

ISSN 1726-9784 (Print)
ISSN 1726-9792 (Online)



Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal



**Russian Journal
of Biotherapy**

1

ТОМ 21
2022

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Журнал зарегистрирован в CrossRef, статьи индексируются с помощью цифрового идентификатора DOI.

Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal

теоретический и научно-практический рецензируемый журнал

Основная задача издания – публикация информации о современных достижениях в области изучения патогенеза, диагностики и терапии иммуноопосредованных и онкологических заболеваний, результатов научных исследований, национальных и международных доклинических и клинических исследований.

Цели журнала – информирование читателя о результатах изучения новых биомаркеров онкологических и иммуноопосредованных заболеваний, использования биомаркеров в диагностике и терапии злокачественных новообразований и патологий иммунной системы, исследований в области лекарственной и клеточной терапии, а также по вопросам технологии создания лекарств, биомедицинских клеточных продуктов и биоматериалов, проведения доклинических и клинических исследований новых препаратов и методов лечения; обобщение научных и практических достижений в области диагностики и терапии иммунологических и онкологических заболеваний.

ОСНОВАН В 2002 г. профессором А.Ю. Барышниковым

1
ТОМ 21
'22

Учредитель:
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России

Адрес учредителя и редакции:
115478, Москва, Каширское
шоссе, 24, стр. 2.

Тел.: +7 (499) 324-10-65
факс +7 (499) 324-22-74

E-mail: biotherapy_rbj@mail.ru
rjournal@ronc.ru

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

Редактор Е.М. Печерская
Корректоры: Т.Н. Помилуйко,
Е.С. Самойлова

Дизайн Е.В. Степанова
Верстка О.В. Гончарук

*Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых
коммуникаций. Регистрационный
номер: № 77-11695 от 21.01.2002 г.,
ПИ № ФС77-53039 от 04.03.2013 г.*

**При полной или частичной
перепечатке материалов
ссылка на журнал «Российский
биотерапевтический журнал»
обязательна.**

ISSN 1726-9784 (Print)
ISSN 1726-9792 (Online)
Российский биотерапевтический журнал.
2022. Том 21. № 1. 1–76.
Сдано в печать: 24.03.2022.
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2022

Подписной индекс в каталоге агентства
«Роспечать» – 81679.
Отпечатано в типографии «Мэйл Текнолоджи».
105082, Москва, Переведеновский пер., 13, стр. 16.
Тираж 1000 экз. Бесплатно.
<http://bioterapevt.elpub.ru>

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Киселевский Михаил Валентинович, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточного иммунитета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Караулов Александр Викторович, академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Шпрах Зоя Сергеевна, к.фарм.н., заведующая лабораторией химико-фармацевтического анализа ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, доцент кафедры фармацевтической технологии и фармакологии ИПО ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Соколова Зинаида Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Балдуева Ирина Александровна, д.м.н., доцент, заведующая научным отделом онкоиммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Бунятян Наталья Дмитриевна, д.фарм.н., профессор, главный научный сотрудник Центра клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, заведующая кафедрой фармацевтической технологии и фармакологии ИПО ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Голенков Анатолий Константинович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, профессор кафедры терапии, врач-гематолог отделения клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (Москва, Россия)

Евсегнеева Ирина Валентиновна, д.м.н., профессор, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Краснов Виктор Павлович, д.х.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией асимметрического синтеза Института органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН (Екатеринбург, Россия)

Меерович Игорь Геннадьевич, к.б.н., научный сотрудник департамента фармации Eurofins Lancaster Laboratories, Inc. (Каламазу, США)

Мисюрин Андрей Витальевич, д.б.н., генеральный директор ООО «Генотехнология» (Москва, Россия)

Набиев Игорь Руфаилович, д.х.н., профессор, профессор лаборатории по исследованиям в области нанонаук Реймского университета (Реймс, Франция), ведущий ученый лаборатории нано-биоинженерии Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ» (Москва, Россия)

Новиков Виктор Владимирович, д.б.н., профессор, профессор кафедры молекулярной биологии и иммунологии Института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, заведующий лабораторией иммунохимии ФБУН «Нижегородский Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» (Нижний Новгород, Россия)

Оборотова Наталия Александровна, д.фарм.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Панкратов Андрей Александрович, к.б.н., руководитель отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московского научного исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Петров Александр Юрьевич, д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармации и химии Уральского государственного медицинского университета (Екатеринбург, Россия)

Рапопорт Наталья Яковлевна, д.х.н., профессор, почетный профессор департамента биомедицинской инженерии Университета Юты (Солт-Лейк-Сити, США)

Соколова Татьяна Михайловна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва, Россия)

Степанова Евгения Владиславовна, д.м.н., советник вице-президента РАН (Москва, Россия)

Титов Константин Сергеевич, д.м.н., профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», президент АНО «Национальный Альянс специалистов по опухолям наружных локализаций» (Москва, Россия)

Уласов Илья Валентинович, д.б.н., ведущий научный сотрудник, лидер группы экспериментальной биотерапии и диагностики Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Эстрин Юрий Захарович, д.ест.н., почетный доктор РАН, действительный член Австралийской академии наук, иностранный член РАН, профессор департамента материаловедения и инжиниринга Университета им. Монаша (Клэйтон, Австралия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Барышникова Мария Анатольевна, к.фарм.н., заведующая лабораторией экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Бочарова Ольга Алексеевна, д.б.н., профессор, заведующая лабораторией иммунофармакологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Демидов Лев Вадимович, д.м.н., профессор, заведующий хирургическим отделением № 10 биотерапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Иванов Павел Константинович, д.м.н., заведующий лабораторией медицинской биотехнологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кадагидзе Заира Григорьевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник централизованного клинико-лабораторного отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Косоруков Вячеслав Станиславович, к.б.н., директор НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

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

Тупицын Николай Николаевич, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией иммунологии гемопоза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Шубина Ирина Жановна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

The "Russian Journal of Biotherapy" is put on the Higher Attestation Commission list of periodicals (the list of leading peer-reviewed scientific journals recommended to publish the basic research results of doctor's and candidate's theses). Journal has been registered with CrossRef; its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

Russian Journal of Biotherapy

Peer-reviewed theoretical and SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

The main objective of Russian Journal of Biotherapy is a publication of current achievements in the study of pathogenesis, diagnostics, and therapy of immune-mediated and oncological diseases, results of the research studies, and results of national and international pre-clinical and clinical studies.

The publication aim is to present the results of the studies of new biomarkers of oncological and immune diseases, the use of biomarkers in diagnostics and therapy of tumors and disorders of the immune system, studies in the field of drug and cell therapy, studies of drug development technologies, biomedical cell products and biomaterials, pre-clinical and clinical studies of new medicines and methods of treatment. The main focus of the journal is to summarize scientific and practical achievements in the field of immunological and oncological diseases therapy.

FOUNDED IN 2002 by Professor A.Yu. Baryshnikov

1
VOL. 21
'22

Founder:

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation

Founder and editorial office:

Bld. 2, 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478.

Tel.: +7 (499) 324-10-65
Fax: +7 (499) 324-22-74

e-mail: biotherapy_rbj@mail.ru
rjournal@ronc.ru

Publishing office:

Research Institute of Carcinogenesis, Floor 3, Bld. 15, 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478.

Tel./Fax: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Editor E.M. Pecherskaya
Proofreaders T.N. Pomiluyko,
E.S. Samoylova

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

The journal is registered at the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media
Registration number: ПИИ № 77-11695 dated 21.01.2002;
ПИИ № ФС77-53039 dated 04.03.2013

If materials are reprinted in whole or in part, reference must necessarily be made to the "Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal".

ISSN 1726-9784 (Print)
ISSN 1726-9792 (Online)
Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal. 2022. Volume 21.
No 1. 1–76. Submitted: 24.03.2022.
© PH "ABV-Press", 2022
Rospechat' catalogue index: 81679.
Printed at the Mail Technology Ltd
Bld. 16, 13 Perevedenovsky lane, Moscow 105082.
1,000 copies. Free distribution
<http://bioterapevt.elpub.ru>

EDITOR-IN-CHIEF

Mikhail V. Kiselevskiy, PhD, DSc, Professor, Head of Laboratory of Cell Immunity, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

DEPUTIES EDITOR-IN-CHIEF

Alexander V. Karaulov, Academician of the Russian Academy of Sciences, PhD, DSc, Professor, Head of Chair of Clinical Immunology and Allergology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

Zoya S. Shprakh, PhD, Head of Laboratory of Chemical-Pharmaceutical Analysis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Associate Professor of Chair of Pharmaceutical Technology and Pharmacology of the Institute of Professional Education, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Zinaida A. Sokolova, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Experimental Diagnostic and Biotherapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Irina A. Baldueva, PhD, DSc, Associate Professor, Head of Research Department of Oncoimmunology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia)

Natalia D. Bunyatyan, PhD, DSc, Professor, Major Researcher of Center of Clinical Pharmacology, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of Russia, Head of Chair of Pharmaceutical Technology and Pharmacology of the Institute of Professional Education, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

Anatoly K. Golenkov, MD, PhD, DSc, Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Professor of Chair of Therapy, Doctor Hematologist of Department of Clinical Hematology and Immunotherapy, M.F. Vladimirsky Moscow Region Scientific Research Clinical Institute (MONIKI) (Moscow, Russia)

Irina V. Evsegneeveva, MD, PhD, DSc, Professor, Professor of Chair of Clinical Immunology and Allergology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

Viktor P. Krasnov, PhD, DSc, Professor, Major Researcher, Head of Laboratory of Asymmetrical Synthesis, I. Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of Russian Academy of Sciences (Ekaterinburg, Russia)

Igor G. Meerovich, PhD, Scientist II of Pharma Department, Eurofins Lancaster Laboratories, Inc. (Kalamazoo, USA)

Andrey V. Misyurin, PhD, DSc, General Director of LLC «GeneTechnology» (Moscow, Russia)

Igor R. Nabiev, PhD, DSc, Professor, Professor of Laboratory of Studies in the Field of Nanoscience, University of Reims (Reims, France), Leading Scientist of Laboratory Nano-Bioengineering, National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute) (Moscow, Russia)

Viktor V. Novikov, PhD, DSc, Professor, Professor of Chair of Molecular Biology and Immunology of the Institute of Biology and Biomedicine, N.I. Lobachevsky Nizhegorodsky State University, Head of Laboratory of Immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology (Nizhniy Novgorod, Russia)

Natalia A. Oborotova, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher of Laboratory of Development of Drug Forms, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Andrey A. Pankratov, PhD, Chief of Department of Modifiers and Protectors of Anti-tumor Therapy, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Alexander Yu. Petrov, PhD, DSc, Professor, Head of Chair of Pharmacy, Ural's State Medical University (Ekaterinburg, Russia)

Natalya Ya. Rapoport, Ph. D., DSc., Research Professor Emerita, Department of Biomedical Engineering, University of Utah (Salt Lake City, USA)

Tatiana M. Sokolova, PhD, DSc, Leading Researcher of Laboratory of Cell Engineering, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Eugenia V. Stepanova, PhD, DSc, Advisor to the Vice-President of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

Konstantin S. Titov, MD, PhD, DSc, Professor of Department of Oncology and Radiology of the Institute of Medicine, RUDN University, President of the National Alliance of Specialists in Tumors of External Localization (Moscow, Russia)

Ilya V. Ulasov, PhD, DSc, Leading Researcher, Leader of the Experimental Biotherapy and Diagnostics Group of the Institute of Regenerative Medicine, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

Yuri Z. Estrin, PhD, DSc, Honorary Doctor of the Russian Academy of Sciences, Fellow of the Australian Academy of Science, Foreign member of the Russian Academy of Sciences, Professor of Department of Materials Science and Engineering, Monash University (Clayton, Australia)

EDITORIAL COUNCIL

Maria A. Baryshnikova, PhD, Head of Laboratory of Experimental Diagnostic and Biotherapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Olga A. Bocharova, PhD, DSc, Professor, Head of Laboratory of Immunopharmacology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Lev V. Demidov, MD, PhD, DSc, Professor, Head of Surgical Department No 10 of Biotherapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Pavel K. Ivanov, PhD, DSc, Head of Laboratory of Medical Biotechnology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Zaira G. Kadagidze, MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher of Centralized Clinical-Laboratory Department, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Vyacheslav S. Kosorukov, PhD, Director of Research Institute of Experimental Diagnostics and Therapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

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

Nikolay N. Tupitsyn, PhD, DSc, Professor, Head of Laboratory of Immunology of Hematopoiesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Irina Zh. Shubina, PhD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Cell Immunity, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Е.А. Панкратова, Э.С. Шпрах

Рецепторы к соматостатину: локализация и методы визуализации (обзор литературы) 10

А.М. Дейчман

Природные гипотетические олигонуклеотидные модификаторы, регуляторы активности и теоретические минимальные РНК-кольца, упорядочивающие процессы экспрессии и модификации генов/генома 21

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

В.Н. Блиндарь, Г.Н. Зубрихина, Т.В. Давыдова, М.М. Добровольская, М.Н. Хагажеева, А.В. Снеговой, Д.А. Рябчиков, Н.В. Любимова, Н.Е. Кушлинский, И.Б. Кононенко

Особенности метаболизма железа у больных раком молочной железы до адьювантной химиотерапии 33

Е.Э. Толстых, Н.Н. Тупицын

Ключевые маркеры диагностики минимальной остаточной болезни при множественной миеломе 42

Ф.К. Бердова, И.К. Воротников, Н.Н. Тупицын

Субпопуляции В-лимфоцитов костного мозга больных раком молочной железы в прогнозе заболевания 50

И.А. Пасова, Л.Ю. Гривцова, Т.Ю. Мушкарина, Ю.В. Гельм, С.А. Иванов

Возможности применения иммуностимулирующих препаратов тимического происхождения у онкологических больных. 57

И.С. Стилиди, Л.В. Косова, И.А. Дорошев, В.М. Кулушев, Д.А. Рябчиков, С.А. Артемьев, С.Н. Ильин, А.М. Казаков, Ю.А. Колбасюк

Использование бережливых технологий для оптимизации операционного блока в крупном федеральном центре – ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России 64

Е.Л. Протопович, Д.А. Церковский

Противоопухолевая эффективность сонодинамической терапии с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте 68

REVIEWS

Elizaveta A. Pankratova, Zoya S. Shprakh

Somatostatin receptors: localization and imaging methods (review). 10

Alexander M. Deichman

Natural hypothetic oligonucleotide modifiers, activity regulators and theoretical minimal RNA rings ordering processes of expression and modification of genes/genome 21

ORIGINAL REPORTS

Valentina N. Blindar, Galina N. Zubrikhina, Tatiana V. Davydova, Marina M. Dobrovolskaya, Madina N. Khagazheeva, Anton V. Snegovoy, Denis A. Ryabchikov, Nina V. Lyubimova, Nikolay E. Kushlinsky, Inessa B. Kononenko

Peculiarities of iron metabolism in patients with breast cancer before adjuvant chemotherapy. 33

Elena E. Tolstykh, Nikolay N. Tupitsyn

Key markers for diagnosis of minimal residual disease in multiple myeloma 42

Farangiz K. Berdova, Igor K. Vorotnikov, Nikolay N. Tupitsyn

Bone marrow B-lymphocyte subpopulations of breast cancer patients in the prognosis of the disease. 50

Irina A. Pasova, Ludmila Yu. Grivtsova, Tatiana Yu. Mushkarina, Yulia V. Gelm, Sergey A. Ivanov

Possibilities of immunotropic drugs of thymic origin in cancer patients 57

Ivan S. Stilidi, Lilia V. Kosova, Igor A. Doroshev, Vadim M. Kulushev, Denis A. Ryabchikov, Sergey A. Artemiev, Sergey N. Ilyin, Alexey M. Kazakov, Yuriy A. Kolbasuk

The use of lean technologies to optimize operating unit of a major Federal center – N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia. 64

Egor L. Protopovich, Dmitry A. Tzerkovsky

Antitumor efficiency of sonodynamic therapy in combination with chlorine-based photosensitizer in experiments 68

Рецепторы к соматостатину: локализация и методы визуализации (обзор литературы)

Е.А. Панкратова¹, З.С. Шпрах^{1,2}

¹ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Елизавета Антоновна Панкратова paneliant@mail.ru

Нейроэндокринные опухоли (НЭО) – редко встречающаяся патология, характеризующаяся нарушениями работы гипофиза и желез внутренней секреции. Прогноз выживаемости пациентов с НЭО зависит от стадии заболевания, на которой был обнаружен злокачественный рост.

Цель работы – обобщить информацию о методах ранней диагностики НЭО и их терапии с использованием аналогов пептидного гипоталамического гормона соматостатина.

Проведен хронологический анализ исследований экспрессии рецепторов к соматостатину (SSTRs) в разных тканях и органах, методов их визуализации и количественного определения за последние 50 лет.

По данным исследований, на мембранах клеток НЭО выявлена экспрессия SSTRs. История изучения SSTRs берет свое начало в 1972 г., когда впервые был выделен соматостатин и установлена его структура. Позднее обнаружена терапевтическая активность пептида при лечении НЭО, реализуемая через SSTRs, и синтезирован ряд аналогов соматостатина. Известно 5 основных типов SSTRs, включающих в себя подтипы, которые экспрессируются в характерных объемах при соответствующих патологиях. Выявление экспрессии SSTRs обеспечивает диагностику и определение стадий развития злокачественного новообразования. В настоящее время регуляцию роста опухоли проводят синтетическими аналогами соматостатина. Визуализация SSTRs – важный этап планирования терапии НЭО препаратами этой фармакологической группы. Проводятся клинические исследования терапии опухолей разных органов и тканей, визуализация *in vitro* и *in vivo*, изучаются и сравниваются методы обнаружения SSTRs.

В статье представлен ретроспективный анализ методов, используемых для визуализации SSTRs, диагностики и терапии НЭО. Показано, что метод позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, с использованием SSTRs-связывающих радиолигандов является наиболее безопасным и точным для визуализации SSTRs и диагностики НЭО.

Ключевые слова: соматостатин, нейроэндокринные опухоли, соматостатиновые рецепторы, скintiграфия

Для цитирования: Панкратова Е.А., Шпрах З.С. Рецепторы к соматостатину: локализация и методы визуализации (обзор литературы). Российский биотерапевтический журнал 2022;21(1):10–20. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-10-20.

Somatostatin receptors: localization and imaging methods (review)

Elizaveta A. Pankratova¹, Zoya S. Shprakh^{1,2}

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Bld. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991 Russia;

²N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Contacts: Elizaveta Antonovna Pankratova paneliant@mail.ru

Neuroendocrine tumors (NET) is a rare pathology characterized by dysfunction of the pituitary gland and endocrine glands. The survival prognosis depends on the stage of the disease at which the malignant growth was detected.

The study objective was to summarize information on the methods of early diagnosis of NETs and antitumor therapy using peptide hypothalamic hormone somatostatin analogues.

The review provides a chronological analysis of studies of the expression of somatostatin receptors (SSTRs) in different tissues and organs, methods of their visualization and quantitative determination over 50 years.

The expression of SSTRs was revealed on NET cell membranes. The history of SSTRs study dates back to 1972, when somatostatin was first isolated and its structure established. Later, the peptide therapeutic activity in the treatment of NET, realized through somatostatin receptors, was discovered, and a number of somatostatin analogues were synthesized. Five main types of SSTRs are known, including subtypes which are expressed in characteristic volumes in the corresponding pathologies. Determining the expression of SSTRs provides diagnosis and staging of malignant neoplasms. Now the regulation of tumor growth is carried out by synthetic somatostatin analogues. SSTRs imaging is an important stage in planning NET therapy with drugs of this pharmacological group. Clinical studies of the therapy of tumors of various organs and tissues, *in vitro* and *in vivo* imaging are being carried out, methods for detecting SSTRs are being studied and compared.

A retrospective analysis of the methods used to visualize SSTRs and diagnose and treat NETs is presented. It has been shown that positron emission tomography combined with computed tomography, using SSTRs-binding radioligands is the safest and most accurate method for visualizing SSTRs and diagnosing NETs.

Key words: somatostatin, neuroendocrine tumors, somatostatin receptors, scintigraphy

For citation: Pankratova E.A., Shprakh Z.S. Somatostatin receptors: localization and imaging methods (review). *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2022;21(1):10–20. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-10-20.

Введение

Соматостатин – пептидный гипоталамический фактор, подавляющий секрецию соматотропин-рилизинг-гормона гипоталамусом и соматотропина аденогипофизом [1].

Впервые соматостатин упоминается французскими исследователями в 1972 г. [1]. В 1980-х годах проводились исследования терапевтической активности пептида, показавшие выраженное подавление роста тканей под действием соматостатина [2]. Поскольку секреция соматостатина при патологиях не обеспечивает необходимую концентрацию гормона в крови, а период полужизни нативного соматостатина оказался очень коротким [3], возникла задача синтезировать аналоги соматостатина. Антипролиферативное, антиангиогенное и проапоптотическое действие соматостатина и его аналогов обусловлено как ингибированием секреции ряда факторов роста и гормонов, так и связыванием аналогов соматостатина со специфическими рецепторами к соматостатину (somatostatin receptors, SSTRs), и напрямую зависит от их локализации и количества [4]. Исследования 1-го синтетического аналога соматостатина октреотида подтвердили его терапевтическую активность на гормональном и рецепторном уровне [5, 6].

Соматостатиновые рецепторы включают 5 основных типов: SSTR1, SSTR2 (2 подтипов – SSTR2A и SSTR2B), SSTR3, SSTR4 и SSTR5. Визуализация экспрессии SSTRs необходима для стадирования развития нейроэндокринных опухолей (НЭО) и определения чувствительности пациентов к радионуклидной терапии, при которой пациенту вводится препарат – радиоактивный лиганд к SSTRs, связывающийся с рецепторами и накапливающийся в тканях организма [7]. Кроме того, визуализация SSTRs позволяет совершенствовать направленную доставку лекар-

ственных средств, что приводит к снижению частоты и объема нежелательных реакций и повышению эффективности лекарственных препаратов.

В обзоре проведен хронологический анализ исследований экспрессии SSTRs, методов их визуализации и количественного определения.

Локализация и методы визуализации рецепторов к соматостатину

Самым распространенным методом визуализации SSTRs является соматостатин-рецепторная сцинтиграфия (СРС), при которой двумерное изображение получают путем определения излучения, испускаемого радиоактивными изотопами [8]. Первоначально для СРС использовали меченный радионуклеотидом октреотид – ^{123}I -Tyr³-октреотид. Большое сродство лиганд продемонстрировал с подтипом рецептора SSTR2 – SSTR2A, умеренное – с SSTR5, слабое – с SSTR3, лиганд не показал сродства с SSTR1 и SSTR4. Е.Р. Krenning и соавт. утверждают, что СРС с ^{123}I -Tyr³-октреотидом имеет ряд серьезных недостатков, в их числе короткий период полураспада радионуклеотида, быстрый клиренс из крови и сложность пробоподготовки [9].

Исследователи предложили использовать другой аналог соматостатина – ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-октреотид. В качестве преимуществ ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-октреотида авторы называли простоту приготовления, доступность, более продолжительный период полувыведения и почечный клиренс [10]. Диагностическую способность ^{111}In -DTPA-Phe¹-октреотида оценивали у пациентов со злокачественной меланомой. Исследование А. Zissimopoulos и соавт. показало, что СРС с ^{111}In -DTPA-Phe¹-октреотидом для диагностики метастазов злокачественной меланомы обладает чувствительностью и специфичностью 87 и 94 %

соответственно, при этом с использованием радионуклида были визуализированы опухолевые участки, не выявленные с помощью компьютерной томографии (КТ) [11].

Оценка использования ^{111}In -DTPA-Phe¹-октреотида в качестве лиганда к SSTR2 SSTR2A и SSTR5 показала его эффективность после хирургического удаления опухоли для выявления локализации и характера распределения метастазов и подтверждения полноты резекции гастроэнтеропанкреатических (ГЭП) НЭО [12].

К 1995 г. была доказана безопасность и эффективность ^{111}In -октреотида (международное непатентованное наименование – ^{111}In -пентетреотид) в терапии ГЭП НЭО [13]. СРС с ^{111}In -пентетреотидом проводили при эндокринных офтальмопатиях [14], немедулярном раке щитовидной железы [15], мелкоклеточном раке легких [16]. Высокое сродство с аналогом соматостатина вапреотидом (RC-160, октастатин) продемонстрировали 76 % образцов опухолей яичников, что доказало экспрессию SSTRs в данном виде опухолей [17].

Исследования экспрессии SSTRs при диагностике инсулиномы и гастриномы показали высокую чувствительность СРС только при визуализации рецепторов на мембранах клеток гастрином [18].

При планировании терапии аналогами соматостатина важно не только знание локализации рецепторов, но и их количественное определение. Количественный анализ матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) SSTR2 методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией показал экспрессию SSTRs в аденомах гипофиза [19]: 100 % образцов экспрессировали SSTR1 и SSTR2, большая часть аденом экспрессировали SSTR5, меньшая – SSTR3 и SSTR4.

Ряд исследований посвящен разработке методов комбинированной визуализации карциноидных опухолей. При повышенном уровне кальцитонина ни ультразвуковое исследование, ни КТ не позволяют точно определить расположение опухоли. В работе А. Kurtaran и соавт. показано, что применение ^{123}I -вазоактивного кишечного пептида (^{123}I -VIP) и ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-октреотида позволяет определить локализацию первичной опухоли щитовидной железы в 63,5 % случаев [20]. У 50 % пациентов с подозрением на рецидив медулярной карциномы было выявлено патологическое поглощение ^{111}In -пентетреотида в средостении или печени, тогда как сканирование с ^{123}I -VIP не выявило первичных, рецидивирующих или метастатических опухолевых поражений [20].

В работе В. G. Taal и соавт. дана оценка СРС карциноидов с использованием ^{131}I -метайодобензилгуанидина и ^{111}In -пентетреотида в монорежиме и в комбинации: индивидуальное применение препаратов

показало чувствительность 84 %, а комбинация – 95 % [21].

По результатам большого числа исследований можно сделать вывод, что разнообразные ткани экспрессируют SSTRs, и СРС с ^{111}In -пентетреотидом может быть полезна при различных НЭО за счет высокой тропности к подтипу SSTR2 – SSTR2A, умеренной – к SSTR5, очень слабой – к SSTR3.

Результаты исследования клинического значения СРС при опухолях головного мозга показали, что большинство внутримозговых поражений могут быть визуализированы с помощью ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-октреотидной СРС [22].

В проспективном клиническом исследовании D. Kopf и соавт. оценивали СРС с октреотидмеченым In^{111} в сравнении со стандартной сцинтиграфией с м-йодбензилгуанидином (MIBG) и изучали функциональную активность SSTRs у пациентов со злокачественной феохромоцитомой [23]. В общей сложности 79,6 % известных метастазов были обнаружены с помощью MIBG, 44,4 % – с помощью ^{111}In -октреотида. Тем не менее СРС с ^{111}In -октреотидом выявила часть метастазов, которые не удалось обнаружить с MIBG. То есть СРС с ^{111}In -октреотидом частично дополняет исследование с MIBG, повышая диагностическую чувствительность.

Исследование E. Garin и соавт. посвящено использованию СРС с ^{111}In -пентетреотидом для выявления рецидива рака щитовидной железы, не поглощающего йод. В случаях, когда у пациентов с подозрением на рецидив дифференцированной карциномы щитовидной железы не определяется поглощение йода, СРС оказалась неэффективной [24]. Наблюдение за пациентами, перенесшими тиреоидэктомию, описанное в исследовании N. Valli и соавт., показало низкую диагностическую точность СРС по сравнению с рентгенологическим анализом [25].

Определение локализации рецидивирующей медулярной карциномы щитовидной железы показало, что ^{111}In -октреотид обладает ограниченной чувствительностью в выявлении рецидива данной опухоли. Чувствительность может улучшиться при высоких уровнях базального кальцитонина в сыворотке крови [26].

Вопросу об экспрессии SSTRs в печени человека и возможности лечения гепатоцеллюлярной карциномы октреотидом посвящено исследование E. Kouyoumalis и соавт., в ходе которого определяли содержание SSTRs в гомогенатах печени пациентов с острым и хроническим гепатитом, циррозом и гепатоцеллюлярной карциномой. SSTRs были идентифицированы в 100 % случаев [27].

Исследования экспрессии опухолями человека различных подтипов SSTRs привели к разработке и характеристике нового пептидного индикатора, получившего название Mauritius (DOTA-ланреотид)

[28]. Известно, что НЭО экспрессируют SSTR2, а аденокарциномы кишечника – SSTR3 и SSTR4. В отличие от $^{111}\text{DTPA}$ -октреотида (Октреоскан), который обладает высоким сродством к SSTR2 и SSTR5 и умеренным – к SSTR3 [29], $^{90}\text{Y-DOTA}$ -ланреотид связывается с SSTR2–5 с высоким сродством и с SSTR1 с более низким сродством. Исходя из тропности к рецепторам, $^{111}\text{In-DOTA}$ -ланреотид предложен в качестве потенциального радиолиганда для диагностики опухоли и $^{90}\text{Y-DOTA}$ -ланреотид – для радионуклидной терапии опухоли щитовидной железы, гепатоцеллюлярного рака, рака легких, некоторых опухолей головного мозга и меланом [28].

Радионуклидная терапия НЭО тропными к SSTRs аналогами соматостатина показала свою успешность в клинических исследованиях, однако эффективность такой терапии снижается с возрастом пациента. Связь количества рецепторов с физиологическим старением изучали ученые из Нидерландов D. Ferone и соавт., которые описали снижение числа рецепторов в нормальном тимусе человека с возрастом [30]. Структурные изменения начинаются с уменьшения количества тимоцитов, в то время как количество клеток эпителия тимуса (ТЕС) существенно не изменяется. Исследователи продемонстрировали наличие соматостатина и 3 различных подтипов рецепторов в тимусе человека. ТЕС избирательно экспрессировали SSTR1, 2A и 2B. При старении количество рецепторов, экспрессируемых на поверхности ТЕС, сокращалось, тогда как число клеток эпителия менялось незначительно [30]. Эти результаты подчеркивают связи между нейроэндокринной и иммунной системами и подтверждают участие нейропептидов в развитии клеточного иммунитета у людей. В 2002 г. опубликованы результаты исследования гендерных различий в плотности SSTRs в человеческом мозге. R. Pichler и соавт. показано, что количество нейронов, экспрессирующих соматостатин в центральном отделе ядра ложа терминальной стрии головного мозга, выше у мужчин, чем у женщин [31].

Известно, что дифференцированные и медуллярные карциномы щитовидной железы сверхэкспрессируют SSTRs. C. Waldherr и соавт. оценили ответ карцином на таргетное облучение радиоактивно меченным аналогом соматостатина $^{90}\text{Y-1,4,7,10}$ -тетраазациклододекан-4,7,10-трикарбоксо-метил-1-ил-ацетил-D-Phe¹-Tyr³-октреотидом ($^{90}\text{Y-DOTATOC}$), обладающим высоким сродством к SSTR2A и SSTR2B и умеренным – к SSTR5. $^{90}\text{Y-DOTATOC}$ не продемонстрировал никакого сродства к SSTRs 1, 3, 4. Исследование показало, что таргетная лучевая терапия с использованием $^{90}\text{Y-DOTATOC}$ способна остановить прогрессирование опухоли у 35 % пациентов и может служить вариантом лечения резистентного заболевания [32].

