микроокружения опухоли при мКРР, а также определить оптимальные терапевтические и диагностические стратегии (включая парное секвенирование лейкоцитарного слоя) для преодоления интерференции КГНП при жидкостной биопсии.

МОДЕЛЬ ДВУНАПРАВЛЕННОЙ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОСИ «МЕТАСТАТИЧЕСКИЙ КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК ↔ КЛОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ НЕОПРЕДЕЛЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА» (ГИПОТЕЗА)

В настоящем обзоре обосновывается гипотеза двунаправленной патогенетической оси «мКРР ↔ КГНП» – модель «порочного круга». В отличие от классического однонаправленного подхода, рассматривающего гемопоэз лишь как систему, страдающую от токсического действия опухоли или химиопрепаратов [4, 12], предлагаемая концепция постулирует динамическую систему встречной регуляции.

Выдвигаемая патогенетическая модель основана на синергизме двух взаимосвязанных механизмов, экстраполированных из доклинических и первых ретроспективных клинических данных [6, 7], которые рассмотрены ниже.

Механизм А: системная селекция и клональная экспансия (метастатический колоректальный рак → клональный гемопоэз неопределенного потенциала)

Распространенный опухолевый процесс в кишечнике и метастатические очаги (преимущественно в печени) выступают в роли мощного дистантного регулятора гемопоэза [4]. Метастатический КРР генерирует непрерывный цитокиновый шторм и хронический окислительный стресс, что индуцирует репликативное истощение и апоптоз интактных ГСК [10, 13]. Функциональная активность нормального гемопоэза существенно подавляется опухолью, создавая селективный вакуум, который способствует экспансии резидентных мутантных клонов КГНП, обладающих генетически детерминированной устойчивостью к клеточному стрессу [12, 14].

Механизм Б: обратное влияние клонального гемопоэза неопределенного потенциала на прогрессию метастатического колоректального рака

Согласно авторегуляторной модели [5], индуцированные опухолью клоны КГНП не остаются пассивными: мутантный костный мозг поставляет в кровоток функционально измененные клетки миелоидного происхождения с гиперреактивным фенотипом [6]. Моноциты и макрофаги, происходящие из этих клонов, направленно мигрируют в ткани кишечника и паренхиму печени. Там они выступают ключевыми архитекторами проонкогенного микроокружения опухоли: локально ремоделируют внеклеточный матрикс, индуцируют неоангиогенез, координируют подготовку преметастатических ниш для циркулирующих опухолевых клеток [5, 6] и формируют зоны иммунной привилегированности, блокируя цитолитическую активность Т-лимфоцитов [6, 15].

Предложенная двунаправленная модель позволяет гипотетически объяснить агрессивное течение мКРР у пациентов пожилого возраста с высокой мутантной аллельной нагрузкой (VAF ≥ 10 %) [6]. При этом противоопухолевая терапия выступает дополнительным триггером, меняющим правила эволюционного отбора в костном мозге, что потенциально потенцирует резистентность опухоли и снижает общую выживаемость пациентов [12, 16].

Системные дистантные медиаторы метастатического колоректального рака и роль клонального гемопоэза неопределенного потенциала в формировании метастазов

Ключевыми триггерами, связывающими мКРР и нишу костного мозга на системном уровне, выступают секретируемые опухолью тканью провоспалительные цитокины и колониестимулирующие факторы. Хроническая продукция данных агентов солидным очагом переводит гемопоэз в режим перманентного стресса.

Интерлейкин 6 и фактор некроза опухоли α

Эти агенты секретируются опухолевыми клетками КРР в больших количествах, особенно при наличии мутаций в генах *RAS* или *BRAF* [4]. Поступая через систему воротной вены в системный кровоток, они достигают эндотелия синусоидов костного мозга. Экспериментально показано, что длительное цитокиновое давление принудительно выводит ГСК из состояния физиологического покоя (квесценции) в активный клеточный цикл для восполнения пула периферических воспалительных лейкоцитов [4, 10].

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

Метастатические очаги мКРР используют гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) для экстренного переключения программы гемопоэза. Вместо сбалансированного лимфо- и миелопоэза костный мозг начинает работать в режиме аварийного миелопоэза (emergency myelopoiesis), ускоряя продукцию незрелых гранулоцитов и моноцитов [13].

Системный репликативный стресс

Избыточное цитокиновое давление истощает пролиферативный потенциал нормальных ГСК. Это приводит к накоплению в них повреждений ДНК, укорочению теломер и запуску программ преждевременного старения и апоптоза, что фактически расчищает ниши костного мозга для экспансии резистентных мутантных клонов КГНП [6, 17].

Прямая роль клонального гемопоэза неопределенного потенциала в формировании метастатических ниш колоректального рака

Взаимоотношения между мКРР и КГНП не ограничиваются пассивным отбором клонов в костном мозге. Экспансия мутантных ГСК (в первую очередь с дефектами генов *TET2* и *DNMT3A*) приводит к выходу в кровеносное русло функционально измененных гиперреактивных моноцитов [6]. Эти клетки активно участвуют в координации процессов метастазирования КРР, инициируя опухолевую инвазию [6].

Подготовка преметастатической ниши в печени

Колоректальный рак метастазирует преимущественно в печень. Еще до прибытия туда первых циркулирующих опухолевых клеток макрофаги, происходящие из КГНП-мутантных клонов, инфильтрируют паренхиму печени. Обладая провоспалительным фенотипом, они локально секретируют избыток интерлейкина (IL) 1β , что активирует звездчатые клетки печени и индуцирует фибротические изменения, создавая благоприятную среду для колонизации циркулирующими опухолевыми клетками [6, 18].

Стимуляция экстравазации и неоангиогенеза

Миелоидные клетки, происходящие из клонов КГНП, внутри преметастатических очагов экспресси-

руют высокие уровни матриксных металлопротеиназ (ММП) (в частности, ММП-9) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [6]. ММП-9 локально разрушает базальную мембрану синусоидальных сосудов печени, облегчая клеткам КРР выход из кровотока в ткань. Выброс VEGF запускает локальный проангиогенный сдвиг, обеспечивая микрометастазы автономным кровоснабжением [6].

Подавление локального НК- и Т-клеточного контроля

Внутри метастатических очагов макрофаги, происходящие из клонов КГНП, и миелоидные супрессорные клетки блокируют цитолитическую активность НК-клеток (НК — естественные киллеры) и $CD8^+$ -Т-лимфоцитов посредством экспрессии аргиназы-1 и лиганда рецептора программируемой клеточной гибели 1. В условиях локального дефицита L-аргинина Т-клетки теряют способность к пролиферации, что позволяет метастазам КРР уклоняться от иммунного уничтожения на самых ранних этапах колонизации органа [6, 15].

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СЕЛЕКЦИИ И ЭКСПАНСИИ КЛОНОВ КЛОНАЛЬНОГО ГЕМОПОЭЗА НЕОПРЕДЕЛЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПОД ДАВЛЕНИЕМ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Системный прессинг, оказываемый мКРР на костный мозг, представляет собой жесткий эволюционный отбор [2]. Цитокиновый шторм, хронический репликативный стресс и системный избыток активных форм кислорода создают неблагоприятные условия для интактных ГСК. В этой агрессивной среде выживают и экспандируют только те клоны, которые приобрели специфические соматические мутации, обеспечивающие им селективное преимущество [6, 12].

Молекулярные механизмы, лежащие в основе селекции 4 наиболее частых мутантных клонов КГНП (*DNMT3A*, *TET2*, *TP53* и *PPM1D*), представлены в табл. 1. Ниже дано краткое описание ключевых механизмов селекции для каждого из этих генов и соответствующих им мутантных клонов.

Воспалительная резистентность и селективное преимущество клонов *TET2* и *DNMT3A*

Мутации в генах *DNMT3A* (ДНК-метилтрансфераза 3-альфа) и *TET2* (метилцитозин-диоксигеназа) суммарно встречаются более чем в 60 % случаев КГНП [6, 12]. Потеря функции (loss of function, LOF) одного из этих эпигенетических регуляторов коренным образом меняет ответ ГСК на внешние стимулы, исходящие от мКРР. Оба типа мутантных клеток устойчивы к воспалительному цитокиновому шторму, однако реализуют эту устойчивость через разные механизмы (см. табл. 1).

Таблица 1. Молекулярный ландшафт клонального гемопоэза неопределенного потенциала (КГНП) и механизмы селекции под давлением метастатического колоректального рака (мКРП) [3, 4, 6–8, 12, 16, 19]

Table 1. Molecular landscape of clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP) and selection mechanisms under metastatic colorectal cancer (mCRC) pressure [3, 4, 6–8, 12, 16, 19]

Ген КГНП (в клетках крови) CHIP Gene (in blood cells)	Частота встречаемости при КГНП, % Frequency in CHIP, %	Системный триггер мКРП (фактор отбора клона) mCRC systemic trigger (clone selection driver)	Молекулярный механизм выживания гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге Molecular mechanism of hematopoietic stem cells survival in bone marrow	Фенотип дериватов (TAMs/MDSCs) и влияние на метастазы Derivative phenotype (TAMs/MDSCs) and impact on metastasis
<i>DNMT3A</i>	~35–40	Опухолевый цитокиновый шторм (интерлейкин (IL) 6, TNF- α), высокий уровень гранулоцитарного колониестимулирующего фактора Tumor cytokine storm (interleukin IL-6, TNF- α), elevated granulocyte colony-stimulating factor levels	Фокальное гипометилирование ДНК; активация путей самообновления генов группы HOX; блокирование дифференцировки Focal DNA hypomethylation; activation of HOX gene self-renewal pathways; differentiation block	Миелоидный сдвиг; гиперсекреция матриксной металлопротеиназы 9 и фактора роста эндотелия сосудов; разрушение матрикса паренхимы печени, индукция неоангиогенеза Myeloid shift; hyper-secretion of matrix metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor; extracellular matrix degradation in liver parenchyma; induction of neoangiogenesis
<i>TET2</i>	~20–25	Хроническое воспаление, бактериальная транслокация липополисахаридов, гипоксия ниши Chronic inflammation, bacterial translocation lipopolysaccharides, niche hypoxia	Снижение уровня 5-гидроксиметилцитозина; гиперметилирование промоторов проапоптотических генов (ось BCL-2); толерантность к TNF- α Reduced 5-hydroxymethyl cytosine level; promoter hypermethylation of pro-apoptotic genes (BCL-2 axis); tolerance to TNF- α	Формирование преметастатической ниши; гиперсекреция IL-1 β и IL-6; активация звездчатых клеток печени; фиброз Pre-metastatic niche formation; hyper-secretion of IL-1 β and IL-6; hepatic stellate cell activation; fibrosis
<i>TP53</i>	~5–7	Системный окислительный стресс (активные формы кислорода), платиновая химиотерапия (FOLFOX) Systemic oxidative stress (reactive oxygen species), platinum-based chemotherapy (FOLFOX)	Выключение ДНК-повреждающего ответа (DDR); блокирование транскрипции гена <i>p21</i> и белков BAX/PUMA; обход контроля над клеточным циклом Abrogation of DNA damage response (DDR); blockade of <i>p21</i> transcription and BAX/PUMA proteins; cell cycle checkpoint evasion	Экспрессия лиганда рецептора программируемой клеточной гибели 1 и индоламин-2,3-диоксигеназы; истощение CD8 ⁺ -Т-лимфоцитов; уклонение метастазов от иммунитета Programmed death-ligand 1 and indoleamine-2,3-dioxygenase expression; CD8 ⁺ -T cell exhaustion; immune evasion of metastases
<i>PPM1D</i>	~3–5	Генотоксический прессинг со стороны цитостатиков (ириротекан, оксалиплатин), индуцирующий репликативный стресс в пуле здоровых гемопоэтических клеток Genotoxic pressure from cytostatics (irinotecan, oxaliplatin), inducing replicative stress in the pool of healthy hematopoietic cells	GOF (gain-of-function – характер приобретения функции) усеченного белка WIP1; непрерывная инактивация интактного белка p53 и гистона γ -H2AX GOF (gain-of-function) of truncated WIP1 phosphatase; constitutive inactivation of intact p53 and γ H2AX	Подавление активности белка p53, вызывающее супрессию механизмов репарации ДНК и программируемой гибели интактных гемопоэтических стволовых клеток; высокая резистентность к апоптозу; супрессия противоопухолевого Т-клеточного звена Suppression of p53 protein activity, causing suppression of DNA repair mechanisms and programmed death of intact hematopoietic stem cells; high resistance to apoptosis; suppression of antitumor T-cell responses

Примечание. TNF- α – фактор некроза опухоли α ; TAMs – опухолеассоциированные макрофаги; MDSCs – миелоидные супрессорные клетки.Note. TNF- α – tumor necrosis factor α ; TAMs – tumor-associated macrophages; MDSCs – myeloid suppressor cells.

Молекулярная приспособленность при мутации в гене *TET2*

В условиях интактного гемопоэза повышенные уровни TNF- α и интерферона γ , секретируемых метастазами мКРР, активируют сигнальные пути апоптоза ГСК [13]. Однако при мутации в гене *TET2* этот защитный механизм нивелируется за счет усиления экспрессии антиапоптотических генов семейства *BCL2* (*BCL-2*, *BCL-XL*) [12]. Ключевую роль в этом играет гиперактивация оси IL-6/Stat3, что приводит к усилению воспалительного ответа и обеспечению селективного преимущества мутантных клеток в условиях хронического воспаления [19]. Кроме того, *TET2*-дефицитные клетки гиперчувствительны к IL-1 β , что дополнительно стимулирует их пролиферацию через активацию провоспалительных цитокинов [19]. Хроническое повышение уровня TNF- α также способствует экспансии *TET2*-мутантных клонов; у пациентов с воспалительными заболеваниями терапия анти-TNF- α -антителами (например, адалимумабом) может снижать их клональную нагрузку [3]. Таким образом, конвергенция сигналов IL-6, IL-1 β и TNF- α обеспечивает селективное преимущество *TET2*-мутантных ГСК в условиях хронического воспаления, характерного для микроокружения мКРР [6, 12, 19].

Молекулярная приспособленность при мутации в гене *DNMT3A*

Мутации в гене *DNMT3A*, особенно затрагивающие регуляторную «горячую точку» R882 (цифра 882 указывает на конкретный аминокислотный остаток (аргинин) в последовательности белка, который этот ген кодирует), действуют по доминантно-негативному механизму, вызывая фокальное гипометилирование ДНК [10]. Это затрагивает промоторы ключевых генов стволовости (включая локусы *HOXA9*), что усиливает способность ГСК к пролиферации вопреки супрессивным сигналам, поступающим из системного кровотока. Эпигенетическое репрограммирование ГСК с мутацией в гене *DNMT3A* смещает их дифференцировку в сторону миелопоэза. Мутантные клетки становятся сверхчувствительными к опухолевому G-CSF, что приводит к значительному росту пула клон-производных моноцитов [6]. В отличие от *TET2*-мутантных клонов, селективное преимущество которых обеспечивается устойчивостью к апоптозу, *DNMT3A*-мутантные клоны реализуют свое преимущество в основном за счет усиления пролиферативного потенциала и миелоидной коммитированности в условиях G-CSF-опосредованного стресс-миелопоэза [6, 10].

Генотоксическая устойчивость и экспансия клонов *TP53* и *PPM1D*

Еще одна важная траектория отбора запускается под воздействием системного генотоксического стресса. Метастатический КРР ассоциирован с нако-

плением свободных радикалов в плазме и циркулирующей фракции некротической опухолевой ДНК. В этой среде преимущество получают мутации в генах оси p53-опосредованного ответа на повреждения ДНК (DNA Damage Response, DDR) [3, 12]. В отличие от воспалительно-резистентных клонов (*TET2*, *DNMT3A*), мутантные клоны *TP53* и *PPM1D* выживают за счет блокады апоптотических каскадов в ответ на повреждения ДНК (см. табл. 1).

Селекция мутаций в гене *TP53*

Белок p53 является «стражем генома» ГСК [15, 16]. При возникновении двухцепочечных разрывов ДНК, индуцированных системным окислительным стрессом мКРР, p53 активирует транскрипцию гена *CDKN1A* (кодирует белок p21, вызывает арест клеточного цикла) или белков BAX/PUMA (запускают апоптоз) [4]. Соматические мутации в гене *TP53* в ГСК полностью выключают этот каскад [15]. В условиях хронического повреждения ДНК нормальные ГСК подвергаются массовой гибели. Напротив, *TP53*-мутантные ГСК беспрепятственно проходят контрольные точки клеточного цикла, продолжая репликацию с накопленными повреждениями, что обеспечивает их селективное преимущество [3].

Селекция мутаций в гене *PPM1D*

Ген *PPM1D* кодирует фосфатазу WIP1, которая в норме выступает отрицательным регулятором каскада DDR по принципу обратной связи. Мутации в гене *PPM1D* при КГНП носят характер приобретения функции (gain-of-function, GOF) и приводят к экспрессии усеченного, сверхустойчивого к деградации белка WIP1 [20, 21]. Гиперактивная фосфатаза WIP1 непрерывно дефосфорилирует и инактивирует сам белок p53, киназу Chk2, а также гистон γ -H2AX (маркер разрывов ДНК) [21]. Молекулярный фенотип клеток с мутацией в гене *PPM1D* становится эквивалентен функциональному дефициту *TP53*. Клетка теряет чувствительность к индуцированному опухолью репликативному стрессу, а сигнальные пути, запускающие программируемую гибель ГСК, остаются полностью заблокированными, обеспечивая мутантному клону выживание в опустошенных нишах [20].