Экспрессию подтипов SSTR2–5 в НЭО поджелудочной железы изучили M.L. Fjällskog и соавт. с помощью иммуногистохимических реакций с использованием подтипспецифических поликлональных антител [33]. При этом не обнаружили различий в экспрессии подтипов рецепторов между низко- и высокодифференцированными опухолями, а также между первичными опухолями и метастазами. SSTR1 и SSTRs 2 и 4 экспрессировались в большинстве опухолевых тканей – 70 и 90 % соответственно, однако SSTRs 3 и 5 отсутствовали в 50 % опухолевых тканей. Во внутриопухолевых сосудах экспрессия SSTR2 и SSTR4 была высокой (80 %), SSTR1 – умеренной (40 %), SSTR3 и SSTR5 практически отсутствовали в большинстве внутриопухолевых сосудов (10 %). Эти различия подчеркивают важность определения рецептор-подтипспецифическими аналогами.

Наличие и роль SSTRs в НЭО поджелудочной железы изучали M. Sampedro-Núñez и соавт. По их данным, SSTR1 и SSTR2 демонстрировали самую высокую экспрессию. Авторы упомянули о вариантах SSTR4 и SSTR5, генерируемых транссплайсингом, содержащих 5 и 4 трансмембранных домена (обычно 7), называемых SSTR5TMD4 и SSTR5TMD5. Уровни экспрессии SSTR1–3, SSTR5TMD4 и SSTR5TMD5 были значительно выше в опухолевых тканях по сравнению с близлежащими здоровыми тканями, что коррелировало с повышенной агрессивностью опухоли. Это свидетельствует о ценности SSTR5TMD4 в качестве биомаркера и мишени [34].

В 2004 г. разработан метод эстрогензависимой регуляции экспрессии SSTRs в клетках опухоли молочной железы [35]. Клеточные линии подвергали воздействию антиэстрогена тамоксифена и конкурентного антагониста эстрогеновых рецепторов – фулвестранта. Изменение экспрессии оценивали с помощью $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -депреотида (депреотида трифторацетат, NeoSpect). Контрольные и экспериментальные группы инкубировали с возрастающими концентрациями $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -депреотида при отсутствии или в присутствии октреотида. Результаты подтвердили эстрогензависимую регуляцию экспрессии SSTRs в клеточных линиях рака молочной железы.

Визуализацию прогрессирующих НЭО проводили с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с ^{18}F -ФДОФА (ПЭТ-индикатор 6- ^{18}F -фтор-L-ДОФА) [36]. Оценивали костную ткань, средостение, легкие, печень, поджелудочную железу и др. Чаше поражения выявляли в печени и костной ткани (70 %), в области средостения – 31 %, в легочной ткани – 22 % и поджелудочной железе – 13 %. ^{18}F -ФДОФА наиболее чувствителен при визуализации SSTRs в костной ткани (чувствительность – 100 %, специфичность – 91 %), но менее эффективен при

исследовании легких (чувствительность – 20 %, специфичность – 94 %). СРС проводили с ^{111}In -DOTA-D-Phe¹-Tyr³-октреотидом. Как было сказано ранее, лиганд обладает большей тропностью к SSTR2 и SSTR5 и умеренной тропностью к SSTR3. Наилучшие результаты показала СРС печени (чувствительность –

75 %, специфичность – 100 %). ПЭТ с ^{18}F -ФДОФА показала более высокую эффективность визуализации метастазов, чем СРС с ^{111}In -DOTA-D-Phe¹-Tyr³-октреотидом при поражении разных органов.

В 2005 г. японские ученые Т. Saga и соавт. изучили возможность и эффективность совмещения

Радиолиганды, используемые в скинтиграфии рецепторов к соматостатину

Radioligands used in somatostatin receptors scintigraphy

Лиганд Ligand	Преимущества Advantages	Недостатки Flaws
^{123}I -Tyr ³ -октреотид ^{123}I -Tyr ³ -octreotide	Сродство к SSTR2, SSTR5 [9] Affinity for SSTR2, SSTR5 [9]	Короткий период полураспада, быстрый клиренс из крови, сложность пробоподготовки [9] Short half-life, fast clearance from blood, complexity of sample preparation [9]
^{111}In -DTPA-D-Phe ¹ -октреотид ^{111}In -DTPA-D-Phe ¹ -octreotide	Сродство к SSTR2, SSTR5 [12]; простота пробоподготовки [10]; чувствительность 87 %, специфичность 94 % [11]; возможность визуализации внутричерепных поражений [22] Affinity for SSTR2, SSTR5 [12]; simplicity of sample preparation [10]; sensitivity 87 %, specificity 94 % [11]; the ability to visualize intracranial lesions [22]	–
^{111}In -октреотид (^{111}In -пентетреотид) ^{111}In -octreotide (^{111}In -pentetreotide)	Сродство к SSTR2, SSTR5 [29]; терапия ГЭП НЭО [13], эндокринных офтальмопатий [14], рака щитовидной железы [15], мелкоклеточного рака легких [16] Affinity for SSTR2, SSTR5 [29]; therapy of GEP NET [13], endocrine ophthalmopathies [14], thyroid cancer [15], small cell lung cancer [16]	Умеренное сродство к SSTR3 [29], неэффективное выявление метастазов [23, 44] Moderate affinity for SSTR3 [29], ineffective detection of metastases [23, 44]
Вапреотид (RC-160, октастатин) Vapreotide (RC-160, octastatin)	Сродство к SSTR2, SSTR5 в 76 % образцов опухолей яичников [17] Affinity for SSTR2, SSTR 5 in 76 % of ovarian tumor samples [17]	–
Mauritius (^{90}Y -DOTA-ланреотид) Mauritius (^{90}Y -DOTA-lanreotide)	Сродство к SSTRs 2, 3, 4, 5; терапия рака щитовидной железы, гепатоцеллюлярного рака, рака легких, опухолей головного мозга, меланом [28] Affinity for SSTRs 2, 3, 4, 5; thyroid cancer, hepatocellular cancer, lung cancer brain tumors melanoma therapy [28]	Умеренное сродство к SSTR1 [28] Moderate affinity for SSTR1 [28]
^{111}In -DTPA-октреотида (Октреоскан) ^{111}In -DTPA octreotide (OktreoScan)	Сродство к SSTR2, SSTR5 [29] Affinity for SSTR2, SSTR5 [29]	Умеренное сродство к SSTR3 [29] Moderate affinity for SSTR3 [29]
^{90}Y -DOTATOC	Сродство к SSTR2 [32] Affinity for SSTR2 [32]	Умеренное сродство к SSTR5, отсутствие тропности к SSTRs 1, 3, 4 [32] Moderate affinity for SSTR5, lack of affinity to SSTRs 1, 3, 4 [32]
^{123}I -Mtr-ТОСА	Сродство к SSTRs 2, 3, 5; меньшая лучевая нагрузка на пациента [38] Affinity for SSTRs 2,3, 5, less radiation exposure to the patient [38]	На 18 % менее эффективен, чем ^{111}In -октреотид [38] 18 % less effective than ^{111}In -octreotide [38]
^{111}In -DOTA-ланреотид ^{111}In -DOTA-lanreotide	Эффективнее, чем ПЭТ с ^{18}F -ФДГ [41] More effective than ^{18}F -FDG-PET [41]	Избирательность действия [41] Selectivity of action [41]

Примечание. ГЭП НЭО – гастроэнтеропанкреатические нейроэндокринные опухоли; ПЭТ с ^{18}F -ФДГ – позитронно-эмиссионная томография с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой.

Note. GEP NET – gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors; ^{18}F -FDG-PET – positron emission tomography with ^{18}F -fluorodeoxyglucose.

морфологической визуализации и СРС [37]. СРС показала больше поражений, но некоторые физиологические поглощения и анатомическую локализацию аномальных поглощений помогло правильно распознать именно морфологическое изображение. Самый высокий диагностический эффект проявило комбинированное считывание. Морфологическая визуализация необходима для исключения физиологического поглощения и определения правильного анатомического расположения аномального поглощения.

Сцинтиграфическое сравнение радиойодированного и углеводного аналогов октреотида ^{123}I -Mtr-ТОСА с ^{111}In -октреотидом описали А. Stahl и соавт. [38]. Они оценили различия в фармакокинетических и визуализирующих свойствах препаратов, а также терапевтический потенциал ^{123}I -Mtr-ТОСА. Новый аналог позволил быстрее визуализировать SSTR2, 3, 5 с меньшей лучевой нагрузкой для пациента, но СРС с ^{111}In -октреотидом позволила обнаруживать на 18 % больше поражений.

В работе А. Yoshihara и соавт. описано изучение экспрессии различных типов SSTRs при аденомах гипофиза, секретирующих тиреотропный гормон, в качестве маркеров для прогнозирования долгосрочного ответа на терапию октреотидом. Транскрипты мРНК SSTR2 были обнаружены во всех опухолях, но мРНК SSTR3 и SSTR5 были выявлены только в половине из них. Наблюдения показали, что временное снижение уровня тиреотропного гормона на фоне приема октреотида объясняется именно высокой экспрессией SSTR2, а долгосрочный ответ на терапию может быть связан с SSTR5 [39].

В последнее время как инструмент визуализации рецепторов стали использовать ПЭТ с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой (^{18}F -ФДГ) [40]. Метод, как и СРС, информативен при миеломах, поскольку определению не мешают уже существующие дефекты скелета, а злокачественные плазматические клетки могут иметь высокую экспрессию SSTRs и повышенную метаболическую активность. У пациентов с рецидивирующей множественной миеломой для выявления новых поражений скелета E.G. de Waal и соавт. использовали 3 отдельных метода: рентгенологическое обследование, СРС с ^{111}In -пентетреотидом и ПЭТ с ^{18}F -ФДГ. Локализация поражений при рентгенологическом обследовании и СРС соответствовали данным ПЭТ с ^{18}F -ФДГ, однако количество обнаруженных поражений было выше при ПЭТ с ^{18}F -ФДГ по сравнению с СРС и обследованием скелета [40].

Сравнение диагностических возможностей СРС с ^{111}In -DOTA-D-Phe¹-Tyr³-октреотидом и ^{111}In -DOTA-ланреотидом продемонстрировано в исследовании М. Rodrigues и соавт. [41]. Показано, что оба радиолганда позволяют обнаруживать повреждения, ко-

торые не могут быть видны при визуализации ПЭТ с ^{18}F -ФДГ. По сравнению с ^{111}In -DOTA-ланреотидом ^{111}In -DOTA-D-Phe¹-Tyr³-октреотид имеет превосходную диагностическую способность для обнаружения метастазов в печени, но более низкую диагностическую способность для определения поражений в средостении и костной ткани. Это может быть связано с большей избирательностью действия молекулы ланреотида, содержащей D-аланин.

М. Gabriel и соавт. сравнивали СРС и КТ с ПЭТ с ^{68}Ga -DOTA-Tyr³-октреотидом [42]. Результаты визуализации ПЭТ сравнивали с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -гидразиникотинил-Tyr³-октреотидом ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-ТОС) и ^{111}In -DOTA-ТОС. ^{68}Ga -DOTA-Tyr³-октреотид показал более высокую диагностическую эффективность по сравнению с КТ. Однако комбинированное применение ПЭТ и КТ показало самую высокую общую точность. ПЭТ с ^{68}Ga -DOTA-Tyr³-октреотидом показала более высокую частоту обнаружения НЭО и, соответственно, рецепторов по сравнению с СРС и диагностической КТ. С этим радиолганом проводили визуализацию SSTRs при поражениях предстательной железы с костными метастазами [43]. Известно, что DOTATOC-аффинными рецепторами являются подтипы SSTR2 и SSTR5. Но при данном типе рака их экспрессия настолько слаба, что визуализация оказывается неэффективной. Необходим подбор рецепторспецифичной для рака предстательной железы терапии, т. е. аффинной к SSTR1 и SSTR4.

Роль СРС при распространенном почечно-клеточном злокачественном росте установили в исследовании, описанном в работе L.S. Freudenberg и соавт. [44]. СРС пациента проводили после внутривенного введения ^{111}In -пентетреотида. СРС показала только 12,1 % всех метастазов, т. е. она имеет ограниченное значение в определении метастазов при данной патологии, что может быть связано с недостаточным уровнем экспрессии рецепторов в тканях.

Преимущества и недостатки радиолганов, используемых в сцинтиграфии SSTRs, представлены в таблице.

По данным G.F. Taboada и соавт., одним из факторов, влияющих на интенсивность экспрессии SSTRs при соматотропиномах, является действие онкогена *gsp* на содержание мРНК-рецепторов [45]. Для идентификации *gsp*⁺-опухолей использовали полимеразную цепную реакцию и секвенирование. С помощью количественной полимеразной цепной реакции определяли экспрессию SSTRs. Установлено, что ответ на терапию октреотидом достоверно не различается между пациентами с *gsp*⁺- и *gsp*⁻-опухолями, однако опухоли *gsp*⁺ экспрессируют более высокие уровни SSTR1, SSTR2 и более низкий уровень SSTR3.

Результаты изучения экспрессии SSTR2A и рецептора эпидермального фактора роста типа 2 (HER2)

при аденокарциноме желудка иммуногистохимическим методом приведены в работе A. Romiti и соавт. [46]. Показано, что распространенность экспрессии SSTR2A достоверно выше при высоко- и умеренно дифференцированном поражении желудка по сравнению с низкодифференцированными опухолями и поражениями диффузного характера. Экспрессия HER2 была положительной у 35 % пациентов и коррелировала с экспрессией SSTR2A.

Неудовлетворительный ответ на лечение октреотидом, в частности у пациентов с акромегалией, можно объяснить снижением экспрессии SSTRs в соматотропных аденомах у таких пациентов [47]. В исследовании O. Casar-Borota и соавт. иммуногистохимически с использованием кроличьих моноклональных антител оценили экспрессию SSTRs 1, 2A, 3 и 5 и показали, что большинство аденом экспрессировали SSTRs 2A и 5. Экспрессия SSTR2A была снижена в группе, предварительно получившей лечение октреотидом, и коррелировала с результатами краткосрочного и длительного лечения октреотидом [47].

При исследовании злокачественных образований щитовидной железы S. Woelfl и соавт. провели ретроспективный анализ экспрессии подтипов SSTRs 2 и 5 и показали, что SSTR5 является основным подтипом в дифференцированных или анапластических злокачественных опухолях щитовидной железы, в то время как SSTR2 обнаруживается лишь в небольшом проценте случаев [48].

Значение иммуногистохимического исследования экспрессии SSTRs изучали на низкодифференцированных и анапластических карциномах и доброкачественных новообразованиях щитовидной железы [3]. Обнаружено, что SSTR1, 2A, 3 и 5 экспрессируются как при доброкачественных, так и при злокачественных опухолях, в то время как SSTR4 – нет. Экспрессию SSTR1 и SSTR5 обнаружили в образцах с низкодифференцированными опухолями щитовидной железы. SSTR1, 2A и 5 показали экспрессию во всех недифференцированных опухолях щитовидной железы. Иммуностабирование SSTR2 и SSTR3 наблюдали в 50 % образцов. Иммуноположительные реакции встречали в мембранах и в цитоплазме клеток опухоли щитовидной железы, а также в эндотелии внутригрудных кровеносных сосудов.

Иммуногистохимический анализ и таргетная визуализация SSTR2 с использованием SSTR-сцинтиграфии и SSTR2-иммуногистохимии описаны в работе P. Bruner и соавт. [49]. Была создана база данных тканей и изображений пациентов, получавших SSTR2-таргетную радиопептидную терапию ^{90}Y -DOTATOC и ^{177}Lu -DOTATOC. Результаты позволяют предположить, что SSTR является маркером метастазов. Результаты иммуногистохимического исследования

коррелировали с СРС, но СРС показала большую диагностическую точность.

С помощью ПЭТ с ^{68}Ga -DOTATOC Z. Gronkiewicz и соавт. показали, что при ювенильной ангиофиброме SSTR2A могут быть сверхэкспрессированы в быстрорастущих сосудах [50]. При ПЭТ, совмещенной с КТ (ПЭТ/КТ), с ^{68}Ga -DOTATATE с последующим иммуногистохимическим окрашиванием на экспрессию SSTR2A обнаружили сверхэкспрессию SSTR2A *in vitro* во всех образцах. Однако поглощение ^{68}Ga -DOTATOC в исследованиях ПЭТ/КТ было слабым, что может быть обусловлено внутриклеточной локализацией SSTR2A при ювенильной ангиофиброме.

Оптимизируя методы визуализации SSTRs, J. Kuniowska и соавт. сравнивали результаты, полученные при однофотонной эмиссионной КТ, совмещенной с рентгеновской КТ (ОФЭКТ/КТ) с $^{99\text{mTc}}$ -HYNICTOC, и данные ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -DOTATATE с точки зрения чувствительности и специфичности. Пациентам с диссеминированной НЭО последовательно проводились оба исследования. Показано, что ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -DOTATATE обладает более высокой чувствительностью, чем с $^{99\text{mTc}}$ -HYNICTOC, и позволяет полнее обнаруживать метастазы диаметром менее 1 см в костной ткани, лимфатических узлах и печени [51].

В исследовании, описанном в работе R.J. Hicks и соавт., пациентам с известной нейроэндокринной неоплазией и положительным ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -DOTATATE проводили ПЭТ/КТ-визуализацию через 30 мин, 1, 4 и 24 ч после введения ^{64}Cu -SARTATE и наблюдали высокое поглощение во все временные точки визуализации. Сравнение ПЭТ/КТ с ^{64}Cu -SARTATE через 4 ч после введения препарата и ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -DOTATATE через 1 ч после введения показало сопоставимое или превосходящее обнаружение опухоли у всех пациентов, особенно в печени. Наибольшее физиологическое поглощение отмечали в почках, печени и селезенке [7].

Сравнение чувствительности ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -OPS202 и ^{68}Ga -DOTATOC у пациентов с ГЭП НЭО проводили G.P. Nicolas и соавт. [52]. ^{68}Ga -OPS202 – радиоаналог соматостатина с высоким сродством к SSTR2. Оценивали чувствительность ^{68}Ga -OPS202 по сравнению с эталонным соединением ^{68}Ga -DOTATOC при ПЭТ-визуализации. Показатели диагностической эффективности сравнивали с КТ или магнитно-резонансной томографией (МРТ) с контрастным веществом в качестве стандарта. Контраст изображения при сопоставимых злокачественных поражениях печени был значительно выше для ^{68}Ga -OPS202, чем для ^{68}Ga -DOTATOC. Более высокое отношение опухоли к фону ^{68}Ga -OPS202 привело не только к более высокой частоте обнаружения метастазов в печени, но и к более высокой общей чувствительности опухоли к антагонистом, чем с ^{68}Ga -DOTATOC. Показано, что

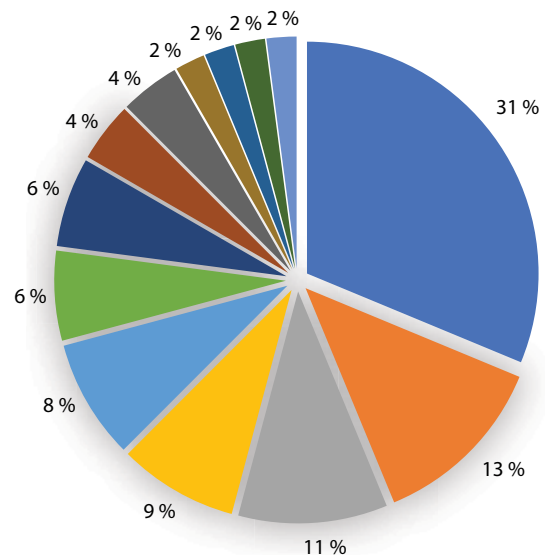
^{68}Ga -OP202 обладает высокой чувствительностью для выявления ГЭП НЭО и НЭО печени [52].

Позднее L.C. Adams и соавт. проводили количественную оценку совмещенной с МРТ ПЭТ (ПЭТ/МРТ) с ^{68}Ga -DOTATOC с диффузионно-взвешенной визуализацией ГЭП НЭО [53]. ПЭТ/МРТ с ^{68}Ga -DOTATOC сочетает в себе преимущества ПЭТ в получении метаболически-функциональной информации с высокой контрастностью МРТ. Было предложено считать стандартизированный уровень накопления в опухолях мерой экспрессии SSTRs (посредством изучения удельной радиоактивности в исследуемой области после введения лиганда).

В 2019 г. Т.А. Норе и соавт. опубликованы данные сравнения СРС с ^{111}In -пентетреотидом и ^{68}Ga -DOTATATE [54]. Реализованы методы: ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -DOTATATE, ^{111}In -пентетреотидная планарная скintiграфия и ОФЭКТ/КТ. Поглощение лиганда рецепторами оценивали по шкале Креннинга. Оценка Креннинга была выше при ПЭТ, чем при планарной визуализации или ОФЭКТ. У пациентов с баллом Креннинга не менее 3 по ПЭТ и ОФЭКТ частота выявления была ниже для поражений размером менее 2 см, чем для поражений размером 2 см или больше. Для поражений размером более 5 см оценки по Креннингу при ПЭТ с ^{68}Ga -DOTATATE и ^{111}In -пентетреотидом были эквивалентны. ПЭТ с ^{68}Ga -DOTATATE приводила к более высоким баллам Креннинга, чем исследование с ^{111}In -пентетреотидом, особенно при поражениях размером 2 см или менее. Небольшой размер поражения приводил к низким баллам Креннинга с использованием ^{111}In -пентетреотида, но размер поражения не влиял на баллы Креннинга при анализе ПЭТ с ^{68}Ga -DOTATATE.

В проспективном клиническом исследовании ПЭТ/КТ с ^{64}Cu -DOTATATE как инструмента для визуализации НЭО, проведенном E. S. Delpassand и соавт., определяли самую низкую дозу ^{64}Cu -DOTATATE, обеспечивающую диагностическое качество сканирования, и оценивали эффективность и безопасность радиопрепарата. Исследование показало, что ПЭТ/КТ с ^{64}Cu -DOTATATE является безопасным методом визуализации, обеспечивающим высокое качество и точность изображений в дозе 148 МБк для выявления НЭО [55].

В исследовании 2021 г., проведенном M. Lechner и соавт., сообщается о высокой экспрессии SSTR2 в первичных, локально рецидивирующих и метастатических злокачественных новообразованиях носоглотки. Показано, что экспрессию SSTR2 индуцирует латентный мембранный белок 1 вируса Эпштейна–Барр (LMP1). В доклиническом исследовании продемонстрирован терапевтический потенциал лекарственного средства PEN-221, эффективность которого превосходит известные цитостатики, связывающиеся с SSTR2. Вы-



- Гастроэнтеропанкреатические нейроэндокринные опухоли / Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors [4, 13, 15, 20, 24–26, 32–34, 36, 48, 52, 53]
- Ткани печени / Liver tissue [7, 27, 36, 41, 51, 52]
- Внутричерепная локализация / Intracranial localization [19, 22, 39, 45, 47]
- Ткани органов средостения / Organs of the mediastinum [5, 12, 18, 53]
- Костная ткань / Bone [36, 41, 43, 51]
- Нейроэндокринные офтальмопатии / Neuroendocrine ophthalmopathies [12, 14, 18]
- Ткани репродуктивных органов / Reproductive organs [17, 35, 43]
- Ткани почек / Kidney tissue [23, 44]
- Нейроэндокринные опухоли легкого / Neuroendocrine tumors of the lung [16, 36]
- Ткани органов кроветворения / Hematopoietic organs [40]
- Ткани кровеносных сосудов / Blood vessels [50]
- Ткани лимфатической системы / Lymphatic system [51]
- Ткани носоглотки / Nasopharyngeal tissue [57]

Локализация рецепторов к соматостатину (SSTRs)

Localization of somatostatin receptors (SSTRs)

явлена значимая корреляция экспрессии SSTR2 с показателями выживаемости, а также *in vivo* поглощение SSTR2-связывающего ^{68}Ga -DOTA-пептидного радиолганда при ПЭТ/КТ-сканировании в клиническом исследовании пациентов с назофарингеальным раком [56].

Заключение

Проведенный ретроспективный анализ показал разнообразие локализаций SSTRs в органах и тканях человека (см. рисунок) и необходимость визуализации экспрессии SSTRs для стадирования НЭО и прогнозирования радионуклидной терапии аналогами соматостатина.

Клинические исследования различных методов, в том числе СРС, иммуногистохимических методов, рентгеновского анализа, ПЭТ/КТ, демонстрируют

экспрессию SSTRs в НЭО и других злокачественных новообразованиях и подтверждают значимость визуализации. Проведенный анализ позволил сопоставить эффективность и чувствительность разных методов.

Показано, что в настоящее время метод ПЭТ/КТ с использованием SSTRs-связывающих радиолигандов является наиболее безопасным и точным для визуализации SSTRs и диагностики НЭО.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Vale W., Brazeau P., Grant G. et al. [Preliminary observations on the mechanism of action of somatostatin, a hypothalamic factor inhibiting the secretion of growth hormone (In French)]. *C R Acad Hebd Seances Acad Sci D* 1972;275(25):2913–6.
- Basile M., Celi S., Parisi A. et al. Somatostatin in the treatment of severe gastrointestinal bleeding from peptic origin. A multicentric controlled trial. *Ital J Surg Sci* 1984;14(1):31–5.
- Bousquet C., Lasfargues C., Chalabi M. et al. Clinical review: Current scientific rationale for the use of somatostatin analogs and mTOR inhibitors in neuroendocrine tumor therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(3):727–37. DOI: 10.1210/jc.2011–2088.
- Pisarek H., Pawlikowski M., Marchlewska M. et al. An immunohistochemical investigation of the expression of somatostatin receptor subtypes - should therapeutic trials be performed to determine the efficacy of somatostatin analogs in treating advanced thyroid malignancies? *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2015;123(6):342–6. DOI: 10.1055/s-0035-1548825.
- Londong W., Angerer M., Kutz K. et al. Diminishing efficacy of octreotide (SMS 201-995) on gastric functions of healthy subjects during one-week administration. *Gastroenterology* 1989;96(3):713–22.
- Strulovici B., Stadel J.M., Lefkowitz R.J. Adenylate-cyclase-coupled beta-adrenergic receptors. In: Poste G., Crooke S.T., eds. *Mechanisms of receptor regulation*. New York, London: Plenum, 1985. P. 279–294.
- Hicks R.J., Jackson P., Kong G. et al. ⁶⁴Cu-SARTATE PET Imaging of Patients with Neuroendocrine Tumors Demonstrates High Tumor Uptake and Retention, Potentially Allowing Prospective Dosimetry for Peptide Receptor Radionuclide Therapy. *J Nucl Med* 2019;60(6):777–85. DOI: 10.2967/jnumed.118.217745.
- Слащук К.Ю., Румянцев П.О., Дегтярев М.В. и др. Молекулярная визуализация нейроэндокринных опухолей при соматостатин-рецепторной скитграфии (ОФЭКТ/КТ) с ^{99m}Tc-тектротидом. *Медицинская радиология и радиационная безопасность* 2020;65(2):44–9. [Slashchuk K.Yu., Rumyantsev P.O., Degtyarev M.V. et al. Molecular imaging of neuroendocrine tumors with somatostatin receptor scintigraphy (SPECT/CT) with ^{99m}Tc-tectrotide. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost* = *Medical Radiology and Radiation Safety* 2020;65(2):44–9. (In Russ.)].
- Krenning E.P., Bakker W.H., Kooij P.P. et al. Somatostatin receptor scintigraphy with indium-111-DTPA-D-Phe-1-octreotide in man: metabolism, dosimetry and comparison with iodine-123-Tyr-3-octreotide. *J Nucl Med* 1992;33(5):652–8.
- Krenning E.P., Valkema R., Kooij P.P. et al. Scintigraphy and radionuclide therapy with [indium-111-labelled-diethyl triamine penta-acetic acid-D-Phe1]-octreotide. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999;31(Suppl 2):S219–23.
- Zissimopoulos A., Karpouzis A., Kouskoukis C. Iotandium-111 pentetreotide scintigraphy and CT scans after 3 years in the follow-up of patients with malignant melanoma. *Hell J Nucl Med* 2009;12(2):142–5.
- Modlin I.M., Cornelius E., Lawton G.P. et al. Use of an isotopic somatostatin receptor probe to image gut endocrine tumors. *Arch Surg* 1995;130(4):367–73; discussion 373–4. DOI: 10.1001/archsurg.1995.01430040029003.
- Jamar F., Fiasse R., Leners N. et al. Somatostatin receptor imaging with indium-111-pentetreotide in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: safety, efficacy and impact on patient management. *J Nucl Med* 1995;36(4):542–9.
- Diaz M., Kahaly G., Mühlbach A. et al. [Somatostatin receptor scintigraphy in endocrine orbitopathy (In German)]. *Rofo* 1994;161(6):484–8. DOI: 10.1055/s-2008-1032573.
- Postema P.T., De Herder W.W., Reubi J.C. et al. Somatostatin receptor scintigraphy in non-medullary thyroid cancer. *Digestion* 1996;57(Suppl 1):36–7. DOI: 10.1159/000201391.
- Berenger N., Moretti J.L., Boaziz C. et al. Somatostatin receptor imaging in small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 1996;32A(8):1429–31. DOI: 10.1016/0959-8049(96)00078-0.
- Halmos G., Sun B., Schally A.V. et al. Human ovarian cancers express somatostatin receptors. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(10):3509–12. DOI: 10.1210/jcem.85.10.3509.
- Zimmer T., Stölzel U., Liehr R.M. et al. [Somatostatin receptor scintigraphy and endoscopic ultrasound for the diagnosis of insulinoma and gastrinoma (In German)]. *Dtsch Med Wochenschr* 1995;120(4):87–93. DOI: 10.1055/s-2008-1047641.
- Murabe H., Shimatsu A., Ihara C. et al. Expression of somatostatin receptor (SSTR) subtypes in pituitary adenomas: quantitative analysis of SSTR2 mRNA by reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Neuroendocrinol* 1996;8(8):605–10.
- Kurtaran A., Leimer M., Kaserer K. et al. Combined use of ¹¹¹In-DTPA-D-Phe-1-octreotide (OCT) and ¹²³I-vasoactive intestinal peptide (VIP) in the localization diagnosis of medullary thyroid carcinoma (MTC). *Nucl Med Biol* 1996;23(4):503–7. DOI: 10.1016/0969-8051(96)00031-5.
- Taal B.G., Hoefnagel C.A., Valdés Olmos R.A. et al. Combined diagnostic imaging with ¹³¹I-metaiodobenzylguanidine and ¹¹¹In-pentetreotide in carcinoid tumours. *Eur J Cancer* 1996;32A(11):1924–32. DOI: 10.1016/0959-8049(96)00241-9.
- Schmidt M., Scheidhauer K., Luyken C. et al. Somatostatin receptor imaging in intracranial tumours. *Eur J Nucl Med* 1998;25(7):675–86. DOI: 10.1007/s002590050269.
- Kopf D., Bockisch A., Steinert H. et al. Octreotide scintigraphy and catecholamine response to an octreotide challenge in malignant pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;46(1):39–44. DOI: 10.1046/j.1365-2265.1997.d01-1738.x.
- Garin E., Devillers A., Le Cloirec J. et al. Use of indium-111 pentetreotide somatostatin receptor scintigraphy to detect recurrent thyroid carcinoma