Кооперативное влияние драйверного статуса опухоли кишечника на селекцию клонального гемопоэза неопределенного потенциала

Характер отбора конкретных клонов КГНП в костном мозге напрямую зависит от индивидуального молекулярного подтипа мКРР [2, 4, 6].

При опухолях с мутациями в генах семейства *RAS* или гене *BRAF* наблюдается выраженное доминирование экспансии клонов *TET2* и *DNMT3A* [10]. Данные подтипы мКРР продуцируют избыточные объемы IL-6 и TNF- α , создавая максимальное воспалительное давление, к которому устойчивы именно эти эпигенетические мутанты [13, 18].

При опухолях *TP53*-мутантного типа (с высоким индексом хромосомной нестабильности, CIN) происходит селективное ускорение роста клонов *TP53* и *PPM1D* в костном мозге [15, 16]. Системный уровень активных форм кислорода, продуцируемых CIN-опухолью, создает среду, благоприятствующую выживанию клеток с дефектами ответа на повреждения ДНК (DDR) [15, 20].

ЯТРОГЕННЫЙ СИНЕРГИЗМ: ХИМИО-, ТАРГЕТНАЯ ТЕРАПИЯ И ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА КАК РЕГУЛЯТОРЫ КЛОНАЛЬНОЙ ЭКСПАНСИИ

Проведение противоопухолевой терапии коренным образом меняет правила эволюционного отбора в костном мозге [6, 12]. Системная химиотерапия цитостатиками и применение таргетных агентов действуют как мощный селективный фильтр: эти терапевтические воздействия элиминируют интактные популяции ГСК, одновременно запуская массивную пролиферацию устойчивых клонов КГНП [4, 12]. Влияние различных терапевтических режимов, применяемых при мКРР, на системные медиаторы, вектор селективного давления и клинические последствия представлено в табл. 2. Ниже приводится детальное описание ключевых механизмов функционирования двунаправленной патогенетической оси «мКРР ↔ КГНП».

Генотоксический и репликативный прессинг схем FOLFOX и FOLFIRI

Стандартом 1-й и 2-й линий терапии мКРР остаются полихимиотерапевтические схемы на основе

5-фторурацила (5-FU) в комбинации с оксалиплатином (FOLFOX) или иринотеканом (FOLFIRI) [4]. Несмотря на общий компонент (5-FU), механизмы действия этих режимов принципиально различаются, что определяет разные траектории селекции КГНП-клонов (см. табл. 2).

Оксалиплатин (в составе FOLFOX) как триггер экспансии клонов *TP53* и *PPM1D*

Производные платины формируют внутри- и межнитевые сшивки ДНК, вызывая массивные двухцепочечные разрывы в ГСК. В здоровых клетках это немедленно активирует каскад ДНК-повреждающего ответа через фосфорилирование p53, что приводит к тотальному апоптозу. ГСК с мутациями потери функции гена *TP53* или мутациями приобретения функции в гене *PPM1D* оказываются невосприимчивыми к платиновому стрессу.

Они выживают в опустошенных нишах костного мозга и начинают ускоренное компенсаторное деление, демонстрируя значительное увеличение доли мутантного аллеля (VAF) уже после 4–6 курсов терапии [12].

Иринотекан (в составе FOLFIRI) и селекция клонов с дефектами репарации ДНК

Иринотекан (активный метаболит SN-38) ингибирует топоизомеразу 1, вызывая накопление одноцепочечных разрывов ДНК и образование стабильных комплексов «топоизомераза 1 – ДНК», которые блокируют репликативную вилку [16]. В условиях репликативного стресса преимущество получают клоны с мутациями в генах репарации ДНК (*TP53*, *PPM1D*, а также *ATM*,

Таблица 2. Влияние терапевтических режимов, применяемых при метастатическом колоректальном раке (мКРР), на эволюцию клонов клонального гемопоэза неопределенного потенциала (КГНП) [4, 6, 13, 16]

Table 2. The effect of therapeutic regimens used in metastatic colorectal cancer (mCRC) on the evolution of clonal hematopoiesis clones of indeterminate potential (CHIP) [4, 6, 13, 16]

Терапевтическое вмешательство при мКРР Therapeutic intervention in mCRC	Влияние на системные медиаторы и нишу костного мозга Effect on systemic mediators and bone marrow niche	Вектор селективного давления на клоны КГНП Vector of selective pressure on CHIP clones	Клиническое последствие/риски для пациентов Clinical consequence/patients risk
Резекция первичной опухоли кишечника Resection of primary colorectal tumor	Обвальное падение уровней IL-6, фактора некроза опухоли α и IL-1 β ; прекращение транслокации липополисахаридов микробиоты Sharp decline in IL-6, tumor necrosis factor α and IL-1 β levels; cessation of microbial lipopolysaccharides translocation	Деэскалация прессинга; стабилизация ниши, возврат нормальных ГСК в состояние покоя De-escalation of inflammatory pressure; niche stabilization; return of normal HSCs to quiescence	Замедление кинетики роста клонов <i>TET2</i> и <i>DNMT3A</i> ; выход VAF на плато Deceleration of <i>TET2</i> and <i>DNMT3A</i> clone growth kinetics; plateauing of VAF
Химиотерапия по схеме FOLFOX/FOLFIRI Chemotherapy with FOLFOX/FOLFIRI regimen	Индукция летальных двухцепочечных разрывов ДНК; репликативный стресс; гибель нормальных делящихся ГСК Induction of lethal DNA double-strand breaks; replicative stress; depletion of normal dividing HSCs	Положительный отбор генотоксических мутантов; полная элиминация здоровых ГСК-конкурентов Positive selection of genotoxic mutants; complete elimination of healthy HSC competitors	Стремительный ятрогенный взрыв клонов <i>TP53</i> и <i>PPM1D</i> (увеличение VAF); высокий риск развития вторичных лейкозов Rapid iatrogenic expansion of <i>TP53</i> and <i>PPM1D</i> clones (VAF surge); high risk of therapy-related myeloid neoplasms

Окончание табл. 2

End of table 2

Терапевтическое вмешательство при мКРР Therapeutic intervention in mCRC	Влияние на системные медиаторы и нишу костного мозга Effect on systemic mediators and bone marrow niche	Вектор селективного давления на клоны КГНП Vector of selective pressure on CHIP clones	Клиническое последствие/риски для пациентов Clinical consequence/patients risk
Таргетная анти-EGFR-терапия (цетуксимаб) Anti-EGFR targeted therapy (cetuximab)	Таргетная гибель раковых клеток; реактивный выброс макрофаг-стимулирующих хемокинов в плазму Targeted tumor cell death; reactive systemic release of macrophage-stimulating chemokines	Индукция миелоидного сдвига; изменение пула факторов роста в сыворотке крови Induction of myeloid shift; alteration of serum growth factor milieu	Ускорение клональной экспансии гена <i>ASXL1</i> ; увеличение пула aberrантных воспалительных макрофагов Accelerated clonal expansion of <i>ASXL1</i> ; increased pool of aberrant inflammatory macrophages
Анти-VEGF-терапия (бевацизумаб) Anti-VEGF therapy (bevacizumab)	Системная блокада ангиогенеза; транзиторная ишемия и гипоксия синусоидов костного мозга Systemic angiogenesis blockade; transient ischemia and hypoxia of bone marrow sinusoids	Активация гипоксического фитнеса (преимущество получают клетки, устойчивые к дефициту O ₂) Activation of hypoxic fitness (advantage for cells resistant to O ₂ deficiency)	Стабилизация транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией 1α, в ГСК с мутацией в гене <i>TET2</i> ; форсированное размножение клона Stabilization of hypoxia-inducible factor 1α in <i>TET2</i> -mutant HSCs; forced clonal proliferation

Примечание. IL — интерлейкин; EGFR — рецептор эпидермального фактора роста; VEGF — фактор роста эндотелия сосудов; ГСК — гемопоэтические стволовые клетки; VAF — вариантная доля аллеля.

Note. IL — interleukin; EGFR — epidermal growth factor receptor; VEGF — vascular endothelial growth factor; HSCs — hematopoietic stem cells; VAF — variant allele fraction.

CHEK2), которые способны избегать апоптоза, несмотря на накопление повреждений. В отличие от оксалиплатина, иринотекан не индуцирует массивные двухпочечные разрывы, однако его хроническое применение создает устойчивое селективное давление, способствующее экспансии *TP53*- и *PPM1D*-мутантных клонов в отсроченном периоде [3, 16].

5-фторурацил и антиметаболическое преимущество устойчивых клонов клонального гемопоэза неопределенного потенциала

5-фторурацил блокирует тимидилатсинтазу, нарушая синтез пириимидиновых нуклеотидов. Хронический дефицит нуклеотидов в костном мозге потенцирует репликативный стресс [16]. В этих условиях эпигенетические мутантные гены *DNMT3A* и *TET2*, обладающие исходно повышенным потенциалом к самообновлению, эффективнее обходят метаболический блок по сравнению со здоровыми ГСК, закрепляя свое доминирование в миелопоэзе [6].

Таргетная терапия как модулятор ниши костного мозга

Добавление таргетных антител (цетуксимаба, панитумумаба, бевацизумаба) к химиотерапии меняет цитокиновый профиль в отдаленных органах [6]. Механизмы их влияния на селекцию КГНП-клонов представлены в табл. 2.

Анти-EGFR-терапия (цетуксимаб/панитумумаб). Анти-EGFR-терапия (EGFR — рецептор эпидермального фактора роста) назначается исключительно пациентам с опухолями с диким типом генов *KRAS* и *NRAS*, поскольку мутации в этих генах являются абсолютным предиктором первичной резистентности к данному классу препаратов [4, 6]. У таких больных блокада EGFR на клетках мКРР вызывает массовую гибель опухолевых клеток, сопровождающуюся реактивным системным выбросом макрофаг-стимулирующих хемокинов. Изменение уровней системных ростовых факторов в плазме крови косвенно стимулирует пролиферацию ГСК с мутациями в гене *ASXL1*, ускоряя их дифференцировку в aberrантные воспалительные макрофаги [6].

Анти-VEGF-терапия (бевацизумаб). Ингибирование ангиогенеза приводит к транзиторной гипоксии не только опухолевой ткани, но и синусоидального эндотелия костного мозга. В условиях дефицита кислорода ГСК с мутациями в гене *TET2* демонстрируют повышенную стабильность транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией 1α (HIF-1α). Это дает им метаболическое преимущество перед нормальными клетками и стимулирует их экспансию во время лечения бевацизумабом [7].

Риски долгосрочных гематологических последствий

Обусловленный опухолью и химиотерапией отбор мутантных ГСК имеет опасное отложенное клини-

ческое последствие. Ятрогенная экспансия клонов КГНП, особенно содержащих мутации в генах *TP53* и *PPM1D*, резко повышает риск трансформации доброкачественного клонального гемопоэза во вторичные терапевтические миелоидные новообразования, включая терапевтический миелодиспластический синдром и острый миелоидный лейкоз [12, 16]. Пациенты с мКРП, у которых отмечались ответ на терапию 1-й линии и длительный контроль над опухолевым процессом, спустя 2–4 года оказываются в группе риска по развитию летальных форм лейкозов [12]. Как показано в табл. 2, наиболее высокий риск развития вторичных терапевтических миелоидных новообразований ассоциирован с применением платиносодержащих схем, тогда как анти-VEGF- и анти-EGFR-терапия создает иные, хотя и менее изученные, векторы селективного давления.

Удаление первичной опухоли как фактор деэскалации системного селективного давления

Резекция первичной опухоли кишечника (даже в паллиативном или циторедуктивном режиме) выступает в роли мощного терапевтического фактора, прерывающего патологическую ось «опухоль ↔ костный мозг» [4, 6] (см. табл. 2).

Успешное хирургическое удаление основного очага приводит к резкому изменению сыровоточного профиля: в течение первых недель после операции наблюдается снижение уровней циркулирующих интерлейкинов (IL-6, IL-1β) и TNF-α [4]. Исчезновение бактериальной транслокации прекращает постоянную стимуляцию липополисахаридами рецепторов TLR на клетках костного мозга.

Снижение уровней IL-6 и G-CSF позволяет интактным (дикого типа) ГСК выйти из режима аварийного репликативного стресса и вернуться в физиологическое состояние квесценции [6]. Клоны КГНП (в первую очередь с мутациями в генах *TET2* и *DNMT3A*), преимущество которых перед здоровыми клетками заключалось исключительно в их чрезвычайной устойчивости к воспалительной гибели, в «очищенной» нише костного мозга теряют этот стимул к экспансии [6, 10]. Скорость прироста VAF в крови существенно замедляется или выходит на плато.

Клинические последствия и диагностические проблемы прецизионной диагностики колоректального рака

Широкое внедрение жидкостной биопсии на основе анализа циркулирующей опухолевой ДНК для оценки минимальной остаточной болезни (и мониторинга рецидивов КРП имеет серьезное биологическое ограничение — помехи со стороны КГНП [6, 8]. Поскольку апоптоз мутантных лейкоцитов постав-

ляет в кровоток фракции свободной ДНК, это создает феномен биологического «шума», искажающего результаты тестов [9].

Ложноположительные маркеры прогрессии и резистентности. Главная клиническая проблема при КГНП у пациентов с мКРП заключается в совпадении мутационных профилей опухоли кишечника и клонального гемопоэза [6, 8].

Ложная прогрессия, ассоциированная с *TP53*. Мутации в гене *TP53*, обнаруженные в плазме крови после удаления первичной опухоли КРП, могут происходить не из растущих метастазов, а из клонов КГНП, экспансия которых была ускорена химиотерапией [8, 9]. Ошибка интерпретации результатов исследования ведет к необоснованной смене линии терапии.

Артефакты резистентности по *KRAS*. Субклоны ГСК с мутациями в гене *KRAS*, кодирующими замену G12D, способны симулировать появление резистентных метастатических клонов у пациентов с исходным немутантным *KRAS*-статусом, что приводит к преждевременной отмене анти-EGFR-терапии [6].

Технологии фильтрации: «золотой стандарт» buffy coat

Для исключения диагностических ошибок и неверного назначения таргетной терапии в трансляционной онкологии применяется метод парного секвенирования лейкоцитарного слоя (paired buffy coat sequencing), который в настоящее время утвержден в качестве международного консенсусного стандарта [9]. Он включает:

- фракционирование. Кровь пациента разделяется центрифугированием на плазму (источник циркулирующих опухолевых ДНК) и клеточную фракцию лейкоцитов (buffy coat) [9];
- параллельное секвенирование. Проводится одновременное ультраглубокое секвенирование обеих фракций с использованием одинаковой генной панели [9];
- биоинформатическое вычитание. Если соматический вариант идентифицируется в плазме и одновременно присутствует в ДНК лейкоцитарного слоя (buffy coat) с эквивалентной или большей VAF, биоинформатический алгоритм классифицирует его как дериват КГНП и автоматически исключает из онкологического отчета по минимальной остаточной болезни [9].

Дополнительным методом служит фрагментомика: опухолевые фрагменты циркулирующих ДНК в плазме физически короче (пик около 134–145 пар нуклеотидов) из-за особенностей апоптоза в солидном очаге, тогда как фрагменты ДНК из лейкоцитов КГНП имеют стандартную длину (около 166 пар нуклеотидов) [22].

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ТРАНСЛЯЦИОННЫЕ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ ТАРГЕТИРОВАНИЯ ОСИ «МЕТАСТАТИЧЕСКИЙ КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК – КЛОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ НЕОПРЕДЕЛЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА»

Представление о мКРР как о системном регуляторе, индуцирующем клональную экспансию в костном мозге, открывает принципиально новые терапевтические горизонты. Фармакологическое блокирование патологической оси «мКРР ↔ КГНП» направлено не на саму эпителиальную опухоль, а на микроокружение костного мозга и его мутантные миелоидные дериваты, что позволяет предотвратить уклонение опухоли от иммунного надзора и метастатическое ниширование [4].

Таргетная антицитокиновая терапия (блокада оси интерлейкин 1 β /интерлейкин 6)

Основным драйвером отбора и экспансии клонов *TET2* и *DNMT3A* в костном мозге является хронический цитокиновый прессинг со стороны мКРР [4]. Прямое ингибирование этих сигнальных путей позволяет восстановить гомеостаз кроветворения.

Применение моноклональных антител к IL-1 β (канакинумаб)

Использование моноклональных антител к IL-1 β подавляет гиперреактивность воспалительного каскада. Снижение уровней системного IL-1 β лишает мутантные ГСК их главного преимущества — устойчивости к воспалительной гибели, стабилизируя VAF в периферической крови [15, 19]. Локально внутри метастатических очагов в печени блокада IL-1 β предотвращает активацию звездчатых клеток и разрушает премеастатические ниши [6].

Ингибирование оси IL-6 (тоцилизумаб)

Ингибирование данной оси блокирует связывание опухолевого IL-6 с рецепторами на ГСК, возвращая нормальные ГСК из режима аварийного репликативного стресса в физиологическое состояние квесценции [4, 14]. Это останавливает миелоидный сдвиг гемопоэза и снижает поступление в кровотоки опухолеассоциированных макрофагов [6].

Фармакологическое ингибирование NLRP3-инфламмасомы

Поскольку макрофаги, происходящие из клонов *TET2/DNMT3A*, обладают гиперреактивной инфламмасомой NLRP3, перспективным направлением является использование малых молекул — селективных ингибиторов NLRP3 (например, MCC950 и его аналогов) [14, 19]. Блокада сборки инфламмасомы в мутантных миелоидных клетках останавливает созревание и секрецию IL непосредственно в микроокружении опухоли кишечника, восстанавливая цитолитическую активность CD8⁺-Т-лимфоцитов и NK-клеток [6].

Интеграция онкогематологического мониторинга

Трансляционный подход требует изменения парадигмы ведения пожилых пациентов с мКРР, который должен предполагать:

- обязательный контроль buffy coat. Внедрение парного секвенирования лейкоцитарного слоя крови в протоколы жидкостной биопсии должно стать стандартом прецизионной диагностики для исключения ложноположительных результатов по генам *TP53* и *KRAS* [9, 13];
- профилактику вторичных лейкозов. У пациентов с исходно высокой мутантной аллельной нагрузкой (VAF $\geq 10\%$), получающих терапию по схеме FOLFOX/FOLFIRI, необходимо проводить долгосрочный онкогематологический скрининг для раннего выявления признаков трансформации КГНП в терапевтический миелодиспластический синдром под действием генотоксического стресса, индуцированного платиновыми производными [12, 16, 20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Концепция двунаправленного патогенетического интерфейса между мКРР и КГНП фундаментально расширяет современные представления о системной онкобиологии солидных опухолей. Описанная в настоящем обзоре модель демонстрирует, что мКРР функционирует как системный триггер отрицательного отбора, принудительно перепрограммируя ландшафт костного мозга и вызывая экспансию мутантных клонов КГНП. В свою очередь, клон-производное миелоидное потомство выступает в роли ключевого инструмента опухолевой прогрессии, стимулируя ангиогенез, подготавливая премеастатические ниши в печени и подавляя противоопухолевый Т-клеточный иммунитет.

Внедрение трансляционных стратегий, включающих методы биоинформатической фильтрации гемопоэтического «шума» при жидкостной биопсии (парное секвенирование лейкоцитарного слоя) и терапевтическое таргетирование цитокиновой оси, способно разорвать эту патологическую ось «мКРР ↔ КГНП». Синхронное управление эволюцией опухолевой ткани кишечника и клональной эволюцией гемопоэза открывает новые возможности для прецизионной онкологии, позволяя значимо снизить риски развития ятрогенных гематологических осложнений и повысить общую и безрецидивную выживаемость пациентов.

Вместе с тем экстраполяция предложенной концепции в реальную клиническую практику сопряжена с рядом научных и методических ограничений, требующих дальнейшего изучения.

Во-первых, значительная часть молекулярных механизмов, включая индуцированный макрофагами фиброз паренхимы печени и блокаду Т-клеточного ответа клон-производными миелоидными клетками, на сегодняшний день продемонстрирована преимущественно на мышиных моделях гемопоэтического

нокаута ($Tet2^{-/-}$ или $Dnmt3a^{-/-}$). Животные модели не способны в полной мере воспроизвести гетерогенность человеческой популяции, возрастные коморбидности и комплексный характер генотоксического стресса при полихимиотерапии.

Во-вторых, в результатах клинических исследований выявлены определенные противоречия. В то время как данные одних когортных исследований четко ассоциируют наличие мутаций, связанных с КГНП, с высоким риском неблагоприятных исходов [13], данные других работ демонстрируют флуктуацию VAF в процессе лечения, при которой значимая экспансия клонов происходит далеко не во всех случаях. Остается

открытым вопрос, является ли КГНП независимым драйвером метастазирования или же выступает лишь суррогатным биомаркером системного воспаления и общего старения организма.

Наконец, клиническая верификация этих процессов затруднена отсутствием стандартизированного протокола одновременного секвенирования опухолевой ткани и лейкоцитарного слоя в рутинной онкологической практике. Преодоление этого методического разрыва — необходимое условие для перехода от фундаментальных открытий к персонализированным стратегиям ведения пациентов с мКРП.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e s

- Jaiswal S., Ebert B. L. Clonal hematopoiesis in human aging and disease. *Science* 2019;366(6465):eaaw8445. DOI: 10.1126/science.aaw8445
- Genovese G., Kähler A.K., Handsaker R.E. et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med* 2014;371(26):2477–87. DOI: 10.1056/NEJMoa1409405
- Jaiswal S., Natarajan P., Silver A.J. et al. Clonal hematopoiesis and risk of atherosclerotic cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2017;377(2):111–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1701719
- Liu Y., Xi Z., Zhou J. et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential as a predictor of colorectal cancer risk: insights from the uk biobank cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2025;34(3):405–11. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-24-1342
- Шевченко В.Е., Кушнир Т.И., Гудкова М.В., Арноцкая Н.Е. Клональный гемопоэз неопределенного потенциала и злокачественные новообразования // Успехи молекулярной онкологии 2025;12(3):26–35. DOI: 10.17650/2313-805X-2025-12-3-26-35
- Shevchenko V.E., Kushnir T.I., Gudkova M.V., Arnotskaya N.E. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and malignant neoplasms. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2025;12(3):26–35. DOI: 10.17650/2313-805X-2025-12-3-26-35
- Marshall C.H., Gondek L.P., Luo J., Antonarakis E.S. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential in patients with solid tumor malignancies. *Cancer Res* 2022;82(22):4107–13. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-22-0985
- Krishnan T., Solar Vasconcelos J.P., Titmuss E. et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its association with treatment outcomes and adverse events in patients with solid tumors. *Cancer Res Commun* 2025;5(1):66–73. DOI: 10.1158/2767-9764.CRC-24-0522
- Razavi P., Li B. T., Brown D.N. et al. High-intensity sequencing of circulating cell-free DNA and tumor tissue. *Nat Med* 2019;25(12):1928–37. DOI: 10.1038/s41591-019-0652-7
- Ptashkin J.A., Mandelker D.L., Coombs C.C. et al. Prevalence of clonal hematopoiesis mutations in tumor-only clinical sequencing. *JAMA Oncol* 2018;4(11):1589–93. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.2297
- Wong W.H., Ribeil J.A., Sola-Visner M. et al. Cytokine-mediated selective advantage of DNMT3A-mutant clonal hematopoiesis. *Blood* 2021;138(22):2195–205. DOI: 10.1182/blood.2021012340
- Meisel M., Hinterleitner R., Pacis A. et al. Microbial signals drive pre-leukemic myeloproliferation in a Tet2-deficient host. *Nature* 2018;557(7706):580–4. DOI: 10.1038/s41586-018-0125-z
- Coombs C.C., Zehir A., Devlin S.M. et al. Therapy-related clonal hematopoiesis in patients with non-hematologic cancers. *Cell Stem Cell* 2017;21(3):374–82. DOI: 10.1016/j.stem.2017.07.010
- Gibson C.J., Lindsley R.C., Trost V. et al. Clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes after autologous stem cell transplantation for lymphoma. *J Clin Oncol* 2017;35(14):1598–605. DOI: 10.1200/JCO.2016.71.6712
- Malkots B., Stamatiou I., Panagiotopoulos E. et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP): a model of mutation-driven thromboinflammation. *Cancers (Basel)* 2026;18(9):1326. DOI: 10.3390/cancers18091326
- Gondek L.P., Zheng Q., Marshall C.H. et al. TP53-mutant clonal hematopoiesis as a biomarker of resistance to therapy in solid tumors. *JCO Precis Oncol* 2021;5:1123–33. DOI: 10.1200/PO.20.00445
- Bolton K.L., Ptashkin J.A., Gao T. et al. Cancer therapy shapes the fitness landscape of clonal hematopoiesis. *Nat Genet* 2020;52(11):1219–26. DOI: 10.1038/s41588-020-00717-0
- Trowbridge J.J., Staszynski D.T. Innate immune pathways and inflammation in MDS and AML. *Leukemia* 2021;35(11):3028–40. DOI: 10.1038/s41375-021-01399-5
- Zhang Q., Zhao K., Shen Q. et al. Tet2 is required to resolve inflammation by recruiting Hdac2 to specifically repress IL-6. *Nature* 2015;525(7569):389–93. DOI: 10.1038/nature15252
- Sano S., Oshima K., Wang Y. et al. Tet2-mediated clonal hematopoiesis accelerates heart failure development. *J Am Coll Cardiol* 2018;71(8):875–86. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.12.018
- Kahn J.D., Miller P.G., Silver A.J. et al. PPM1D-mutant clonal hematopoiesis is driven by cytotoxic chemotherapy. *Blood* 2021;138(24):2481–2. DOI: 10.1182/blood.2021011831
- Hsu J.I., Day A.M., Tasselli L. et al. PPM1D mutations in clonal hematopoiesis conferring competitive advantage under chemotherapy. *Cell Stem Cell* 2018;23(5):700–6. DOI: 10.1016/j.stem.2018.10.005
- Bettegowda C., Sausen M., Leary R.J. et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage colorectal cancer. *Sci Transl Med* 2014;6(224):224ra24. DOI: 10.1126/scitranslmed.3007094

Вклад авторов

В.Е. Шевченко: разработка концепции, проведение системного анализа полученных данных, написание текста статьи;
Т.И. Кушнир: анализ данных литературы;
М.В. Гудкова: систематизация данных, составление таблиц;
А.В. Польшовский: оценка научной достоверности данных, редактирование;
Н.Е. Арноцкая: обзор литературы по теме статьи, написание текста статьи.

Authors' contributions

V.E. Shevchenko: development of the research concept, conducting a systematic analysis of the obtained data, article writing;
T.I. Kushnir: analysis of literature data;
M.V. Gudkova: systematization of data, compilation of tables;
A.V. Polynovskiy: assessment of scientific reliability, editing;
N.E. Arnotskaya: literature review on the topic of the article, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.Е. Шевченко / V.E. Shevchenko: <https://orcid.org/0000-0002-0401-9900>
Т.И. Кушнир / T.I. Kushnir: <https://orcid.org/0000-0001-9626-6847>
М.В. Гудкова / M.V. Gudkova: <https://orcid.org/0000-0003-2694-5232>
А.В. Польшовский / A.V. Polynovskiy: <https://orcid.org/0000-0002-1148-8051>
Н.Е. Арноцкая / N.E. Arnotskaya: <https://orcid.org/0000-0002-0154-8604>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках бюджетного проекта по теме «Разработка тест-системы для оценки и последующей коррекции статуса ферроптоза в гемопоэтических стволовых клетках стареющего организма человека» (проект № NUYO-2025-0023).

Funding. The work was carried out within the framework of the budget project on the topic "Development of a test system for the assessment and subsequent correction of the ferroptosis status in hematopoietic stem cells of the aging human body" (project No. NUYO-2025-0023).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-92-112>

Молекулярные механизмы резистентности к платиносодержащей химиотерапии при серозном раке яичников: роль генетического полиморфизма

К.В. Субботина¹, А.В. Тархов^{1,2}, У.А. Боярских¹, Н.Е. Кушлинский³, М.Л. Филипенко^{1,4}

¹ФГБУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук»; Россия, Новосибирск 630090, ул. Академика Лаврентьева, 8;

²ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 1»; Россия, 630047 Новосибирск, ул. Залесского, 6;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

⁴Институт репродуктивной генетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Академика Опарина, 4

Контакты: Кристина Вячеславовна Субботина ksubbotina01@gmail.com

Эпителиальный рак яичников, в первую очередь серозная карцинома высокой степени злокачественности, характеризуется высокой вероятностью возникновения рецидива после первичного лечения – циторедуктивного хирургического вмешательства в сочетании с платиносодержащей химиотерапией. Несмотря на применение стандартных подходов к лечению, показатели бесплатинового интервала, выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости существенно варьируются. Помимо соматических особенностей опухоли и полноты циторедукции при хирургическом лечении, вариабельность результатов терапии может определяться герминальным полиморфизмом генов, кодирующих белки, ответственные за транспорт лекарственных препаратов, детоксикацию и репарацию ДНК. Цель работы – систематизировать данные о молекулярных механизмах чувствительности и резистентности к препаратам платины при серозном раке яичников с акцентом на роль герминальных структурных вариантов ДНК, представить ограничения существующих данных и наметить направления для дальнейших исследований.

Поиск литературы выполнялся в базах данных PubMed, Scopus и Google Scholar по ключевым словам “high-grade serous ovarian cancer”, “platinum”, “carboplatin”, “cisplatin”, “polymorphism”, “SNP”, “pharmacogenetics”, “progression-free survival” и “platinum resistance”. Приоритет отдавался исследованиям с выборкой ≥100 больных раком яичников, а также работам с независимой валидацией и метаанализом. Работы с меньшими выборками были включены в анализ при особой значимости их результатов. Наибольшую воспроизводимость ассоциации с резистентностью к препаратам платины демонстрируют герминальные полиморфизмы генов путей эксцизионной репарации нуклеотидов (*ERCC1*, *ERCC5*), транспорта и выведения платины (*ABCB1*) и отдельных сигнальных путей (*STAT3*, *FGFR4*). Многие кандидатные ассоциации остаются противоречивыми из-за вариации определений платинорезистентности, малых выборок, неоднородности по режимам терапии и межэтнических различий в частоте аллелей и эффектах.

Ключевые слова: серозный рак яичников, механизмы платиновой резистентности, генетический полиморфизм

Для цитирования: Субботина К.В., Тархов А.В., Боярских У.А. и др. Молекулярные механизмы резистентности к платиносодержащей химиотерапии при серозном раке яичников: роль генетического полиморфизма. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(3):92–112.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-92-112>

Molecular mechanisms of resistance to platinum based chemotherapy in serous ovarian cancer: the role of genetic polymorphism

K.V. Subbotina¹, A.V. Tarkhov^{1,2}, U.A. Boyarskikh¹, N.E. Kushlinski³, M.L. Filipenko^{1,4}

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 8 Akademika Lavrentieva St., Novosibirsk 630090, Russia;

²City Clinical Hospital No. 1; 6 Zalesky St., Novosibirsk 630047, Russia;

³N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

⁴Institute of Reproductive Genetics of the Federal State Budgetary Institution, National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, Ministry of Health of Russia; 4 Akademika Oparina St., Moscow 117997, Russia

Contacts: Kristina Vyacheslavovna Subbotina ksubbotina01@gmail.com

Epithelial ovarian cancer, primarily high-grade serous ovarian cancer, is a tumor characterized by a high probability of recurrence following primary treatment, which consists of cytoreductive surgery combined with platinum-based chemotherapy. Despite standardized therapeutic approaches, the platinum-free interval, progression-free survival, and overall survival vary substantially. Beyond somatic tumor characteristics and the completeness of cytoreduction, a significant portion of this variability may be driven by germline single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes encoding proteins responsible for drug transport, detoxification, and DNA repair. The objective of this review is to systematize data on the molecular mechanisms of platinum sensitivity and resistance in serous ovarian cancer, with an emphasis on the role of germline structural DNA variants (SNPs), discuss the limitations of existing data, and outline directions for future research.

A literature search was performed in PubMed, Scopus and Google Scholar using the following keywords: “high-grade serous ovarian cancer”, “platinum”, “carboplatin”, “cisplatin”, “polymorphism”, “SNP”, “pharmacogenetics”, “progression-free survival”, and “platinum resistance”. Priority was given to studies with a sample size of ≥ 100 ovarian cancer patients and those with independent validation or a meta-analysis. A number of studies with smaller sample sizes were included due to the particular significance of their results and are specified in the text. The most reproducible associations with platinum resistance are demonstrated by SNPs in genes involved in nucleotide excision repair pathways (*ERCC1*, *ERCC5*), platinum transport and excretion (*ABCB1*), and specific signaling pathways (*STAT3*, *FGFR4*). Many candidate associations remain controversial owing to variations in the definition of platinum resistance, small sample sizes, heterogeneity in treatment regimens, and interethnic differences in allele frequencies and effects.

Keywords: serous ovarian cancer, mechanisms of platinum resistance, genetic polymorphism

For citation: Subbotina K.V., Tarkhov A.V., Boyarskikh U.A. et al. Molecular mechanisms of resistance to platinum based chemotherapy in serous ovarian cancer: the role of genetic polymorphism. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(3):92–112. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-92-112>

ВВЕДЕНИЕ

В лечении злокачественных опухолей яичников первостепенное значение имеет выполнение хирургического вмешательства в объеме полной или оптимальной циторедукции с последующим проведением адъювантной химиотерапии (ХТ) препаратами платины и таксанами. При отсутствии возможности проведения циторедуктивной операции на 1-м этапе лечение начинают с неoadъювантной ХТ, после которой осуществляют интервальную циторедукцию [1]. ХТ на основе препаратов платины существенно улучшает выживаемость больных серозным раком яичников (РЯ) высокой степени злокачественности, однако у большинства пациентов с распространенной стадией заболевания в конечном счете возникает рецидив [2, 3]. На вероятность его развития влияет объем циторедукции, наличие детектируемых и скрытых метастазов, молекулярно-генетические свойства опухоли, а также генетически обусловленная индивидуальная вариация физиологических свойств клеток организма, что нас и интересует в данном обзоре. Частые генетические варианты незначительно воздействуют на функционирование клеточных систем, но за счет распространенности способны оказывать заметное влияние на популяционном уровне.

В последнее десятилетие методы ассоциативной генетики, изучающие вклад частых вариантов в фенотипические признаки, существенно эволюционировали: применяются полногеномные скрининги ассоциаций (genome-wide association study, GWAS), созданы крупные биобанки и выборки для увеличения статистической мощности, а также все чаще предпринимаются успешные попытки трансформации ассоциации в причинно-след-

ственную связь за счет функциональной характеристики вариантов. Логично предположить, что эффективность адъювантного лечения препаратами платины может зависеть от генетической конституции пациентки, формируемой как частыми, так и редкими герминальными вариантами. Их влияние реализуется через модуляцию биологических процессов, лежащих в основе цитотоксического действия платины, и способности опухоли нивелировать это воздействие.