- in patients without detectable iodine uptake. *Eur J Nucl Med* 1998;25(7):687–94. DOI: 10.1007/s002590050270.
25. Valli N., Catargi B., Ronci N. et al. Evaluation of indium-111 pentetreotide somatostatin receptor scintigraphy to detect recurrent thyroid carcinoma in patients with negative radioiodine scintigraphy. *Thyroid* 1999;9(6):583–9. DOI: 10.1089/thy.1999.9.583.
 26. Bernà L., Chico A., Matias-Guiu X. et al. Use of somatostatin analogue scintigraphy in the localization of recurrent medullary thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med* 1998;25(11):1482–8. DOI: 10.1007/s002590050325.
 27. Kouroumalis E., Skordilis P., Thermos K. et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with octreotide: a randomised controlled study. *Gut* 1998;42(3):442–7. DOI: 10.1136/gut.42.3.442.
 28. Virgolini I., Britton K., Buscombe J. et al. In- and Y-DOTA-lanreotide: results and implications of the MAURITIUS trial. *Semin Nucl Med* 2002;32(2):148–55. DOI: 10.1053/snuc.2002.31565.
 29. Fletcher W.S., Lum S.S., Nance R.W. et al. The current status of somatostatin receptors in malignant melanoma. *Yale J Biol Med* 1997;70(5–6):561–3. PMID: 9825484.
 30. Ferone D., Pivonello R., Van Hagen P.M. et al. Age-related decrease of somatostatin receptor number in the normal human thymus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;279(4):E791–8. DOI: 10.1152/ajpendo.2000.279.4.E791.
 31. Pichler R., Maschek W., Crespillo C. et al. Is there a gender difference of somatostatin-receptor density in the human brain? *Neuro Endocrinol Lett* 2002;23(5–6):440–1. PMID: 12500167.
 32. Waldherr C., Schumacher T., Pless M. et al. Radiolabelled somatostatin analogue irradiation of non-iodophil thyroid cancer and conventionally untreatable medullary thyroid cancer using. *Nucl Med Commun* 2001;22(6):673–8. DOI: 10.1097/00006231-200106000-00011.
 33. Fjällskog M.L., Ludvigsen E., Stridsberg M. et al. Expression of somatostatin receptor subtypes 1 to 5 in tumor tissue and intratumoral vessels in malignant endocrine pancreatic tumors. *Med Oncol* 2003;20(1):59–67. DOI: 10.1385/MO:20:1:59.
 34. Sampedro-Núñez M., Luque R.M., Ramos-Leví A.M. et al. Presence of sst5TMD4, a truncated splice variant of the somatostatin receptor subtype 5, is associated to features of increased aggressiveness in pancreatic neuroendocrine tumors. *Oncotarget* 2016;7(6):6593–608. DOI: 10.18632/oncotarget.6565.
 35. Van Den Bossche B., D’haeninck E., De Vos F. et al. Oestrogen-mediated regulation of somatostatin receptor expression in human breast cancer cell lines assessed with ^{99m}Tc-depreotide. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004;31(7):1022–30. DOI: 10.1007/s00259-004-1500-6.
 36. Becherer A., Szabó M., Karanikas G. et al. Imaging of advanced neuroendocrine tumors with (18)F-FDOPA PET. *J Nucl Med* 2004;45(7):1161–7. PMID: 15235062.
 37. Saga T., Shimatsu A., Koizumi K. et al. Morphological imaging in the localization of neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors found by somatostatin receptor scintigraphy. *Acta Radiol* 2005;46(3):227–32. DOI: 10.1080/02841850510021003.
 38. Stahl A., Meisetschläger G., Schottelius M. et al. [¹²³I]Mtr-TOCA, a radioiodinated and carbohydrated analogue of octreotide: scintigraphic comparison with [¹¹¹In]octreotide. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006;33(1):45–52. DOI: 10.1007/s00259-005-1872-2.
 39. Yoshihara A., Isozaki O., Hizuka N. et al. Expression of type 5 somatostatin receptor in TSH-secreting pituitary adenomas: a possible marker for predicting long-term response to octreotide therapy. *Endocr J* 2007;54(1):133–8. DOI: 10.1507/endocrj.k06-133.
 40. de Waal E.G., Slart R.H., Vellenga E. Is FDG PET a better imaging tool than somatostatin receptor scintigraphy in patients with relapsing multiple myeloma? *Clin Nucl Med* 2012;37(10):939–42. DOI: 10.1097/RLU.0b013e3182638e2f.
 41. Rodrigues M., Traub-Weidinger T., Li S. et al. Comparison of ¹¹¹In-DOTA-DPhe¹-Tyr³-octreotide and ¹¹¹In-DOTA-lanreotide scintigraphy and dosimetry in patients with neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006;33(5):532–40. DOI: 10.1007/s00259-005-0020-3.
 42. Gabriel M., Decristoforo C., Kendl D. et al. ⁶⁸Ga-DOTA-Tyr³-octreotide PET in neuroendocrine tumors: comparison with somatostatin receptor scintigraphy and CT. *J Nucl Med* 2007;48(4):508–18. DOI: 10.2967/jnumed.106.035667.
 43. Luboldt W., Zöphel K., Wunderlich G. et al. Visualization of somatostatin receptors in prostate cancer and its bone metastases with Ga-⁶⁸-DOTATOC PET/CT. *Mol Imaging Biol* 2010;12(1):78–84. DOI: 10.1007/s11307-009-0230-3.
 44. Freudenberg L.S., Gauler T., Görge R. et al. Somatostatin receptor scintigraphy in advanced renal cell carcinoma. Results of a phase II-trial of somatostatine analogue therapy in patients with advanced RCC. *Nuklearmedizin* 2008;47(3):127–31.
 45. Taboada G.F., Neto L.V., Luque R.M. et al. Impact of *gsp* oncogene on the mRNA content for somatostatin and dopamine receptors in human somatotropinomas. *Neuroendocrinology* 2011;93(1):40–7. DOI: 10.1159/000322040.
 46. Romiti A., Di Rocco R., Milione M. et al. Somatostatin receptor subtype 2 A (SSTR2A) and HER2 expression in gastric adenocarcinoma. *Anticancer Res* 2012;32(1):115–9.
 47. Casar-Borota O., Heck A., Schulz S. et al. Expression of SSTR2a, but not of SSTRs 1, 3, or 5 in somatotroph adenomas assessed by monoclonal antibodies was reduced by octreotide and correlated with the acute and long-term effects of octreotide. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(11):E1730–9. DOI: 10.1210/jc.2013-2145.
 48. Woelfl S., Bogner S., Huber H. et al. Expression of somatostatin receptor subtype 2 and subtype 5 in thyroid malignancies. *Nuklearmedizin* 2014;53(5):179–85. DOI: 10.3413/Nukmed-0646-14-02.
 49. Brunner P., Jörg A.C., Glatz K. et al. The prognostic and predictive value of sstr2-immunohistochemistry and sstr2-targeted imaging in neuroendocrine tumors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2017;44(3):468–75. DOI: 10.1007/s00259-016-3486-2.
 50. Gronkiewicz Z., Kukwa W., Krolicki L. et al. ⁶⁸Ga-DOTATATE PET in juvenile angiofibroma. *Future Oncol* 2016;12(12):1483–91. DOI: 10.2217/fo-2015-0074.
 51. Kunikowska J., Lewington V., Krolicki L. Optimizing Somatostatin Receptor Imaging in Patients With Neuroendocrine Tumors: The Impact of ^{99m}Tc-HYNICTOC SPECT/SPECT/CT Versus ⁶⁸Ga-DOTATATE PET/CT Upon Clinical Management. *Clin Nucl Med* 2017;42(12):905–11. DOI: 10.1097/RLU.0000000000001877.
 52. Nicolas G.P., Schreiter N., Kaul F. et al. Sensitivity Comparison of ⁶⁸Ga-OPS202 and ⁶⁸Ga-DOTATOC PET/CT in Patients with Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors: A Prospective Phase II Imaging Study. *J Nucl Med* 2018;59(6):915–21. DOI: 10.2967/jnumed.117.199760.
 53. Adams L.C., Bresslem K.K., Brangsch J. et al. Quantitative 3D Assessment of ⁶⁸Ga-DOTATOC PET/MRI with Diffusion-Weighted Imaging to Assess Imaging Markers for Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors: Preliminary Results. *J Nucl Med* 2020;61(7):1021–7. DOI: 10.2967/jnumed.119.234062.
 54. Hope T.A., Calais J., Zhang L. et al. ¹¹¹In-Pentetreotide Scintigraphy Versus ⁶⁸Ga-DOTATATE PET: Impact

- on Krenning Scores and Effect of Tumor Burden. *J Nucl Med* 2019;60(9):1266–9. DOI: 10.2967/jnumed.118.223016.
55. Delpassand E.S., Ranganathan D., Wagh N. et al. ⁶⁴Cu-DOTATATE PET/CT for Imaging Patients with Known or Suspected Somatostatin Receptor-Positive Neuroendocrine Tumors: Results of the First U.S. Prospective, Reader-Masked Clinical Trial. *J Nucl Med* 2020;61(6):890–6. DOI: 10.2967/jnumed.119.236091.
56. Lechner M., Schartinger V.H., Steele C.D. et al. Somatostatin receptor 2 expression in nasopharyngeal cancer is induced by Epstein Barr virus infection: impact on prognosis, imaging and therapy. *Nat Commun* 2021;12(1):117. DOI: 10.1038/s41467-020-20308-8.

Вклад авторов

Е.А. Панкратова, З.С. Шпрах: анализ данных литературы, написание текста статьи и ее обсуждение.

Authors' contributions

E.A. Pankratova, Z.S. Shprakh: analysis of the literature data, writing the text of the review and its discussion.

ORCID авторов / ORCID of authors

З.С. Шпрах / Z.S. Shprakh: <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>

Е.А. Панкратова / E.A. Pankratova: <https://orcid.org/0000-0003-1237-1207>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Financing. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 30.12.2021. Принята к публикации: 14.02.2022.

Article submitted: 30.12.2021. Accepted for publication: 14.02.2022.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2022-21-1-21-32>

Природные гипотетические олигонуклеотидные модификаторы, регуляторы активности и теоретические минимальные РНК-кольца, упорядочивающие процессы экспрессии и модификации генов/генома

А. М. Дейчман

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Александр Маркусович Дейчман amdeich@mail.ru

Специальный гипотетический механизм варибельной поэпитопной обратной трансляции (по крайней мере 2 типов) отдельного эпитопа эукариотической клетки, вероятно, способен воспроизводить первичные линейные (типа сенс-/антисенс-, CRISPR-, повторподобные и др.) и вторичные конформационные (подобные квадруплексным, РНК-шпильчатым, РНК-кольцевым структурам и др.) олигонуклеотидные структуры. Эти структуры формируются в митохондриальной мембраносвязанной супрамолекулярной и содержащей наномолекулярные включения гипотетической частице ретрансломе. Это так называемые нуклеиновые эквиваленты (НЭ) белкового эпитопа, олиго-НЭ, мономерные в ~15–30 и олигомерные в $\sim(15-30)_n$ нуклеотидов, потенциально способные участвовать в регуляции экспрессии (активации, терминации, переключении) и модификации генов/генома, а также в создании белок/ферментсодержащих нуклеопротеидных платформа-/модуль-/комплексподобных образований в нормальных и некоторых патологически измененных (в частности, опухолевых) и вирусинфицированных клетках. Недавно в базах GenBank показаны реально и выстроены/рассчитаны биоинформатически *in silico* минимальные теоретические в ~22 нуклеотида и более длинные РНК-кольцевые (стебель-петлевые) структуры. Их состав зависит от постоянно протекающих химических и ферментативных процессов (в том числе мутаций дезаминирования), а свойства связывают, соответственно, с ранним (эпохи циркулярного кода) и более поздним (эпохи современного универсального кодирования, включающего циркулярный код в качестве составной части) эволюционными периодами становления генетического кода. Принято считать, что с РНК-кольцевыми стебель-петлевыми структурами, схожими с ранее и независимо предложенными олиго-НЭ, связано появление и становление, соответственно, раннеэволюционных (прото-тРНК, прото-рРНК) и современных вариантов молекул-компонентов трансляционной машины митохондрий и цитоплазмы, таких как тРНК, рРНК и мРНК рибосомаассоциированных генов белков.

Ключевые слова: олигонуклеотидный эквивалент эпитопа (олиго-НЭ), механизм варибельной поэпитопной обратной трансляции, стебель-петлевые РНК-шпильки/РНК-кольца, антивирусный ответ, платформа-/модуль-/комплексподобные нуклеопротеидные структуры

Для цитирования: Дейчман А. М. Природные гипотетические олигонуклеотидные модификаторы, регуляторы активности и теоретические минимальные РНК-кольца, упорядочивающие процессы экспрессии и модификации генов/генома. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(1):21–32. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-21-32.

Natural hypothetic oligonucleotide modifiers, activity regulators and theoretical minimal RNA rings ordering processes of expression and modification of genes/genome

Alexander M. Deichman

N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Contacts: Alexander Markusovich Deichman amdeich@mail.ru

A special hypothetical mechanism of variable Individual Epitope Reverse Translation (at least 2 types) of eukaryotic cell is probably capable of reproducing primary linear (sens-/antisense-, CRISPR-, repeat-like, etc.) and secondary conformational (similar to quadruplexs, RNA-hairpins, RNA-ring-structures; etc.) oligonucleotide structures formed in the mitochondrial membrane-bound supramolecular and containing nanomolecular inclusions hypothetical particle of the retransosome. This is the so-called nucleic acid equivalents of protein epitope, oligo-NEs, monomeric in ~15–30 and oligomeric in $\sim(15-30)_n$ nucleotides, potentially capable of participating in the regulation of expression (activation, termination, switching) and modification of genes/genome, as well as in the creation protein/enzyme-containing nucleoprotein platform-/module-/complex-like formations in normal, pathologically altered (in particular, tumor) and virus-infected cells. Recently, in the GenBank databases, they are shown realistically and built/calculated bioinformatically in silico so-called minimum theoretical of 22 nucleotides and longer RNA-ring (stem-loop) structures, the composition of which depends, firstly, on constantly occurring chemical and enzymatic processes (including deamination mutations), and the properties of which, secondly, link, respectively, with the early (era of the so-called circular code) and later (era of modern universal coding, including the circular code as a component) evolutionary periods of the formation of the whole genetic code. It is generally accepted that the emergence and formation, respectively, of early evolutionary (proto-tRNA, proto-rRNA) and modern variants of molecules of the translational machine of mitochondria and cytoplasm is associated with stem-loop RNA-ring structures, similar to independently proposed oligo-NEs, such as tRNA, rRNA and gene products of ribosomal and other proteins.

Key words: oligonucleotide equivalent of epitope (oligo-NE), mechanism variable Individual Epitope Reverse Translation, stem-loop RNA-hairpins/RNA-rings, antiviral response, platform-/module-/complex-like nucleoprotein structures

For citation: Deichman A.M. Natural hypothetic oligonucleotide modifiers, activity regulators and theoretical minimal RNA rings ordering processes of expression and modification of genes/genome. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2022;21(1):21–32. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-21-32.

Введение

Экспрессия генов ДНК-содержащих клеточных органелл (ядра, митохондрий, хлоропластов) эукариот может регулироваться взаимодействием различных участков самих генов (энхансерных, численностью до ~1 млн [1]; промоторных (в онкогенах, рак-ассоциированных и других генах); теломерных; 5'-/3'-нетранслируемых областей; сотен сплайсингзависимых экзон-/интрон- или только экзонсодержащих РНК-кольцевых структур, называемых «микроРНК-губки» [2] и др.) с разными же природными (внутри- и межмолекулярными) и искусственными типами (олиго)-нуклеотидных РНК-/ДНК-последовательностей [3]. Последние гипотетически и реально могут иметь характерные первичные последовательности (такие как сенс-/антисенс-, CRISPR-, праймер-, малые-РНК-, рибопереключател-, аптамерподобные и др.), включая повторяющиеся (микро-/мини-сателлитподобные и др.), и пространственные вторичные/третичные/другие структуры (типа квадруплексных [3], триплексных, дуплексных [4], стебель-петлевых РНК-шпильных, минимальных РНК-кольцевых, выпуклых петель [5, 6] и др.). Эти последовательности отвечают за соответствующие внутри- и/или межмолекулярные взаимодействия [3], связанные с функционированием и переключением активности генов (в том числе, в рамках сигнальных путей). С другой стороны, предлагается гипотетический отдельный механизм вос-

производства тех нуклеотидных/олигонуклеотидных последовательностей и внеклеточных геномов [7–13], которые, предположительно, обладают свойствами реальных/виртуальных триггеров активации/регуляции экспрессии (и модификации) различных генов/генома естественным путем и, возможно, образуют собственные сети, встроенные в сети различных сигнальных путей, включая белковые, генные, а также сети микроРНК, длинных некодирующих РНК и др.

Гипотетический механизм варибельной поэпитопной обратной трансляции отдельного белкового эпитопа

В соответствии с гипотезой, вышеназванные олигонуклеотиды могут появляться в связи с функционированием гипотетического механизма варибельной поэпитопной обратной трансляции (вПОТ-механизма) (его нескольких вариантов [7, 8]). Согласно механизму, белковый эпитопа в ~5–10 аминокислот (чужой или избыточный свой; свободный или в составе фрагмента белка/антигена) преодолевает относительно подвижную внешнюю митохондриальную мембрану и застревает на относительно ригидной внутренней мембране внутриклеточных органелл митохондрий (у хлоропластов принимать участие может и мембрана тилакоидов), часто трудно проникаемой даже для малых ионов. Это может вызывать

по крайней мере энергобиохимический сбой в работе мембраноассоциированных белковых цепочек (в частности, цитохромов, ассоциированных с внутренней мембраной митохондрий) и производстве макроэргов (аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ)/гуанозинтрифосфорной кислоты (ГТФ)) [7, 8, 10, 13]. С участием каждой аминокислоты, последовательно (по порядку) выщепляемой из эпитопа (протеазой/пептидазой), могут быть аминокислоты соответствующие тРНК (при участии антикодонов и/или антикодоновых участков тРНК (Аа-тРНК)-синтеза) из фракции неотделимо/прочно связанных (даже в условиях жесткого лизиса тритоном X-100) с мембраной тРНК, которые и формируют временно удерживаемый на мембране набор рядом расположенных тРНК/(Аа-тРНК) согласно очередности аминокислот эпитопа [14]. При этом в определенный момент и в процессе дыхания мембрана митохондрии испытывает колебания, в результате чего плотно сближенные антикодоны (представляющие собой спиралевидные и, в отличие от остальной части тРНК-последовательности, вывернутые наружу нуклеотиды [15]) и/или антикодоновые участки (а это антикодон вместе с 1–3 соседними нуклеотидами) тРНК/Аа-тРНК могут быть использованы в различных или в одних и тех же клеточных системах по-разному.

Во-первых, сближенные антикодоны, и особенно сближенные антикодоновые участки, могут быть использованы в качестве неидеальных матриц (псевдоматриц [16]) для проявления активности полимераз, например для ДНК-зависимой ДНК-полимеразы (такой как митохондриальная G-полимераза или γ -полимераза (POLG) человека, обладающая свойствами ретротранскрипции, т.е. обратной транскриптазы [6, 10, 17], частичной гомологией к глицил-тРНК-синтазе бактерии *Thermus-Deinococcus* [18] и способностью как считывания, так и замены отдельных рибонуклеотидов на дезоксирибонуклеотиды [10]). Другими такими полимеразами могут быть присутствующие в клетках некоторых эукариот собственные и вирусные РНК-зависимые РНК-полимеразы (RNA dependent RNA polymerases, RdRps). В результате ферментативной активности, как предполагается, возможно воспроизведение (биосинтез) олигонуклеотидного нуклеинового эквивалента (олиго-НЭ) эпитопа – РНК-олиго-НЭ (при действии RdRps) или ДНК-олиго-НЭ (в случае POLG) – с длиной в диапазоне: минимальный – в $\sim 15–30$ нуклеотидов, олигомерный – в $\sim (15–30)_n$ нуклеотидов, где n равно от 2 до нескольких единиц [7, 8].

Во-вторых, Аа-тРНК могут быть использованы в качестве объектов (еще более неидеальных матриц/псевдоматриц) эндонуклеазной-(разрез)/лигазной-(сшивки) активностей, т.е. со следующими друг за другом сначала вырезанием и затем сшивкой их в еди-

ные слитные последовательности и воспроизведением по крайней мере гипотетических РНК-олиго-НЭ [7, 8]. Вероятно, данный (примитивный) вариант вПОТ-механизма мог возникнуть раньше полимеразозависимого варианта. Но не исключено, что по крайней мере у содержащих митохондрии эукариот могут функционировать оба варианта, так как современный двухкомпонентный универсальный генетический код (УГК) в качестве второй компоненты (а хронологически, возможно, первой) может включать так называемый реликтовый циркулярный код [5, 6] (см. ниже).

Эти последовательности потенциально могут формировать естественные нуклеопротеидные платформа-/модульподобные стабилизированные и гибкие комплексы с характерными вышеназванными линейными/первичными (сенс-/антисенс-, различного типа повторов, CRISPR-подобными, праймер-подобными и др.) и пространственными вторичными/третичными/другими (типа квадруплексных, триплексных, дуплексных, стебель-петлевых шпильных, выпуклых петель и др.) структурами. Не исключено, что такие олигонуклеотидные структуры потенциально могут принимать участие в большинстве (если не во всех) молекулярно-генетических/биохимических процессов, сигнальных путей и формировать свои собственные сети.

Можно предположить, что за взаимодействие с олиго-НЭ-структурами и последовательностями (разными их типами), потенциально способными участвовать в формировании и регуляции метаболизма, модификации (редактирование, мутации, полиморфизм) нуклеиновых кислот (ДНК/РНК), могут конкурировать, во-первых, транскрипты. Во-вторых, это может относиться к геномам некоторых ДНК-содержащих клеточных органелл эукариот (ядра, митохондрии и хлоропласты); архебактерий/прокариот; присутствующих в клетке ДНК- и РНК-вирусов (в том числе гриппа, коронавирусов, включая SARS-CoV-2, вируса иммунодефицита человека и др.). Также не исключено, что это может касаться частиц, образованных ДНК-/РНК-нуклеиновыми кислотами (вирусоподобных, плазмид, а также способных к экспрессии природных и биотехнологически воспроизведенных ДНК-/РНК-векторов), участвующих в ряде нормальных и патологических процессов, в том числе связанных с онкологическими, генетическими, инфекционными (включая прионовые) и другими заболеваниями.

Место действия вПОТ-механизма: гипотетическая ретранслома

Предположительно функционирование гипотетического механизма в митохондрии происходит в мембраноассоциированной самоорганизующейся

(динамически преобразующейся), комплексформирующей и содержащей наномолекулярные включения супрамолекулярной частице ретрансломе (в определенном смысле сама частица может быть аналогом или компонентом платформа-/модульподобной комплексной структуры). Внутри структуры, вероятно, включаются физико-химические взаимодействия лабильных молекулярных ансамблей, межмолекулярных низкоэнергетических нековалентных связей (гидрофобных, гидрофильных, ионных, ван-дер-ваальсовых, диполь-дипольных, координационных, донорно-акцепторных, электростатических взаимодействий и др.) [7–9], а также взаимодействия электронных оболочек нескольких отдельных элементов такой системы, которые могут попеременно обобществляться за счет сброса избытка одних и поглощения других наборов различных фотонов [7, 8, 19, 20]. Последние (наборы фотонов) могут быть неучтенными компонентами (посредниками) в процессе формирования современного УГК [19, 20].

Предполагается, что расположенная на мембране органеллы (митохондрий, хлоропластов) ретранслома может включать ряд различных активностей (таких как пептидазная, протеиназная, эндонуклеазная, экзонуклеазная, ДНК-/РНК-полимеразные, лигазная, др.) и вышеназванные олигонуклеотидные структуры. Вероятно, представленная как потенциально поликомпонентная частица, ретранслома может функционировать совместно с мембраносвязанными фракциями рибосом митохондрий/хлоропластов, обеспечивая сопряженность обратно-транслирующих и стандартно-транслирующих процессов в различных системах, или даже являться их частью [7, 8, 19]. Подобно самой ретрансломе, продукты гипотетического вПОТ-механизма (олиго-НЭ) потенциально также могут участвовать в формировании отдельных компонент различных платформа-/модульподобных структур, включая, например, такие их элементы, как РНК- и РНК-/ДНК-редактирующие и модифицирующие комплексы (и другие подобные образования) на основе, в частности, химического и ферментативного типов аденозин-/цитозин-дезаминирования.

РНК-кольца, дезаминирование и градиенты дезаминирования

Ферментативное дезаминирование по отношению к множеству случайно-стохастических химических изменений нуклеотидов генома представляется относительно нейтральным, а в некоторых случаях даже направленно востребованным изменением. Двойное сочетание ферментативных ($A \rightarrow G$ и $C \rightarrow U/T$) видов дезаминирования и химических изменений (см. ниже) нуклеотидов связано с разными же типами РНК-кольцевых структур (базируется на данных

GenBank и результатах опытов *in silico*) [5, 6]. Анализ показал существование градиентов дезаминирования по множеству нуклеотидных позиций, что было неожиданно, так как минимальные теоретические РНК-кольца были разработаны в целом в соответствии с правилами современного универсального кодирования (хотя и с некоторыми ограничениями, см. далее), но одновременно оказались соответствующими перекрывающемуся, максимально разнообразному древнему циркулярному коду, причем в последовательностях с минимально возможной для построения РНК-кольца длиной (в ~ 22 нуклеотида; см. далее). К чисто химическим изменениям здесь относятся: $A \rightarrow G$ и $C \rightarrow U/T$ -типы дезаминирования и более широкие/обратимые $A \leftrightarrow G$ и $C \leftrightarrow U/T$ -типы изменений (схожие с так называемыми свингеровскими изменениями нуклеотидов 23 типов [21]). Также обнаружено множество иных типов изменений нуклеотидов со свойствами: таутомерии нуклеотидов в дуплексных структурах с неканоническим спариванием; разноскоростного окисления гуанина с выходом на разные продукты в однонитевой, дуплексной и квадруплексной ДНК; пулов свободных нуклеотидов, спонтанно включающих возникающий 8-оксогуанин, который в ДНК встраивается комплементарно С и А нуклеотидам [5, 6].

Вероятно, и судя по характеру градиентов дезаминирования ($C \rightarrow T$ и $A \rightarrow G$), особенно вторичных, разработанные *in silico* минимальные/теоретические (стебель-петлевые/РНК-шпильчатые) РНК-кольца соответствовали тем их природным вариантам, которые начали возникать более рано, возможно возникают до сих пор и имитируют самые ранние (примордиальные) кодирующие РНК. Они способны вмещать большее количество информации о фактических процессах и истории механизма молекулярной трансляции, соответствующих структуре циркулярного кода и исходя из ситуации, в которой каждый из 22 нуклеотидов РНК-кольца мог быть выбран в качестве 1-го или последнего нуклеотида.

РНК-кольца обладают определенными свойствами [5, 6]. На данный момент основным ограничением является необходимость соответствия аминокислот кодомам стандартного УГК. Градиенты дезаминирования внутри этих структур зависят от расположения к ориджну репликации (легкой цепи митохондрий, O_L), подразумевается, что в петле шпильки ориджна градиенты появляются по причине связывания ориджна с митохондриальной POLG при репликации. А при связывании с полимеразой градиенты появляются в области, соответствующей антикодону РНК-кольца, т.е. там, где начинается естественная репликация (полимеризация). С другой стороны, в роли ориджна репликации в некоторых случаях могут выступать тРНК-кодирующие области

митохондриальной ДНК (мт-тДНК), что объясняет подобие взаимодействия полимеразы с обеими схожими структурами [5, 6].

Ранние и поздние РНК-кольца, дезаминирование и кодирование

Возможно, что РНК-кольца, имеющие некоторую гомологию с петлями тРНК, — это аналоги первых, более ранних и имитирующих примордиальные, минимально-кодирующие и самовоспроизводящиеся РНК консенсусного типа (предположительно прото-тРНК), обладающие соответствующим антикодонным и адаптерными свойствами [5, 6]. Существуют более 40 гипотез о порядке интеграции аминокислот генетическим кодом [22], каждая из которых проверялась/ранжировалась в отношении каждой же из 22 нуклеотидных позиций в РНК-кольцах, для обеих гипотез гомологии (с тРНК и с ориджном репликацией) и для обоих же (A→G и C→T) типов дезаминирования. Одновременно существует представление, что тРНК, прежде чем стать специфическими трансляционными адаптерами, были использованы в репликации [23] (что не противоречит представлениям о реликтовом механизме совместной [24] или аминокислота-управляемой [25] репликации/трансляции). Такие РНК-кольца могли включать как минимум кодирование каждой (не менее 1) отдельной природной аминокислоты (из ряда 20 стандартных и 2 из 3 нестандартных), а также 5'-старт-, и 1 из 3 3'-концевых стоп-кодонов. Вероятно, они могут кодировать также и короткие, до 3–5 аминокислот, пептиды, свойства которых сходны с таковыми для природных белков. Ограничение длины (минимизация до 22 нуклеотидов) подразумевает, что моделируемый код, который имеет суммарно 20 кодонов для 20 стандартных аминокислот и еще 2 кодона для старт-/стоп-сигналинга, должен эволюционировать в частично перекрывающийся (т.е. циркулярный) генетический код. Тогда 3 последовательных цикла трансляции частично перекрывающихся (при сдвиге рамки на 1 нуклеотид) кодонов дают предсказанные пептиды, содержащие по одному остатку каждого вида аминокислот [5, 6].

Всего, теоретически и в рамках предложенных ограничений, было обнаружено/создано *in silico* 25 тех РНК-колец [5], которые потенциально и реально могли: 1) быть первичными РНК (т.е. соответствовали примордиальной последовательности тРНК, возможно полученной из 2 половинок тРНК [26], относимых к древним РНК-молекулам эпохи РНК-мира (RNA world), из которых далее могли формироваться части рРНК-молекул [5]); 2) относиться к предковому минимальному набору генов примитивных клеток и примитивной трансляции (безрамочной, безрибосомной, безантикодонной; соответ-

ствует циркулярному коду, ориентированному на кодон аминокислоты). Эти 2 свойства коррелировали с ~64 % колец РНК *in silico* (и GenBank) [5, 6]. Примитивная трансляция характеризовалась перекрывающимися, с шагом в 1 нуклеотид, кодонами (равнозначно однонуклеотидному сдвигу рамки считывания) и стремилась к использованию родственных кодонов в отношении так называемых ранних аминокислот, связанных с теоретическими минимальными РНК-кольцами, вероятно содержащими информацию о неизвестной части эволюции раннего генетического кода [5, 6]. Такие кольца тяготеют к расположению в 3'-терминирующих областях генов, фолдинг которых, предположительно, обеспечивал большую конформационную стабильность (остальные кодоны, более поздних аминокислот, считают больше связанными с 5'-областями генов). Частота встречаемости кодонов ранних аминокислот далее сохранялась среди кодонов уже более поздних аминокислот. Теоретические минимальные (ранние) и поздние РНК-кольца могут представлять собой открытые рамки считывания, с которых транслируются пептиды, содержащие градиенты ранних (ориентированных при трансляции на кодон аминокислоты) и эволюционно более поздних (ориентированных на антикодон родственной тРНК) аминокислот. В современных генах белков с определенной частотой представлены части РНК-колец. Например, в генах тРНК-синтетаз организмов всех суперцарств и гигантских вирусов РНК-кольцевых фрагментов с родственными кодонами ранних аминокислот больше, чем таковых для поздних аминокислот [5, 6].

С другой стороны, обнаружено еще одно ассоциированное с включением в минимальные теоретические РНК-кольца (а в итоге в последовательность генов) свойство: включение кодонов предполагаемой эволюционной шкалы можно классифицировать в соответствии с направленной асимметрией (codon directional asymmetry, CDA) расположенных в них пуринов/пиримидиновых нуклеотидов (состоящих, соответственно, из X-пуринов и Y-пиримидинов) [6]. Показано существование накоплений 3 типов кодонов: палиндромных (со структурой кодонов YXY-типа; CDA = 0), 5'-доминантных (со структурой кодонов YXX-типа; CDA < 0; в среднем характерно для предпочтительного включения более ранних аминокислот в 3'-терминирующие области генов) и 3'-доминантных (со структурой кодонов XXY-типа; CDA > 0; в среднем характерно для предпочтительного включения более поздних аминокислот в 5'-области генов). В целом использование кодонов в теоретических минимальных РНК-кольцах постепенно смещается в сторону баланса и накопления аминокислот в направлении от ранних к поздним типам.