Цель работы — систематизация данных о молекулярных механизмах ответа на платиносодержащую ХТ при серозном РЯ, анализ вклада однонуклеотидных вариантов в модуляцию этого ответа с точки зрения как риска развития опухоли, так и классических клинических показателей (выживаемости без прогрессирования (ВБП), общей выживаемости (ОВ) и развития токсических осложнений).

Поиск публикаций выполнялся в базах данных PubMed, Scopus и Google Scholar по ключевым словам “ovarian cancer”, “platinum”, “polymorphism”, “SNP”, “pharmacogenetics”, “progression-free survival”, “platinum resistance”. Приоритет мы отдавали исследованиям с размером выборки ≥ 100 больных РЯ. Работы меньшего объема включали, если их результаты были значимы (например, геномные скрининги, впервые идентифицировавшие варианты); в каждом случае ограничения выборки оговариваются. В итоговый анализ включены публикации за период 2006–2026 гг., посвященные влиянию герминальных однонуклеотидных структурных вариантов (SNPs) различных генов на ВБП, ОВ и развитие токсичности при лечении препаратами платины (табл. 1).

Таблица 1. Исследования, посвященные изучению однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), ассоциированных с исходами платиносодержащей химиотерапии при раке яичников (РЯ)
Table 1. Studies devoted to the study of single nucleotide polymorphisms (SNPs), associated with platinum chemotherapy outcomes in ovarian cancer (JC)

Исследование Study	Тип и предмет/ предмет исследования Study design/subject of study	Размер выборки Sample size	Ген и rsSNP Gene and rsSNP	Алель/ генотип Allele/ genotype	p/OШ/OR p/OR/HR	Влияние на выживаемость и прогноз Effect on survival	Чувстви- тельность к препара- там платины Platinum drugs sensitivity	Резистент- ность Resistance	Функциональное объяснение Functional explanation
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
F. Marm и соавт. [4] F. Marm et al. [4]	Ген-кандидатное исследование; SNPs при РЯ Candidate gene study; SNPs in ovarian cancer	242 больных РЯ 242 patients with OC	rs351855, <i>FGFR4</i>	G	ОШ 3,81 OR 3,81 p = 0,004	Увеличение ОВ и ВП Increase in OS and PFS	>Pt	–	–
R. Braun и соавт. [5] R. Braun et al. [5]	Полногеномный скрининг (GWAS); анализ данных TCGA, связь между SNPs и выживаемостью при РЯ Genome-wide association study (GWAS), TCGA data analysis, association between SNPs and survival in ovarian cancer	489 больных РЯ 489 patients with OC	rs4934282, <i>ACAP11</i>	C	p = 1,28E-08	Увеличение ОВ и ВП Increase in OS and PFS	–	–	–
T. Mitamura и соавт. [6] T. Mitamura et al. [6]	Полногеномный скрининг; влияние варианта rs2185379 в гене <i>PRDM1</i> на выживаемость при РЯ Genome-wide screening, effect of the rs2185379 variant in the <i>PRDM1</i> gene on ovarian cancer survival	24 больных РЯ 24 patients with OC	rs1857623, <i>DNAH14</i>	G	p = 1,70E-05	Увеличение ОВ Increase in OS	–	–	–
			rs2185379, <i>PRDM1</i>	A, AG	p = 0,013	Увеличение ВВП Increase in PFS	–	–	Высокая экспрессия гена <i>PRDM1</i> активирует Т-клеточный иммунитет High <i>PRDM1</i> gene expression activates T-cell immunity
B. Konopka и соавт. [7] B. Konopka et al. [7]	Ген-кандидатное исследование; оценка статуса и экспрессии <i>CEBPA</i> Candidate gene study, evaluation of <i>CEBPA</i> status and expression	118 больных РЯ + 236 больных контрольной группы 118 patients with ovarian cancer + 236 patients of control group	rs34529039, <i>CEBPA</i>	TT	p = 0,024	Снижение ОВ и ВВП при лечении стандартной схемой (препараты платины + таксаны) Decreased OS and PFS with standard therapy (platinum drugs + taxanes)	–	I	Гиперэкспрессия матричной РНК <i>CEBPA</i> <i>CEBPA</i> messenger RNA over expression

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
K.D. Steffensen и соавт. [2] K.D. Steffensen et al. [2]	Ген-кандидатное исследование; экспрессия <i>ERCC1</i> и полиморфизм C118T Candidate gene study; <i>ERCC1</i> expression and C118T polymorphism	159 больных РЯ 159 patients with OC	rs11615, <i>ERCC1</i>	TT	$p = 0,045$	—	>Pt	—	—
K.M. Moxley и соавт. [8] K.M. Moxley et al. [8]	Ген-кандидатное исследование; роль полиморфизмов генов <i>ERCC1</i> и <i>MMS19</i> Candidate gene study; the role of <i>ERCC1</i> and <i>MMS19</i> gene polymorphisms	107 больных РЯ 107 patients with OC	C8092A, <i>ERCC1</i> rs11615, <i>ERCC1</i> rs872106, <i>MMS19</i>	AA AA GG	$p = 0,04$ $p = 0,10$ $p = 0,05$	Увеличение ОБ и ВБП Increase in OS and PFS Увеличение ВБП Increase in PFS	У 45 больных РЯ >Pt In 45 OC patients with >Pt — —	У 62 больных РЯ — I In 62 OC patients — I — —	— — —
S. Gagno и соавт. [9] S. Gagno et al. [9]	Ген-кандидатное исследование; клиническая значимость SNPs в генах иммунной системы Candidate gene study; clinical significance of immune system gene SNPs	230 больных РЯ 230 patients with OC	rs1145161, <i>SMAD3</i> rs7559855, <i>CXCR7</i> rs12722489, <i>IL2RA</i> rs12914140, <i>SMAD3</i> rs1545161, <i>SMAD3</i> rs1984224, <i>PRDM1</i>	C C G G C G	$p = 0,0009$ ОР: ОБ — 0,38–0,65; ВБП — 0,42–0,69 HR: ОС — 0,38–0,65; PFS — 0,42–0,69	Снижение риска смертности и прогрессирования заболевания Reduced risk of mortality and disease progression	>Pt	—	—

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Н. Li и соавт. [10] H. Li et al. [10]	Ген-кандидатное исследование; ассоциация генотипов rs2284704 и rs61748571 с реакцией на лечение препаратами платины Candidate gene study, association of rs2284704 and rs61748571 genotypes with response to platinum drugs therapy	803 больных РЯ 803 patients with OC	rs2275913, <i>IL17A</i>	A	ОР: ОВ – 1,32–1,63; ВБП – 1,33–1,73 HR: ОС – 1,32–1,63; PFS – 1,33–1,73	Увеличение риска смертности и прогрессирования заболевания, снижение ОВ и ВБП Increased risk of mortality and disease progression, decreased OS and PFS	–	I	–
			rs2033787, <i>SMAD3</i>	G					
			rs3025033, <i>VEGFA</i>	T					
Н. Li и соавт. [11] H. Li et al. [11]	Ген-кандидатное исследование; ассоциация SNPs гена <i>CTNNB1P1</i> с реакцией на лечение препаратами платины Candidate gene study, associations between <i>CTNNB1P1</i> gene SNPs and response to platinum drugs therapy	495 больных РЯ 495 patients with OC	rs2284704, <i>MNAT1</i>	ТС, СС	$p = 0,0005$	Снижение ВБП Decreased PFS	–	>>Pt	Изменение реакции на химиотерапию связано со снижением экспрессии матричной РНК гена. Низкая экспрессия <i>MNAT1</i> ассоциирована с лучшим прогнозом Altered response to chemotherapy is associated with decreased gene messenger RNA expression. Low <i>MNAT1</i> expression leads to a better prognosis
			rs61748571, <i>HUS1B</i>	AG, GG	$p = 0,005$	Снижение ОВ и ВБП Decreased OS and PFS	–	I	–
			rs935072, <i>CTNNB1P1</i>	AT/TT	$p = 0,01$	–	>Pt	–	Избыточная экспрессия <i>CTNNB1P1</i> over expression

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A.V. Khrunin и соавт. [12] A.V. Khrunin et al. [12]	Полногеномный скрининг; связь SNPs более чем в 100 генах ДНК-репарации с исходами при РЯ Genome-wide screenings; association of SNPs in more than 100 DNA repair genes with outcomes in OC	104 больных РЯ 104 patients with OC	rs1142345, <i>TPMT</i> rs1131341, <i>NQO1</i> rs1800566, <i>NQO1</i>	AG CC CC	$p = 0,000003$ $p = 0,00002$ $p = 0,0002$	Снижение ВБП Decreased PFS Увеличение ВБП Increase in PFS Увеличение ВБП Increase in PFS	— — —	— — —	— — —
R.S. Huang и соавт. [13] R.S. Huang et al. [13]	Полногеномный скрининг; анализ SNPs, ассоциированных с чувствительностью клеток к препаратам платины Genome-wide screening; assessment of SNPs associated with cell sensitivity to platinum drugs	377 больных РЯ (в рамках AOCS (American Oil Chemists' Society)) 377 ovarian cancer patients (within the AOCS (American Oil Chemists' Society) cohort)	rs1649942, <i>ALDH2</i>	G	$p = 0,004$	Снижение ОВ и ВБП Decreased OS and PFS	—	I	—
Q.H. Meng и E. Xu [14] Q.H. Meng and E. Xu [14]	Ген-кандидатное исследование; связь генетических вариантов в сигнальном пути FGF с РЯ Candidate gene study; association of genetic variants in the FGF signaling pathway with OC	417 больных РЯ + 417 пациентов контрольной группы 417 patients with OC + 417 patients of control group	rs12812339, <i>FGF23</i> rs3806929, <i>FGF18</i> rs9920722, <i>FGF7</i> rs3733336, <i>FGF5</i>	A T A C	ОШ 0,65 OR 0.65 ОШ 0,64 OR 0.64 ОШ 0,65 OR 0.65 ОШ 0,44 OR 0.44	— — — —	>Pt >Pt >Pt >Pt	— — — —	— — — —
J. Permuth-Wey и соавт. [15] J. Permuth-Wey et al. [15]	Ген-кандидатное исследование; влияние SNPs гена <i>STAT3</i> на платиносодержущую терапию Candidate gene study; impact of <i>STAT3</i> gene SNPs on platinum-containing therapy	102 больных РЯ с неполным ответом на терапию + 259 больных РЯ с полным ответом 102 OC patients with incomplete response + 259 OC patients with complete response	rs62075772, <i>STAT3</i> rs1364455, <i>ALDH1A1</i> rs7529021, <i>LIN28</i>	G C/A T/A	$p = 0,0005$ $p = 0,0031$ $p = 0,017$	— — —	— — —	I I I	— — —
			rs2885232, <i>ESRRB</i>	C/T	$p = 0,50$	—	—	I	—

	2	3	4	5	6	7	8	9
	Полногеномный скрининг; идентификация SNPs, ассоциированных с выживаемостью при разных типах рака (включая РЯ) Genome-wide screening, identification of SNPs associated with survival across different cancer types (including OC)	86 больных РЯ (из базы TCGA) 86 OC patients (from the TCGA dataset)	rs16852804, <i>BARD1</i>	AA, GA	<i>p</i> = 0,00014	Снижение ОВ Decreased OS	—	
			rs16852802, <i>BARD1</i>	AG	<i>p</i> = 0,000139			
	Ген-кандидатное исследование; влияние SNPs гена <i>ABCB1</i> на частоту возникновения РЯ и реакцию на химиотерапию Candidate gene study, impact of <i>ABCB1</i> gene SNPs on ovarian cancer incidence and response to chemotherapy	276 больных РЯ + 369 больных контрольной группы 276 OC patients + 369 patients of control group	rs1128503, <i>ABCB1</i>	CC	<i>p</i> = 0,024778	Увеличение ОВ и ВБП Increase in OS and PFS	—	
	Ген-кандидатное исследование; полиморфизм <i>ERCC1</i> rs11615 и химическая чувствительность РЯ Candidate gene study; <i>ERCC1</i> rs11615 polymorphism and ovarian cancer chemosensitivity	60 больных РЯ 60 OC patients	rs11615, <i>ERCC1</i>	CT/TT	ОШ 0,17 OR 0.17 <i>p</i> = 0,018	—	>Pt	
	Метаанализ ген-кандидатных исследований; взаимосвязь полиморфизма C19007T и эффективности химиотерапии при РЯ Meta-analysis of candidate genes studies; relationship between C19007T polymorphism and chemotherapy efficacy in OC	1169 больных РЯ (425 пациентки, у которых не получен ответ на лечение, и 744 пациентки с ответом на лечение) 1169 OC patients (425 non-patients and 744 patients)	C19007T, <i>ERCC1</i>	C	ОШ 1,07 OR 1.07	—	Нет влияния на ХТ (европеоидная раса) No impact on chemotherapy (Caucasian population)	

Окончание табл. 1
End of table 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
M. Xu и соавт. [20] M. Xu et al. [20]	Метаанализ ген-кандидатных исследований; влияние SNPs гена ERCC5 на химиотерапию Meta-analysis of candidate gene studies, impact of ERCC5 gene SNPs on chemotherapy	622 больных РЯ с хорошим ответом на лечение и 884 больных РЯ с плохим ответом на лечение 622 OC patients with good response and 884 OC patients with poor response	rs17655, ERCC5	C	ОШ 2,86 OR 2.86	—	>Pt	—	—
J. Zhao и соавт. [21] J. Zhao et al. [21]	Ген-кандидатное исследование; влияние SNPs на эффективность химиотерапии и прогноз у пациентов из Северного Китая Candidate gene study; impact of SNPs on chemotherapy efficacy and prognosis in patients from Northern China	710 больных РЯ + 700 больных контрольной группы 700 OC patients with + 700 patients of control group	rs1136410, PARP1	CC	p = 0,001	Увеличение ВБП Increase in PFS	68,0 % > Pt	32,0 % — I	Аллель C может значительно снизить каталитическую активность PARP-1 The C allele may significantly reduce the catalytic activity of PARP-1

Примечание. Проанализированы работы, упомянутые в статье. ОШ — отношение шансов; ОР — отношение рисков; TCGA — The Cancer Genome Atlas, проект «Атлас ракового генома»; FGF — фактор роста фибробластов; OB — общая выживаемость; ВБП — выживаемость без прогрессирования; >Pt — высокая чувствительность к препаратам платины; I — первичная резистентность к препаратам платины; «—» — соответствующий параметр в исследовании не оценивался, или о нем не сообщалось.
Note. The works mentioned in the article are analyzed. OR — odds ratio; HR — hazard ratio; TCGA — The Cancer Genome Atlas; FGF — fibroblast growth factor; OS — overall survival; PFS — progression-free survival; >Pt — high sensitivity to platinum preparations; I — primary resistance to platinum preparations; “—” — the corresponding parameter was not evaluated in the study, or it was not reported.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА И ЕГО ПУТЬ В КЛИНИЧЕСКУЮ ПРАКТИКУ

Препараты платины нашли широкое применение в качестве цитостатиков для лечения многих онкологических заболеваний, в том числе РЯ, благодаря их выраженному цитотоксическому действию на пролиферирующую клетку. Цитотоксический эффект платины впервые описал в 1965 г. биофизик Барнетт Розенберг. Он с коллегами изучал влияние электрического поля на деление *Escherichia coli* и обнаружил резкое увеличение длины бактериальных клеток, что впоследствии было объяснено образованием растворимых платиновых комплексов при электролизе платиновых электродов, тормозивших бинарное деление. Дальнейшие эксперименты продемонстрировали ингибирующее действие платиновых соединений на опухолевые клетки, причем наибольшей активностью обладал цисдихлориддихлороплатины(II) (цисплатин).

В 1978 г. цисплатин был одобрен Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration), а с 1980-х годов получил широкое клиническое применение, в том числе при РЯ. После публикации в 1996 г. результатов крупного клинического исследования III фазы Американской группы гинекологической онкологии (Gynecologic Oncology Group) GOG-111 комбинация препарата платины (карбоплатин или цисплатин) с паклитакселом была принята как стандарт 1-й линии терапии распространенного РЯ [22].

Известны 3 пути проникновения цисплатина в клетку: пассивная диффузия, активный транспорт с помощью высокоаффинного переносчика меди CTR1 и транспорт через белок OCT2 (транспортер органических катионов) [23, 24]. Долгое время считалось, что пассивная диффузия играет ключевую роль в его поглощении. Однако пассивный транспорт не объясняет вариабельность динамики поступления платины в клетки разных тканей, а скорости диффузии недостаточно для создания цитотоксической концентрации внутри клетки.

Транспортер OCT2 экспрессируется в ограниченном наборе типов клеток, что не позволяет рассматривать его как универсальный переносчик цисплатина. В отличие от OCT2, CTR1 экспрессируется практически во всех клетках на всех этапах онтогенеза и считается центральным участником переноса платиновых препаратов. В 2002 г. впервые было показано, что снижение экспрессии транспортера CTR1 ведет к уменьшению внутриклеточного накопления цисплатина и развитию резистентности, тогда как его сверхэкспрессия, напротив, вызывает увеличение импорта препаратов платины [25, 26]. В цитоплазме, где концентрация ионов хлора низкая, хлоридные группы цисплатина замещаются молекулами воды с образованием активного гидрата цис- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$. Образующийся водорастворимый электрофил пересекает ядерную мембрану и реагирует с отрицательно заряженной ДНК. Далее молекулы воды в гидрате цисплатина замещаются на азотистые основания ДНК с образованием ДНК-аддуктов цис- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]$ -ДНК (рис. 1).



Рис. 1. Механизм действия цисплатина в клетке: проникновение через CTR1, OCT2 и путем пассивной диффузии, дальнейшая внутриклеточная гидратация, образование ДНК-аддуктов в ядре и выбор процесса репарации или апоптоза

Fig. 1. Mechanism of action of cisplatin within the cell: entry via CTR1, OCT2 and via passive diffusion, subsequent intracellular hydration, DNA adduct formation in the nucleus, and the choice between repair processes or apoptosis

Гидратированный цисплатин преимущественно атакует положение N7 гуанина (рис. 2), что приводит к образованию внутри- и межцепочечных аддуктов. Внутрицепочечные сшивки в клетках, обработанных цисплатином, обнаруживаются между двумя соседними гуанинами (GG, ~60–65 %), между аденином и гуанином (AG, ~20–25 %), а также между двумя гуанинами, разделенными одним нуклеотидным основанием (G-G). Межцепочечные сшивки между двумя гуанинами противоположных цепей составляют ~5–8 % всех аддуктов.

Внутрицепочечные сшивки изменяют конформацию ДНК за счет перегиба спирали на 30–40° и раскручивания ее на 25°. Межцепочечные сшивки вызывают более выраженную деформацию: перегиб на 40–50° и раскручивание на 80–110°. Образующиеся аддукты ингибируют репликацию ДНК, вызывают остановку клеточного цикла в фазе G2 и индуцируют апоптоз [27]. Как внутрицепочечные, так и межцепочечные сшивки нарушают работу основных ДНК-полимераз, что вызывает вовлечение резервных ДНК-полимераз, способных к синтезу через повреждения (translesion synthesis). В исследовании К. Хие и соавт. было продемонстрировано, что ингибирование активности данных полимераз ассоциировано с повышением чувствительности опухолевых клеток к препаратам платины [27]. Если ДНК-полимеразы не способны обойти повреждение, это также вызывает остановку (столлинг) элонгации РНК-полимеразы II на аддукте, что запускает транскрипционно-сопряженную репарацию либо, при ее неэффективности, апоптоз.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Платиносодержащие препараты (карбоплатин, цисплатин) остаются ключевым компонентом стандартной ХТ эпителиального РЯ. Хотя начальный ответ на лечение 1-й линии достигает 75–80 %, у большинства пациенток с распространенными стадиями заболевания развивается рецидив (50–80 % случаев) [28]. Исход лечения при рецидиве РЯ определяется его чувствительностью к платиносодержащим препаратам – феноменом, который в клинической практике принято оценивать с помощью бесплатинового интервала (БПИ). Классификация по БПИ впервые была предложена в 1991 г. М. Markman и соавт. для прогнозирования ответа на повторную терапию [29]. Развитие рецидива более чем через 6 мес после завершения последнего курса платиносодержащей ХТ классифицируется как платиночувствительный рецидив. У таких пациенток имеются значительно более высокие шансы на повторный ответ на терапию при возврате к этому лечению. Платинорезистентный рецидив развивается в срок до 6 мес после завершения платиносодержащей ХТ [30]. И наконец, платинорефрактерный (первично-резистентный) рецидив определяется прогрессированием опухоли или ее стабилизацией непосредственно во время проведения 1-й линии стандартной ХТ или в течение 4 нед после ее окончания [31]. Это наиболее агрессивный вариант, характеризующийся крайне неблагоприятным прогнозом.

В 2010 г. на 4-й Оксфордской конференции Международной группы по изучению гинекологического

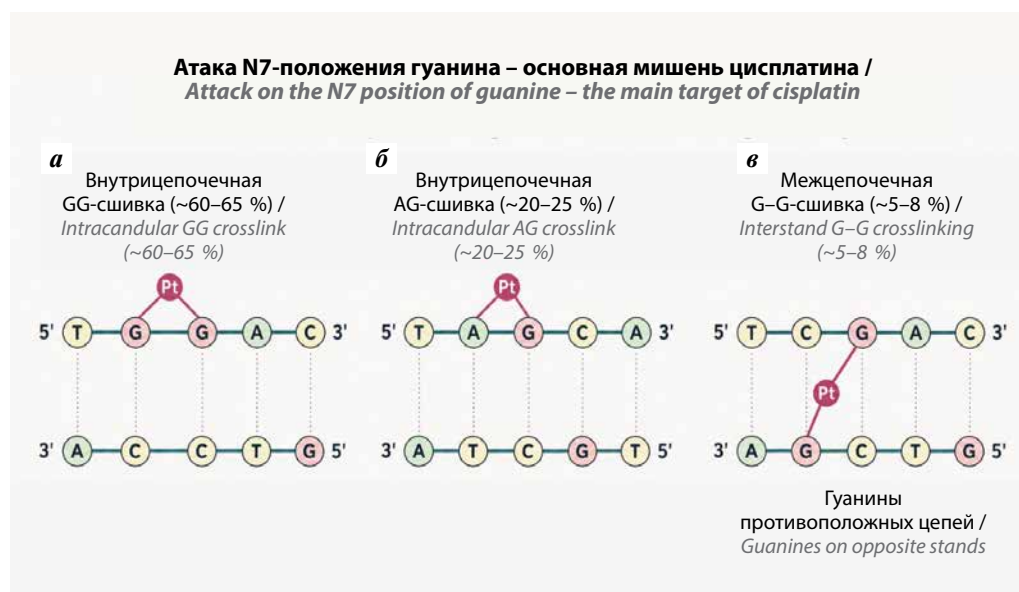


Рис. 2. Три типа аддуктов, образуемых цисплатином с ДНК: а – внутрицепочечная GG-сшивка (доминирующий тип); б – внутрицепочечная AG-сшивка; в – межцепочечная G–G-сшивка между соседними парами оснований противоположных цепей

Fig. 2. Three types of cisplatin-DNA adducts: а – intrastrand GG crosslink (the dominant type); б – intrastrand AG crosslink; в – interstrand G–G crosslink between adjacent base pairs on opposite strands

рака (Gynecologic Cancer Inter Group, GCIG) было уточнено, что БПИ следует рассчитывать как интервал между датой последнего введения платины и датой задокументированного прогрессирования заболевания. Однако современные подходы, представленные на 6-й конференции GCIG (2021), подчеркивают ограничения БПИ и предлагают концепцию бестерапевтического интервала (БТИ), т. е. времени от окончания любой предшествующей линии терапии до следующего прогрессирования. Подчеркивается, что это должны быть не бинарные категории (чувствительный vs резистентный), а непрерывная временная переменная [32].

Первичная резистентность к препаратам платины встречается у 15–25 % пациенток с РЯ (прогрессирование на фоне проведения терапии или рецидив в срок 3–6 мес после лечения). Согласно результатам ретроспективного анализа специалистов Северо-Восточного немецкого общества гинекологической онкологии (Nord-Ostdeutsche Gesellschaft für Gynäkologische Onkologie e. V., NOGGO) (2021), частота развития первичной резистентности среди пациенток с РЯ, получавших терапию 1-й линии, составила 15–20 %, при этом в данной группе зарегистрирована минимальная медиана выживаемости [33]. Вторичная (приобретенная) резистентность возникает практически у всех пациенток с рецидивом РЯ [34]. Более того, платинорезистентность является основной причиной летальных исходов при данной патологии [28]. При платинорезистентном рецидиве частота объективного ответа на последующие линии ХТ, как правило, не превышает 10–20 %, а медиана ОВ составляет <12 мес [28, 35].

Несмотря на то что формирование устойчивости к платине считается практически неизбежным этапом прогрессирования заболевания, клиническая практика демонстрирует существенную гетерогенность ответов на лечение. Такое различие в исходах продиктовано врожденными генетическими особенностями, модулирующими фармакологический ответ. В частности, у ряда пациенток с РЯ с исходно неблагоприятным прогнозом рецидив не возникает, что указывает на их врожденную высокую чувствительность к ХТ. Подтверждением этой гипотезы служат данные Т. Mitamura и соавт., которые в ходе полногеномного анализа SNP обнаружили специфические генетические маркеры сверхчувствительности. В частности, гетерозиготный вариант rs2185379 гена *PRDM1* у пациенток с длительной ремиссией встречался в 6,8 раза чаще ($p = 0,013$), чем в группе раннего рецидива ($p = 0,013$). Аналогичные прогностически благоприятные корреляции выявлены для SNP в генах *LRRC2* (rs28687398) и *ABCA13* (rs17712299) и *LITD1* (rs7533274), в то время как наличие патогенного минорного аллеля А структурного варианта rs80357086 (с.188Т>А, р. Leu63Ter) гена *BRCA1* выступало неблагоприятным прогностическим фактором и обуславливало развитие раннего рецидива у 18,2 % больных [6]. Данный вариант характеризу-

ется низкой частотой минорного аллеля (MAF) (<0,05 %). Полученные результаты косвенно подтверждают влияние генетического профиля пациентки на исход эффективности терапии, однако окончательные выводы можно сделать только после установления причинно-следственных механизмов данных ассоциаций.

Таким образом, на фоне общей тенденции к развитию резистентности к препаратам платины выявление подобных генетических маркеров открывает возможности для лучшего понимания молекулярных механизмов раннего рецидива и, возможно, разработки протоколом прогнозирования и альтернативных терапевтических стратегий.

МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ЦИСПЛАТИНУ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Резистентность РЯ к платиносодержащей ХТ развивается за счет снижения внутриклеточной концентрации цисплатина, усиления его детоксикации, нарушения регуляции апоптоза, изменения микроокружения опухоли и увеличения эффективности репарации ДНК. Механизмы резистентности можно разделить на те, что реализуются до связывания цисплатина с ДНК (транспорт и детоксикация), и те, что реализуются после образования ДНК-аддукта (репарация ДНК, сигнальные пути).

Механизмы резистентности до связывания с мишенью.

Снижение внутриклеточной концентрации цисплатина и увеличение его оттока позволяют клеткам РЯ избегать цитотоксичности до того, как молекула этого препарата свяжется с ДНК (рис. 3). Основную роль в поглощении цисплатина клеткой играет высокоаффинный транспортер меди CTR1. При поступлении препарата в цитоплазму данный белок подвергается быстрому макропиноцитозу с последующей протеасомной деградацией, что приводит к снижению его экспрессии на клеточной мембране. Одновременно растет количество CTR2, который, в отличие от CTR1, ограничивает внутриклеточное накопление цисплатина. Так, В. G. Blair и соавт. продемонстрировали значимое увеличение цитотоксичности цисплатина в условиях дефицита CTR2 [36]. В свою очередь, Y. Y. Lee и соавт. показали, что высокий уровень экспрессии CTR1 в опухолевой ткани РЯ ассоциирован с увеличением продолжительности безрецидивного периода, тогда как гиперэкспрессия CTR2, напротив, коррелирует с неблагоприятным прогнозом [37].

Регуляцию экспрессии транспортеров CTR1 и CTR2 осуществляет внутриклеточный шаперон ATOX1. Помимо этого, данный регуляторный белок принимает непосредственное участие в выведении препаратов платины путем их связывания и транспортировки к АТФазе 2 (АТР7В). Белок АТР7В относится к семейству АТФаз Р-типа и совместно с АТФ-связывающими мембранными транспортерами MRP2 и BCRP увеличивает экспорт цисплатина из клетки [5, 6]. Гиперэкспрессия ATOX1 и АТР7В ассоциирована с развитием платинорезистентности опухолей [38].

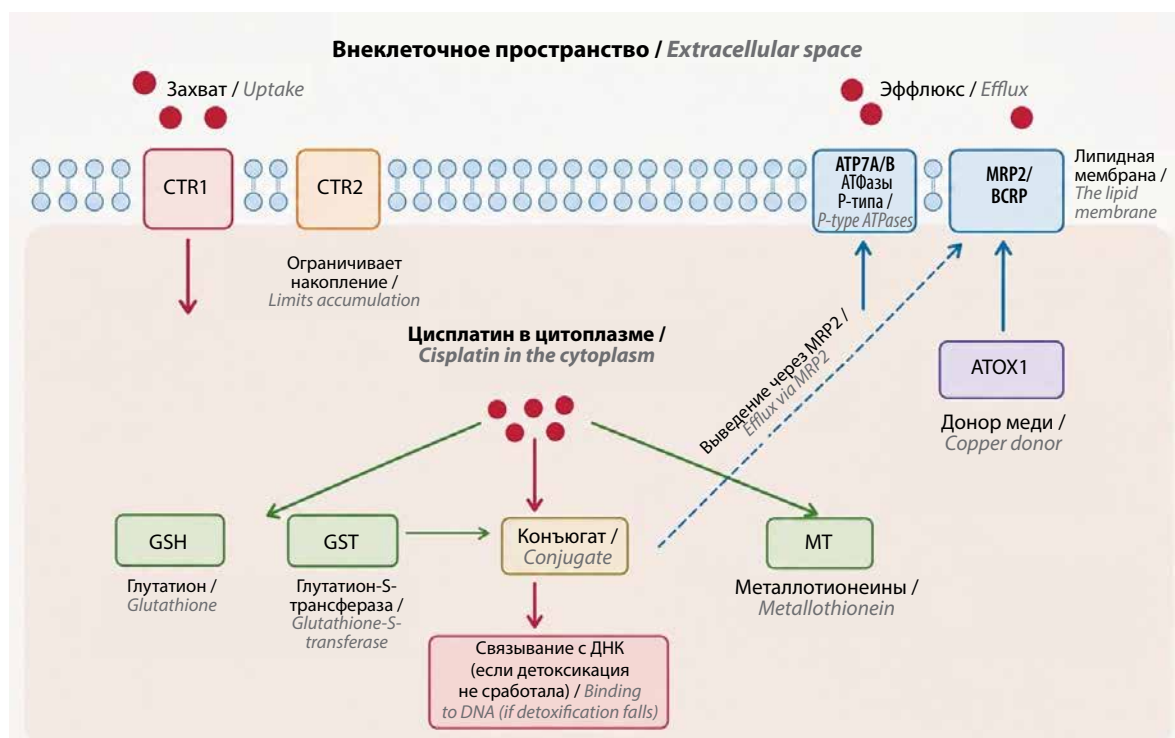


Рис. 3. Механизмы резистентности к цисплатину до связывания с ДНК: захват цисплатина (CTR1/CTR2), эффлюкс через АТФазы P-типа (ATP7A/B) и ABC-транспортёры (MRP2/BCRP), а также цитоплазматическая детоксикация через глутатион (GSH/GST) и металлотионеины (MT). GST – глутатион-S-трансфераза

Fig. 3. Mechanisms of cisplatin resistance prior to DNA binding: cisplatin uptake (CTR1/CTR2), efflux via P-type ATPases (ATP7A/B) and ABC transporters (MRP2/BCRP), and cytoplasmic detoxification via glutathione (GSH/GST) and metallothioneins (MT). GST – glutathione-S-transferase

Большую роль в механизмах резистентности играет система глутатиона. Он представляет собой внутриклеточный тиол, защищающий клетку от окислительного стресса и связывающий цисплатин посредством сульфгидрильных групп, что предотвращает взаимодействие платины с ДНК [39]. При участии глутатион-S-трансферазы образуется неактивный конъюгат, который выводится из клетки через АТФ-зависимый мембранный белок – транспортер MRP2 (кодируется геном *ABCC2*). Синхронно в данном процессе задействован переносчик BCRP (кодируется геном *ABCG2*), обеспечивающий активный эффлюкс как свободных молекул цисплатина, так и его конъюгированных форм. Значимость глутатионовой системы в формировании платинорезистентности при РЯ показана еще в 1994 г. S.I. Namada и соавт., установившими связь между гиперэкспрессией глутатион-S-трансферазы и неэффективностью терапии [40]. Еще одним ключевым звеном пути детоксикации выступает глутатионпероксидаза 1 (GPX1). Ее действие напрямую зависит от пула восстановленного глутатиона, который используется ферментом для нейтрализации токсичных перекисных радикалов и защиты клеток от окислительного стресса. Структурный вариант rs1050450 (C>T; MAF = 0,32, p.Pro200Leu) гена *GPX1* ассоци-

ирован с риском развития РЯ. У носительниц гено-типа CC отмечается уменьшение риска возникновения заболевания ($p = 0,002$), тогда как у гомозигот ТТ вероятность развития опухоли возрастает в 3 раза ($p = 0,036$) [41]. Возникновение устойчивости к платиносодержащей терапии также связано с белками металлотионеинами. Они работают как внутриклеточные ловушки, которые связывают цисплатин до его проникновения в ядро. Такая изоляция препарата в составе комплексов с этими белками ускоряет его последующее выведение из клетки. Впрочем, пока нет данных о влиянии структурных вариантов генов металлотионеинов на функциональность кодируемых ими белков [42].