Необходимо отметить, что использование кодонов транслируемых областей генов современных организмов (и по сравнению с нетранслируемыми) смещено в сторону 20 кодонов, называемых группой симметрии X0 (соответствует современному кодированию и поздним РНК-кольцам). У эукариот/прокариот X0-тринуклеотиды в большинстве случаев представлены парами аутокомплементарных (часто антикомплементарных) кодонов в 2 группах по 10 кодонов: (AAC, AAT, ACC, ATC, ATT, CAG, CTC, CTG, GAA, GAC) и (GAG, GAT, GCC, GGC, GGT, GTA, GTC, GTT, TAC, TTC). Эти кодоны соответствуют двум же группам частично повторяющихся аминокислот: (Asn, Asn, Thr, Ile, Ile, Gln, Leu, Leu, Gln, Asp) и (Glu, Asp, Ala, Gly, Gly, Val, Val, Val, Tyr, Phe). Или (сжато) здесь представлены 12 возможно базовых аминокислот (Asn, Thr, Ile, Gln, Leu, Glu, Asp, Ala, Gly, Val, Tyr, Phe), появившихся в эпоху циркулярного кода, но используемых и в современном генетическом коде [6]. Кодоны этих аминокислот ассоциированы со способностью D-РНК дифференцировать энергоконформационные (стереохимические) различия между L- и D-аминокислотами и участвовать в формировании специфических свойств: из них формируется циркулярный код, свойства которого позволяют извлекать кодирующую рамку считывания при рибосомной трансляции (*in silico* и реально) [27].

Такой код, образованный 64 тринуклеотидными кодонами (за исключением гомополимерных AAA-, CCC-, GGG- и TTT-кодонов, не связанных с направленной асимметрией) и имеющий 3 стоп-кодона, является максимальным, так как ни один циркулярный код, допускающий сдвиг рамки дважды, не может включать более 20 аминокислот [6]. Также существуют кодоны и других групп симметрии – X1 и X2, связанные, соответственно, с (+1)- и (+2)-сдвигами рамки считывания (по отношению к X0-группе), со схожими свойствами и, вероятно, своими отдельными РНК-кольцами. Например, ранние РНК-кольца тяготеют к спонтанному накоплению кодонов группы X1, тогда как постепенный переход к поздним РНК-кольцам сопровождается накоплением кодонов современной группы X0 [6]. Как бы 3 группы кодонов ни соотносились в прошлом, а появление разных нуклеотидов (с порядком очередности: аденин, затем гуанин, далее цитозин и (последние) тимидин/уридин) и кодонов на их основе [28], аминокислот и кодирование одних другими не было одномоментным событием, в настоящее время они все могут составлять части единого УГК.

РНК-кольца, градиенты дезаминирования, эволюционные процессы и олиго-НЭ

В митогеноме градиенты дезаминирования отражают такие распределения нуклеотидов, кодонов,

антикодонов тРНК, аминокислот и адаптивное позиционирование генов (относительно точки отсчета: ориджнов репликации), которые минимизируют деструктивные действия этих градиентов (мутаций). Кроме того, обнаружение одних градиентов (A→G), определенных, в частности, на основе митогеномных полиморфизмов человека, труднее других (C→T), располагающихся в направлении, противоположном ожидаемому [6]. РНК-кольцевые структуры наиболее сильно отражают/имитируют градиенты дезаминирования, замедляют деграцию в условиях, подобных пребиотическим, имеют гомологию первичных и сходство вторичных структур с тРНК и ориджнами репликации (структурно схожих с антикодоновыми петлями соседних генов тРНК). Изначально ранние минимальные РНК-кольца появлялись чаще всего на фоне и в связи с химическими изменениями/мутациями нуклеотидов, предпочтительно по третьим позициям кодонов в одонитевой ДНК. Вероятно, это соответствует стадии становления циркулярного кода внутри митохондриального – до появления, а затем и расположения его внутри универсального ядерно-митохондриального генетического кодирования. Скорости/частота специфических мутаций одиночных нуклеотидов, включая дезаминирование и делеции, определяются рядом параметров: конкретным нуклеотидом, его 5'-/3'-контекстным позиционированием, временем пребывания мтДНК в уязвимом одонитевом (или, наоборот, в защищенном дуплексном) состоянии; расположением генов относительно ориджнов-регуляторов (репликационного и транскрипционно-трансляционного аппаратов) [6, 29, 30]; температурой, рН и другими физико-химическими факторами. Это касается, в частности, C→T-дезаминирования и T→C-мутаций нуклеотида в 1-й/2-й позициях кодона (но не в 3-й, где превалируют синонимичные мутации). Следует иметь в виду, что пребиотическая молекулярная система со временем становится более сложной, эволюционируя в сторону большей защиты от физико-химической деградации при дезаминировании. Это согласуется с гипотезой о том, что поздние РНК-кольца сильнее защищены от дезаминирования, градиенты которого нарастают внутри колец, начиная с антикодонов или сразу после них. А в более ранних пребиотических РНК-кольцах преобладает спонтанное химическое (неферментативное) дезаминирование, градиенты которого нарастают в результате накопления продуктов дезаминирования при генезисе генетического кода [6].

Поэтому структура более поздних и более сложно выстроенных РНК-колец, как и уменьшенные градиенты их дезаминирования, т. е. более развитые механизмы защиты от мутаций, больше соответствуют более сложно организованному ферментативному

дезаминированию. Более поздний период совместного существования обоих видов дезаминирования (химического и ферментативного) и обоих видов РНК-колец (ранних и поздних), вероятно, соответствуют этапу продолжающегося взаимного встраивания обоих генетических кодов (циркулярного кода и УГК) друг в друга [6].

Мы можем констатировать, что это было бы похоже на принцип тройного дуализма (когда имеются 2 вида дезаминирования, 2 вида РНК-колец и 2 вида/этапа становления генетического кода), если бы не следовало сделать еще одно предположение: сложность платформа-/модуль-/комплексподобных структур в эпоху перехода от ранних РНК-колец к более поздним РНК-кольцам может быть различной и, по-видимому, нарастающей. Такое нарастание, в частности, может быть связано с эволюционно-динамическим перераспределением долей участия каждого из 2 видов гипотетического вПОТ-механизма (полимеразозависимого, требующего более сложных комплекс-матрицеподобных структур, и примитивного, полимеразонезависимого). Причем до эпохи взаимозависимого существования всех 3 компонент современного генетического кода (аминокислот, РНК- и ДНК-нуклеотидов/кодонов) химические вещества-реагенты могли начать выстраивание взаимодействий с каждой из компонент кода по отдельности (т.е. с олигорибо-, олигодезоксирибо-нуклеотидами и с небольшими пептидами, что соответствует эпохам формирования РНК-, ДНК- и белкового миров). По-видимому, в связи с этим свойством кода смогли появиться модульные структуры так называемых клик-технологий, основанных, в частности, на гарантированном сближении пары комплементарно взаимодействующих ДНК-олигонуклеотидов, которые, во-первых, привязаны к вариабельным участкам каждого из 2 Y-образных ответвлений иммуноглобулинов (IgGs), и, во-вторых, каждый из пары ДНК-олигонуклеотидов связывает 1 из 2 взаимодействующих реагентов своими концевыми участками, которые при сближении способны активировать химические реакции, в частности азид-алкиновое циклоприсоединение и лигирование амидофосфатов [31].

Формально и безотносительно к временному этапу 2 вида РНК-колец (ранних, затем ранних/поздних) соответствуют поочередному и совместному существованию минимальных же олиго-НЭ, в ~15–30 нуклеотидов, и расширенных олиго-НЭ, в ~(15–30)_n нуклеотидов [7, 8]. Важно, в том числе и в эволюционном смысле, что из некоторых конформационных типов олиго-НЭ потенциально и теоретически (не исключено) до настоящего времени могут формироваться стебель-петлевые РНК-шпилечные структуры как ранних/минимальных теоретических РНК-колец

(длиной в ~22 нуклеотида, в системах с типом взаимодействия аминокислота/кодон), так и более протяженных поздних РНК-колец (в системах с типом взаимодействия аминокислота/антикодон/кодон) [6]. Необходимо заметить, хотя и без детализации, что эволюционно самые ранние этапы формирования подобных структур могли быть связаны с наиболее ранним вариантом вПОТ-подобного механизма, ассоциированным, в частности, с фотонзависимыми кристалл-/жидкий кристаллсодержащими биомолекулярными квазикристаллическими, затем мембраноподобными доклеточными/раннеклеточными и далее мембранными митохондриальными (клеточными) структурами [19].

РНК-кольца, подобные рРНК-структурам и олиго-НЭ

Реже РНК-кольца напоминали рРНК (рибосомоподобный компонент трансляции). Таким рРНК-подобным РНК-кольцам, вероятно более поздним структурам, приписывают склонность реже кодировать собственные пептиды, но больше специализироваться на биосинтезе белка других РНК, предпочтительно в отношении более поздних аминокислот [5]. Условный список аминокислот от более ранних к более поздним и в соответствии со стереохимическими кодон/антикодоновыми предпочтениями ими в ахиральной среде может быть следующим: E, L, T, I, K, G, V, P, A, R, S, Y, H, N, Q, D, M, F и W (C не включен, так как не обнаружил предпочтительных контактов). В свою очередь, в хиральной среде предпочтения L-аминокислот в отношении D-нуклеотидов (древнее свойство живого органического вещества) связаны в том числе и со стереохимическими компонентами физико-химических взаимодействий. Тогда тот же список в соответствии с предпочтительностью в хиральной среде (за исключением глицина, G, который не содержит энантиомеров) предстает в ином порядке: E, D, N, F, Q, S, C, A, M, T, V, L, I, R, P, Y, W, H и K [5]. Обе эти структуры, тРНК- и рРНК-подобные образования, и отдельные части тРНК (в том числе блоки половинок тРНК [26]), как и древние прото-рРНК, совмещающие в себе одновременно функции рРНК, тРНК и белков (т.е. рудиментарного генома, что показано на примере 16S и 23S рРНК, входящих в состав, соответственно, малой (30S) и большой (50S) субъединиц прокариотических рибосом и содержащих нуклеотидные фрагменты, гомологичные ко всем видам тРНК и таким белкам, как полимеразы, лигазы, синтазы и фосфатазы) [32]), могли быть предшественниками последующего этапа формирования современной рибосомной трансляции [5].

Последняя, как считают, стала опосредованной уже и антикодонами тРНК (в отношении родственных,

более поздних аминокислот) и включает также и неперекрывающиеся кодоны и рибосомные белки, т. е. современные же тРНК, рРНК и белковые молекулы. Наборы теоретических минимальных РНК-колец разных типов, имитирующих сложные эволюционные паттерны, могут реально отражать макроэволюционный переход от безрамочной, и, видимо, самой древней системы трансляции к современной рибосомной трансляции. Связано это, возможно, с тем, что по свойствам они реально близки к таковым в популяциях предковых РНК [5, 6]. Описанное выше, вероятно, может указывать на постепенный переход от эпохи циркулярного кода к эпохе перехода к УГК, включающему циркулярный код как составную свою часть. Несмотря на то что теоретические минимальные РНК-кольца являются искусственными конструкциями, возникшими в результате теоретического эксперимента, они могут содержать информацию о происхождении жизни (обоими, биогенным и/или абиогенным путями) [6].

В вопросе о происхождении генетического кода, ассоциированного с РНК-кольцами, авторы не выходят за рамки физико-химических структур и взаимодействий и просто констатируют, что всех причин, определяющих генетический код, они не знают [6]. В то же время существуют представления о возможной существенной роли чисто физических факторов, таких, например, как потоки фотонов (не одинаковых по своим энергетическим и спиновым характеристикам, включая виртуальные фотоны) и некоторых других связанных с ними элементарных частиц. Этот аспект в отношении схожих с минимальными РНК-кольцевыми структурами, т. е. в связи с минимальными же олиго-НЭ, уже частично обсуждался [19] (выходит за рамки данной статьи). Кроме того, описывалось, что продукты гипотетического вПОТ-механизма, т. е. некоторые линейные и конформационные олиго-НЭ-структуры (подобные РНК-кольцевым структурам), могут участвовать в процессах регуляции метаболизма и экспрессии и/или модификации генов/генома (включая РНК/ДНК-редактирование). Выше замечено, что потенциально среди линейных и конформационных олиго-НЭ-структур могут быть подобные и тропные: к фрагментам определенных сенс-/антисенс-последовательностей генов/генома; к различного типа повторам (включая мини-/микросателлитные); к ряду структур, являющихся частью: РНК/ДНК-редактирующих-CRISPR-, праймерных, малых/микроРНК, аптамерных/рибопереключательных, квадруплексных, дуплексных, триплексных, экранирующих [7–13, 16], а также последовательностей длинных некодирующих РНК [33]. В совокупности недавние данные о РНК-кольцевых структурах (минимальных, теоретических и др. (с 2019 г.) [5, 6]) свидетельствуют о возможных взаимосвязи/

взаимосоответствии и одновременно являются косвенным подтверждением возможности формирования и функционирования независимо и ранее предложенных первичных/вторичных структур олиго-НЭ (с 1993 г. [9] и далее [7–8, 10–13, 16]) в качестве выполняющих функции как пластического материала (модификаторов/мутаторов), строительных блоков, так и регуляторов экспрессии и переключателей активности генов/генома.

РНК-кольца, полимеразы и тРНК-синтазы

РНК-кольца могут быть связаны с историей происхождения не только тРНК и рРНК [5, 6, 26], но и родственных им полимераз и тРНК-синтаз (т. е. в виде фрагментов входят также в состав генов белков) [6, 18]. Вышесказанное находится в соответствии: 1) с предположением, что это эволюционное соотношение является одним из определяющих развитие генетического кода (в частности, касается гомологии между бактериальной, *Thermus-Deinococcus*, глицил-тРНК-синтазой и POLG митохондрий человека [18]); 2) с правилом использования митохондриальных сигналов, являющихся общими для репликации и транскрипции/трансляции [6, 34]. Это соответствует тому, что РНК-кольца ассоциированы с некоторыми известными свойствами схожести транспортных РНК с оридждами репликации, которые, как и РНК-кольца, содержат стебель-петлевые РНК-шпильки (включая антикодон) [35], способные осуществлять переключающую регуляцию репликационной и транскрипционно-трансляционной биомолекулярных машин при переходе, соответственно, от репликации к режиму транскрипции/трансляции и наоборот [34]. В свою очередь, это обусловлено эволюционной связью между тРНК-синтазами, которые для правильной загрузки тРНК распознают в них антикодоны родственной аминокислоты, и митохондриальной POLG [18], инициирующей репликацию также после связывания с антикодоном в стебель-петлевом участке петлеподобных структур митохондриальных O_L -ориджнов репликации, имитирующих соответствующий антикодоновый сайт в антикодоновой петле тРНК [36]. Видимо, по этой причине первичное появление градиентов дезаминирования в РНК-кольцах ассоциировано с антикодонами.

Возможная связь олиго-НЭ с врожденным антивирусным ответом

Интересно, что формально (отчасти фактически) схожие с платформа-/модуль-/комплексподобными нуклеопротеидными структурами агрегаты олигомерных, а затем и конгломераты высокополимерных (устойчивых к детергентам/протеазам) белковых структур/волокон (в том числе усеченных и с прионподобными доменами взаимодействия), образуются

на внешней мембране митохондрий, в частности при врожденном антивирусном иммунном ответе [37, 38]. В этом случае реализуется режим механизма самосохранения, усиления каскада разноуровневой передачи сигналов и запуска процессов воспаления, когда, во-первых, взаимодействует большой ряд белков и комплекс образуется из длинной (прежде всего) и усеченных версий адаптерного определяющего белка-интегратора MAVS, а также из RIG-I/подобных (MDA5, LGP2) геликаз; РНК-распознающих TLRs/PRRs белков-рецепторов; TBK1/IKKε и других киназ; транскрипционных факторов IRF3 и NF-κB, контролирующих, соответственно, синтез интерферонов (альфа, бета, белков интерферон-стимулируемых генов, ISGs) и экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла; многих белков инфламмосомы (полипротеинового олигомерного комплекса, отвечающего за активацию воспалительного ответа), включая каспазы и др. (всего из более чем 30 белков) [37]. Во-вторых, необходимо взаимодействие с микродозами (достаточно всего ~20 молекул) РНК-вируса (например, гриппа или HTLV-1, соответственно, быстро и медленно развивающихся РНК-вирусных инфекций, часто подверженных межвидовой передаче).

Такое количество вируса сопоставимо с фоновым уровнем собственных РНК-сигналов, которые при отсутствии специальных блокирующих структур могут вызывать аутоиммунную реакцию на фоне нарушения мембранного потенциала, протонного и электронного переносов и воспроизводства митохондриями макроэргов (АТФ/ГТФ) [37]. При отсутствии инфекций (РНК-вирусов) накоплений агрегатов с участием нативных версий MAVS *in vivo* не происходит, так как множество усеченных изоформ MAVS (с 1 из 6 метионинов N-конца CARD-домена) вызывают митофагическую деградацию агрегатов (Nix-зависимую; Nix-блокирование, наоборот, агрегаты стабилизирует), которые ликвидируются при селективной аутофагии (с участием мт-PINK1-киназы и Parkin-E3-убиквитин-лигазы). Аутофагия является элементом механизма контроля качества и удаления тех митохондрий (вместе с убиквитинированными белками наружной мембраны), которые повреждены агрегированными белками или активными формами кислорода. В таких митохондриях нарушены мембранный потенциал, протонный и электронный переносы и воспроизводство АТФ/ГТФ [37]. Кроме того, при отсутствии инфекций гомотипические взаимодействия C-концевых ТМ-доменов эндогенного MAVS и его N-усеченных изоформ стабилизируются и предотвращают образование спонтанных агрегатов и последующую деградацию MAVS, выполняя тем самым доминант-негативную роль (подобно тому, как C-концевые фрагменты белка PrP замедляют прогресс-

сирование и образование патологических прионов PrPSc). При инфекции доминирует другое гомотипическое взаимодействие – между N-концевыми CARD-доменами MAVS и лишенным усеченных форм и повышено экспрессирующимся нативным эндогенным MAVS, когда спонтанно образуются агрегаты, формируются интерфероновый ответ и трансдукция эффективного антивирусного сигналинга [37, 38]. Таким образом, при наличии и отсутствии РНК-вирусных инфекций один и тот же интактный эндогенный MAVS взаимодействует либо с различными своими доменами, либо с доменами усеченных форм MAVS, соответственно вызывая спонтанную стабилизацию MAVS-агрегатов (на фоне интерферонового ответа и антивирусного сигналинга с последующим разрушением вирусосодержащего комплекса) или предотвращая ее.

В контексте вышесказанного можно предположить, что в некоторых случаях олиго-НЭ могут выполнять разные роли прямо или опосредованно: 1) оказаться тем самым собственным фоновым РНК-сигналом (см. выше), который при отсутствии вируса взаимодействует с блокирующими аутоиммунную реакцию факторами и предотвращает образование структур типа агрегатов/конгломератов; 2) быть блокирующим (экранирующим) агентом, который закрывает для взаимодействующих белковых и/или нуклеотидных компонент комплекса важные участки и тем самым регулирует каскад программируемых реакций; 3) быть регуляторной структурой (если он является, например, переключающей квадруплек-подобной G-тракт-богатой виртуальной триггерной структурой репликационно-транскрипционной машины [3, 16]); 4) олиго-НЭ потенциально могут также участвовать: в формировании усеченных форм MAVS (необходимых для стабилизации и деградации комплексов с олигомерными агрегатами, высокополимерными конгломератами, структурированными белковыми волокнами) и регуляции, в частности, врожденного антивирусного ответа; в регуляции экспрессии каждого из белков-участников (их несколько десятков) антивирусного ответа и тем самым в формировании/блокировании образования нуклеопротеидных платформа-/модуль-/комплексподобных структур; не только в РНК-антивирусном ответе, но и в переключении и взаимной координации с другими тесно связанными типами иммунного ответа (т.е. в кооперации с В-/Т-клетками, макрофагами, дендритными клетками, нейтрофилами и др.).

Заключение

Таким образом, можно видеть, что с митохондриальной мембраной, наружной и внутренней, помимо прочих компонент, связаны, по крайней мере факультативно, 3 содержащих фрагменты нуклеиновых кислот макроструктуры: 1) связанные с MAVS-зависимым

врожденным РНК-антивирусным иммунным ответом (наружная мембрана); 2) мембраносвязанная фракция митохондриальных рибосом (внутренняя мембрана) вместе с мембраносвязанной фракцией тРНК; 3) гипотетические мембраноассоциированные ретранслосома и вПОТ-механизм, необходимые для воспроизводства различных линейных/конформационных олиго-НЭ. Ранее допускалось, что по крайней мере 2 из них, т.е. фракция мембраносвязанных рибосом и гипотетическая ретранслосома, могут функционировать сопряженно. Рибосома реально является нуклеопротеидной платформа-/модуль-/комплексной структурой (так как содержит сложно организованные вторичные и третичные рРНК-структуры и десятки рибосомных белков большой и малой субъединиц рибосом). А гипотетическая комплексформирующая (иногда супрамолекулярная) ретранслосома, содержащая множество белковых компонент, предполагаемые нуклеиновокислотные, по крайней мере наномолекулярные включения олиго-НЭ, в ряде случаев может как таковой структурой становиться, так и сопряженно взаимодействовать с MAVS-зависимой системой, опосредующей врожденный, в частности РНК-антивирусный иммунный ответ, являющийся только одной из частей сложно разветвленного (и иногда параллельно развивающегося) целого иммунного ответа.

Все 3 макроструктуры, во-первых, помимо первичных линейных, предположительно, могут также содержать и вторичные конформационные стебель-петлевые РНК-шпилечные РНК-кольцевые, в том числе 22-нуклеотидные ранние минимальные теоретические и/или поздние РНК-кольцевые структуры. Такие структуры являются вероятными аналогами олиго-НЭ (продуктов современного варианта гипотетического вПОТ-механизма), также представляющих собой первично-линейные и вторично-конформационные структуры. Во-вторых, считается, что РНК-шпилечные/РНК-кольцевые структуры (в том числе, вероятно, и в составе олиго-НЭ) являются базовыми и необходимыми не только для регуляции экспрессии и физиологической коррекции, но и для продолжающегося в эволюции поддержания и формирования генов/генома (прежде всего тРНК, затем рРНК, и далее генов белков; а также некодирующих повторяющихся и других областей), состав которых регулируется, в частности, химическим или совместно химическим/ферментативным типами дезаминирования (тип мутации, полиморфизма), соответственно, при формировании, начиная с ранних этапов в рамках циркулярного кода, а далее — в рамках современного УГК, в котором циркулярный код может быть встроенным в качестве составной его части.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Li W., Notani D., Rosenfeld M.G. Enhancers as non-coding RNA transcription units: recent insights and future perspectives. *Nat Rev Genet* 2016;17(4):207–23. DOI: 10.1038/nrg.2016.4.
- Panda AC. Circular RNAs act as miRNA sponges. *Adv Exp Med Biol* 2018;1087:67–79. DOI: 10.1007/978-981-13-1426-1_6.
- Долинная Н.Г., Оглоблина А.М., Якубовская М.Г. Структура, свойства и биологическое значение G-квадруплексов ДНК и РНК. Взгляд через 50 лет после их открытия. *Успехи биологической химии* 2016;56:53–154. [Dolinnaya N.G., Ogloblina A.M., Yakubovskaya M.G. Structure, properties and biological significance of DNA and RNA G-quadruplexes. A look 50 years after their discovery. *Uspekhy biologicheskoy khimii* = *Advances in biological chemistry* 2016;56:53–154. (In Russ.)].
- Brown J.A. Unraveling the structure and biological functions of RNA triple helices. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2020;11(6):e1598. DOI: 10.1002/wrna.1598.
- Demongeot J., Seligmann H. Theoretical minimal RNA rings recapitulate the order of the genetic code's codon-amino acid assignments. *J Theor Biol* 2019;471:108–16. DOI: 10.1016/j.jtbi.2019.03.024.
- Demongeot J., Seligmann H. Theoretical minimal RNA rings designed according to coding constraints mimic deamination gradients. *Naturwissenschaften* 2019;106(7–8):44. DOI: 10.1007/s00114-019-1638-5.
- Дейчман А.М., Цой В.Ч., Барышников А.Ю. Редактирование РНК. Гипотетические механизмы (монография). М.: Практическая Медицина, 2005. 265 с. [Deichman A.M., Tsoi V.Ch., Baryshnikov A.Yu. RNA editing. Hypothetical mechanisms (monograph). M., Practical Medicine, 2005. 265 p. (In Russ.)].
- Дейчман А.М. Возвращаясь к вопросу о РНК/Белковой симметрии. Исследовано в России 2007:1629–79. [Deichman A.M. Revisited to RNA/Protein symmetry. *Issledovano v Rossii* = *Investigated in Russia* 2007:1629–79. (In Russ.)].
- Дейчман А.М. Один из вариантов точечных мутаций возможно запускается позитивной обратной трансляцией. Гипотетическая концепция. М.: Рукоп. депон. ВИНТИ, 1993. № 1502-B93. 56 с. [Deichman A.M. One of the variants of point mutations is possibly triggered by a stepwise reverse translation. Hypothetical concept. Moscow: manuscript deposit. VINITI, 1993. No. 1502-B93. 56 p. (In Russ.)].
- Дейчман А.М. Возможное управление праймер-опосредованной репликацией в митохондриях и хромосомальной ДНК. Поддержание не хаотической регуляции экспрессии генома митохондрий. *Энвайронментальная эпидемиология* 2011;6:996–1069. [Deichman A.M. Possible control of primer-mediated replication in mitochondria and chromosomal DNA. Maintenance of non-chaotic regulation of mitochondrial genome expression. *Envayronmentalnaya epidemiologiya* = *Environmental Epidemiology* 2011;6:996–1069. (In Russ.)].

11. Дейчман А.М. О возможных новых механизмах образования коротких нуклеотидных последовательностей, участвующих в регуляции экспрессии генома. *Российский биотерапевтический журнал* 2011;10(4):17–27. [Deichman A.M. Possible new mechanisms for the formation of short nucleotide sequences involved in the regulation of genome expression. *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2011;10(4):17–27. (In Russ.)].
12. Дейчман А.М., Зиновьев С.В., Барышников А.Ю. Экспрессия генов и малые РНК в онкологии. *Российский биотерапевтический журнал* 2009;8(3):107–18. [Deichman A.M., Zinoviev S.V., Baryshnikov A.Yu. Gene expression and small RNAs in oncology. *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2009;8(3):107–18 (In Russ.)].
13. Дейчман А.М. Гипотетические механизмы формирования гипервариабельных и консервативных олигонуклеотидных участков генома. Возможные перспективы. *Российский биотерапевтический журнал* 2007;6(3):51–60. [Deichman A.M. Hypothetical mechanisms of the formation of hypervariable and conserved oligonucleotide regions of the genome. Possible prospects. *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2007;6(3):51–60. (In Russ.)].
14. Филиппович И.И., Ноздрин В.Н., Светелукин В.В., Опарин А.П. Изучение локализации систем трансляции и транскрипции в тонкой структуре хлоропластов в связи с гранулообразованием. В кн.: *Молекулярная генетика митохондрий*. Под ред. С.А. Нейфаха, А.С. Трошина. Л.: Наука, 1977. С. 11–20. [Filippovich I.I., Nozdrina V.N., Svetelukin V.V., Oparin A.P. Study of localization of translation and transcription systems in the fine structure of chloroplasts in connection with granulation. In: *Molecular genetics of mitochondria*. Ed. by S.A. Neifakh, A.S. Troshin. Leningrad: Science, 1977. Pp. 11–20. (In Russ.)].
15. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. Пер. с англ. Л.В. Малининой, В.В. Махалдиани. Под ред. Б.К. Вайнштейна. М.: Мир, 1987. 584 с. [Zaenger W. Principles of nucleic acids structure. Transl. from Engl. by L.V. Malinina, V.V. Mahaldiani. Ed. by B.K. Weinstein. Moscow: Mir, 1987. 584 p. (In Russ.)].
16. Дейчман А.М., Барышникова М.А., Косоруков В.С. Необходимость выявления CRISPR-подобных и других формируемых клеткой природных олигонуклеотидных структур для исследований и создания более совершенных моделей управления молекулярно-генетическими, биохимическими (др.) процессами, в частности, при врожденных и приобретенных генетических патологиях. В кн.: *Сборник научных статей по итогам Межвузовского научного конгресса «Высшая школа: научные исследования»*. М., 2020. С. 87–92. [Deichman A.M., Baryshnikova M.A., Kosorukov V.S. The need to identify CRISPR-like and other natural oligonucleotide structures formed by the cell for research and the creation of improved models for the control of molecular genetic, biochemical (oth.) processes, in particular, in congenital and acquired genetic pathologies. In: *Collection of scientific articles following the results of the Interuniversity Scientific Congress “Higher school: scientific research”*. М., 2020. Pp. 87–92. (In Russ.)].
17. Yang M.Y., Bowmaker M., Reyes A. et al. Biased Incorporation of Ribonucleotides on the Mitochondrial L-Strand Accounts for Apparent Strand-Asymmetric DNA Replication. *Cell* 2002;111(4):495–505. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)01075-9.
18. Wolf Y.I., Koonin E.V. Origin of an animal mitochondrial DNA polymerase subunit via lineage-specific acquisition of a glycyl-tRNA synthetase from bacteria of the *Thermus-Deinococcus* group. *Trends Genet* 2001;17(8):431–3. DOI: 10.1016/s0168-9525(01)02370-8.
19. Дейчман А.М. Генетический код: от потоков элементарных частиц (фотонов, др.) — до формирования геномов и генетического кода. В контексте гипотетического механизма биосинтеза олигонуклеотидов вне генома (монография). М.: Мир науки, 2017. 417 с. [Deichman A.M. Genetic code: from streams of elementary particles (photons, etc.) — to the formation of genomes and genetic code. In the context of the hypothetical mechanism of oligonucleotide biosynthesis outside the genome (monograph). Moscow: Mir nauki, 2017. 417 p. (In Russ.)].
20. Дейчман А.М. Межмолекулярные взаимодействия в самоорганизующихся биосистемах. В кн.: *Сборник тезисов международной научной интернет-конференции «На стыке наук. Физико-химическая серия» Казанского (Приволжского) федерального университета (совместно с PaxGrid)*, 2013. С. 80–84. [Deichman A.M. Intermolecular interactions in self-organizing biosystems. In: *Proceedings of the International Scientific Internet conference “At the junction of sciences. Physico-chemical series” Kazan (Volga) Federal University (together with PaxGrid)*, 2013. Pp. 80–84. (In Russ.)].
21. Seligmann H. Mitochondrial swinger replication: DNA replication systematically exchanging nucleotides and short 16S ribosomal DNA swinger inserts. *Biosystems* 2014;125:22–31. DOI: 10.1016/j.biosystems.2014.09.012.
22. Trifonov E.N. The triplet code from first principles. *J Biomol Struct Dyn* 2004;22(1):1–11. DOI: 10.1080/07391102.2004.10506975.
23. Maizels N., Weiner A.M. Phylogeny from function: evidence from the molecular fossil record that tRNA originated in replication, not translation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91(15):6729–34. DOI: 10.1073/pnas.91.15.6729.
24. Альштейн А.Д., Ефимов А.В. Физико-химические основы происхождения генетического кода: стереохимический анализ взаимодействий аминокислот и нуклеотидов, основанных на гипотезе прогенов. *Молекулярная биология* 1988;22(5):1411–29. [Altshtein A.D., Efimov A.V. Physicochemical basis of the genetic code origin: stereochemical analysis of interactions of amino acids and nucleotides based on the progene hypothesis. *Moleculyarnaya Biologiya = Molecular Biology* 1988;22(5):1411–29. (In Russ.)].
25. Nelsestuen G.L. Amino acid-directed nucleic acid synthesis. A possible mechanism in the origin of life. *J Mol Evol* 1978;11(2):109–20. DOI: 10.1007/BF01733887.
26. Seligmann H. Pocketknife tRNA hypothesis: anticodons in mammal mitochondrial tRNA side-arm loops translate proteins? *Biosystems* 2013;113(3):165–76. DOI: 10.1016/j.biosystems.2013.07.004.
27. Michel C.J., Seligmann H. Bijective transformation circular codes and nucleotide exchanging RNA transcription. *Biosystems* 2014;118:39–50. DOI: 10.1016/j.biosystems.2014.02.002.
28. Шабалкин И.П., Шабалкин П.И., Ягубов А.С. Эволюция генетического алфавита и аминокислотного кода. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии* 2003;39(5):488–94. [Shabalkin I.P., Shabalkin P.I., Iagubov A.S. Evolution of the genetic alphabet and amino acid code. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii = Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology* 2003;39(5):488–94. (In Russ.)].
29. Хрусталева В.В. Биохимические механизмы мутационного давления в методологии вычислительной биологии: монография. Под ред. Е.В. Барковского. Минск: БГМУ, 2010. 212 с. [Khrustaleva V.V. Biochemical mechanisms of mutational pressure in the methodology of computational biology: monograph. Ed. by E.V. Barkovsky. Minsk: BSMU, 2010. 212 p. (In Russ.)].