Механизмы резистентности после образования ДНК-аддукта: репарация ДНК. Механизм действия платиносодержащей ХТ заключается в ковалентном связывании ДНК с образованием аддуктов. От способности опухолевых клеток восстанавливать поврежденную ДНК зависит эффективность терапии. На начальном этапе лечения цисплатином чувствительность клеток обусловлена в том числе низким уровнем экспрессии молекул, участвующих в восстановлении повреждений. При возникновении повреждения ДНК активируются сигнальные пути, запускающие репара-

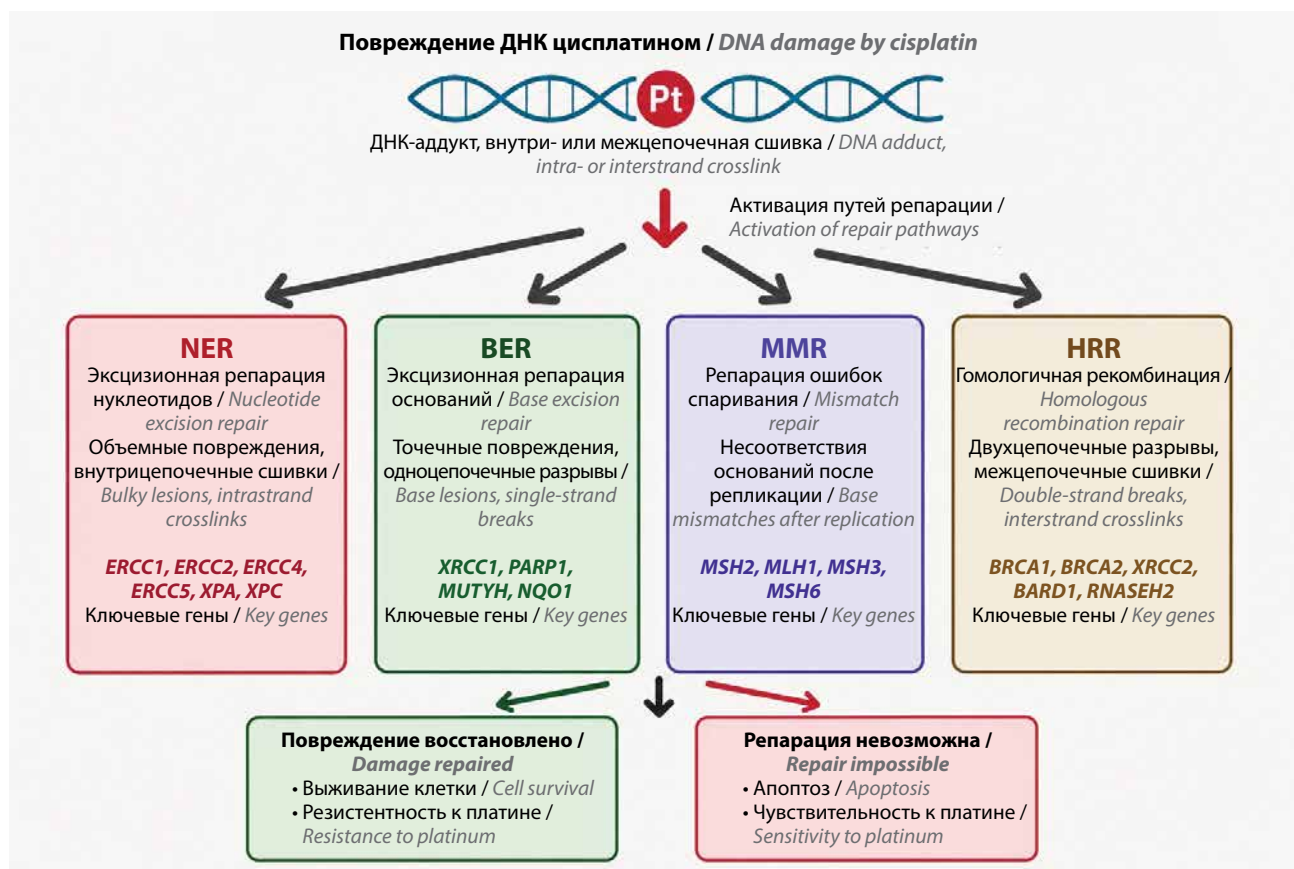


Рис. 4. Четыре пути репарации ДНК, участвующих в удалении повреждений ДНК, вызываемых цисплатином: эксцизионная репарация нуклеотидов (NER), эксцизионная репарация оснований (BER), репарация ошибок спаривания (MMR) и репарация с помощью гомологичной рекомбинации (HRR). Для каждого пути указаны ключевые гены, в которых локализованы герминальные структурные варианты, ассоциированные с ответом на платиносодержащую терапию

Fig. 4. Four DNA repair pathways involved in the removal of cisplatin-induced DNA damage: nucleotide excision repair (NER), base excision repair (BER), mismatch repair (MMR), and homologous recombination repair (HRR). For each pathway, key genes are indicated harboring germline structural variants associated with the response to platinum-based therapy

цию, а при невозможности восстановления — апоптоз. Поэтому генетически обусловленная вариация механизмов репарации может транслироваться в вариацию чувствительности к ХТ на основе платины (рис. 4).

Эксцизионная репарация нуклеотидов (NER) является основным путем удаления объемных повреждений ДНК, включая Pt-аддукты. На начальном этапе Pt-аддукт распознается белком ХРС, после чего происходит привлечение и активация комплекса ТFIIH, в составе которого функционирует ДНК-хеликаза ERCC2. На заключительном этапе эндонуклеазы ERCC1—ERCC4 и ERCC5 осуществляют асимметричное двойное надрезание поврежденной нити ДНК с 5'- и 3'-сторон от расположения аддукта (рис. 5). После удаления клеткой объемных платиновых аддуктов в ходе эксцизионной репарации нуклеотидов синтез заполняющей цепи осуществляет ДНК-полимераза эILON или дельта (Pol δ/ϵ), а ковалентное сшивание цепи (лигирование) выполняет фермент ДНК-лигаза I [43]. Снижение способности к репарации само по себе может привести к накоплению мутаций и канцерогенезу.

Помимо NER существует эксцизионная репарация оснований (Base Excision Repair, BER), которая является ключевым механизмом репарации ДНК, устраняющим мелкие, не искажающие спираль повреждения: окисленные, алкилированные или дезаминированные основания. Основные ее этапы включают распознавание и удаление повреждения ДНК-гликозилазой, разрезание остова, замещение нуклеотида ДНК-полимеразой, отвечающей за точечную вставку правильного нуклеотида, и восстановление целостности цепи лигазой. Данный механизм играет вспомогательную роль в устранении вторичных повреждений ДНК, вызванных окислительным стрессом при воздействии цисплатина. Ключевым белком системы BER является XRCC1.

Результаты исследований показывают, что снижение экспрессии гена *XRCC1* увеличивает чувствительность опухолей к платиносодержащей терапии, так как клетка теряет способность быстро восстанавливать одноцепочечные разрывы ДНК. Несмотря на то что белок XRCC1 непосредственно не задействован в этапах узнавания и эксцизии объемных платиновых аддуктов

Эксцизионная репарация нуклеотидов (NER) / Nucleotide excision repair (NER)

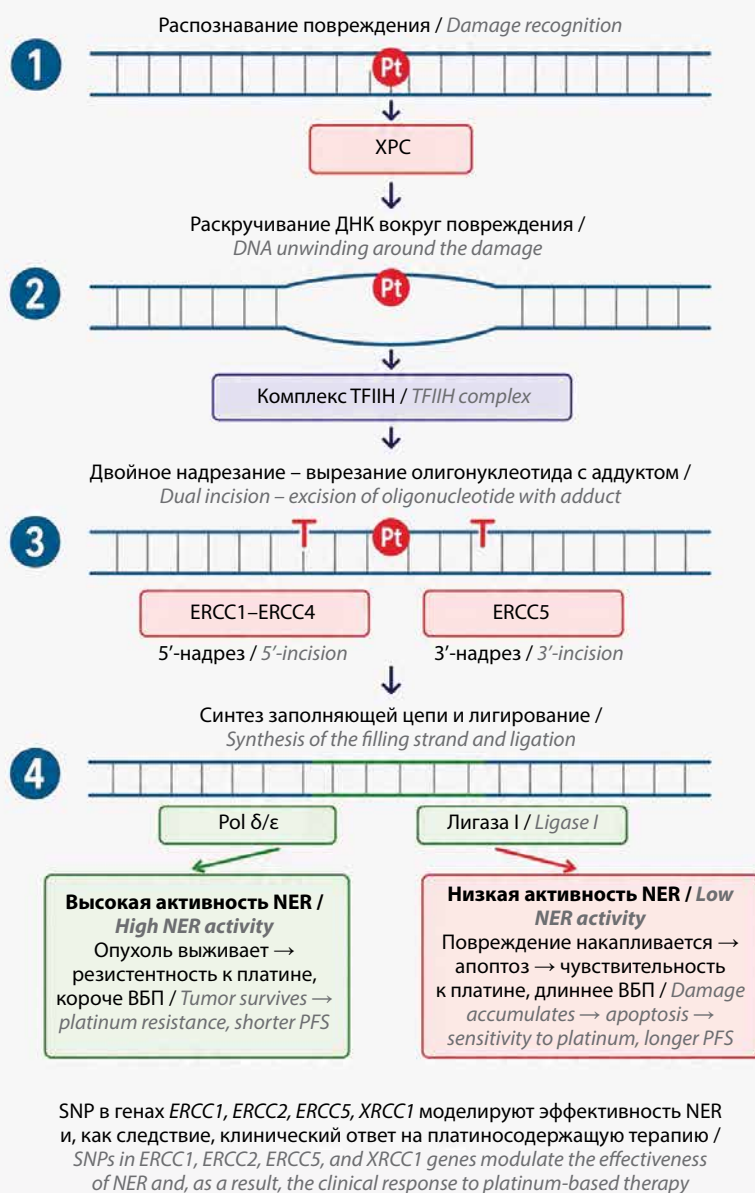


Рис. 5. Детальная схема эксцизионной репарации нуклеотидов (NER): распознавание повреждения, раскручивание ДНК, двойное надрезание, синтез заполняющей цепи и лигирование. SNP в генах ERCC1, ERCC2, ERCC5 и XRCC1 модулируют эффективность каждой из стадий. ВБП – выживаемость без прогрессирования

Fig. 5. Detailed scheme of nucleotide excision repair (NER): damage recognition, DNA unwinding, dual incision, gap-filling synthesis, and ligation. SNPs in the ERCC1, ERCC2, ERCC5, and XRCC1 genes modulate the efficiency of each stage. PFS – progression-free survival

в рамках NER, он выполняет важную координационную функцию на стадиях репаративного синтеза и лигирования. Данный вспомогательный механизм активируется при функциональной недостаточности классических систем репликации и сшивания цепей ДНК [43–45].

Структурный полиморфизм описан для генов ERCC1, ERCC2, ERCC5 и XRCC1 [46]. Продукт гена XRCC1 критически важен для эксцизионной репарации оснований, в связи с чем особый интерес представляет один

из наиболее изученных его SNP – rs25487 (T>C; MAF = 0,34; p.Arg399Gln). Известно, что данный структурный вариант ассоциирован с риском развития рака молочной железы, легкого и носоглотки. В то же время в ходе ген-кандидатного исследования Т. Zavarykina и соавт. было обнаружено увеличение риска развития РЯ у носительниц аллеля Т rs25487 гена XRCC1 ($p = 0,00016$) [30]. Напротив, наличие генотипа TG структурного варианта rs13181 (T>G; MAF = 0,35–0,42) гена ERCC2 коррелировало со сни-

жением риска возникновения РЯ ($p = 0,011$) [47]. Работ, направленных на определение связи этих структурных вариантов с вариабельностью ответа на лечение препаратами платины, пока не было. Но можно логично предположить, что механизмы реализации увеличения риска развития вышеописанных злокачественных опухолей и удаления повреждений ДНК при ХТ весьма близки, и шансы увидеть ассоциацию с эффективностью лечения совсем не нулевые.

Белок ERCC1 занимает ключевое место в системе NER, уровень его экспрессии находится в обратной корреляционной связи с чувствительностью опухолевых клеток к цисплатину. Помимо распознавания и удаления платиновых аддуктов в ходе эксцизионной репарации, ген *ERCC1* также вовлечен в процессы гомологичной рекомбинации и восстановления двухцепочечных разрывов ДНК. Наиболее часто изучаемые SNP гена *ERCC1* — C118T (rs11615, p.Asn118Asn) в кодирующей области и C8092A (rs3212986) в 3'-UTR-области. К.М. Moxley и соавт. в ходе ген-кандидатного исследования выявили, что наличие генотипов CA и AA (C>A; MAF = 0,25) структурного варианта C8092A ассоциировано со значимым увеличением ВБП и ОВ по сравнению с гомозиготным генотипом CC ($p = 0,04$) [8].

Данные результаты объясняются тем, что минорный аллель А структурного варианта C8092A вызывает снижение стабильности матричной РНК (мРНК) в 3'-нетранслируемой области (3'-UTR). Это влечет за собой ускоренную деградацию транскрипта и, как следствие, приводит к резкому снижению уровня экспрессии белка ERCC1. Данный функциональный дефицит нарушает процессы нуклеотидной эксцизионной репарации, следствием чего становится повышение чувствительности к препаратам платины, увеличение ВБП и ОВ, что продемонстрировано в исследовании.

Прогностическая значимость структурного варианта rs11615 гена *ERCC1* при РЯ поздних стадий продемонстрирована в работе К. D. Steffensen и соавт. [48]. Авторы установили, что синонимичная замена C→T (p.Asn118Asn) приводит к снижению внутриклеточного уровня белка ERCC1 и последующему ослаблению систем репарации ДНК. Вследствие этого у носителей минорного аллеля Т (C>T; MAF = 0,42) наблюдается повышенная чувствительность опухоли к карбоплатину, что приводит к клинически значимому улучшению показателей выживаемости по сравнению с пациентами с диким генотипом CC. Также авторы выявили, что среди больных с *ERCC1*-положительными опухолями уровень ответа был значительно ниже, чем у больных с *ERCC1*-отрицательными опухолями, а высокие уровни мРНК и белка ERCC1 коррелирует с более низкой ОВ и устойчивостью к ХТ [2]. Таким образом, определение экспрессии белка ERCC1 перед ХТ может быть клинически значимо.

Результаты ряда исследований показали, что самостоятельное определение вариантов гена *ERCC1* не ассоциировано с изменением чувствительности опухоли

к платиносодержащей ХТ [19, 49, 50]. К тому же выводу приводят и данные метаанализа Y. Zhang и соавт. [51]: при анализе структурного варианта rs11615 наблюдалась слабая тенденция к увеличению ответа на терапию препаратами платины у носителей аллеля С, однако эти результаты не достигли статистической значимости (отношение шансов 0,92; $p > 0,05$). Возможное объяснение такой непоследовательности предложили К. Kirschner и D.W. Melton: комплекс ERCC1—ERCC4 участвует не только в эксцизионной репарации нуклеотидов, но и в ряде других путей восстановления ДНК, поэтому его активность не может служить однозначным предиктором ответа на противоопухолевые препараты [52].

Большую роль в функционировании системы эксцизионной репарации нуклеотидов играют АТФ-зависимая геликаза XPD (продукт гена *ERCC2*), являющаяся компонентом транскрипционного фактора TFIIH, и эндонуклеаза ERCC4 (в составе гетеродимера ERCC1—ERCC4). Изменения экспрессии генов *ERCC2* и *ERCC4* зачастую коррелируют с эффективностью платиносодержащей терапии: снижение их экспрессии сопровождается повышением чувствительности опухолей к цисплатину, тогда как высокий уровень экспрессии ассоциирован с резистентностью. Особое внимание исследователей сосредоточено на структурном варианте rs13181 (p.Lys751Gln) гена *ERCC2*. Согласно результатам ген-кандидатного исследования Я. Б. Валовой и соавт., минорный аллель С варианта rs13181 ассоциирован со снижением эффективности репарации ДНК, что наряду с повышением риска развития РЯ существенно увеличивает чувствительность опухоли к препаратам платины вследствие неспособности опухолевых клеток устранять индуцированные платиной аддукты ДНК [53]. Данный вариант характеризуется выраженной межпопуляционной гетерогенностью: частота минорного аллеля снижается с 35–42 % в европейских выборках до 6–10 % в восточноазиатских популяциях.

Логическим продолжением каскада NER является этап с участием белка ERCC5, необходимого для взаимодействия с комплексом TFIIH. Результаты исследований показывают, что у носительниц минорного аллеля С структурного варианта rs17655 (p.Asp1104His) гена *ERCC5* снижается эффективность нуклеотидной эксцизионной репарации. По данным метаанализа, выполненного на китайских выборках, носительство этого аллеля выступает важным предиктором повышенной чувствительности опухолевых клеток к ХТ на основе производных платины [20]. При этом частота аллеля существенно различается между популяциями (MAF ~0,22–0,36), что ограничивает прямой перенос этих результатов на европейские когорты. Не исключено, что данный SNP не является функциональным, а находится внутри клинически значимого гаплотипа, характерного для азиатских популяций. Наряду с белками прямой репарации, на выживаемость больных РЯ могут влиять регуляторные факторы, в частности про-

дукт гена *MMS19*. Он играет критическую роль в функционировании транскрипционного комплекса TFIIH, участвуя в метаболизме железосерных (Fe-S) кластеров, которые необходимы для поддержания ферментативной активности геликаз (в частности, ERCC2), а также регулируя работу РНК-полимеразы II. При оценке клинической значимости структурных вариантов данного гена установлено, что гомозиготный генотип GG структурного варианта rs872106 гена *MMS19* ассоциирован с выраженной тенденцией к ВБП ($p = 0,05$) [31]. Таким образом, комплексный анализ полиморфизмов генов NER остается привлекательным полем для дальнейших ассоциативных и функциональных исследований эффективности ХТ при РЯ.

Поли(АДФ-рибозо)полимераза-1 (PARP1) является ключевым ферментом репарации одноцепочечных разрывов ДНК по путям BER и NER. При возникновении разрыва PARP1 активируется и рекрутирует к месту повреждения другие белки комплекса восстановления: АДФ-рибозил-акцептор-гидролаза 3 (ARH3), ДНК-лигаза 3 (Lig3), ДНК-полимераза β (Pol β), XRCC1, BRCA1/2 и др. Повышенная экспрессия PARP1 может действовать для опухолевых клеток как защитный механизм от цитотоксических эффектов противоопухолевой терапии [43, 54]. Среди идентифицированных SNPs в гене *PARP1* наиболее изученными к настоящему времени являются вариант rs1136410, локализованный в экзоне 17, и rs8679, расположенный в 3'-нетранслируемой области. J. Zhao и соавт. в своем исследовании «случай–контроль» изучили влияние этих SNPs на эффективность платиносодержащей терапии у пациенток из Северного Китая [21]. Наибольшее внимание авторов привлек структурный вариант rs1136410, представляющий собой миссенс-замену Т→С (p.Val762Ala). Показано, что гомозиготное носительство минорного аллеля С (Т>С; MAF = 0,45) ассоциировано с благоприятным ответом на платиносодержащую ХТ и низким риском развития резистентности по сравнению с генотипом ТТ ($p = 0,001$). Кроме того, у пациенток с генотипом СС прослеживалась тенденция к увеличению ОБ ($p = 0,182$). Напротив, для варианта rs8679 гена *PARP1* значимой связи с эффективностью платиносодержащих препаратов обнаружено не было. Потенциально функциональное объяснение выявленных ассоциаций подразумевает влияние аллельных вариантов на ферментативную активность продукта исследуемого гена. Наличие генотипа СС варианта rs1136410 гена *PARP1* приводит к структурному изменению каталитического домена PARP1, что снижает функциональную активность этого фермента. Данное ослабление функции фермента, по-видимому, нарушает эффективность эксцизионной репарации нуклеотидных оснований. В результате в опухолевых клетках происходит избыточное накопление индуцированных препаратами платины аддуктов ДНК, что инициирует апоптоз и, как следствие, повышает чувствительность

к ХТ и улучшает показатели выживаемости у больных эпителиальным РЯ.

Репарация ДНК с помощью гомологичной рекомбинации (HRR) обеспечивает высокоточное восстановление двухцепочечных разрывов, а также играет ключевую роль в элиминации цитотоксических повреждений генома опухолевых клеток, индуцированных цисплатином. Дефект HRR в серозной аденокарциноме яичников, вызванный потерей функциональности генов *BRCA1* и *BRCA2*, является частым событием и определяет чувствительность опухоли к препаратам платины или PARP-ингибиторам [55]. При длительном воздействии цисплатина могут возникать вторичные мутации этих генов, восстанавливающие функцию HRR и ведущие к резистентности. Однако эти соматические события не входят в круг вопросов, обсуждаемых в этой статье. Кроме *BRCA1* и *BRCA2*, в состав HRR входит большое количество генов, кодирующих белки, функциональный полиморфизм которых в результате вовлеченности в альтернативные каскады репарации может влиять на возникновение резистентности к препаратам платины или другим ДНК-повреждающим лекарственным средствам.

В ходе ген-кандидатного исследования Н. Li и соавт. идентифицированы 3 функциональных SNPs: варианты rs4151393 и rs2284704 гена *MNAT1* и вариант rs61748571 гена *HUS1B* [43]. Генотипы ТС и СС структурного варианта rs2284704 (Т>С; MAF = 0,24) гена *MNAT1* были связаны со сниженным риском химиорезистентности к препаратам платины ($p = 0,0005$) по сравнению с генотипом ТТ и с лучшим прогнозом ($p = 0,002$), а генотипы АГ и GG варианта rs61748571 гена *HUS1B*, продукт которого участвует в регуляции клеточного цикла и поддержании геномной целостности, — с повышенным риском развития химиорезистентности ($p = 0,005$). В функциональной части той же работы авторы показали, что защитный минорный аллель С варианта rs2284704 снижает уровень мРНК *MNAT1*, а это запускает апоптоз и ингибирует рост клеток, что может указывать на роль *MNAT1* в процессах онкогенеза [10].

СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, ВОВЛЕЧЕННЫЕ В РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ПРЕПАРАТАМ ПЛАТИНЫ

Как и при многих других типах рака, в развитие РЯ вовлечена aberrантная активация отдельных сигнальных путей, что также может вызывать повышенную устойчивость клетки к ХТ. Зависимые от рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR) сигнальные пути участвуют в дифференцировке и пролиферации клеток, а также ангиогенезе. Многочисленные механизмы их активации являются важным драйвером канцерогенеза при различных типах опухолей.

Структурный вариант rs351855 гена *FGFR4* (G>A; p.Gly388Arg; MAF = 0,30) связан с прогрессированием и неблагоприятным прогнозом при многих опухолях

и повышает генетическую предрасположенность к раку. В ген-кандидатном исследовании F. Marmé проанализировано клиническое значение структурного варианта rs351855 гена *FGFR4* в когорте из 242 больных эпителиальным РЯ II–IV стадий (по классификации Международной федерации акушерства и гинекологии, International Federation of Gynecology and Obstetrics), получавших платиносодержащую терапию [4]. При проведении анализа пациентки были разделены на группы гомозигот по дикому типу (GG, или Gly/Gly) и носительниц минорного аллеля (AG + AA или Arg). Авторы обнаружили статистически значимую корреляцию наличия минорного аллеля А (с.1162G>A; р.Gly388Arg; MAF = 0,30) с увеличением ВБП ($p = 0,016$) и ОВ ($p = 0,004$). Примечательно, что в субпопуляции больных без остаточной опухоли присутствие аллеля А (генотипы AG/AA) ассоциировалось с платиночувствительностью в 70 % случаев против 42 % у гомозигот GG. Полученные данные позволяют рассматривать полиморфный вариант гена *FGFR4* в качестве независимого прогностического маркера ответа на платиносодержащую ХТ.

Данные о клинической значимости системы факторов роста фибробластов (FGF) подтверждаются результатами генетических исследований. Так, в ходе ген-кандидатного исследования Q. H. Meng и соавт. изучили ассоциации SNP в сигнальном пути FGF-FGFR с риском развития РЯ, ответом на терапию препаратами платины и показателями выживаемости у 417 больных РЯ [14]. Было установлено, что вариант rs7727832 гена *FGF1* ассоциирован с высоким риском развития РЯ; на риск возникновения РЯ также влиял структурный вариант rs2288696 того же гена. Кроме того, вариант rs167428 гена *FGF2* статистически значимо коррелировали с более благоприятными показателями ОВ. Четыре структурных варианта (rs3806929 гена *FGF18*, rs9920722 гена *FGF7*, rs12812339 гена *FGF23* и rs3733336 гена *FGF5*) были значимо связаны с положительным ответом на лечение ($p = 0,006$; 0,022; 0,028 и 0,037 соответственно). Молекулярный механизм такой взаимосвязи был детально раскрыт в экспериментальном функциональном исследовании C. Cole и соавт., которые на функциональном уровне показали, что ингибирование рецепторов FGFR1 и FGFR2 существенно повышает чувствительность опухолевых клеток к цисплатину [56]. Данный синергетический эффект обусловлен активацией апоптоза и усилением блокады клеточного цикла в фазе G2/М. Это подтверждает, что сигнальный путь FGF является перспективной мишенью для преодоления лекарственной резистентности при РЯ. Можно предположить, что вышеописанные ассоциированные структурные варианты могут иметь большую активность, реализованную в увеличении экспрессии соответствующих генов.

Известно, что Wnt/ β -катениновый сигнальный путь непосредственно вовлечен в процессы формиро-

вания химиорезистентности при эпителиальном РЯ [57]. В частности, результаты ген-кандидатного исследования H. Li и соавт. продемонстрировали, что генотипы АТ/ТТ структурного варианта rs935072 (A>T; MAF = 0,29) гена *CTNNBIP1* (ингибитора β -катенина) ассоциированы с повышенным уровнем экспрессии мРНК данного ингибитора и, как следствие, с хорошим клиническим ответом на платиносодержащую терапию ($p < 0,05$) [11]. Это позволяет рассматривать данный локус как потенциальный прогностический биомаркер.

Поскольку каскад Wnt/ β -катенин является одним из фундаментальных регуляторов жизнеспособности опухолевых стволовых клеток (ОСК) [58], изучение генетических особенностей этой клеточной популяции представляет собой еще одно перспективное направление в поиске предикторов эффективности комбинированного режима (паклитаксел + карбоплатин). Ключевыми маркерами ОСК при РЯ выступают ферменты — альдегиддегидрогеназы ALDH1 и ALDH2. Несмотря на то что высокий уровень экспрессии белка ALDH1 может коррелировать с лучшим ответом на лечение и показателями ОВ [59], генетическая вариабельность внутри популяции ОСК крайне неоднородна. Так, в ходе ген-кандидатного исследования J. Permuth-Wey и соавт. при анализе 5509 SNPs в генах, ассоциированных с ОСК, наиболее значимая связь с неблагоприятным ответом на платиносодержащую терапию была обнаружена для вариантов rs62075772 гена *STAT3* ($p = 0,0005$) и rs1364455 гена *ALDH1A1* ($p = 0,0031$). Критическая роль пути STAT3 подтверждается и на экспрессионном уровне: у пациенток с высоким содержанием общего белка STAT3 наблюдалась значимо более низкая выживаемость ($p < 0,01$). В то же время SNPs в генах *ESRRB* и *LIN28*, напротив, ассоциировались с благоприятным прогнозом, что дополнительно подчеркивает комплексный характер регуляции выживаемости ОСК [15].

Наряду с маркерами стволовых клеток, критическую роль в определении судьбы опухолевой клетки играют транскрипционные факторы, регулирующие процессы дифференцировки и пролиферации. К их числу относится ген *CEBPA*, подавляющий пролиферацию в фазе G1 и регулирующий АТФ-зависимый комплекс ремоделирования хроматина (SWI/SNF). Установлено, что избыточная экспрессия *CEBPA* защищает раковые клетки от индуцированного платиной апоптоза. В работе В. Копорка и соавт. впервые было показано, что сочетание высокой экспрессии *CEBPA* на уровне мРНК с его аллельным вариантом rs34529039 (с.690G>T; р.Thr230=; MAF = 0,15) ассоциировано с низкой чувствительностью к терапии ($p = 0,024$) и неблагоприятным прогнозом ($p = 0,013$). Примечательно, что аномалии *TP53*, характерные для большинства случаев РЯ, могут дополнительно искажать физиологическую функцию *CEBPA*, усиливая агрессивность опухолевого фенотипа [7].

Генетические предикторы токсичности платиносодержащей терапии. Помимо резистентности, серьезной проблемой применения препаратов платины в терапии РЯ являются тяжелые побочные эффекты. В ген-кандидатном исследовании A.V. Khrunin и соавт., в которое вошли 104 больных РЯ, изучалась взаимосвязь SNPs более чем в 100 генах (*TPMT*, *NQO1*, *ERCC5*, *MUTYH*, *NAT2*, *EPHX1*, *RAD52* и др.) и исходов терапии цисплатином [12]. Установлено, что наиболее значимым предиктором гематологической токсичности является вариант rs3219484 (G>A; p.Val8Met; MAF = 0,047) гена *MUTYH*. При этом носительство гетерозиготы AG обеспечивало протективный эффект, минимизируя риск развития тяжелой нейтропении, в то время как наличие комбинации генотипов GG варианта rs3219484 гена *MUTYH* и CC варианта rs1052536 (C>T; 3'-UTR; MAF = 0,45) гена *LIG3* служило прогностически неблагоприятным фактором и приводило к возникновению нейтропении III–IV степеней тяжести в 95,5 % случаев. Риск развития анемии был ассоциирован с вариантом rs1801280 (T>C; p.Ile114Thr; MAF = 0,43–0,46) гена *NAT2*. Данное осложнение значимо чаще регистрировалось у носительниц гетерозиготного генотипа CT (78,4 % случаев) по сравнению с гомозиготами TT и CC. В свою очередь, манифестация нефротоксичности была сопряжена с гетерозиготным носительством варианта rs1051740 (T>C; p.Tyr113His; MAF = 0,35) гена *EPHX1*, частота встречаемости которого в исследуемой выборке составила 64 %. Наряду с этим авторы выявили маркеры прогноза заболевания. SNPs гена *NQO1* (rs1131341 и rs1800566) и SNP гена *TPMT* (rs1142345) были значимо связаны с различиями в ВБП: у пациенток с гомозиготным генотипом дикого типа по любому из трех SNPs наблюдалась более высокая ВБП по сравнению с гетерозиготами или гомозиготами по вариантному аллелю.

Межэтнические различия как важный источник гетерогенности результатов. Существенные различия в чувствительности к препаратам платины между этническими группами — одна из частых причин расхождения результатов исследований одних и тех же SNPs. Характерным примером служит структурный вариант rs11615 (C>T; MAF = 0,35) гена *ERCC1*. S. Kang и соавт. провели ген-кандидатное исследование и выявили, что генотипы CC и CT варианта rs11615 увеличивают чувствительность к препаратам платины у пациенток азиатского происхождения [18]. Молекулярный механизм этой ассоциации связан с регуляцией эффективности трансляции мРНК: наличие аллеля C обеспечивает высокую скорость трансляции, что в опухолевых клетках азиатских больных РЯ запускает микроРНК-зависимую деградацию и приводит к парадоксальному снижению экспрессии белка ERCC1 и последующему дефициту репарации ДНК. Y. Li и соавт. [60] сообщили об увеличении показателей смертности у больных РЯ после платиносодержащей ХТ при наличии генотипа TT варианта

rs11615, что согласуется с результатами исследования S. Kang и соавт. Однако N. Tang и соавт. [19] и F. Yang и соавт. [61] не обнаружили корреляции между структурным вариантом rs11615 и чувствительностью к препаратам платины при РЯ. Возможно, это противоречие объясняется различиями в чувствительности к ХТ больных РЯ разной этнической принадлежности [18]. Помимо влияния на эффективность лечения, вариант rs11615 ассоциирован с риском развития РЯ преимущественно в азиатских выборках, тогда как в европейских популяциях подобная корреляция отсутствует. Столь выраженная дискордантность данных накладывает методологические ограничения на экстраполяцию результатов: эффекты, выявленные в китайских или корейских когортах, не всегда воспроизводятся в европейских группах. Это имеет прямое значение для интерпретации фармакогенетического профиля российских пациенток и обуславливает необходимость проведения валидирующих исследований в локальных популяциях.

Опубликованные к настоящему времени данные свидетельствуют, что ответ на платиносодержащую ХТ при серозном РЯ зависит от соматических изменений опухоли, режима лечения и генетической конституции пациентки. Среди герминальных SNPs с наиболее воспроизводимой ассоциацией с клиническим ответом на препараты платины следует выделить варианты в генах сигнального пути NER (*ERCC1* — rs11615 и C8092A; *ERCC5* — rs17655; *ERCC2* — rs13181), а также в генах *PARP1* (rs1136410, Val762Ala), *FGFR4* (rs351855, Gly388Arg) и *STAT3* (rs62075772). Эти варианты могут быть основой для валидационных исследований, имеющих большую статистическую мощь и более аккуратное фенотипирование. Также они являются кандидатами на функциональные исследования, раскрывающие причинно-следственную связь реализации генетического полиморфизма.

Вместе с тем мы вынуждены признать несколько серьезных ограничений доступной доказательной базы. Большинство исследований выполнено на смешанных когортах РЯ, поэтому прямой перенос результатов на серозную карциному высокой степени злокачественности требует осторожности. Ответ на платиносодержащую ХТ значительно зависит от этнической принадлежности когорты. Отчетливый пример — вариант rs11615 гена *ERCC1*, воспроизводимый в азиатских когортах и не воспроизводимый в европейских. Кроме того, многие кандидатные ассоциации не прошли независимой репликации. Результаты GWAS, выполненного K.L. White и соавт. ($n > 10\,000$), не подтвердили большинство ранее описанных ассоциаций [50]. Определения терминов «платинорезистентность» и «платиночувствительность» варьируют, что затрудняет метаанализ.

Помимо кандидатного подхода в последние годы применяются полногеномные и полигенные стратегии. Так, анализ данных TCGA выявил ассоциации герминальных генотипов с выживаемостью больных РЯ [5], а S. Gagno и соавт. предложили генетическую

шкалу на основе вариантов сигнального пути TGF- β для оценки прогноза и платиночувствительности при распространенном эпителиальном РЯ [9]. Клеточные модели используются для приоритизации кандидатных вариантов: таким способом был выявлен герминальный полиморфизм, связанный с чувствительностью к препаратам платины, и оценена его ассоциация с исходами лечения у больных РЯ [13]. Полногеномные исследования выживаемости выполнены и для режимов, содержащих бевацизумаб [16]. Отдельного внимания заслуживают гены транспорта и метаболизма лекарственных средств: полиморфные варианты *ABCB1*, *CYP3A4* и *CYP3A5* изучены в связи с ответом на терапию у польских пациенток с РЯ [17].

В отечественной медицинской практике использование фармакогенетических тестов при РЯ пока остается предметом научных исследований, а не рутинной клинической практики. Применение ограниченных ПЦР-панелей не позволяет охватить все многообразие релевантных вариантов. Современной альтернативой является секвенирование нового поколения (NGS), позволяющее одновременно тестировать десятки генов.

Тем не менее для внедрения в практику фармакогенетического тестирования требуется дальнейшая валидация как диагностической значимости определения единичных аллельных вариантов или их композиций, так и их реальной клинической полезности, для чего необходимы проспективные клинические исследования с большим сроком наблюдения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня значимый вклад в изучение генетических предпосылок возникновения резистентности к платиносодержащей ХТ вносят идентификация новых белков и их ансамблей и уточнение уже известных молекулярных механизмов, что является неотъемлемым компонентом разработки новых более эффективных лекарственных препаратов для лечения рака.