30. Хрусталеv В.В. Репликация, транскрипция, мутационное давление: монография. Под ред. Е.В. Барковского. Минск: БГМУ, 2011. 278 с. [Khrustalev V.V. Replication, transcription, mutational pressure: monograph. Ed. by E.V. Barkovsky Minsk: BSMU, 2011. 278 p. (In Russ.)].
31. Pellejero L.B., Mahdifar M., Ercolani G. et al. Using antibodies to control DNA-templated chemical reactions. *Nat Commun* 2020;11(1):6242. DOI: 10.1038/s41467-020-20024-3.
32. Root-Bernstein M., Root-Bernstein R. The ribosome as a missing link in the evolution of life. *J Theor Biol* 2015;367:130–58. DOI: 10.1016/j.jtbi.2014.11.025.
33. Olavarria J.V., Burzio V.A., Borgna V. et al. Long Noncoding Mitochondrial RNAs (LncmtRNAs) as Targets for Cancer Therapy. In book: *Mitochondrial DNA – New Insights*. Ed. by H. Seligmann. IntexOpen, 2018. Pp. 179–194. DOI: 10.5772/intechopen.75453.
34. Houmami N.E., Seligmann H. Evolution of Nucleotide Punctuation Marks: From Structural to Linear Signals. *Front Genet* 2017;8:36. DOI: 10.3389/fgene.2017.00036.
35. Seligmann H., Labra A. The relation between hairpin formation by mitochondrial WANCY tRNAs and the occurrence of the light strand replication origin in Lepidosauria. *Gene* 2014;542(2):248–57. DOI: 10.1016/j.gene.2014.02.021.
36. Seligmann H. Mitochondrial tRNAs as light strand replication origins: Similarity between anticodon loops and the loop of the light strand replication origin predicts initiation of DNA replication. *Biosystems* 2010;99(2):85–93. DOI: 10.1016/j.biosystems.2009.09.003.
37. Qi N., Shi Y., Zhang R. et al. Multiple truncated isoforms of MAVS prevent its spontaneous aggregation in antiviral innate immune signaling. *Nat Commun* 2017;8:15676. DOI: 10.1038/ncomms15676.
38. Дейчман А.М. Возможные мембран-связанные тонкие эффекты микродоз биомакромолекул, их фрагментов и слабых взаимодействий на некоторые специфические иммунологические, биохимические и патологические процессы. В кн.: Тезисы XIII международной крымской конференции «Космос и биосфера». Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2019. С. 53–56. [Deichman A.M. Possible membrane-associated subtle effects of microdoses of biomacromolecules, their fragments and weak interactions on some specific immunological, biochemical and pathological processes. In: Abstracts of the XIII International Crimean Conference “Space and biosphere”. Simferopol: IT “ARIAL”, 2019. Pp. 53–56 (In Russ.)].

ORCID автора / ORCID of author

А.М. Дейчман / A.M. Deichman: <https://orcid.org/0000-0002-2514-3564>

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Financing. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 28.12.2021. Принята к публикации: 14.02.2022.

Article submitted: 28.12.2021. Accepted for publication: 14.02.2022.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2022-21-1-33-41>

Особенности метаболизма железа у больных раком молочной железы до адъювантной химиотерапии

В. Н. Блиндарь¹, Г. Н. Зубрихина¹, Т. В. Давыдова¹, М. М. Добровольская¹, М. Н. Хагажеева¹,
А. В. Снеговой², Д. А. Рябчиков¹, Н. В. Любимова¹, Н. Е. Кушлинский¹, И. Б. Кононенко¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава России; Россия, 127473 Москва, ул. Десятская, 20, стр. 1

Контакты: Валентина Николаевна Блиндарь bld51@list.ru

Введение. В многочисленных исследованиях с помощью многофакторного анализа подтверждена связь низких показателей гемоглобина и/или гипоксии опухолевой ткани с ухудшением прогноза.

Цель исследования – оценить состояние метаболизма железа у больных раком молочной железы (РМЖ) в периоперационном периоде перед проведением адъювантной химиотерапии для адекватного назначения препаратов железа и рекомбинантных эритропоэтинов.

Материалы и методы. В исследование были включены 17 больных РМЖ с относительно благоприятным прогнозом, с люминальным типом А и В (Her2/neu положительный или отрицательный), трижды негативным типом. Обследование проведено в послеоперационном периоде перед 1-м курсом адъювантной химиотерапии. Изучали основные метаболиты феррокинетики: гепсидин 25 (ГП25), ферритин, растворимые рецепторы трансферрина, трансферрин, железо, эритропоэтин, показатели С-реактивного белка и интерлейкина 6.

Результаты. У больных РМЖ еще до проведения адъювантной химиотерапии выявили нарушение метаболизма железа. У 5 (29,4 %) пациенток диагностирован анемический синдром (АС) с железодефицитным эритропоэзом. У большинства из них АС сопровождался дефицитом эндогенного эритропоэтина. Чаще встречалась железодефицитная анемия, у отдельных пациенток установили функциональный дефицит железа (ФДЖ). В отличие от пациенток с железодефицитной анемией, у пациенток с ФДЖ отмечались значительные концентрации ГП25, С-реактивного белка, а показатели интерлейкина 6 и ферритина были в пределах верхней границы нормы. Следует отметить, что гиперэкспрессия ГП25 отмечалась не только у больных РМЖ с ФДЖ, но и у больных без лабораторных признаков анемии, что не исключало латентной стадии АС.

Заключение. Для достижения эффективности лечения АС необходим комплексный и персонализированный подход. Для восстановления метаболизма железа назначают препараты железа, для усиления скорости образования эритроцитов в процессе химиотерапии применяют рекомбинантные эритропоэтины. Такая же схема лечения оправдана и для коррекции АС с ФДЖ. Однако стратегию будущего лечения ФДЖ связывают с применением антагонистов ГП25 с целью преодоления задержки железа в ретикулоэндотелиальной системе, а также гормонов или цитокинов, способных эффективно стимулировать эритропоэз при АС с нарушением метаболизма железа.

Ключевые слова: метаболизм железа, рак молочной железы, гепсидин 25, интерлейкин 6, С-реактивный белок, ферритин

Для цитирования: Блиндарь В. Н., Зубрихина Г. Н., Давыдова Т. В. и др. Особенности метаболизма железа у больных раком молочной железы до адъювантной химиотерапии. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(1):33–41. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-33-41.

Peculiarities of iron metabolism in patients with breast cancer before adjuvant chemotherapy

Valentina N. Blindar¹, Galina N. Zubrikhina¹, Tatiana V. Davydova¹, Marina M. Dobrovolskaya¹,
Madina N. Khagazheeva¹, Anton V. Snegovoy², Denis A. Ryabchikov¹, Nina V. Lyubimova¹,
Nikolay E. Kushlinsky¹, Inessa B. Kononenko¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 20 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russia

Contacts: Valentina Nikolaevna Blindar bld51@list.ru

Introduction. Numerous studies using multivariate analysis have confirmed the relationship between low hemoglobin and/or hypoxia of tumor tissue with a worsening prognosis.

The study objective was to assess the state of iron metabolism in breast cancer patients in the perioperative period, before conducting adjuvant chemotherapy for adequate administration of iron and recombinant erythropoietins preparations.

Materials and methods. The object of the study included 17 breast cancer patients with a relatively favorable prognosis, with luminal types A and B (Her 2/neu positive or negative), three times negative type. The examination was carried out in the postoperative period, before the first course of adjuvant chemotherapy. The main metabolites of ferrokinetics were studied: hepcidin 25 (GP25), ferritin, soluble transferrin receptors, transferrin, iron, erythropoietin, C-reactive protein and interleukin 6 indicators.

Results. In patients with breast cancer, even before adjuvant chemotherapy, a violation of iron metabolism was revealed. Anemic syndrome (AS) with iron deficiency erythropoiesis was diagnosed in 29.4 % of them. In most of them, AS was accompanied by a deficiency of endogenous erythropoietin. Iron deficiency anemia was more common; functional iron deficiency (FID) was found in some patients. In contrast to patients with iron deficiency anemia, patients with FID had a significant concentrations of GP25, C-reactive protein, and interleukin 6 and ferritin were within the upper limit of normal. It should be noted that GP25 hyperexpression was observed not only in breast cancer patients with FID, but also in patients without laboratory signs of anemia, which did not exclude the latent stage of AS.

Conclusion. To achieve the effectiveness of the treatment of AS, a comprehensive and personalized approach is required. Iron preparations are prescribed to restore iron metabolism; recombinant erythropoietins preparations are used to increase the rate of erythrocyte formation during chemotherapy. The same treatment regimen is justified for the correction of AS with FID. However, the strategy for future treatment of FID is associated with the use of GP25 antagonists (in order to overcome the retention of iron in the reticuloendothelial system), hormones or cytokines that can effectively stimulate erythropoiesis in AS with impaired iron metabolism.

Key words: iron metabolism, breast cancer, hepcidin 25, interleukin 6, C-reactive protein, ferritin

For citation: Blindar V.N., Zubrikhina G.N., Davydova T.V. et al. Peculiarities of iron metabolism in patients with breast cancer before adjuvant chemotherapy. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2022;21(1):33–41. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-33-41.

Введение

Известно, что у онкологических больных нарушен метаболизм железа, что сопровождается развитием анемического синдрома (АС) [1]. Изучение роли железа в последние годы показало, что белки, участвующие в метаболизме железа, могут быть многофункциональными и способствовать развитию злокачественных новообразований независимо от их основной роли в метаболизме железа. В то же время гипоксия опухолевой ткани при анемии может ассоциироваться с резистентностью к химио- и лучевой терапии, стимуляцией генетических мутаций и ангиогенеза, которые затрудняют контроль опухолевого роста. В многочисленных исследованиях с помощью многофакторного анализа подтверждена связь низких показателей гемоглобина (HGB) и/или гипоксии опухолевой ткани с ухудшением прогноза [2, 3].

Пути приобретения железа, оттока, хранения и регуляции нарушены при раке, что позволяет предположить, что перепрограммирование метаболизма железа — это центральный аспект выживания опухо-

левых клеток. Железо является важным питательным веществом, которое способствует пролиферации и росту клеток. Однако оно также участвует в окислительно-восстановительных процессах и образовании свободных радикалов. Следовательно, железо может способствовать как иницированию опухолевого процесса, так и росту опухоли [4–6].

Разобраться в сложной взаимосвязи между железом и злокачественными заболеваниями помогло недавнее открытие новых белков, которые участвуют в метаболизме железа и контролируют его. В частности, был открыт основной регулятор гомеостаза железа — гепсидин 25 (ГП25) [7, 8]. В настоящее время считают, что этот белок играет основную роль в развитии цитокинуиндуцированной анемии у онкологических больных. При воспалении, независимо от причины, интерлейкин 6 (ИЛ-6) или другие цитокины побуждают печень вырабатывать ГП25. ГП25 предотвращает экспорт железа, индуцируя деградацию ферропортина, основного клеточного транспортера железа, тем самым увеличивает пул железа в опухолевых

клетках, помогая им выживать и размножаться [9, 10]. Сами опухолевые клетки могут быть источником этого белка или провоспалительных цитокинов. Ряд авторов наблюдали повышенный уровень ГП25 при злокачественных опухолях молочной железы по сравнению с доброкачественными заболеваниями [9–11]. В свою очередь, избыток ГП25 может снижать всасывание железа из кишечника и блокировать утилизацию железа в костном мозге. Железо может быть в избытке в костном мозге, не всасываться и не поступать в кровоток, поэтому оно становится недоступным для эритропоэза, развивается функциональный дефицит железа (ФДЖ). Эффективное лечение анемии и восстановление метаболизма железа может привести к улучшению качества жизни и повышению выживаемости больных со злокачественными опухолями, теоретически – к замедлению прогрессирования процесса и повышению эффективности противоопухолевой терапии [2–4].

Целью исследования являлась оценка состояния метаболизма железа у больных раком молочной железы (РМЖ) в периоперационном периоде, перед проведением адъювантной химиотерапии для адекватного назначения препаратов железа и рекомбинантных эритропоэтинов (rEPO).

Материалы и методы

В исследование включили 17 больных РМЖ с относительно благоприятным прогнозом, с люминальным типом А и В (Her2/neu положительный или отрицательный), трижды негативным типом, поступивших на лечение в клинику ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2018–2021 гг. Обследование проведено в послеоперационном периоде перед 1-м курсом химиотерапии. Возраст пациенток варьировал от 31 до 72 лет (средний возраст – $53 \pm 2,8$ года), медиана – 55 лет. I стадия заболевания выявлена у 2 человек, II – у 10, III – у 4, IV – у 1. Контрольную группу составили 29 практически здоровых женщин соответствующего возраста.

Расширенный клинический анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе фирмы Sysmex (Япония), в том числе исследовали среднее содержание HGB в ретикулоците (RET-HE). Рассчитывали ретикулоцитарный индекс (RPI) по формуле:

$$RPI = \text{число ретикулоцитов (\%)} \times \text{HCT}/0,45,$$

где HCT – гематокрит; 0,45 – нормальное значение гематокрита.

В плазме крови методом иммуноферментного анализа определяли содержание эндогенного эритропоэтина (ЭПО) с использованием наборов фирмы Biomerica (США), ГП25 с помощью наборов Peninsula Laboratories International, Inc. (США). Для исключе-

ния аутоиммунной гемолитической анемии выполнялась прямая проба Кумбса на основе гелевых технологий (прямой антиглобулиновый тест). Определение свободного HGB в плазме крови было проведено гемиглобинцианидным методом. Результаты оценивались на аппарате Multiskan Spectrum Microplate Spectrophotometr (Финляндия). Подсчитывали лейкоцитарную формулу и выполняли детальный анализ морфологии эритроцитов с помощью микроскопа фирмы LEICA (США). Исследование биохимических показателей обмена железа проводилось в сыворотке крови больных на автоматическом анализаторе Cobas c501 фирмы Roche (Швейцария). Определение железа проводилось колориметрическим методом при помощи набора реактивов Iron Gen. 2. Уровни ферритина (ФР), трансферрина и растворимых рецепторов трансферрина были получены иммунотурбидиметрическими методами с латексным усилением на основе специфических антисывороток с использованием тест-систем Tina-quant Ferritin Gen 4, Tina-quant Transferrin ver. 2 и Tina-quant Soluble Transferrin Receptor соответственно. ИЛ-6 определяли в сыворотке крови с использованием тест-системы Elecsys IL-6 на автоматическом электрохемилюминесцентном анализаторе Cobas e601 (Roche, Швейцария). С-реактивный белок (СРБ) исследовали иммунотурбидиметрическим методом с латексным усилением на основе специфических антисывороток с использованием тест-системы C-Reactive Protein Gen.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием программных пакетов MS Excel Biostat, 2016. Для оценки достоверности результатов использовали *t*-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Исследования выполняли в соответствии с принципами Хельсинкской декларации, разработанной Всемирной медицинской ассоциацией [12].

Результаты и обсуждение

На основании показателей периферической крови больные РМЖ были разделены на 2 группы: 1-я группа – без АС ($n = 12$), 2-я группа – с АС ($n = 5$). В 1-й группе большинство показателей были в пределах референсных значений, за исключением концентрации ФР и ГП25 (табл. 1, 2). Относительно невысокие уровни ФР (<30 нг/мл) отмечались у 5 (41,6 %) пациенток, что свидетельствовало об истощении запасов железа и, возможно, о латентной стадии железодефицитной анемии (ЖДА). Об этом свидетельствовали и низкие показатели белка ГП25 ($<0,2$ нг/мл). Следует отметить, что у большинства пациенток 1-й группы (7/12, 58,4 %) выявили значительную концентрацию этого белка. Среднее значение концентрации ГП25 было статистически

значимо выше в этой группе ($16,6 \pm 4,4$ нг/мл), чем в контрольной ($4,3 \pm 0,7$ нг/мл) (см. табл. 2). Выявили незначительное повышение концентрации ИЛ-6, но статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой не обнаружено. Такая же ситуация прослеживалась по показателям СРБ. Диапазон значений ЭПО в 1-й группе находился в пределах нормы ($4,3-32,9$ МЕ/мл).

Уровень HGB у пациенток 2-й группы, с АС, варьировал от 89 до 116 г/л и в среднем по группе составил $103,1 \pm 3,8$ г/л (см. табл. 1). Преобладала анемия I и II степени тяжести, с микроцитарными, гипохромными характеристиками эритроцитов и ретикулоцитов.

Анемия встречалась как у пациенток с III–IV, II, так и с I стадией заболевания в равной степени. У 3 пациенток диагностирована ЖДА, которая характеризовалась классически: отмечались микроцитоз (объем эритроцитов <80 фл) и гипохромия (среднее содержание HGB в эритроците <27 пг); значительное снижение RET-HE (<28 пг) и концентраций ФР (<18 нг/мл), железа (<5 мкмоль/л). Напротив, показатели трансферрина (>300 мг/дл) и растворимых рецепторов трансферрина (>8 мкг/мл) значительно превышали норму, что также свидетельствовало о дефиците железа. Значения индекса RPI были низкими – в диапазоне $0,4-0,8$ ед (в норме этот показатель составляет $1,0-2,0$ ед). Низкое значение индекса свидетельствует об уменьшении скорости образования эритроцитов в костном мозге. Что касается ГП25, концентрация этого белка была низкой только у 2 пациенток с ЖДА и это характерно для абсолютного дефицита железа.

В единичных публикациях есть данные, свидетельствующие о том, что низкая экспрессия ГП25 у больных РМЖ с АС является благоприятным прогности-

ческим фактором [2, 10]. Однако у 1 из 3 больных РМЖ с ЖДА выявили высокую концентрацию ГП25. Она превышала верхнюю границу нормы более чем в 6 раз (>25 нг/мл). По данным литературы, это может свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе [2, 10]. С учетом иммуногистохимического заключения (инвазивный рак неспецифического типа III степени злокачественности с наличием раковых эмболов в просветах сосудов) и степени распространенности заболевания в заключительном эпикризе данной пациентки указано: прогноз неблагоприятный. Однако единичные наблюдения не позволяют сделать однозначные выводы по данным ГП25, полученным в нашем исследовании, как по прогностическому фактору.

У 2 пациенток с РМЖ и АС диагностирован ФДЖ. Эти пациентки по клиническим и гистологическим признакам также имели неблагоприятный прогноз развития заболевания. Анемия у них была с теми же морфологическими особенностями, что и ЖДА. Примерно такие же показатели отмечались и при исследовании метаболизма железа. Отличие состояло в высоких концентрациях ГП25, СРБ, которые значительно превышали референсные значения, а показатели ФР были в пределах верхней границы нормы. Уровни ИЛ-6 существенно не отличались от показателей контрольной группы, это свидетельствует о том, что причиной гиперэкспрессии белка ГП25 в этом случае могут быть другие источники. Прямая проба Кумбса была отрицательной у всех пациенток, как с АС, так и без него. Анализ показателей свободного HGB во всех группах не выявил значительных отклонений от его нормальных колебаний в контрольной группе ($0,09-0,4$ г/л). При этом он был существенно ниже во 2-й группе – с АС, чем у больных без АС; преобладали показатели ближе к нижней границе нормы.

Таблица 1. Основные показатели красной крови у больных раком молочной железы (РМЖ) до проведения адьювантной химиотерапии и в контрольной группе, $X \pm m$

Table 1. Main indicators of red blood in breast cancer (BC) patients before adjuvant chemotherapy and in control group, $X \pm m$

Группа Group	RBC, $\times 10^{12}/л$ RBC, $\times 10^{12}/l$	HGB, г/л HGB, g/l	HCT, %	MCV, фл MCV, fl	MCH, пг MCH, pg	RET-HE, пг RET-HE, pg
Контрольная (n = 29) Control (n = 29)	$4,6 \pm 0,06$	$139 \pm 2,2$	$39,6 \pm 1,8$	$85,6 \pm 1,6$	$30,2 \pm 2,1$	$30,9 \pm 1,7$
1-я группа (РМЖ без АС) (n = 12) Group 1 (BC without AS) (n = 12)	$4,5 \pm 0,09$	$134 \pm 2,2$	$38,8 \pm 0,6$	$86,3 \pm 0,9$	$29,8 \pm 0,3$	$32,3 \pm 0,4$
2-я группа (РМЖ с АС) (n = 5) Group 2 (BC with AS) (n = 5)	$4,0 \pm 0,2$	$103 \pm 0,4^*$	$32,6 \pm 0,7^*$	$72,3 \pm 2,2^*$	$26,1 \pm 1,5^*$	$26,6 \pm 2,1^*$

*Различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы.

*Differences in indicators compared with the control group are statistically significant.

Примечание. АС – анемический синдром; RBC – эритроциты; HGB – гемоглобин; HCT – гематокрит; MCV – объем эритроцитов; MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците; RET-HE – среднее содержание гемоглобина в ретикулоците.

Note. AS – anemic syndrome; RBC – erythrocytes; HGB – hemoglobin; HCT – hematocrit; MCV – mean erythrocytes volume; MCH – mean cell of hemoglobin in the erythrocyte; RET-HE – average hemoglobin content in the reticulocyte.

Таблица 2. Основные показатели ферритина, гепсидина, С-реактивного белка, интерлейкина 6 и эритропоэтина у больных раком молочной железы (РМЖ) до проведения адъювантной химиотерапии и в контрольной группе

Table 2. The main indicators of ferritin, hepcidin, C-reactive protein interleukin 6 and erythropoietin in breast cancer (BC) patients before adjuvant chemotherapy and in control group

Группа Group	ФР, нг/мл FR, ng/ml	ГП25, нг/мл GP25, ng/ml	СРБ, мг/л CRP, mg/l	ИЛ-6, пг/мл IL-6, pg/ml	ЭПО, мЕ/мл EPO, IU/ml
Контрольная (n = 29), X ± m Control (n = 29), X ± m	57,9 ± 8,7	4,3 ± 0,7	2,9 ± 2,1	1,5 ± 0,3	15,4 ± 2,7
1-я группа (РМЖ без АС) (n = 12), X ± m (min–max) Group 1 (BC without AS) (n = 12), X ± m (min–max)	45 ± 6,5 (25,9–71,3)	16,6 ± 4,4* (2,7–>25)	1,5 ± 0,4 (0,6–4,3)	4,6 ± 2,1 (<1,5–11,3)	7,7 ± 1,4 (3,5–16,9)
2-я группа (РМЖ с АС) (n = 5), X ± m (min–max) Group 2 (BC with AS) (n = 5), X ± m (min–max)	87 ± 59,0 (13,4–171)	11,6 ± 4,9 (0,09–>25)	5,7 ± 3,2 (0,5–68,5)	3,6 ± 1,1 (<1,5–6,4)	28,8 ± 10,7 (7,5–62,9)

*Различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы.

*Differences in indicators compared with the control group are statistically significant.

Примечание. АС – анемический синдром; ФР – ферритин; ГП25 – гепсидин 25; СРБ – С-реактивный белок; ИЛ-6 – интерлейкин 6; ЭПО – эритропоэтин.

Note. AS – anemic syndrome; FR – ferritin; GP25 – hepcidin 25; CRP – C-reactive protein; IL-6 – interleukin 6; EPO – erythropoietin.

Анализ клинических данных показал, что пациентки с анемией имели жалобы на повышенную утомляемость, значительную слабость, головокружение, одышку и боли в икроножных мышцах. При этом более выраженные симптомы отмечались у пациенток со II степенью тяжести АС.

Некоторое время в качестве универсальных гуморальных регуляторов метаболизма железа рассматривались сывороточный ФР, трансферрин, растворимые рецепторы трансферрина. Однако в последние годы пришли к заключению, что универсальным регулятором метаболизма железа является ГП25 [13, 14].

Гепсидин – железорегулирующий острофазный белок – обладает ярко выраженными антибактериальными свойствами: он способен разрушать бактериальные мембраны, создавая неблагоприятное микроокружение для микробов, попавших в кровотоки. ГП25, индуцируя накопление железа макрофагами, лишает микроорганизмы необходимого компонента для продукции супероксиддисмутазы, которая, в свою очередь, защищает их от кислородных радикалов хозяина. Этот антимикробный пептид синтезируется в печени [7, 8]. Однако роль ГП25 значительно многообразнее, чем антибактериальная защита. Связь между ГП25 и метаболизмом железа была впервые показана С. Pigeon и соавт., которые доказали, что избыток железа индуцирует синтез ГП25 гепатоцитами [7]. Вырабатываемый в избытке, он вызывает снижение абсорбции железа энтероцитами. Данные процессы происходят в норме. Однако у онкологических больных прослеживается другая ситуация. Источником ГП25 и гиперэкспрессии цитокинов могут быть сами опухолевые клетки. Высокая концентрация этого белка и дисбаланс цитокинов могут быть причиной развития АС с ФДЖ у онкологических больных. Показано, что у людей с гепсидинпродуциру-

ющими аденомами развивается железодефицитное состояние, резистентное к терапии препаратами железа [14].

Учитывая взаимодействие между интерлейкином и ГП25, можно предположить следующую схему: уровень ИЛ-6, как основного провоспалительного агента, резко увеличивается при воспалении, что способствует выработке гепатоцитами ГП25, который блокирует выход железа из макрофагов и его абсорбцию в кишечнике, что приводит к анемии [7, 8, 10, 15]. Обратная реакция возникает при выраженной гипоксии при классической ЖДА. В этих условиях наблюдается уменьшение экспрессии гена ГП25, что ведет к увеличению захвата железа как из макрофагов, так и из кишечника. При гипоксии происходит повышение уровня HIF-1α (индуцируемый гипоксией фактор 1α), который контролирует экспрессию гена ЭПО, тем самым включаясь в метаболизм железа. Параллельно происходит увеличение уровня ЭПО и эритропоэтической активности, что ведет к быстрой мобилизации железа из ретикулоэндотелиальных клеток и использованию железа для синтеза HGB. Такая ситуация прослеживается у больных с ЖДА без онкопатологии. Есть данные, что ЭПО может воздействовать и на секрецию белка ГП25 (через неизвестные пути), снижая его концентрацию [16].

Неадекватно низкая продукция ЭПО по отношению к степени тяжести АС – характерная особенность анемии онкологических больных. Для оценки адекватности гормонального ответа на степень тяжести анемии у больных РМЖ определяли концентрацию эндогенного ЭПО. Анализ показателей продукции ЭПО выявил его адекватный уровень только у 1 пациентки с РМЖ и ЖДА. У остальных пациенток, как с ЖДА, так и с ФДЖ, концентрация ЭПО

не была оптимальной относительно степени тяжести АС при диапазоне от 7,5 до 32,9 мЕ/мл.

Большое значение для дифференциальной диагностики АС имеет определение ЭПО в плазме крови. Существуют разные мнения по поводу необходимости определения эндогенного ЭПО при назначении гЕРО. В этом вопросе мы не согласны с рядом авторов [17], которые считают, что это делать необязательно. Наши исследования, проведенные ранее на большом клиническом материале [15], свидетельствуют об обратном: только 70–78 % онкологических больных с АС имеют относительно низкий уровень ЭПО, у остальных он более чем достаточный, иногда превышает норму в десятки раз. Есть ли необходимость вводить этой группе пациентов дополнительно гЕРО? Вопрос дискуссионный. Тем более что это дорогостоящий метод лечения и имеет ряд противопоказаний.

Анемия онкологических больных по-прежнему является трудно поддающимся лечению типом анемии. Это результат сложного патомеханизма этого заболевания и способности основного заболевания к многофакторной патологической модуляции процесса эритропоэза. Неправильное терапевтическое лечение анемии может быть результатом диагностических ошибок, неправильного лечения основного заболевания и недооценки пользы от приема препаратов гемопоэтических факторов. Следует подчеркнуть, что нельзя начинать лечение анемии без предварительной оценки метаболизма железа и гематологического анализа крови, который объективно отражает состояние эритропоэза в костном мозге. Основная цель лечения рака – излечение болезни. При этом большое внимание в настоящее время уделяется целям лечения, имеющим отношение к улучшению выживаемости, включая продление жизни, облегчение симптомов и улучшение или сохранение качества жизни в течение и после лечения рака. В частности, это касается коррекции АС у больных со злокачественными новообразованиями. Основные цели лечения анемии – уменьшение или устранение ее симптомов, особенно усталости, и улучшение качества жизни с помощью минимально инвазивного лечения, которое устраняет основные причины заболевания и является безопасным. Из-за высокой распространенности анемии, вызванной химиотерапией, и ее влияния на качество жизни даже легкую степень анемии следует выявлять и оценивать до начала лечения.

Когда диагноз АС установлен, ключевым вопросом становится определение типа дефицита железа: является ли он абсолютным (истинным) или функциональным? Принципиальная разница между ними состоит в том, что в случае абсолютного дефицита железа (ЖДА) назначение препаратов железа приводит к активации эритропоэза. В периферической

крови значительно увеличивается число ретикулоцитов, их объем и RET-HE восстанавливаются до нормы, что свидетельствует об адекватности проводимой терапии. При этом скорость восстановления эритропоэза может быть очень низкой, так как ЖДА у онкологических больных очень часто сочетается с недостаточной секрецией ЭПО. Поэтому для достижения эффективности лечения ЖДА необходим комплексный подход: для восстановления метаболизма железа – препараты железа, для усиления скорости образования эритроцитов – применение гЕРО. Такая же схема лечения оправдана и для АС с ФДЖ, поскольку есть данные, что гематогормон ЭПО может воздействовать и на секрецию белка ГП25 (через неизвестные пути), снижая его концентрацию. При сочетании неадекватно низкой продукции ЭПО с ФДЖ у онкологических больных с АС введение гЕРО может привести к разблокировке железа в макрофагах и, как следствие, активации эритропоэза в костном мозге [3, 15, 16].

Гормон ЭПО необходим для выживания, пролиферации и дифференциации эритроцитарных предшественников [18]. Однако у онкологов есть опасения относительно назначения гЕРО. И это оправданно, так как риски сокращения выживаемости и прогрессирования опухоли не исключены. В некоторых публикациях предполагалась потенциальная роль рецептора ЭПО (EpoR) на опухолевых клетках в прогрессировании опухоли [19–21]. Однако в более поздних работах при использовании специфических антител к этому рецептору доказательств влияния гЕРО на выживаемость не продемонстрировано [3]. Хотя нет абсолютных клинических доказательств того, что введение агентов, стимулирующих эритропоэз, способствует росту опухоли и смертности, на практике для коррекции АС гЕРО широко применяются. Методические рекомендации ограничиваются лишь тем, что гЕРО не следует использовать у пациентов с активным злокачественным заболеванием, не получающих химио- или лучевую терапию. гЕРО следует отменить после завершения курса химиотерапии, целевой уровень HGB должен составлять 12 г/дл и не выше. Следует избегать повышения уровня HGB >2 г/дл за 4-недельный период. Что касается HGB <100–105 г/л, то этот порог используется при назначении гЕРО [3].