Выявление SNPs, модулирующих чувствительность к ХТ на основе препаратов платины, заслуживает особого внимания. Их идентификация может оказать существенную помощь в определении прогноза заболевания, оценке риска развития рецидива и прогнозировании выживаемости.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e s

1. Рак яичников/рак маточной трубы/первичный рак брюшины. Клинические рекомендации Минздрава России. М., 2024. Ovarian cancer/fallopian tube cancer/primary peritoneal cancer. Clinical guidelines, Ministry of Health of Russia. Moscow, 2024. (In Russ.).
2. Steffensen K.D., Waldström M., Jeppesen U. et al. Prediction of response to chemotherapy by ERCC1 immunohistochemistry and ERCC1 polymorphism in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2008;18(4):702–10. DOI: 10.1111/j.1525-1438.2007.01068.x
3. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 262 с. The state of oncological care for the Russian population in 2023. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2024. 262 p. (In Russ.).
4. Marmé F., Hielscher T., Hug S. et al. Fibroblast growth factor receptor 4 gene (FGFR4) 388Arg allele predicts prolonged survival and platinum sensitivity in advanced ovarian cancer. *Int J Cancer* 2012;131(4):E586–91. DOI: 10.1002/ijc.27329
5. Braun R., Finney R., Yan C. et al. Discovery analysis of TCGA data reveals association between germline genotype and survival in ovarian cancer patients. *PLoS One* 2013;8(3):e55037. DOI: 10.1371/journal.pone.0055037
6. Mitamura T., Zhai T., Hatanaka K.C. et al. Germline PRDM1 variant rs2185379 in long-term recurrence-free survivors of advanced ovarian cancer. *Pharmacogenomics Pers Med* 2022;15:977–84. DOI: 10.2147/PGPM.S387120
7. Konopka B., Szafron L.M., Kwiatkowska E. et al. The significance of c.690G>T polymorphism (rs34529039) and expression of the CEBPA gene in ovarian cancer outcome. *Oncotarget* 2016;7(41):67412–24. DOI: 10.18632/oncotarget.11822
8. Moxley K.M., Benbrook D.M., Queimado L. et al. The role of single nucleotide polymorphisms of the ERCC1 and MMS19 genes in predicting platinum-sensitivity, progression-free and overall survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2013;130(2):377–82. DOI: 10.1016/j.ygyno.2013.04.054
9. Gagno S., Poletto E., Bartoletti M. et al. A TGF- β associated genetic score to define prognosis and platinum sensitivity in advanced epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2020;156(1):233–42. DOI: 10.1016/j.ygyno.2019.10.019
10. Li H., Dai H., Shi T. Potentially functional variants in nucleotide excision repair pathway genes predict platinum treatment response of Chinese ovarian cancer patients. *Carcinogenesis* 2020;41(9):1229–37. DOI: 10.1093/carcin/bgaa075
11. Li H., Chen L., Tong X. Functional genetic variants of CTNBNBIP1 predict platinum treatment response of Chinese epithelial ovarian cancer patients. *J Cancer* 2020;11(23):6850–60. DOI: 10.7150/jca.48218
12. Khrunin A.V., Khokhrin D.V., Moiseev A.A. et al. Pharmacogenomic assessment of cisplatin-based chemotherapy outcomes in ovarian cancer. *Pharmacogenomics* 2014;15(3):329–37. DOI: 10.2217/pgs.13.237
13. Huang R.S., Johnatty S.E., Gamazon E.R. et al. Platinum sensitivity-related germline polymorphism discovered via a cell-based approach and analysis of its association with outcome in ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 2011;17(16):5490–500. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0724
14. Meng Q.H., Xu E., Hildebrandt M.A.T. et al. Genetic variants in the fibroblast growth factor pathway as potential markers of ovarian cancer risk, therapeutic response, and clinical outcome. *Clin Chem* 2014;60(1):222–32. DOI: 10.1373/clinchem.2013.211490
15. Permuth-Wey J., Fulp W.J., Reid B.M. et al. STAT3 polymorphisms may predict an unfavorable response to first-line platinum-based therapy for women with advanced serous epithelial ovarian cancer. *Int J Cancer* 2016;138(3):612–9. DOI: 10.1002/ijc.29799

16. Quintanilha J.C.F., Wang J., Sibley A.B. et al. Genome-wide association studies of survival in 1520 cancer patients treated with bevacizumab-containing regimens. *Int J Cancer* 2022;150(2):279–89. DOI: 10.1002/ijc.33810
17. Fiszer-Maliszewska L., Laczmański L., Dolińska A. et al. Polymorphisms of ABCB1, CYP3A4 and CYP3A5 genes in ovarian cancer and treatment response in poles. *Anticancer Res* 2018;38(3):1455–9. DOI: 10.21873/anticancer.12370
18. Kang S., Ju W., Kim J.W. et al. Association between excision repair cross-complementation group 1 polymorphism and clinical outcome of platinum-based chemotherapy in patients with epithelial ovarian cancer. *Exp Mol Med* 2006;38(3):320–4. DOI: 10.1038/emmm.2006.38
19. Tang N., Lyu D., Zhang Y., Liu H. Association between the ERCC1 polymorphism and platinum-based chemotherapy effectiveness in ovarian cancer: a meta-analysis. *BMC Womens Health* 2017;17(1):43. DOI: 10.1186/s12905-017-0393-z
20. Xu M., Liu Y., Li D. et al. Chinese C allele carriers of the ERCC5 rs17655 polymorphism are more sensitive to platinum-based chemotherapy: a meta-analysis. *Oncotarget* 2017;9(1):1248–56. DOI: 10.18632/oncotarget.18981
21. Zhao J., Wu J., Zuo W. et al. A functional polymorphism in the poly(ADP-ribose) polymerase-1 gene is associated with platinum-based chemotherapeutic response and prognosis in epithelial ovarian cancer patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2020;255:183–9. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2020.10.021
22. McGuire W.P., Hoskins W.J., Brady M.F. et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *N Engl J Med* 1996;334(1):1–6. DOI: 10.1056/NEJM199601043340101
23. Burger H., Loos W.J., Eechoute K. et al. Drug transporters of platinum-based anticancer agents and their clinical significance. *Drug Resist Updat* 2011;14(1):22–34. DOI: 10.1016/j.drug.2010.12.002
24. Howell S.B., Safaei R., Larson C.A., Sailor M.J. Copper transporters and the cellular pharmacology of the platinum-containing cancer drugs. *Mol Pharmacol* 2010;77(6):887–94. DOI: 10.1124/mol.109.063172
25. Beretta G.L., Gatti L., Tinelli S. et al. Cellular pharmacology of cisplatin in relation to the expression of human copper transporter CTR1 in different pairs of cisplatin-sensitive and -resistant cells. *Biochem Pharmacol* 2004;68(2):283–91. DOI: 10.1016/j.bcp.2004.03.022
26. Ishida S., Lee J., Thiele D.J., Herskowitz I. Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(22):14298–302. DOI: 10.1073/pnas.162491399
27. Xie K., Doles J., Hemann M.T., Walker G.C. Error-prone translesion synthesis mediates acquired chemoresistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(48):20792–97. DOI: 10.1073/pnas.1011412107
28. Lin J., Li A., Liu L. et al. Platinum-resistant ovarian cancer in China: practice and challenges. *Chin Med J (Engl)* 2026;139(1):4–6. DOI: 10.1097/CM9.0000000000003763
29. Markman M., Rothman R., Hakes T. et al. Second-line platinum therapy in patients with ovarian cancer previously treated with cisplatin. *J Clin Oncol* 1991;9(3):389–93. DOI: 10.1200/JCO.1991.9.3.389
30. Pujade-Lauraine E., Banerjee S., Pignata S. Management of platinum-resistant, relapsed epithelial ovarian cancer and new drug perspectives. *J Clin Oncol* 2023;41(19):3503–14. DOI: 10.1200/JCO.22.02833
31. Friedlander M., Trimble E., Tinker A. et al. Clinical trials in recurrent ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2011;21(4):771–5. DOI: 10.1097/IGC.0b013e31821bb8be
32. Vergote I., Gonzalez-Martin A., Lorusso D. et al. Clinical research in ovarian cancer: consensus recommendations from the Gynecologic Cancer InterGroup. *Lancet Oncol* 2022;23(8):e374–84. DOI: 10.1016/S1470-2045(22)00139-5
33. Trillsch F., Mahner S., Czogalla B. et al. Primary platinum resistance and its prognostic impact in patients with recurrent ovarian cancer: an analysis of three prospective trials from the NOGGO study group. *J Gynecol Oncol* 2021;32(3):e37. DOI: 10.3802/jgo.2021.32.e37
34. Davis A., Tinker A.V., Friedlander M. “Platinum resistant” ovarian cancer: What is it, who to treat and how to measure benefit? *Gynecol Oncol* 2014;133(3):624–31. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.02.038
35. Miras I., Estévez-García P., Muñoz-Galván S. Clinical and molecular features of platinum resistance in ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2024;201:104434. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2024.104434
36. Blair B.G., Larson C.A., Adams P.L. et al. Copper transporter 2 regulates endocytosis and controls tumor growth and sensitivity to cisplatin *in vivo*. *Mol Pharmacol* 2011;79(1):157–66. DOI: 10.1124/mol.110.068411
37. Lee Y.Y., Choi C.H., Do I.G. et al. Prognostic value of the copper transporters, CTR1 and CTR2, in patients with ovarian carcinoma receiving platinum-based chemotherapy. *Gynecol Oncol* 2011;122(2):361–5. DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.04.025
38. Nakayama K., Kanzaki A., Ogawa K. et al. Copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) as a cisplatin based chemoresistance marker in ovarian carcinoma: comparative analysis with expression of MDR1, MRP1, MRP2, LRP and BCRP. *Int J Cancer* 2002;101(5):488–95. DOI: 10.1002/ijc.10608
39. Абакумова Т.В., Генинг С.О., Федотова А.Ю. и др. Система глутатиона у больных раком яичников на фоне химиотерапии по схеме AP. Ульяновский медико-биологический журнал 2018;(3):44–52. DOI: 10.23648/UMBJ.2018.31.17181
40. Abakumova T.V., Gening S.O., Fedotova A.Yu. et al. Glutathione system in patients with ovarian cancer during chemotherapy according to the AR regimen. *Ulianovskiy mediko-biologicheskii zhurnal = Ulyanovsk Medical and Biological Journal* 2018;(3):44–52. (In Russ.). DOI: 10.23648/UMBJ.2018.31.17181
41. Alsheikh B., Attar R., Güleç Yılmaz S. et al. The role of GPX1 (rs1050450) variants in ovarian cancer susceptibility within a turkish population. *Cancer Control* 2025;32:10732748251332441. DOI: 10.1177/10732748251332441
42. Kuo M.T., Chen H.H., Song I.S. et al. The roles of copper transporters in cisplatin resistance. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26(1):71–83. DOI: 10.1007/s10555-007-9045-3
43. Kiss R.C., Xia F., Acklin S. Targeting DNA damage response and repair to enhance therapeutic index in cisplatin-based cancer treatment. *Int J Mol Sci* 2021;22(15):8199. DOI: 10.3390/ijms22158199
44. Kothandapani A., Dangeti V.S., Brown A.R. et al. Novel role of base excision repair in mediating cisplatin cytotoxicity. *J Biol Chem* 2011;286(16):14564–74. DOI: 10.1074/jbc.M111.225375
45. Smolarz B., Makowska M., Samulak D. et al. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of ERCC2, hOGG1, and XRCC1 DNA repair genes and the risk of triple-negative breast cancer in Polish women. *Tumour Biol* 2014;35(4):3495–502. DOI: 10.1007/s13277-013-1461-0
46. Saldivar J.S., Lu K.H., Liang D. et al. Moving toward individualized therapy based on NER polymorphisms that predict platinum sensitivity in ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol* 2007;107(Suppl 1):S223–9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.07.024
47. Zavarykina T., Kapralova M., Lomskova P. et al. The association of rs25487 of the XRCC1 gene and rs13181 of the ERCC2 gene polymorphisms with the ovarian cancer risk. *Biomol Biomed* 2025;25(5):1197–204. DOI: 10.17305/bb.2024.11314

48. Steffensen K.D., Waldström M., Jakobsen A. DNA-repair ERCC1 gene polymorphisms in epithelial ovarian cancer and relation to platinum resistance and survival. *J Cancer Ther* 2011;2(2):140–7. DOI: 10.4236/jct.2011.22016
49. Bösmüller H., Haitchi-Petnehazy S., Webersinke G. et al. Intratumoral lymphocyte density in serous ovarian carcinoma is superior to ERCC1 expression for predicting response to platinum-based therapy. *Virchows Arch* 2011;459(2):183–91. DOI: 10.1007/s00428-011-1110-1
50. White K.L., Vierkant R.A., Fogarty Z.C. et al. Analysis of over 10,000 cases finds no association between previously reported candidate polymorphisms and ovarian cancer outcome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(5):987–92. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0028
51. Zhang Y., Cao S., Zhuang C. et al. ERCC1 rs11615 polymorphism and chemosensitivity to platinum drugs in patients with ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Ovarian Res* 2021;14(1):80. DOI: 10.1186/s13048-021-00831-y
52. Kirschner K., Melton D.W. Multiple roles of the ERCC1-XPF endonuclease in DNA repair and resistance to anticancer drugs. *Anticancer Res* 2010;30(9):3223–32.
53. Валова Я.В., Мингаева Э.Т., Прокофьева Д.С. и др. Роль полиморфных вариантов гена эксцизионной репарации ERCC2 в патогенезе рака яичников у женщин разного этнического происхождения. *Гены и клетки* 2022;17(2):56–9
- Valova Ya.V., Mingazheva E.T., Prokofyeva D.S. et al. The role of polymorphic variants of the ERCC2 excision repair gene in the pathogenesis of ovarian cancer in women of different ethnic origins. *Geny i kletki = Genes & Cells* 2022;17(2):55–9. (In Russ.).
54. Noshio K., Yamamoto H., Mikami M. et al. Overexpression of poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) in the early stage of colorectal carcinogenesis. *Eur J Cancer* 2006;42(14):2374–81. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.01.061
55. Armstrong D.K., Alvarez R.D., Bakkum-Gamez J.N. et al. Ovarian cancer, version 2.2020, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2021;19(2):191–226. DOI: 10.6004/jnccn.2021.0007
56. Cole C., Lau S., Backen A. et al. Inhibition of FGFR2 and FGFR1 increases cisplatin sensitivity in ovarian cancer. *Cancer Biol Ther* 2010;10(5):495–504. DOI: 10.4161/cbt.10.5.12585
57. Arend R.C., Londono-Joshi A.I., Straughn J.M. Jr, Buchsbaum D.J. The Wnt/beta-catenin pathway in ovarian cancer: a review. *Gynecol Oncol* 2013;131(3):772–9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2013.09.034
58. Ковалев О.И. Стволовые свойства опухолевых клеток асцитической жидкости у больных раком яичника: ключ к управлению распространением процесса. *Бюллетень сибирской медицины* 2023;22(2):122–33.
- Kovalev O.I. Stem cell properties of cancer cells in ascitic fluid of patients with ovarian cancer: a key to control over cancer progression. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine* 2023;22(2):122–33. (In Russ.).
59. Chang B., Liu G., Xue F. et al. ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancers. *Mod Pathol* 2009;22(6):817–23. DOI: 10.1038/modpathol.2009.39
60. Li Y., Yang S.Y., Kang S. et al. Association between polymorphisms of ERCC1 and survival in epithelial ovarian cancer patients with chemotherapy. *Pharmacogenomics* 2012;13(4):419–27. DOI: 10.2217/pgs.11.181
61. Yang F., Mu X., Bian C. et al. Association of excision repair cross-complimentary group 1 gene polymorphisms with breast and ovarian cancer susceptibility. *J Cell Biochem* 2019;120(9):15635–47. DOI: 10.1002/jcb.28830

Вклад авторов

К.В. Субботина: анализ данных литературы, написание текста статьи;
 А.В. Тархов: работа с базами данных, обзор литературы по теме статьи, подготовка иллюстративного материала;
 У.А. Боярских: поиск и подбор источников литературы, редактирование;
 Н.Е. Кушлинский: работа с источниками литературы, редактирование;
 М.Л. Филипенко: написание текста статьи, обработка данных.

Authors' contributions

K.V. Subbotina: analysis of literature data, article writing;
 A.V. Tarkhov: working with databases, reviewing literature on the article's topic, preparing illustrative material;
 U.A. Boyarskikh: searching for and selecting literature sources, editing;
 N.E. Kushlinskii: working with literature sources, editing;
 M.L. Filipenko: writing the article text, data processing.

ORCID авторов / ORCID of authors

К.В. Субботина / K.V. Subbotina: <https://orcid.org/0000-0002-0515-5699>
 А.В. Тархов / A.V. Tarkhov: <https://orcid.org/0000-0001-7805-1914>
 У.А. Боярских / U.A. Boyarskikh: <https://orcid.org/0000-0002-5660-2276>
 Н.Е. Кушлинский / N.E. Kushlinskii: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>
 М.Л. Филипенко / M.L. Filipenko: <https://orcid.org/0000-0002-8950-5368>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук» (№ 125012300674-9).

Funding. The work was performed within the framework of the state assignment of the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (No. 125012300674-9).

Статья поступила: 12.06.2026. **Принята к публикации:** 07.08.2026. **Опубликована онлайн:** 18.09.2026.

Article submitted: 12.06.2026. **Accepted for publication:** 07.08.2026. **Published online:** 18.09.2026.