Как отмечено выше, есть данные, что ЭПО может воздействовать и на секрецию белка ГП25 через неизвестные пути, снижая его концентрацию. При этом оправдано внутривенное введение препаратов железа при назначении гЕРО, так как при усилении скорости эритропоэза может развиваться абсолютный дефицит железа. Дефицит витамина B₁₂ и фолиевой кислоты является относительно редкой причиной анемии у онкологических больных. Однако в некоторых случаях

на фоне введения гЕРО может возникнуть дефицит этих витаминов. Важным лабораторным критерием в этом случае является показатель RET-HE [22]. При дефиците железа он резко снижается (<27 пг), при недостатке витамина В₁₂ и фолиевой кислоты отмечено значительное повышение этого показателя по сравнению с верхней границей нормы (>38 пг). Снижение ФР и концентрации витамина В₁₂, фолиевой кислоты в сыворотке крови подтвердит этот факт. RET-HE является и самым информативным показателем эффективности проводимой терапии АС [15, 22]. Значительное увеличение числа ретикулоцитов и RET-HE служит достоверным показателем хорошей ответной реакции на лечение препаратами железа, гЕРО, витаминов В₁₂ и фолиевой кислоты. А индекс RPI отражает скорость эритропоэза. Следует подчеркнуть, что назначение препаратов железа не всегда оправдано при снижении только одного из показателей (железа или ФР), так как они не всегда информативны. Необходим комплексный подход для оценки метаболизма железа, включая количественные и качественные показатели эритропоэза периферической крови.

При этом верхний предел концентрации ФР, при котором следует назначать препараты железа у онкологических больных с ФДЖ, вызывает разногласия. С целью уточнения показаний к назначению препаратов железа проводится дифференциальная диагностика АС. Считают, что при ФДЖ дефицит железа следует определять по уровню ФР <100 нг/мл, низкому RET-HE <28 пг и количеству гипохромных эритроцитов более 5 % (норма до 1,5 %). При этом ряд авторов считают, что верхний предел концентрации ФР, при котором следует назначать препараты железа, может составлять 800 нг/мл [3]. Но следует понимать, что условием принятия такого ориентира для назначения препаратов железа в обязательном порядке должно быть наличие железodefицитного эритро-

поэза. Это объективно может отражаться в показателях клинического анализа крови. Низкие показатели содержания НГВ в эритроцитах (<27 пг) и RET-HE (<28 пг) наряду с нормальными или высокими значениями ФР будут свидетельствовать об этом.

Заключение

У больных РМЖ еще до проведения адъювантной химиотерапии выявлено нарушение метаболизма железа. У 29,4 % из них диагностирован АС с железodefицитным эритропроэзом. У большинства из них АС сопровождался дефицитом эндогенного ЭПО. Чаще встречалась ЖДА, у отдельных пациенток установили ФДЖ. В отличие от пациенток с ЖДА, у пациенток с ФДЖ отмечались значительные концентрации ГП25, СРБ, а показатели ИЛ-6 и ФР были в пределах верхней границы нормы. Следует отметить, что гиперэкспрессия ГП25 была выявлена не только у больных РМЖ с ФДЖ, но и у больных без лабораторных признаков анемии, что не исключало латентной стадии АС.

Для достижения эффективности лечения АС необходим комплексный и персонализированный подход. Для восстановления метаболизма железа назначают препараты железа, для усиления скорости образования эритроцитов в процессе химиотерапии применяют гЕРО. Такая же схема лечения оправдана и для коррекции АС с ФДЖ. Однако стратегию будущего лечения ФДЖ связывают с применением антагонистов ГП25 с целью преодоления задержки железа в ретикулоэндотелиальной системе, а также гормонов или цитокинов, способных эффективно стимулировать эритропоэз при АС с нарушением метаболизма железа. Полученные данные по исследованию ГП25 в комплексе с ИЛ-6, СРБ у больных РМЖ при формировании ФДЖ представляют научный интерес и показывают необходимость дальнейшего изучения для уточнения их роли в прогнозе клинического течения РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Madeddu C., Neri M., Sanna E. et al. Experimental Drugs for Chemotherapy- and Cancer-Related Anemia. *J Exp Pharmacol* 2021;13:593–611. DOI: 0.2147/JEP.S262349.
2. Pinnix Z.K., Miller L.D., Wang W. et al. Ferritin and iron regulation in breast cancer progression and prognosis. *Sci Transl Med* 2010;2(43):43ra56. DOI: 10.1126/scitranslmed.3001127.
3. Aapro M., Beguin Y., Bokemeyer C. et al. Management of anemia and iron deficiency in patients with cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2018;29(4):96–110. DOI: 10.1093/annonc/mdx758.
4. Pourali L., Taghizadeh A., Akhondi M.R. et al. Frequency of Chemotherapy Induced Anemia in Breast Cancer Patients. *Int J Cancer Manag* 2017;10(1):e4672. DOI: 10.17795/ijcp-4672.
5. Anker S.D., Comin Collet J., Filippatos G. et al. Ferric carboxymaltose in patients with heart failure and iron deficiency. *N Engl J Med* 2009; 361(25):2436–48. DOI: 10.1056/NEJMoa0908355.
6. Горожанская Э.Г., Зубрихина Г.Н., Свиридова С.П. Свободнорадикальное окисление и основные механизмы антиоксидантной защиты в норме и при злокачественной патологии. Учебное пособие для врачей. М.: ГОУ МГ ФСО, 2010. 45 с. [Gorozhanskaya E.G., Zubrikhina G.N., Sviridova S.P. Free radical oxidation and the main mechanisms of antioxidant protection in normal and malignant pathology. Training manual for doctors. Moscow: GOU MG FSO, 2010. 45 p. (In Russ.)].

7. Pigeon C., Igin G., Courselaud B. et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antibacterial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001;276(11):7811–9. DOI: 10.1074/jbc.M008923200.
8. Nemeth E., Ganz T. Anemia of inflammation. *Hematol Oncol Clin North Am* 2014;28(4):671–81. DOI: 10.1016/j.hoc.2014.04.005.
9. Lu Y., Cheng X., Li R. et al. The Expression and Clinical Significance of Ferroportin and Hpcidin in Breast Cancer Patients. *J Kuwait Med Assoc* 2016;48(4):323–7.
10. Ciniselli C.M., De Bortoli M., Taverna E. et al. Plasma hepcidin in early-stage breast cancer patients: no relationship with interleukin-6, erythropoietin and erythroferone. *Expert Rev Proteomics* 2015;12(6):695–701. DOI: 10.1586/14789450.2015.1099436.
11. Tesfay L., Clausen K.A., Kim J.W. et al. Hpcidin regulation in prostate and its disruption in prostate cancer. *Cancer Res* 2015;75(11):2254–63. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2465.
12. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013;310(20):2191–4. DOI: 10.1001/jama.2013.281053.
13. Durigovaa A., Lamy P.J., Thezenas S. et al. Anemia and iron biomarkers in patients with early breast cancer. Diagnostic value of hepcidin and soluble transferrin receptor quantification. *Clin Chem Lab Med* 2013;51(9):1833–41. DOI: 10.1515/ccm-2013-0031.
14. Chung A., Leo K., Wong G. et al. Giant hepatocellular adenoma presenting with chronic iron deficiency anemia. *Am J Gastroenterol* 2006;101(9):2160–2. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00607.x.
15. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Матвеева И.И. Новая концепция диагностики анемии с нарушением метаболизма железа. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина* 2015;26(4–1):77–85. [Blindar V.N., Zubrikhina G.N., Matveeva I.I. A new concept for diagnosing anemia with impaired iron metabolism. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina* = *Journal of N.N. Blokhin Russian Oncology Center* 2015;26(4–1):77–85. (In Russ.)].
16. Ashby D.R., Gale D.P., Busbridge M. et al. Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica* 2010;95(3):505–8. DOI: 10.3324/haematol.2009.013136.
17. Рукавицин О.А. Актуальные вопросы диагностики и лечения анемии при хронических заболеваниях. *Онкогематология* 2012;5(4):296–304. [Rukavicin O.A. Topical issues of diagnosis and treatment of anemia in chronic diseases. *Onkogematologiya* = *Oncohematology* 2012;5(4):296–304. (In Russ.)].
18. Haase V.H. Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010;299(1):1–13.
19. Henke M., Mattern D., Pepe M. et al. Do erythropoietin receptors on cancer cells explain unexpected clinical findings? *Clin Oncol* 2006;24(29):4708–13.
20. Drücke T.B., Massy Z.A. Erythropoiesis-Stimulating Agents and Mortality. *J Am Soc Nephrol* 2019;30(6):907–8. DOI: 10.1681/ASN.2019030266.
21. Miao S., Wang S.M., Cheng X. et al. Erythropoietin promoted the proliferation of hepatocellular carcinoma through hypoxia induced translocation of its specific receptor. *Cancer Cell Int* 2017;17:119. DOI: 10.1186/s12935-017-0494-7.
22. Brugnara C., Schiller B., Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Hematol* 2006;28(5):303–8. DOI: 10.1111/j.1365-2257.2006.00812.x.

Вклад авторов

В.Н. Блиндарь: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных и публикаций по теме статьи, написание текста статьи; Г.Н. Зубрихина, Т.В. Давыдова, А.В. Снеговой, Н.В. Любимова: критический пересмотр статьи с внесением ценного интеллектуально-содержания;

М.М. Добровольская: сбор данных для анализа, выполнение исследовательских работ, формирование базы данных и таблиц;

М.Н. Хагажеева: статистический анализ данных исследования, описание материалов и методов исследования;

Д.А. Рябчиков: разработка концепции и дизайна исследования;

Н.Е. Кушлинский: анализ текста статьи и литературы с внесением ценного интеллектуального содержания;

И.Б. Кононенко: клинический анализ полученного материала.

Authors' contribution

V.N. Blindar: development of research design, analysis of the data obtained and publications on the topic of the article, writing the text of the article; G.N. Zubrikhina, T.V. Davydova, A.V. Snegovoy, N.V. Lyubimova: critical revision of the article with the introduction of valuable intellectual content;

M.M. Dobrovolskaya: collecting data for analysis, performing research work, forming a database and tables;

M.N. Khagazheeva: statistical analysis of research data, description of research materials and methods;

D.A. Ryabchikov: development of the concept and design of the study;

N.E. Kushlinsky: analysis of the article and literature with the introduction of valuable intellectual content;

I.B. Kononenko: clinical analysis of the material received.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.Н. Блиндарь / V.N. Blindar: <https://orcid.org/0000-0002-4630-4988>

Г.Н. Зубрихина / G.N. Zubrikhina: <https://orcid.org/0000-0002-5854-9755>

Т.В. Давыдова / T.V. Davydova: <https://orcid.org/0000-0002-5769-3114>

М.М. Добровольская / M.M. Dobrovolskaya: <https://orcid.org/0000-0002-8889-5384>

М.Н. Хагажеева / M.N. Khagazheeva: <https://orcid.org/0000-0002-3744-6802>

А.В. Снеговой / A.V. Snegovoy: <https://orcid.org/0000-0002-0170-5681>

Д.А. Рябчиков / D.A. Ryabchikov: <https://orcid.org/0000-0003-2670-2361>

Н.В. Любимова / N.V. Lyubimova: <https://orcid.org/0000-0003-0430-2754>

Н.Е. Кушлинский / N.E. Kushlinsky: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

И.Б. Кононенко / I.B. Kononenko: <https://orcid.org/0000-0002-7142-2986>

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

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Financing. The study had no sponsor support.

Соблюдение прав пациентов. Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.
Compliance with patient rights. The patients gave written informed consent to the publication of their data.

Статья поступила: 10.11.2021. Принята к публикации: 14.02.2022.
Article submitted: 10.11.2021. Accepted for publication: 14.02.2022.

Ключевые маркеры диагностики минимальной остаточной болезни при множественной миеломе

Е. Э. Толстых, Н. Н. Тупицын

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Елена Эдуардовна Толстых Elenatolstykh1@gmail.com

Введение. Терапевтические достижения последних лет, постоянное появление новых лекарственных препаратов, которые позволяют достигать полной ремиссии, длительного периода без прогрессирования, диктуют необходимость контроля лечения с помощью мониторинга остаточной болезни при множественной миеломе. Мониторингом множественной миеломы считается обнаружение небольшого количества опухолевых клеток после проведенной терапии, которые могут быть причиной рецидива заболевания, т. е. контроль минимальной остаточной болезни (МОБ). В данной статье рассмотрены ключевые маркеры (CD45, CD56 и CD19) МОБ множественной миеломы при первичной диагностике и после индукционной терапии. Существуют различные диагностические методы исследования, с помощью которых можно достоверно оценивать ответ на терапию и прогнозировать возникновение рецидива. Основными методами обнаружения МОБ являются аллель-специфическая полимеразная цепная реакция, секвенирование нового поколения и многоцветная проточная цитометрия, которая получила наиболее широкое применение. Это довольно быстрый, количественный, чувствительный и доступный метод, используемый как для первичной диагностики множественной миеломы, так и для мониторинга МОБ. При первичной диагностике важное значение имеет выявление aberrантного иммунофенотипа для правильной последующей оценки МОБ при множественной миеломе. Определение МОБ множественной миеломы считается важной составляющей в ходе терапии перед аутотрансплантацией гемопозитических стволовых клеток, для оценки эффективности проведенной терапии, контроля и прогноза заболевания.

Цель исследования – изучение ключевых маркеров (CD45, CD56 и CD19) диагностики МОБ у больных множественной миеломой.

Материалы и методы. Исследование проведено у 59 больных множественной миеломой. У всех пациентов, помимо стандартных методов диагностики и стадирования заболевания, выполнялось исследование морфологии костного мозга (миелограмма) и иммунофенотипа. Методом диагностики МОБ была 8-цветная проточная цитометрия с использованием панели моноклональных антител для диагностики плазмноклеточных опухолей Euro-Flow 2012 г.

Результаты. Оценена МОБ по маркерам CD45, CD56 и CD19 у больных множественной миеломой после индукционной терапии. Частота МОБ-позитивности по CD45 составила 87,5 %, по CD56 – 97,5 %, по CD19 – 95,5 %. Частота установления МОБ-негативного статуса по CD45 составила 12,5 %, по CD56 – 2,5 %, по CD19 – 4,5 %.

Заключение. Применение комплекса этих маркеров позволяет наиболее точно установить МОБ-негативный статус с учетом первичного иммунофенотипа злокачественных плазматических клеток.

Ключевые слова: множественная миелома, минимальная остаточная болезнь, плазматические клетки, костный мозг, многоцветная проточная цитометрия

Для цитирования: Толстых Е. Э., Тупицын Н. Н. Ключевые маркеры диагностики минимальной остаточной болезни при множественной миеломе. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(1):42–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-42-49.

Key markers for diagnosis of minimal residual disease in multiple myeloma

Elena E. Tolstykh, Nikolay N. Tupitsyn

N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Контакты: Elena Eduardovna Tolstykh Elenatolstykh1@gmail.com

Introduction. Therapeutic advances in recent years, the appearance on the market each time of new drugs that allow patients to achieve complete remission, a long period without progression dictate the need to control treatment by monitoring residual disease in multiple myeloma. Monitoring of multiple myeloma is the detection of a small number of tumor cells after therapy in a patient, which may be the cause of recurrence of the disease – control of minimal residual disease (MRD). This article discusses the key diagnostic markers (CD45, CD56 and CD19) of minimal residual multiple myeloma disease at initial diagnosis and after induction therapy. There are various diagnostic methods of research that can reliably assess the response to therapy and predict the occurrence of relapse. The main methods for detecting MRD are allele-specific polymerase chain reaction, next-generation sequencing and multicolor flow cytometry. The diagnosis of MRD by flow cytometry is the most widely used quite fast, quantitative, sensitive and affordable method, it is used for the primary diagnosis of multiple myeloma, as well as for monitoring MRD. It is important to identify the aberrant immunophenotype during the initial diagnosis for the correct subsequent assessment of MRD. MRD of multiple myeloma is considered an important component in the course of patient therapy before hematopoietic stem cell autotransplantation to assess the effectiveness of therapy, control and prognosis of the disease.

The aim of the work MRD-study with the key diagnostic markers in multiple myeloma (CD45, CD56 and CD19).

Materials and methods. The study was carried out in 59 patients with multiple myeloma. For all patients, in addition to standard methods of diagnosis and staging of the disease, bone marrow morphology (myelogram) and immunophenotype were examined. Eight-color flow cytometry with a panel of monoclonal antibodies for the diagnosis of plasma cell tumors Euro-Flow 2012 was used to diagnose MRD.

Results. MRD was assessed by markers CD45, CD56 and CD19 in patients with multiple myeloma after induction therapy. The incidence of MRD-positivity for CD45 was 87.5 %, for CD56 – 97.5 %, for CD19 – 95.5 %. The incidence of MRD-negative status was for CD45 was 12.5 %, for CD56 – 2.5 % and for CD19 – 4.5 %.

Conclusion. The use of a complex of these markers allows the most accurate determination of the MRD-negative status, taking into account the primary immunophenotype of malignant plasma cells.

Key words: multiple myeloma, minimal residual disease, plasma cells, bone marrow, multicolor flow cytometry

For citation: Tolstykh E.E., Tupitsyn N.N. Key markers for diagnosis of minimal residual disease in multiple myeloma. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2022;21(1):42–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-42-49.

Введение

Множественная миелома (ММ) — злокачественное В-клеточное лимфопролиферативное заболевание с клональной пролиферацией атипичных плазматических клеток (ПК) в костном мозге, реже — в экстрамедуллярных очагах, синтезирующих моноклональные иммуноглобулины (IgG, IgA, IgD, IgE, IgM) и/или легкие цепи (κ , λ), характеризующееся значительной цитогенетической, молекулярной и пролиферативной гетерогенностью. ММ характеризуется гематологическими, инфекционными, костными, почечными и нередко неврологическими осложнениями [1].

Согласно последней версии классификации Всемирной организации здравоохранения 2017 г., термин «ММ» заменен на термин «плазмноклеточная миелома» — заболевание, характеризующееся мультифокальной пролиферацией неопластических ПК, ассоциированное с секрецией моноклонального иммуноглобулина [2].

Множественная миелома составляет 1 % от всех злокачественных опухолей системы гемопозеза и является 2-м по частоте из наиболее распространенных онкогематологических заболеваний [3–5].

При ММ субстратом опухоли являются ПК, продуцирующие моноклональный белок. На любом этапе

созревания В-лимфоцита могут возникнуть генетические повреждения. При этом образуется В-лимфоцит, который способен дифференцироваться до плазмочита, но продуцирующий нефункциональный иммуноглобулин. Биологические и клинические особенности ММ связаны с генетическими aberrациями, такими как хромосомные делеции, мутации соматических генов и т.д. Наличие значительного количества различных генетических нарушений обуславливает высокую вариабельность течения болезни [6–9]. Различная активность миеломных ПК формирует разнообразие клинической картины и вариантов течения. Поражение костного мозга может носить как очаговый, так и диффузный характер [10].

Изучение особенностей иммунофенотипа опухолевых клеток при ММ, определение устойчивых aberrантных признаков опухоли, отличающих патологический клон от нормальных клеточных аналогов, позволили выработать оптимальные подходы к выявлению клеток минимальной остаточной болезни (МОБ) методами проточной цитометрии. В качестве общих маркеров клеток плазматического ряда применяют антигены CD38 и CD138.

Минимальной остаточной болезнью называют состояние, при котором после проведенного лечения в костном мозге остается популяция злокачественных

Таблица 1. Панель моноклональных антител для диагностики плазмноклеточных опухолей

Table 1. Panel of monoclonal antibodies for the diagnosis of plasma cell tumors

РacBlue\V450	РacOr\V500	FITC	PE	PE-cy5	PE-cy7	APC	APC-H7
CD45	CD138	CD38	CD56	β 2-micro	CD19	CyIg- κ	CyIg- λ
CD45	CD138	CD38	CD28	CD27	CD19	CD117	CD81

клеток, которые могут явиться причиной развития рецидива заболевания. Для оценки эффективности и контроля лечения ММ оценивают МОБ, т. е. проводят количественную оценку популяции остающихся после лечения злокачественных клеток заболевания. МОБ-негативным статусом считается обнаружение опухолевой популяции клеток менее 0,01 % от общего числа миелокариоцитов. Внедрение новых методов лечения сопровождается и достижениями в мониторинге ММ [11].

К основным методам детекции МОБ и оценки полноты ремиссии при ММ относятся аллель-специфическая полимеразная цепная реакция, секвенирование нового поколения, многоцветная проточная цитометрия. Иммунофенотипирование с помощью проточной цитометрии является признанным мировым «золотым стандартом» диагностики в онкогематологии. Многоцветная проточная цитометрия при диагностике МОБ позволяет находить 1 ПК среди 10 000 миелокариоцитов.

МОБ-негативностью по данным проточной цитометрии считается отсутствие (<0,01 %) фенотипически aberrантных клональных ПК в аспирате костного мозга. Для диагностики плазмноклеточных опухолей консорциумом Euro-Flow в 2012 г. была разработана панель антител (табл. 1).

Значительные успехи в лечении ММ в последние годы позволяют достигать полной ремиссии, за которой следует длительный период без прогрессирования. Статус отрицательной МОБ считается прогностическим фактором и наиболее ценным индикатором продолжительности безрецидивного периода. Определение МОБ дает возможность лучше контролировать заболевание, оценить эффективность лечения и предвидеть возможный рецидив, т. е. имеет решающее значение для мониторинга статуса ремиссии; выявление МОБ рассматривается как основная причина рецидива.

Целью нашего исследования явилось изучение ключевых маркеров диагностики МОБ у больных ММ.

Материалы и методы

В исследование включены данные первичной диагностики и МОБ-статус (миелограмма, иммунофенотипирование) костного мозга 59 больных ММ, проходивших диагностику и лечение в 2017–2020 гг.

в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Среди наблюдавшихся больных ММ было 35 мужчин и 24 женщины. Возраст больных варьировал от 31 до 76 лет. По классификации Durie–Salmon больные ММ распределились следующим образом (табл. 2).

Таблица 2. Распределение пациентов исследуемой группы по классификации Durie–Salmon

Table 2. Distribution of patients in the study group according to the classification of Durie–Salmon

Стадия по Durie–Salmon Stage by Durie–Salmon	n	%
IA	5	8,5
IIA	4	6,8
IIIA	46	77,9
IIIV	4	6,8
Всего Total	59	100

Иммунофенотипирование пунктата костного мозга проводили методом 8-цветной проточной цитометрии на цитометре FACSCanto II (Becton Dickinson, США). Анализировали собранный материал с помощью программ FCS Express V3. Использовали панель антител для диагностики плазмноклеточных опухолей Euro-Flow 2012 г. (см. табл. 1).

Результаты

Иммунофенотип плазматических клеток

Изучение особенностей иммунофенотипа опухолевых клеток при ММ, выявление aberrантного иммунофенотипа при первичной диагностике имеют важное значение для последующей оценки МОБ. У всех наблюдавшихся 59 больных ММ был установлен первичный aberrантный иммунофенотип по экспрессии антигенов CD45, CD56 и CD19 (табл. 3).

Aberrантный иммунофенотип по экспрессии всех 3 антигенов (CD45, CD56 и CD19) выявлен у 34 (57,6 %) из 59 больных ММ; по экспрессии антигенов CD45, CD56 – у 3 (5,1 %); CD45, CD19 – у 12 (20,3 %); CD56, CD19 – у 9 (15,3 %) и по экспрессии CD56 – у 1 (1,7 %).

Таблица 3. Аберрантный иммунофенотип при первичной диагностике множественной миеломы

Table 3. Aberrant immunophenotype at primary diagnosis of multiple myeloma

Число пациентов Number of patients	CD45CD56CD19	CD45CD56	CD45CD19	CD56CD19	CD56	Всего Total
<i>n</i>	34	3	12	9	1	59
%	57,6	5,1	20,3	15,3	1,7	100

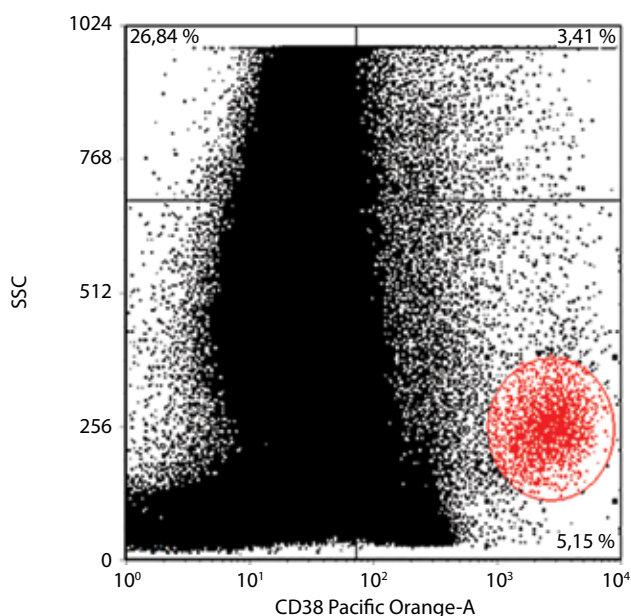


Рис. 1. Гейт плазматических клеток CD38⁺ (выделен красным цветом)
Fig. 1. The gate of plasma cells CD38⁺ (highlighted in red)

Диагностика МОБ на основании экспрессии CD45, CD56 и CD19 после индукционной терапии

Принципиальным этапом в отношении выявления МОБ является выбор антигена, позволяющего идентифицировать нужную нам популяцию. Маркером ПК считается выраженная экспрессия антигена CD38 в сочетании с характеристиками бокового светорассеяния лазерного луча (SSC). Данный подход пригоден для оценки количества как нормальных, так и миеломных ПК (рис. 1).

Наибольшая плотность экспрессии маркера CD38 обнаруживалась на нормальных ПК (CD38^{high}). Экспрессия CD38 на неопластических ПК была положительной, но плотность его экспрессии была сниженной (dim) в отличие от нормальных ПК. На рис. 2 показаны 2 популяции, одна из них представлена нормальными ПК, другая – опухолевыми (неопластическими) ПК по показателям экспрессии CD38 (PacOr\V500) и бокового светорассеяния.

Для специфичности выявления ПК среди миелокарицитов в соответствии со стандартными рекомендациями Международной рабочей группы

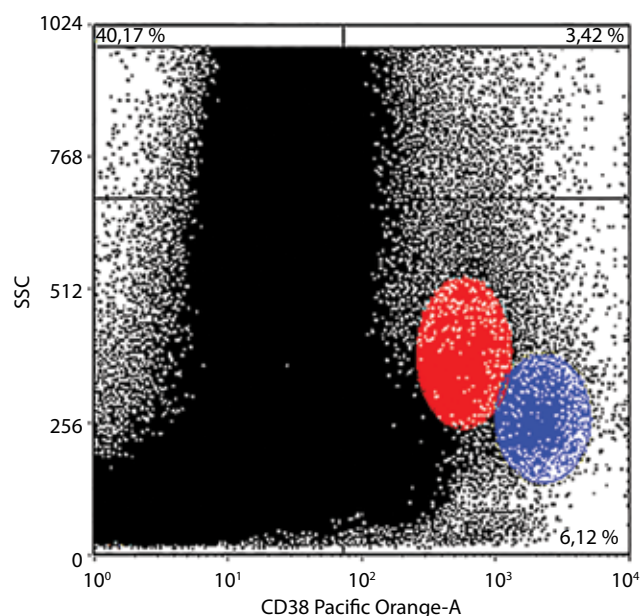


Рис. 2. Нормальная (синий цвет) и неопластическая (красный цвет) популяции плазматических клеток (гейт CD38⁺)

Fig. 2. Normal (blue color) and neoplastic (red color) population of plasma cells (gate CD38⁺)

по миеломе (International Myeloma Working Group, IMWG) было предложено использовать комбинацию 2 маркеров – CD38 и CD138. Эта комбинация маркеров позволяет идентифицировать ПК, оценить их количественно, правильно отделить ПК от В-клеточных предшественников и от других лейкоцитов (рис. 3).

Затем выделяли ПК (CD38⁺ и CD138⁺) среди всех ядродержащих клеток – миелокарицитов (рис. 4).

На рис. 5 представлена нормальная и неопластическая (опухолевая) популяции ПК по экспрессии маркера CD45.

По экспрессии CD45, CD56 и CD19 оценивали МОБ у больных ММ после проведения индукционной терапии. При диагностике нормальный иммунофенотип по экспрессии CD45 наблюдали у 12 из 59 больных, что составило 20,3 %. Большинство из этих больных имели аберрантный иммунофенотип по CD56 и CD19 – 11/12 (91,7 %), 1 пациент имел аберрантный иммунофенотип только по экспрессии CD56 – 1/12 (8,3 %).

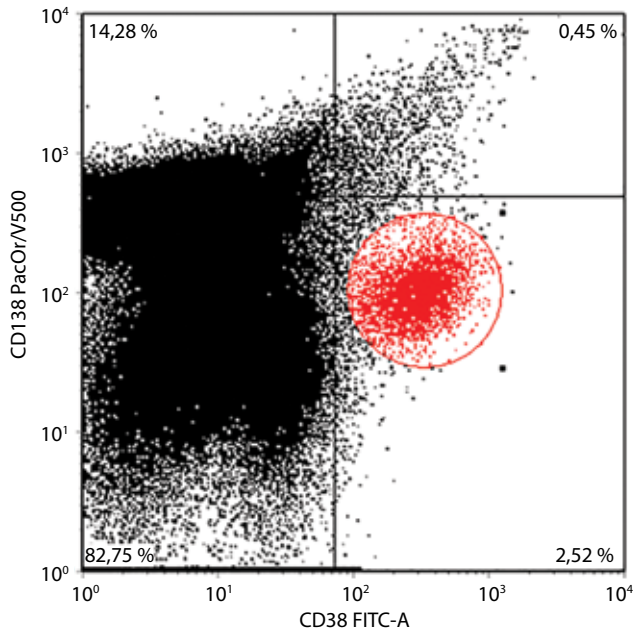


Рис. 3. Выделение гейта (красный цвет) плазматических клеток (гейт $CD38^+$ и $CD138^+$)

Fig. 3. Exposure of the gate (red color) of plasma cells (gate $CD38^+$ and $CD138^+$)

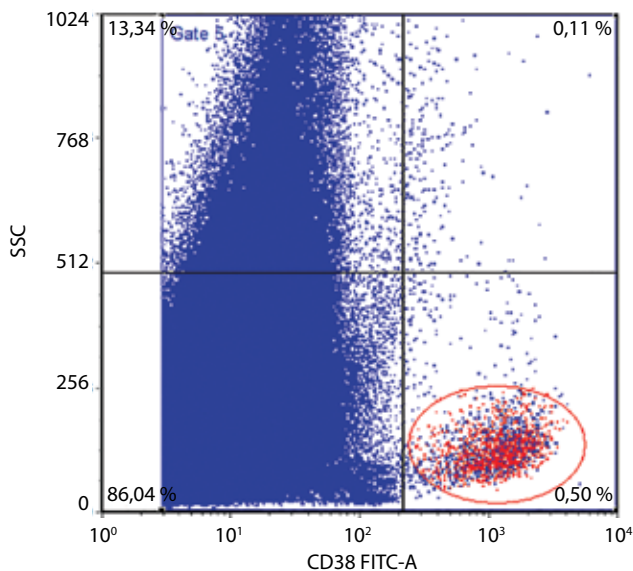


Рис. 4. Гейт $CD38^+$ и $CD138^+$ среди миелокариоцитов. Синим цветом выделены все ядросодержащие клетки, красным цветом – гейт плазматических клеток

Fig. 4. Gate $CD38^+$ and $CD138^+$ among myelokaryocytes. All nucleated cells are highlighted in blue, and the gate of plasma cells is highlighted in red

У 40 пациентов из группы больных ММ исследовали МОБ по экспрессии CD45 после индукционной терапии. Частота МОБ-положительных случаев по CD45 составила 35/40 (87,5 %). В этой группе больных ММ процент МОБ-положительных по CD45 был в диапазоне

0,02–15,85 %. У 5 (12,5 %) из 40 пациентов после индукционной терапии ММ выявлен МОБ-негативный статус (табл. 4).

Таблица 4. Выявление минимальной остаточной болезни (МОБ) у больных множественной миеломой после индукционной терапии, n (%)

Table 4. Detection of minimal residual disease (MRD) in multiple myeloma patients after induction therapy, n (%)

Статус Status	МОБ после индукционной терапии MRD after induction therapy		
	CD45	CD56	CD19
МОБ-положительные MRD-positive	35 (87,5)	39 (97,5)	42 (95,5)
МОБ-отрицательные MRD-negative	5 (12,5)	1 (2,5)	2 (4,5)
Всего Total	40 (100)	40 (100)	44 (100)

Экспрессия антигена CD45 на миеломных (неопластических) ПК часто отсутствует, а на нормальных ПК экспрессия этого антигена гетерогенна, варьирует от слабой (dim, до 6 %) до положительной (100 %). Отсутствие маркера CD45 связано с прогрессированием заболевания и неблагоприятным прогнозом.

Экспрессия CD56 на нормальных ПК отрицательная, но до 10–15 % могут быть CD56 dim, на миеломных ПК экспрессия CD56 высокой плотности

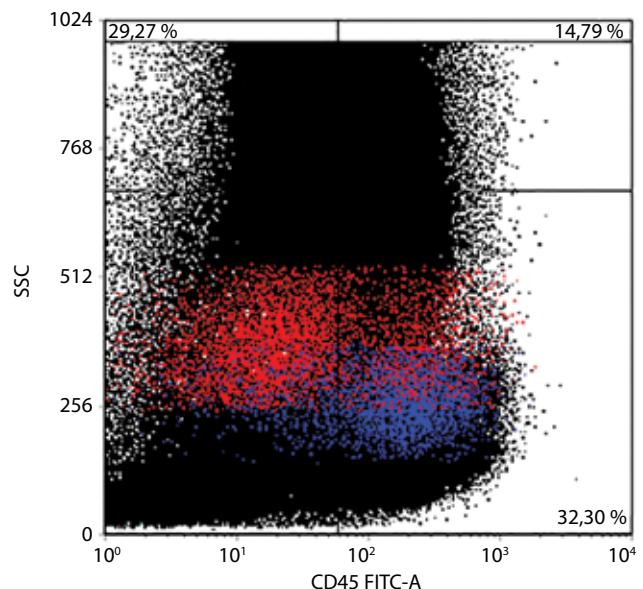


Рис. 5. Нормальный иммунофенотип плазматических клеток (популяция синего цвета) и aberrantный иммунофенотип (популяция красного цвета) по экспрессии CD45

Fig. 5. Normal plasma cell immunophenotype (blue population) and aberrant immunophenotype (red population) by CD45 expression

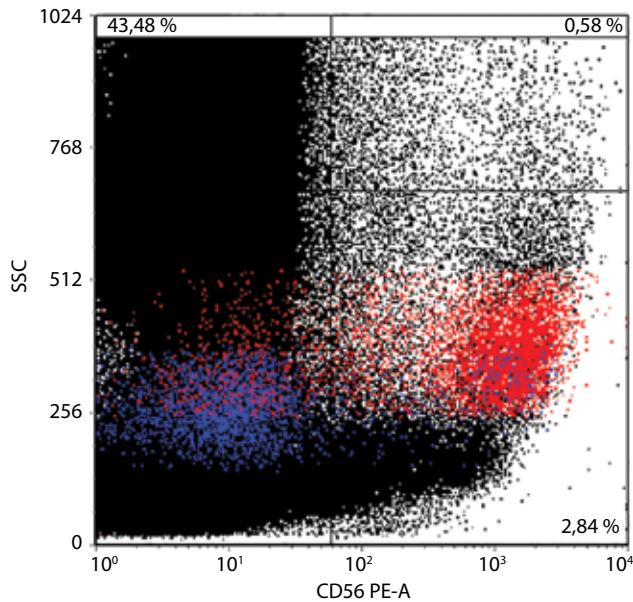


Рис. 6. Нормальный (популяция синего цвета) и aberrantный (популяция красного цвета) иммунофенотипы по экспрессии маркера CD56
Fig. 6. Normal (blue population) and aberrant (red population) immunophenotype by CD56 marker expression

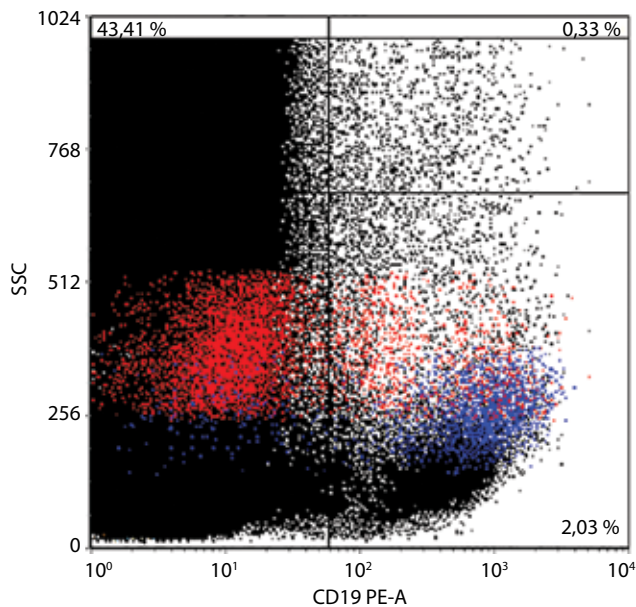


Рис. 7. Нормальный и aberrantный иммунофенотипы по экспрессии маркера CD19
Fig. 7. Normal and aberrant immunophenotype by CD19 marker expression

(иногда достигала 100 %) при первичной диагностике больных ММ. На рис. 6 показаны 2 популяции ПК: по экспрессии CD56⁺ – aberrantный иммунофенотип, по экспрессии CD56⁻ – нормальные ПК костного мозга больного ММ.

Экспрессия антигена CD19 на миеломных (неопластических) ПК отрицательная, а на нормальных

ПК – положительная. При этом до 30 % всех ПК могут быть CD19-отрицательными, т. е. на нормальных ПК экспрессия по CD19⁺ >70 %. Отсутствие или исчезновение маркера CD19 связано с прогрессированием заболевания и неблагоприятным прогнозом (рис. 7).

После выделения ПК (гейт CD38⁺ и CD138⁺) среди всех ядросодержащих клеток (миелокариоцитов) оценивали МОБ по экспрессии CD56 и CD19 (рис. 8).

При диагностике нормальный иммунофенотип по экспрессии CD56 наблюдали у 12 из 59 пациентов, что составило 20,3 %. Эти пациенты с ММ имели aberrantный иммунофенотип по CD45 и CD19.

В исследуемой группе у 40 из 59 больных ММ оценивали МОБ по экспрессии CD56 после индукционной терапии. Частота МОБ-положительных случаев по CD56 составила 39/40 (97,5 %). В этой группе больных ММ процент ПК, положительных по CD56, был в диапазоне 0,022–17,2 %. У 1 (2,5 %) из 40 больных ММ после индукционной терапии был МОБ-негативный статус (см. табл. 4).

При диагностике нормальный иммунофенотип по экспрессии CD19 наблюдали у 4 из 59 пациентов, что составило 6,8 %. Из этих больных ММ 3 (75 %) имели aberrantный иммунофенотип по CD45 и CD56 и 1 (25 %) пациент имел aberrantный иммунофенотип только по экспрессии CD56.

Минимальную остаточную болезнь по экспрессии CD19 после индукционной терапии изучили у 44 пациентов. В исследуемой группе частота МОБ-положительных случаев по CD19 составила 42/44 (95,5 %). В этой группе пациентов с ММ процент МОБ-положительных по CD19 был в диапазоне 0,03–16,3 %. У 2 (4,5 %) пациентов после индукционной терапии был МОБ-негативный статус (см. табл. 4).

Обсуждение

Определение МОБ с помощью проточной цитометрии является обязательным диагностическим этапом для оценки глубины ответа, прогноза заболевания и мониторинга лечения больных ММ.

В течение долгого времени целью лечения было достижение частичной ремиссии или стабилизации заболевания. Благодаря внедрению в клиническую практику высокодозной терапии с последующей аутотрансплантацией стволовых клеток появилась возможность достижения полной ремиссии примерно у 35 % больных ММ [12].

Следует отметить, что ни стандартные, ни новые препараты не способны обеспечить полное уничтожение всех клеток миеломы, в результате у большинства больных развивается рецидив за счет остаточного опухолевого клона, т. е. МОБ. Однако терапевтические достижения в последние годы дают возможность

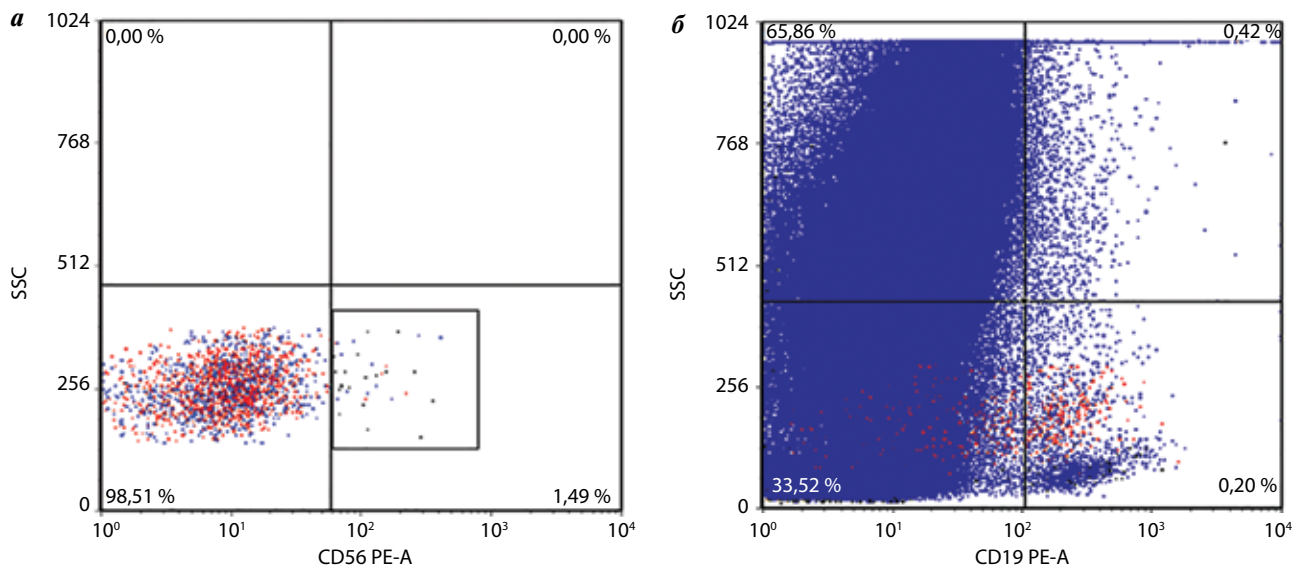


Рис. 8. Оценка минимальной остаточной болезни (МОБ) по экспрессии CD56 и CD19 в гейте плазматических клеток среди миелокариоцитов: а – в квадрате (точечное изображение) по экспрессии CD56⁺ (PE) и бокового светорассеяния выделена популяция миеломных клеток, оставшихся после индукционной терапии, измерение которых соответствует МОБ по экспрессии CD56; б – по экспрессии CD19⁺ (PE) и бокового светорассеяния, красным цветом (точечное изображение) выделена популяция миеломных клеток, оставшихся после индукционной терапии, измерение которых соответствует МОБ по экспрессии CD19

Fig. 8. Assessment of minimal residual disease (MRD) by CD56 and CD19 expression in the plasma cell gate among myelokaryocytes: a – in the square (dot image) was isolated a population of myeloma cells, remaining after induction therapy, by CD56⁺ (PE) expression and lateral light scattering, the measurement of which corresponds to the MRD by CD56 expression; b – according to the expression of CD19⁺ (PE) and lateral light scattering, the population of myeloma cells remaining after induction therapy is highlighted in red (dot image), the measurement of which corresponds to the expression of CD19

достигнуть полной ремиссии, за которой следует длительный период без прогрессирования, и статус отрицательной МОБ считается прогностическим фактором и наиболее ценным индикатором последующего рецидива.

В исследовании В. Paiva и соавт. показано, что при переходе от отрицательного к положительному статусу МОБ при последовательном мониторинге МОБ в костном мозге происходят специфические изменения, такие как относительное увеличение эритробластов, НК-клеток и связанных с опухолью макрофагов [13]. В другом исследовании С. Votta и соавт. показали влияние соотношения CD27⁻/CD27⁺ Т-клеток в микроокружении костного мозга [14]. Эти данные указывают на происходящие изменения во взаимодействии между клетками миеломы в костномозговом микроокружении, которые приводят к последующим рецидивам и неконтролируемому заболеванию [15–17]. Таким образом, в любой момент МОБ-отрицательный статус может перейти в МОБ-положительный, что предсказывает рецидив заболевания. По некоторым данным [18], устойчивый 2-летний период отрицательного МОБ-статуса позволяет выявлять пациентов с очень низким риском прогрессирования заболевания.

Заключение

Проведен анализ ПК в миелограмме. У 100 % больных ММ среди клеток плазмочитарного ряда (по данным световой микроскопии препаратов костного мозга) преобладали зрелые формы.

Порогом позитивности МОБ считается 0,01 % ПК с aberrантным иммунофенотипом в пределах миелокариоцитов. Проведен детальный анализ aberrантного иммунофенотипа ПК по маркерам CD45, CD56 и CD19 при первичной диагностике ММ. Его частота по экспрессии CD45, CD56 и CD19 составила 57,6 %, по экспрессии CD45, CD56 – 5,1 %, по экспрессии CD45, CD19 – 20,3 %, по CD56, CD19 – 15,3 % и по CD56 – 1,7 %.

Оценен МОБ-статус по маркерам CD45, CD56 и CD19 у больных ММ после индукционной терапии. В нашем исследовании частота МОБ-позитивности у больных ММ составила по CD45 – 87,5 %, по CD56 – 97,5 %, по CD19 – 95,5 %, а частота установления МОБ-негативного статуса составила по CD45 – 12,5 %, по CD56 – 2,5 %, по CD19 – 4,5 %.

Применение комплекса данных маркеров позволяет наиболее точно установить МОБ-негативный статус с учетом первичного иммунофенотипа злокачественных плазматических клеток.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Рукавицын О.А., Поп В.П. Множественная миелома. В кн.: Гематология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. С. 550. [Rukavitsyn O.A., Pop V.P. Multiple myeloma. In: Hematology. Moscow: GEOTAR-Media, 2015. P. 550. (In Russ.)].
2. Менделеева Л.П., Вотякова О.М., Рехтина И.Г. и др. Множественная миелома. Клинические рекомендации. Современная Онкология 2020;22(4):6–28. [Mendeleva L.P., Votyakova O.M., Rekhtina I.G. et al. Multiple myeloma. Clinical recommendations. Sovremennaya Onkologiya = Modern Oncology 2020;22(4):6–28. (In Russ.)]. DOI: 10.26442/18151434.2020.4.200457.
3. Palumbo A., Anderson K. Multiple myeloma. N Engl J Med 2011;364(11):1046–60. DOI: 10.1056/NEJMra1011442.
4. Teras L.R., DeSantis C.E., Cerhan J.R. et al. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes. CA Cancer J Clin 2016;66(6):443–59. DOI: 10.3322/caac.21357.
5. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2016. CA Cancer J Clin 2016;66(1):7–30. DOI: 10.3322/caac.21332.
6. Furukawa Y., Kikuchi J. Molecular pathogenesis of multiple myeloma. Int J Clin Oncol 2015;20(3):413–22. DOI: 10.1007/s10147-015-0837-0.
7. Kuehl W.M., Bergsagel P.L. Molecular pathogenesis of multiple myeloma and its premalignant precursor. J Clin Invest 2012;122(10):3456–63. DOI: 10.1172/JCI61188.
8. Morgan G.J., Walker B.A., Davies F.E. The genetic architecture of multiple myeloma. Nat Rev Cancer 2012;12(5):335–48. DOI: 10.1038/nrc3257.
9. Fonseca R., Bergsagel P.L., Drach J. et al. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: Spotlight review. Leukemia 2009;23(12):2210–21. DOI: 10.1038/leu.2009.174.
10. Абрамова А.В., Абдуллаев А.О., Азимова М.Х. и др. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Том 2. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2018. С. 407–434. [Abramova A.V., Abdullaev A.O., Azimova M.H. et al. Diagnostic algorithms and treatment protocols for diseases of the blood system. V. 2. Ed. by V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2018. Pp. 407–434. (In Russ.)].
11. Kazandjian D. Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy. Semin Oncol 2016;43(6):676–81. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2016.11.004.
12. Attal M., Harousseau J.I. Role of autologous stem-cell transplantation in multiple myeloma. Best Pract Res Clin Haematol 2007;20(4):747–59. DOI: 10.1016/j.beha.2007.09.006.
13. Paiva B., Cedena M.T., Puig N. et al. Minimal residual disease monitoring and immune profiling in multiple myeloma in elderly patients. Blood 2016;127(25):3165–74. DOI: 10.1182/blood-2016-03-705319.
14. Botta C., Pérez Ruiz C., Goicoechea I. et al. Single-cell characterization of the multiple myeloma (MM) immune microenvironment identifies CD27-negative T cells as potential source of tumor-reactive lymphocytes. Blood 2019;134(Suppl 1):506. DOI: 10.1182/blood-2019-123974.
15. Kawano Y., Roccaro A.M., Ghobrial I.M., Azzi J. Multiple myeloma and the immune microenvironment. Curr Cancer Drug Targets 2017;17(9):806–18. DOI: 10.2174/1568009617666170214102301.
16. Malek E., de Lima M., Letterio J.J. et al. Myeloid-derived suppressor cells: the green light for myeloma immune escape. Blood Rev 2016;30(5):341–8. DOI: 10.1016/j.blre.2016.04.002.
17. Leone P., Berardi S., Frassanito M.A. et al. Dendritic cells accumulate in the bone marrow of myeloma patients where they protect tumor plasma cells from CD8+ T-cell killing. Blood 2015;126(12):1443–51. DOI: 10.1182/blood-2015-01-623975.
18. Gu J., Liu J., Chen M. et al. Longitudinal flow cytometry Identified “minimal residual disease” (MRD) evolution patterns for predicting the prognosis of patients with transplant-eligible multiple myeloma. Biol Blood Marrow Transplant 2018;24(12):2568–74. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.07.040.

Вклад авторов

Н.Н. Тупицын: участие в разработке дизайна исследования, руководство проведением исследования, редактирование текста статьи; Е.Э. Толстых: разработка дизайна исследования, получение и анализ данных, написание и оформление текста статьи, перевод на английский язык.

Authors' contribution

N.N. Tupitsyn: participation in the development of the research design, management of the research, editing of the text of the article; E.E. Tolstykh: development of research design, data acquisition and analysis, writing and formatting of the text of the article, translation into English.

ORCID авторов / ORCID of authors

Н.Н. Тупицын / N.N. Tupitsyn: <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

Е.Э. Толстых / E.E. Tolstykh: <https://orcid.org/0000-0003-0593-6900>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 09.11.2021. Принята к публикации: 14.02.2022.

Article submitted: 09.11.2021. Accepted for publication: 14.02.2022.

Субпопуляции В-лимфоцитов костного мозга больных раком молочной железы в прогнозе заболевания

Ф.К. Бердова, И.К. Воротников, Н.Н. Тупицын

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Николай Николаевич Тупицын nntca@yahoo.com

Введение. Среди иммунологических факторов прогноза при раке молочной железы важную роль играют интралимфоцитарные лимфоциты. С благоприятным прогнозом ассоциирована выраженная инфильтрация опухоли CD8-лимфоцитами. Экспрессия на опухолевых клетках трансферринового рецептора (CD71), напротив, ассоциирована с неблагоприятным прогнозом. Очень мало изучен с точки зрения прогностической роли гемопоэтических клеток и субпопуляций лимфоцитов костный мозг больных раком молочной железы.

Цель исследования – изучить субпопуляции В-лимфоцитов костного мозга больных раком молочной железы и оценить их прогностическое значение.

Материалы и методы. Детальные исследования костного мозга проведены 107 больным, проходившим лечение в отделении опухолей молочных желез в основном в период 2013–2016 гг. Таким образом, длительность периода наблюдения после оперативного лечения у большинства больных составила от 5 до 8 лет. При диагностике больным проводилось стандартное исследование рецепторного статуса, Her2/неу, экспрессии Ki-67 и т. д. Морфологическое исследование костного мозга (миелограмма) проведено всем больным. Уточнение длительности жизни больных проводилось путем персональных опросов или через бюро записи актов гражданского состояния. По возможности была уточнена длительность жизни больных, периода без прогрессирования, безметастатического периода и т. д.

Результаты. В случаях наличия в костном мозге больных раком молочной железы В-лимфоцитов более 10 % показатели общей выживаемости были более благоприятными ($p = 0,019$). В-клетки костного мозга и, в частности, CD10-позитивные В-линейные предшественники ($p = 0,042$) имели благоприятное прогностическое значение (для общей выживаемости) при раке молочной железы. Прогностическая роль антигена CD10 реализовывалась при сроках наблюдения за больными более 5 лет. Экспрессия CD38 на В-клетках костного мозга также является прогностически благоприятным фактором (общая выживаемость, $p = 0,026$), роль которого реализуется в сроки 5–10-летнего наблюдения после операции. В1-лимфоциты костного мозга не имели ассоциации с прогнозом рака молочной железы (общей выживаемостью), однако были взаимосвязаны ($p = 0,07$) с показателями выживаемости без прогрессирования.

Заключение. Показано, что общее относительное содержание (более 10 %) В-лимфоцитов костного мозга (CD19⁺) больных раком молочной железы достоверно связано с более благоприятным прогнозом (общей выживаемостью), что было обусловлено, в первую очередь, В-линейными предшественниками (CD10⁺). Клетки, экспрессирующие нелинейный маркер CD38, также были взаимосвязаны с благоприятным прогнозом. Уровни В1-лимфоцитов (CD5⁺) костного мозга не влияли на прогноз заболевания. Прогностическая роль В-линейных предшественников и CD38-позитивных клеток реализовывалась в сроки 5–10 лет после операции.

Ключевые слова: рак молочной железы, костный мозг, В-лимфоциты, CD10, CD38, CD5

Для цитирования: Бердова Ф.К., Воротников И.К., Тупицын Н.Н. Субпопуляции В-лимфоцитов костного мозга больных раком молочной железы в прогнозе заболевания. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(1): 50–6. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-50-56.

Bone marrow B-lymphocyte subpopulations of breast cancer patients in the prognosis of the disease

Farangiz K. Berdova, Igor K. Vorotnikov, Nikolay N. Tupitsyn

N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Contacts: Nikolay Nikolaevich Tupitsyn mntca@yahoo.com

Introduction. Among the immunological prognostic factors in breast cancer, intratumoral lymphocytes play an important role. Pronounced infiltration of the tumor by CD8 lymphocytes is associated with a favorable prognosis. The expression of transferrin receptor (CD71) on tumor cells, on the contrary, is associated with an unfavorable prognosis. The bone marrow of breast cancer patients has been studied very little in terms of the prognostic role of hematopoietic cells and lymphocyte subpopulations.

The study objective was to investigate the bone marrow B-lymphocyte subpopulations of breast cancer patients and evaluate their prognostic value.

Materials and methods. Detailed bone marrow studies were carried out in 107 patients who were treated in the department of mammary gland tumors mainly in the period 2013–2016. Thus, the duration of the follow-up period after surgical treatment was mainly from 5 to 8 years. When diagnosing patients, a standard study of the receptor status, Her²/neu, Ki-67 expression, etc. was performed. Morphological examination of the bone marrow (myelogram) was performed in all patients. Clarification of the life expectancy of patients was carried out by personal surveys or through the Registry Office. If possible, the life expectancy of patients, the duration of the period without progression etc. were clarified.

Results. In cases with B-lymphocytes of more than 10 %, survival rates were more favorable ($p = 0.019$). Bone marrow B cells and, in particular, CD10-positive B-linear precursors may have prognostic value in breast cancer. Thus, CD10 expression on 12 percent or more of bone marrow B cells of breast cancer patients was associated with a more favorable prognosis ($p = 0.042$). The prognostic role of the CD10 antigen was realized with a follow-up period of more than 5 years. The expression of CD38 on bone marrow B cells is a prognostically favorable factor (overall survival, $p = 0.026$), the role of which is realized within 5–10 days of follow-up after surgery. Bone marrow B1 lymphocytes had no association with breast cancer prognosis (overall survival), however, they were correlated ($p = 0.07$) with progression-free survival.

Conclusion. Total relative number of (more than 10 %) of bone marrow B-lymphocytes (CD19⁺) of breast cancer patients were significantly related to the more favorable prognosis (overall survival) primarily because of B-cell precursors (CD10⁺) CD38⁺ bone marrow cells were also associated with more favorable prognosis. Levels of B1-lymphocytes (CD5⁺) in bone marrow lymphocytes were not related to the prognosis of breast cancer. Prognostic role of B-lineage precursors and CD38-positive cells was noted in the periods of 5–10 years after operation.

Key words: breast cancer, bone marrow, B-lymphocytes, CD10, CD38, CD5

For citation: Berdova F.K., Vorotnikov I.K., Tupitsyn N.N. Bone marrow B-lymphocyte subpopulations of breast cancer patients in the prognosis of the disease. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2022;21(1):50–6. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-50-56.

Введение

Рак молочной железы (PMЖ) — самое частое злокачественное заболевание у женщин. Ежегодно PMЖ диагностируется у 1,5 млн женщин. За 2017 г. в Российской Федерации зарегистрировано около 70 тыс. новых случаев, что составляет 20 % всех впервые выявленных злокачественных новообразований в стране [1].

В лечении PMЖ достигнуты большие успехи, однако проблемы остаются. И поиск факторов прогноза заболевания — это актуальный вопрос современной онкоматологии. Хорошо известна прогностическая роль ряда стандартных факторов, используемых при диагностике и выборе терапевтических программ при PMЖ, — рецепторов эстрогенов и прогестерона, Her2/neu, пролиферативного индекса Ki-67 и ряда других [2].

Среди иммунологических факторов прогноза важную роль играют интратуморальные лимфоциты. С благоприятным прогнозом ассоциирована выра-

женная инфильтрация опухоли CD8-лимфоцитами. Экспрессия на опухолевых клетках трансферринового рецептора (CD71), напротив, ассоциирована с неблагоприятным прогнозом [3].

Очень мало изучен с точки зрения прогностической роли гемопоэтических клеток и субпопуляций лимфоцитов костный мозг больных PMЖ. Нами предпринята попытка изучения роли различных клеточных типов костного мозга в прогнозе PMЖ.

Цель исследования — изучить субпопуляции В-лимфоцитов костного мозга больных PMЖ и оценить их прогностическое значение.

Материалы и методы

Детальные исследования костного мозга проведены 107 больным, проходившим лечение в отделении опухолей молочных желез, в основном в период 2013–2016 гг. (в 2013 г. — 32 больные, 2014 г. — 19, 2015 г. — 28, 2016 г. — 18); некоторые больные обследованы в более ранние и более поздние сроки:

в 1990 г. – 1, 2001 г. – 1, 2003 г. – 1, 2008 г. – 1, 2012 г. – 1, 2018 г. – 1. Таким образом, длительность периода наблюдения после оперативного лечения в основном составила от 5 до 8 лет.

При диагностике больным проводилось стандартное исследование рецепторного статуса, Her2/neu, экспрессии Ki-67 и т. д. Распределение больных в зависимости от стадии заболевания, критериев T, N, M приведено в табл. 1; результаты исследований рецепторного статуса, экспрессии Her2/neu, уровней пролиферативной активности (Ki-67) представлены в табл. 2; особенности лечения больных – в табл. 3.

Таблица 1. Некоторые клинические признаки больных раком молочной железы, включенных в исследование ($n = 107$)

Table 1. Some clinical signs of breast cancer patients included in the study ($n = 107$)

Показатель Indicator	<i>n</i>	%
Размер опухоли (Т): Tumor Size (T):		
<i>In situ</i>	2	1,9
T1	54	50,5
T2	48	44,9
T3	3	2,8
Индекс N: Index N:		
N0	75	70,1
N1	32	29,9
Индекс M: Index M:		
M0	107	100
Стадия: Stage:		
<i>In situ</i>	2	1,9
I	38	35,5
IIA	48	44,9
IIIB	19	17,8

Морфологическое исследование костного мозга (миелограмма) проведено всем больным. Исследование субпопуляций костного мозга в различные годы претерпевало изменения. Наиболее многочисленные группы: CD3 – 95 больных, CD4 – 90, CD8 – 90, CD4/CD8 – 89, CD8⁺HLA-DR⁺ – 83, CD4⁺CD25⁺ – 80, CD19 – 80, CD19⁺CD10⁺ – 81, CD19⁺CD38⁺ – 88, CD19⁺CD5⁺ – 87. Остальные субпопуляции (указаны в тексте) изучены у меньшего количества больных. Уточнение длительности жизни больных проводилось путем персональных опросов или через бюро записи актов гражданского состояния. По возможности была уточнена длительность жизни больных, периода без прогрессирования, безметастатического периода и т. д. Сравнение кривых выживаемости (по Каплану–Майеру) проводили статистическими методами с оценкой достоверности различий по *log-rank*,

Бреслоу, Тарон–Уоре. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Таблица 2. Данные по экспрессии Her2/neu, рецепторному статусу, уровням пролиферативной активности (Ki-67) у больных, включенных в исследование ($n = 107$)

Table 2. Data on Her2/neu expression, receptor status, levels of proliferative activity (Ki-67) in patients included in the study ($n = 107$)

Показатель Indicator	<i>n</i>	%
Статус ЭР: Status of ER:		
отрицательный (до 3 баллов) negative (up to 3 points)	25	23,4
положительный (3 и более баллов) positive (3 or more points)	82	76,6
Статус ПР: Status PR:		
отрицательный (до 3 баллов) negative (up to 3 points)	35	32,7
положительный (3 и более баллов) positive (3 or more points)	72	67,3
Her2/neu:		
0/1 ⁺	54	50,5
2 ⁺	37	34,6
3 ⁺	16	15,0
Экспрессия Ki-67: Ki-67 expression:		
низкая (до 20 %) low (up to 20 %)	32	29,9
высокая (20 % и более) high (20 % or more)	75	70,1

Примечание. ЭР – эстрогеновые рецепторы; ПР – прогестероновые рецепторы.

Note. ER – estrogen receptors; PR – progesterone receptors.

Результаты

В-лимфоциты костного мозга

Общее количество (процент) В-лимфоцитов костного мозга было достоверно связано с прогнозом РМЖ. В случаях наличия В-лимфоцитов более 10 % показатели выживаемости были более благоприятными.

Как видно из представленных на рис. 1 данных, кривые общей выживаемости расходятся в период 5–10 лет наблюдения.

Мы предприняли попытку оценить, какие из субпопуляций костномозговых В-лимфоцитов взаимосвязаны с прогнозом РМЖ. Оценили предшественники В-клеток (CD10⁺), CD38-позитивные В-клетки, субпопуляцию В1-лимфоцитов (CD5⁺).

Предшественники В-клеток (CD10⁺)

Наличие В-линейных предшественников в костном мозге ассоциировалось с более благоприятным прогнозом РМЖ.

Таблица 3. Типы операций, проведение лучевой, химио- или гормонотерапии у больных, включенных в исследование (n = 107)

Table 3. Types of surgery, radiation, chemotherapy or hormone in patients included in the study (n = 107)

Лечение Treatment	n	%
Хирургическое: Surgical:		
радикальная резекция radical resection	41	38,3
радикальная мастэктомия radical mastectomy	62	57,9
радикальная мастэктомия + реконструкция radical mastectomy + reconstruction	4	3,7
Лучевая терапия: Radiation therapy:		
не проводилась not carried out	58	54,2
проводилась was carried out	49	45,8
Химиотерапия: Chemotherapy:		
не проводилась not carried out	37	34,6
АС × 4	34	31,7
паклитаксел + трастузумаб paclitaxel + trastuzumab	3	2,8
АС + трастузумаб + паклитаксел AC + trastuzumab + paclitaxel	1	0,9
АС + трастузумаб + паклитаксел AC + trastuzumab + paclitaxel	1	0,9
таксотер + циклофосфан taxotere + cyclophosphan	3	2,8
АС × 4 + таксаны × 4	19	17,8
АС × 4 + taxanes × 4	19	17,8
АТ × 4	4	3,7
капецитабин × 6 capecitabine × 6	1	0,9
доцетаксел + карбоплатин docetaxel + carboplatin	3	2,8
АС × 2 + таксаны × 3	2	1,9
АС × 2 + taxanes × 3	2	1,9
Гормонотерапия: Hormone therapy:		
не проводилась not carried out	28	26,2
антиэстрогены antiestrogen	49	45,8
ингибиторы ароматазы aromatase inhibitors	30	28,0

При пороговом уровне В-линейных предшественников (CD10⁺CD19⁺) 12 % различия были достоверными (рис. 2). Прогностическая роль антигена CD10 реализовывалась при сроках наблюдения за больными более 5 лет.

Роль экспрессии антигена CD38 на В-клетках костного мозга больных РМЖ оценена у 87 больных. В качестве порогового использован уровень 10 %. Как видно на рис. 3, у больных с наличием антиген-положительных клеток в костном мозге более 10 % отмечены более высокие уровни общей выживаемости, $p = 0,026$. Достоверные различия в выживаемости реализовывались при сроках наблюдения 5–8 лет.

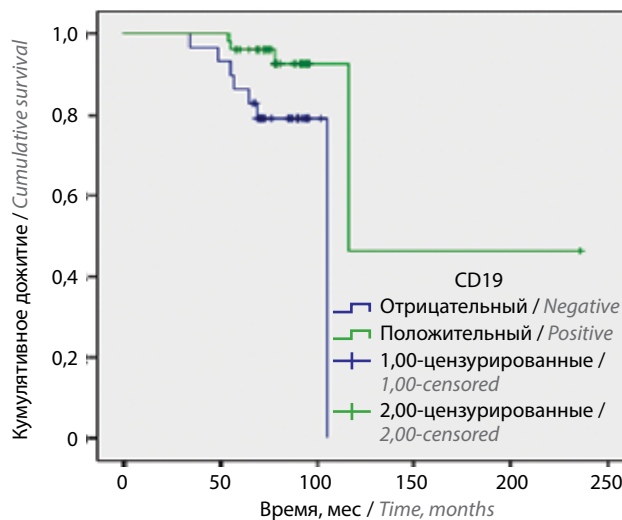


Рис. 1. Сравнение кривых общей выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от уровней В-лимфоцитов в костном мозге. Зеленый цвет – более 10 % (51 больной), синий цвет – менее 10 % (29 больных). Различия достоверны, $p = 0,019$

Fig. 1. Comparison of the overall survival curves of breast cancer patients depending on the levels of B-lymphocytes in the bone marrow. Green color – more than 10 % (51 patients), blue color – less than 10 % (29 patients). The differences are significant, $p = 0.019$

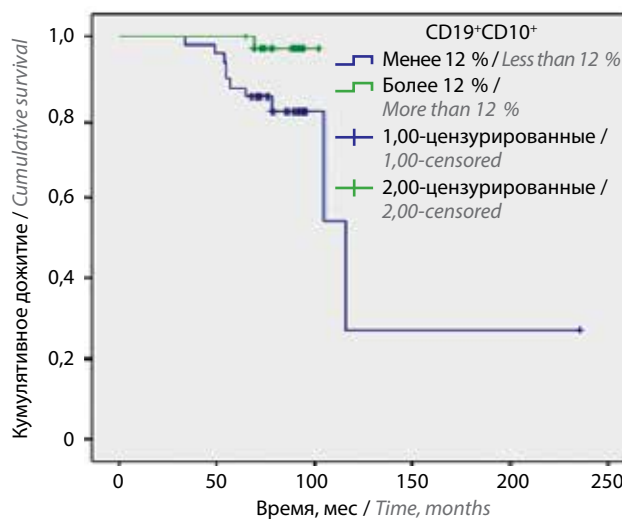


Рис. 2. Сравнение кривых общей выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от уровней предшественников В-лимфоцитов (CD19⁺CD10⁺) в костном мозге. Зеленый цвет – более 12 % (34 больных), синий цвет – менее 12 % (47 больных). Различия достоверны, $p = 0,042$

Fig. 2. Comparison of the overall survival curves of breast cancer patients depending on the levels of B-lymphocyte precursors (CD19⁺CD10⁺) in the bone marrow. Green color – more than 12 % (34 patients), blue color – less than 12 % (47 patients). The differences are significant, $p = 0.042$

Прогностическая роль В1-лимфоцитов костного мозга у больных раком молочной железы

Прогностической роли В1-лимфоцитов при раке в последнее время уделяется большое внимание.

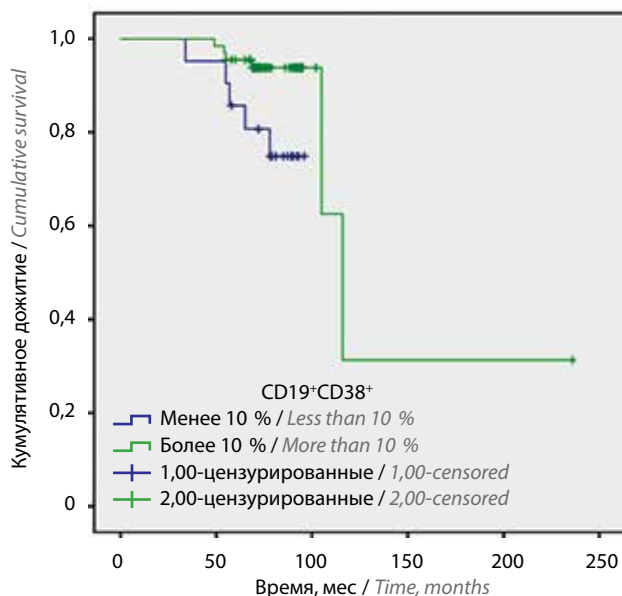


Рис. 3. Сравнение кривых общей выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от уровней предшественников В-лимфоцитов, экспрессирующих антиген CD38 ($CD19^+CD38^+$) в костном мозге. Зеленый цвет – более 10 % (67 больных), синий цвет – менее 10 % (21 больная). Различия достоверны, $p = 0,026$

Fig. 3. Comparison of the overall survival curves of breast cancer patients depending on the levels of B-lymphocyte precursors expressing CD38 antigen ($CD19^+CD38^+$) in the bone marrow. Green color – more than 10 % (67 patients), blue color – less than 10 % (21 patients). The differences are significant, $p = 0.026$

Считается, что именно эта субпопуляция В-клеток ответственна за специфическую элиминацию злокачественных клеток на ранних этапах их возникновения. Частота случаев с наличием более 10 % $CD19^+CD5^+$ -лимфоцитов в костном мозге составила 41 % (36 из 87), частота случаев с более низкими значениями этих клеток составила 59 %. Нами не отмечено различий в выживаемости между этими группами, $p = 0,934$.

Помимо общей выживаемости нами были оценены некоторые другие показатели: безрецидивная выживаемость, выживаемость без прогрессирования, выживаемость без метастазов. Ни один из этих показателей не был связан с уровнями В-лимфоцитов, их предшественников ($CD10^+$), $CD38$ -позитивной популяцией В-клеток или уровнями В1-лимфоцитов в костном мозге больных РМЖ. Наиболее близким к достоверным были показатели безрецидивной выживаемости для общего содержания В-клеток ($CD19^+$), $p = 0,154$.

Следует отметить, что, хотя уровни В1-лимфоцитов и не оказывали влияния на общую выживаемость больных РМЖ, они характеризовали группу несколько более благоприятного прогноза по безрецидивной выживаемости и выживаемости без прогрессирования ($p = 0,07$) (рис. 4). Причем разница в этих показателях

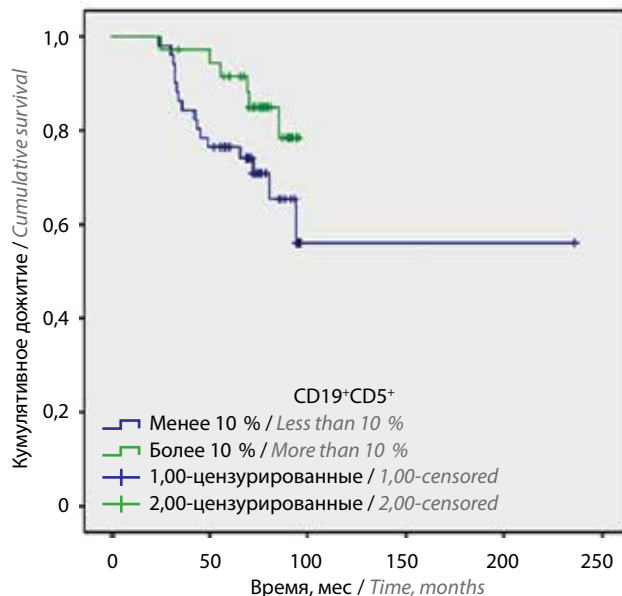


Рис. 4. Сравнение кривых выживаемости без прогрессирования больных раком молочной железы в зависимости от уровней В1-лимфоцитов ($CD19^+CD5^+$) в костном мозге. Зеленый цвет – более 10 % (36 больных), синий цвет – менее 10 % (51 больная). Различия близки к достоверным, $p = 0,071$

Fig. 4. Comparison of progression-free survival curves of breast cancer patients depending on the levels of В1-lymphocytes ($CD19^+CD5^+$) in the bone marrow. Green color – more than 10 % (36 patients), blue color – less than 10 % (51 patients). The differences are close to reliable, $p = 0.071$

наблюдались уже начиная с 3-летнего периода наблюдения после операции.

Также стоит отметить, что на основании анализа безрецидивной выживаемости в группе больных РМЖ с высоким индексом пролиферативной активности Ki-67 значимость различий в выживаемости больных с высоким и низким уровнями В1-клеток составила 0,06.

Субпопуляция В1-лимфоцитов костного мозга была связана с выживаемостью без прогрессирования и безрецидивной выживаемостью больных. Учитывая важную роль, придаваемую в последнее время В1-клеткам, мы проанализировали, насколько признаки (экспрессия CD5 на В-клетках и наличие рецидивов болезни) взаимосвязаны между собой (табл. 4).

Обсуждение

Полученные нами данные являются новыми и имеют важное практическое значение при РМЖ. Нами впервые показано, что В-клетки костного мозга, в частности $CD10$ -позитивные В-клетки предшественники, могут иметь прогностическое значение при РМЖ. Прогностическая роль этих маркеров реализуется в сроки от 5 до 10 лет.

Следует отметить, что как общее содержание В-лимфоцитов ($CD19^+$), так и их субпопуляции

Таблица 4. Взаимосвязь уровней В1-лимфоцитов в костном мозге больных раком молочной железы с наличием рецидивов заболевания, n (%)

Table 4. The relationship of В1-lymphocyte levels in the bone marrow of breast cancer patients with the presence of relapses of the disease, n (%)

Уровень В1-лимфоцитов The level of В1-lymphocytes	Наличие рецидива The presence of a relapse		Всего Total
	Нет No	Есть There is	
Менее 10 % Less than 10 %	47 (92,2)	4 (7,8)	51 (100)
Более 10 % Over 10 %	36 (100)	0 (0)	36 (100)
Всего Total	83 (95,4)	4 (4,6)	87 (100)

Примечание. Взаимосвязь между признаками не носила достоверного характера, $p = 0,085$.

Note. The relationship between the signs was not reliable, $p = 0.085$.

(CD10, CD38) оказывали прогностически благоприятное влияние на общую выживаемость при РМЖ. Антиген CD10 является одним из главных маркеров В-линейной костномозговой дифференцировки. На основании экспрессии данного антигена выделяют стадию пре-пре-В-лимфоцитов и соответствующий иммуноподвариант при остром лимфобластном лейкозе [4–5].

Антиген CD38 также сильно экспрессирован на В-линейных предшественниках. Снижение экспрессии этого антигена является диагностическим признаком аберрантности при диагностике минимальной остаточной болезни при остром лимфобластном лейкозе [4]. Наиболее выраженные уровни экспрессии CD38 отмечаются на плазматических клетках. В данной работе мы не разграничивали В-линейные предшественники, В-лимфоциты и плазматические клетки. Какая из этих популяций лимфоцитов ответственна за прогноз при РМЖ, предстоит установить в дальнейших исследованиях. Современные программы лечения РМЖ включают помимо хирургического лечения также лучевую, химиотерапию, гормональную терапию. Эти лечебные подходы были применены у части больных анализируемой группы.

В связи с этим очень важно отметить, что анализируемые нами субпопуляции не были взаимосвязаны с такими важными показателями эффективности лечения, как безрецидивная выживаемость, выживаемость без прогрессирования и безметастатическая выживаемость. Вполне возможно, совокупность этих признаков реализовывалась на общей выживаемости больных РМЖ.

В нашей работе установлен важный факт. CD5-позитивные В-клетки костного мозга не влияют на прогноз (общую выживаемость) больных РМЖ. Вместе с тем именно данная субпопуляция В-лимфоцитов костного мозга была связана с выживаемостью без прогрессирования и безрецидивной выживаемостью больных. Учитывая важную роль, придаваемую в последнее время В1-клеткам, мы проанализировали, насколько признаки (экспрессия CD5 на В-клетках и наличие рецидивов болезни) взаимосвязаны между собой. Здесь необходимо отметить, что рецидивы при РМЖ – это явление редкое. В то же время все 4 случая рецидива, имевшие место в анализируемой группе, наступили при низких цифрах CD19⁺CD5⁺-лимфоцитов костного мозга, и частота их в этой группе равнялась почти 8 %. Признаки не были достоверно взаимосвязаны по критерию χ^2 , $p = 0,085$. Вместе с тем они были взаимосвязаны на основании критерия правдоподобия, $p = 0,036$. Это очень интересный факт. И, возможно, рецидивов следует ожидать именно в группе больных РМЖ с низкими значениями В1-лимфоцитов в костном мозге. Еще более убедительные данные представляет анализ безрецидивной выживаемости в группе больных РМЖ с высоким индексом пролиферативной активности Ki-67. У этих больных уровень значимости различий в безрецидивной выживаемости был близок к достоверному, $p = 0,06$.

Прогрессирование заболевания – это не столь редкий, как рецидивы болезни, показатель, имеющий место у больных РМЖ. В анализируемой нами группе прогрессирование в различные сроки после операции отмечено у 22 из 87 больных, то есть у каждой 4-й женщины; 16 из этих женщин характеризовались низкими значениями В1-лимфоцитов в костном мозге и лишь у 6, то есть вдвое реже, прогрессирование отмечено при уровнях В1-лимфоцитов выше 10 %. Достоверной связи прогрессирования с уровнями В1-лимфоцитов не отмечено, $p = 0,12$. Вместе с тем нельзя не обратить внимание на то, что у 1/3 больных РМЖ при низких уровнях В1-лимфоцитов костного мозга отмечается прогрессирование болезни.

В литературе описан целый ряд факторов прогноза при РМЖ. В их числе такие хорошо известные факторы, как статус рецепторов эстрогенов и прогестерона, экспрессия рецептора Her2/neu, молекулярные подтипы РМЖ и т.д. Костный мозг в прогнозе РМЖ еще не оценен. В то же время отдельные работы в этом направлении велись. Исследованию субпопуляций лимфоцитов костного мозга при РМЖ посвящена работа Т.В. Григорьевой и соавт. [6]. Определенные связи субпопуляций Т-лимфоцитов костного мозга с прогнозом РМЖ установлены в работе М. Feuerer и соавт. [7]. Однако в отношении

прогностической роли костномозговых клеток В-лимфоцитов в доступной литературе нам не удалось найти каких-либо данных.

Заключение

В-линейные предшественники и CD38-позитивные В-лимфоциты, а точнее их значительное коли-

чество в костном мозге, являются фактором благоприятного прогноза при РМЖ. Прогностическая роль В1-лимфоцитов костного мозга у больных РМЖ, вероятно, реализуется при оценке показателей безрецидивной выживаемости и выживаемости без прогрессирования ($p = 0,07$). Для окончательного суждения на этот счет необходимы дополнительные исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. С. 3–5, 25–27. [State of oncological care for the population of Russia in 2017. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMIITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2018. Pp. 3–5, 25–27 (In Russ.)].
2. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012;490(7418):61–70. DOI: 10.1038/nature11412.
3. Artamonova E.V., Zabolina T.N., Korotkova O.V. et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer. Association with Clinical and Pathological Parameters. *Bull Exp Biol Med* 2018;166(2):241–4. DOI: 10.1007/s10517-018-4323-3.
4. Lamkin T., Brooks J., Annett G. et al. Immunophenotypic differences between putative hematopoietic stem cells and childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia* 1994;8(11):1871–8.
5. Borowitz M.J., Devidas M., Hunger S.P. et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children’s Oncology Group study. *Blood* 2008;111(12):5477–85. DOI: 10.1182/blood-2008-01-132837.
6. Григорьева Т.А., Безнос О.А., Тупицын Н.Н. Субпопуляции лимфоцитов костного мозга больных раком молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы 2015;11(2):52–5. [Grigorieva T.A., Beznos O.A., Tupitsyn N.N. Bone marrow lymphocyte subpopulations of breast cancer patients. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy = Tumors of female reproductive system* 2015;11(2):52–5. (In Russ.)].
7. Feuerer M., Rocha M., Bai L. et al. Enrichment of memory T cells and other profound immunological changes in the bone marrow from untreated breast cancer patients. *Int J Cancer* 2001;92(1):96–103.

Вклад авторов

Ф.К. Бердова: обзор публикаций по теме статьи, оформление рукописи;
И.К. Воротников: анализ и редактирование текста рукописи;
Н.Н. Тупицын: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста рукописи.

Authors’ contributions

F.K. Berdova: review of publications on the topic of the article, manuscript design;
I.K. Vorotnikov: manuscript analysis and editing;
N.N. Tupitsyn: research design development, data analysis, manuscript writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Ф.К. Бердова / F.K. Berdova: <https://orcid.org/0000-0003-3867-0408>
И.К. Воротников / I.K. Vorotnikov: <https://orcid.org/0000-0003-2212-0102>
Н.Н. Тупицын / N.N. Tupitsyn: <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 08.11.2021. Принята к публикации: 14.02.2022.
Article submitted: 08.11.2021. Accepted for publication: 14.02.2022.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2022-21-1-57-63>

Возможности применения иммуотропных препаратов тимического происхождения у онкологических больных

И.А. Пасова¹, Л.Ю. Гривцова¹, Т.Ю. Мушкарина¹, Ю.В. Гельм¹, С.А. Иванов^{1,2}

¹Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249031 Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10;

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

Контакты: Юлия Витальевна Гельм julia_marizina@mail.ru

Введение. В настоящее время в свете впечатляющих научных достижений в иммунологии опухолей особенно актуальным является вопрос о необходимости иммуотерапевтического сопровождения в лечении онкологических больных. Все большее внимание уделяется вопросам качества жизни пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию. Однако до сих пор не разработаны стандарты иммуотропной терапии при комплексном и комбинированном лечении онкологического пациента. В Российской Федерации более 30 лет назад зарегистрирован и разрешен к применению у онкологических больных препарат тималин – комплекс пептидов тимического происхождения.

Цель исследования – оценить возможности препарата тималин для улучшения качества жизни онкологических больных во время стандартной терапии.

Материалы и методы. В исследование включено 20 онкологических пациентов, в основном с III–IV стадией заболевания. Всем пациентам до начала проведения терапии выполнено исследование показателей иммунологического статуса. Оценены основные показатели клеточного и гуморального иммунитета: Т-, В-, НКТ-, НК-клетки, маркеры активации, иммунорегуляторный индекс. Все пациенты получали тималин. Для оценки качества жизни пациентов применяли опросник EQ-5D до начала иммуотерапии тималином, затем 1 раз в неделю на протяжении 1 курса, длившегося 1 мес.

Результаты. Через 1 мес 9 пациентов ответили, что оценка состояния их здоровья повысилась на 20 баллов (по 100-балльной шкале), 3 пациента – на 15 баллов, 8 пациентов – на 10 баллов. На фоне иммуотерапевтического сопровождения все пациенты отметили снижение уровня побочных эффектов в процессе специального лечения основного заболевания.

Заключение. В работе продемонстрировано, что показатели иммунного статуса и состояние пациентов требовали проведения иммунокорректирующей терапии. Сделаны обоснованные выводы о необходимости рассмотрения вопроса о включении тимических пептидов в стандарты оказания помощи онкологическим больным.

Ключевые слова: иммуотропные препараты, иммунный статус, качество жизни, онкологические больные

Для цитирования: Пасова И.А., Гривцова Л.Ю., Мушкарина Т.Ю. и др. Возможности применения иммуотропных препаратов тимического происхождения у онкологических больных. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(1):57–63. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-57-63.

Possibilities of immunotropic drugs of thymic origin in cancer patients

Irina A. Pasova¹, Ludmila Yu. Gritsova¹, Tatiana Yu. Mushkarina¹, Yulia V. Gelm¹, Sergey A. Ivanov^{1,2}

¹A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 10 Marshala Zhukova St., Obninsk 249031, Russia;

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

Contacts: Yulia Vitalievna Gelm julia_marizina@mail.ru

Introduction. At present, in the light of impressive scientific achievements in tumor immunology, the question of the need for immunotherapeutic support in the treatment of cancer patients is especially relevant. Increasing

attention is paid to the quality of life of patients receiving immunosuppressive therapy. However, the standards of immunotropic therapy in the complex and combined treatment of an oncological patient have not yet been developed. In the Russian Federation, more than 30 years ago, Timalin, a complex of peptides of thymic origin, was registered and approved for use in cancer patients.

The aim of the study was to evaluate the potential of Timalin to improve the quality of life of cancer patients during standard therapy.

Materials and methods. The study included 20 cancer patients, mostly with III–IV stages of the disease. All patients underwent a study of immunological status indicators before the start of therapy. The main indicators of cellular and humoral immunity were assessed: T-cells, B-cells, NKT-cells, activation markers, NK-cells, immunoregulatory index. All patients received Timalin. To assess the quality of life of patients, a questionnaire was used: EQ-5D before the start of Timalin immunotherapy, then once a week for one course lasting 1 month.

Results. After 1 month 9 patients responded that their health status increased by 20 points (on a 100-point scale), 3 patients by 15 points, and 8 patients by 10 points. Against the background of immunotherapeutic support, all patients noted a decrease in the level of side effects in the process of special treatment for the underlying disease.

Conclusion. The article shows that before treatment, the indicators of the immune status and the condition of patients required immunocorrective therapy. Substantiated conclusions were made about the need to consider the inclusion of thymic peptides in the standards of care for cancer patients.

Key words: immunotropic drugs, immune status, quality of life, cancer patients

For citation: Pasova I.A., Gritsova L.Yu., Mushkarina T.Yu. et al. Possibilities of immunotropic drugs of thymic origin in cancer patients. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2022;21(1):57–63. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-57-63.

Введение

Принципиально важным органом для формирования и функционирования иммунной системы является вилочковая железа, или тимус. Все важнейшие функции Т-клеточного звена закладываются в перинатальном периоде, его ресурсы расходуются на протяжении всей жизни, и именно тимус является органом, где Т-клеточные предшественники проходят антигеннезависимый этап дифференцировки [1]. Возрастная инволюция тимуса определяется по наиболее выраженным (среди других органов) изменениям: замещению паренхимы тимуса жировой тканью, исчезновению телец Гассалья, уменьшению количества эпителиальных клеток и лимфоцитов. С учетом этих изменений применение тимических пептидов можно считать заместительной терапией. К иммуностропным лекарственным средствам 1-го поколения относятся препараты, полученные на основе экстрактов ткани тимуса: тактивин, тималин, тимоптин, тимактид и др. [2]. Основные клетки-мишени для тимических аминов – Т-лимфоциты. Тималин и другие препараты данного ряда влияют на пролиферацию и дифференцировку Т-клеток, обладают свойством индуцировать выработку в организме веществ с тимозиноподобной активностью, интерферонов α и γ и фактора некроза опухоли α [3].

Тималин разрешен к применению у онкологических больных и может быть использован на всех этапах противоопухолевого лечения: на фоне лучевой терапии при раке молочной железы, тела матки, легкого, на фоне полихимиотерапии лимфогранулематоза, в послеоперационном периоде после лучевой

терапии и в промежутках между курсами полихимиотерапии при карциномах различной локализации [3].

Наличие онкологического заболевания у пациента, как правило, сопровождается целым рядом изменений в его иммунологическом состоянии, связанных как с исходным иммунодефицитом, так и с вторичными нарушениями из-за иммуносупрессивного влияния опухоли и ятрогенного эффекта от стандартной терапии рака. Доказано, что длительный стресс, хронические воспалительные заболевания внутренних органов негативно влияют на состояние иммунной системы, истощают ее потенциал отслеживания неопластических процессов. В тканях постоянно происходят неопластические процессы, однако здоровая иммунная система запрограммирована находить, уничтожать измененные клетки и не допускать их дальнейшей малигнизации, однако возможности иммунокомпетентных клеток в этой борьбе не безграничны. Считается, что иммунная система способна с помощью специальных клеток врожденного иммунитета и каскада защитных реакций заблокировать дальнейший рост опухолевой массы в пределах 10^9 клеток. После превышения этого порога контроль затруднителен, учитывая способность опухолевой клетки к пролиферации [4].

Тималин способствует снижению симптомов интоксикации в ходе радиационной и химиотерапии. Это позволяет пациентам полностью пройти запланированный курс лучевой или химиотерапии [5].

После выявления онкологического заболевания пациент подвергается воздействию целого ряда

негативных для иммунной системы факторов, в числе которых выраженная стрессовая нагрузка от самого диагноза, затем агрессивная специфическая, химио- и лучевая терапия. Мы наблюдали повреждающее действие даже диагностических процедур. Нами описана возникшая после проведения сцинтиграфии временная азооспермия у пациентов мужского пола [6]. Все внешние факторы суммируются со способностью опухоли ускользать от иммунного ответа как на этапе презентации иммунокомпетентными клетками, так и в процессе активации противоопухолевого иммунного ответа. Опухоли способны привлекать клетки иммунной системы и создавать в своем микроокружении иммуносупрессивный фон, что препятствует формированию адекватного клеточного иммунного ответа у онкологического больного. Поэтому актуален поиск путей повышения функции иммунной системы, в том числе для противоопухолевой защиты организма.

Обобщив опыт отечественных исследований по сопроводительной иммунотерапии (ИТ) онкологических больных, мы отобрали группу препаратов, в том числе ранее проходивших апробацию в нашем центре и хорошо зарекомендовавших себя в биотерапевтическом воздействии на иммунную систему онкологических больных, получающих комбинированную противоопухолевую терапию. Одним из препаратов, с которым мы работаем более 10 лет, является тималин. Данный препарат восстанавливает нарушенную иммунологическую реактивность, регулирует количество и соотношение Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций, стимулирует реакции клеточного иммунитета, усиливает фагоцитоз, улучшает течение процессов клеточного метаболизма, стимулирует процессы регенерации и кроветворения в случае их угнетения.

Материалы и методы

В исследование включены 20 пациентов, имеющих гистологически подтвержденный онкологический диагноз и получающих стандартное противоопухолевое лечение: 18 человек – II клиническая группа и 2 пациента – IV клиническая группа, среди них женщин – 11, мужчин – 9. Возраст пациентов варьировал от 33 до 72 лет, средний возраст составил 52 года. По нозологическим формам пациенты распределились следующим образом: рак желудка – 3 человека, рак кишечника – 8, меланома хориоидеи левого глаза – 2, рак легкого – 2, рак матки – 2, рак яичников – 2 и рак слизистой альвеолярного отростка челюсти – 1. Преобладали пациенты с III–IV стадией заболевания.

Всем пациентам до начала проведения терапии выполнено исследование показателей иммунологического статуса методом 6-параметровой проточной

цитометрии, оценены основные показатели клеточного и гуморального иммунитета: Т-, В-, НКТ-, НК-клетки, маркеры активации, иммунорегуляторный индекс.

С учетом данных иммунограммы и общего состояния все пациенты получали тималин по следующей схеме: 10 мг на 2,0 мл 0,9 % изотонического раствора глубоко внутримышечно через день, № 10; затем 2 раза в неделю № 10.

Для оценки качества жизни пациентов применяли опросник EQ-5D (версия на русском языке), в котором оценивались такие показатели, как подвижность пациента, возможность ухаживать за собой, привычная повседневная деятельность, наличие боли или дискомфорта, тревоги или депрессии. Пациентам предлагалось ответить на все вопросы и оценить свое состояние по шкале от 0 до 100 баллов. Опрос проводили до начала ИТ тималином, затем 1 раз в неделю на протяжении 1 курса, длившегося 1 мес.

Следует отметить, что все пациенты начали получать тималин на фоне уже имеющегося стойкого вторичного иммунодефицитного состояния. Наблюдение проходило в период с января по октябрь 2021 г.

Результаты

При оценке иммунологических показателей периферической крови в исследуемой когорте пациентов выявлено разнонаправленное нарушение параметров иммунного статуса. В табл. 1 представлены оцениваемые данные по группе в среднем.

При сравнении с референсными интервалами выявлено, что у 23 % пациентов были снижены уровни лейкоцитов, у 15 % пациентов отмечены относительная лимфопения или, напротив, лимфоцитоз, а у 29 % лимфопения была абсолютной (менее 1200 лимфоцитов/мкл периферической крови). В 32 % случаев нами установлено относительное снижение количества зрелых Т-клеток, которое в 26 % случаев было также и абсолютным (менее 950 CD3⁺-Т-клеток/мкл периферической крови). Снижение абсолютного количества Т-хелперов менее 580 клеток/мкл крови мы наблюдали в 39,4 % случаев, снижение абсолютно количества Т-клеточных популяций CD8⁺ – в 34,2 % случаев. Снижение показателя Т-регуляторного индекса установлено у 60,5 % пациентов. У 65,7 % пациентов установлено повышение абсолютного количества НКТ-клеток одновременно с увеличением в 42 % случаев абсолютного содержания НК-клеток (более 370 клеток/мкл). У значительной части (56 %) пациентов установлено снижение количества зрелых В-клеток (менее 110 клеток/мкл периферической крови).

Что касается качества жизни до ИТ тималином, результаты опросника EQ-5D показали, что 70 % пациентов не испытывали никаких трудностей при

Таблица 1. Иммуногематологическая характеристика образцов периферической крови пациентов до начала проведения терапии тималином на фоне стандартного противоопухолевого лечения

Table 1. Immuno-hematological characteristics of the peripheral blood of patients before the start of thymalin therapy against the background of standard antitumor treatment

Показатель Indicator	Единицы измерения Units	Среднее значение Mean	Медиана Median	Разброс Scatter
Лейкоциты Leukocytes	$\times 10^3/\text{мкл}$	6114,47	6030,00	1680,00–11400,00
Лимфоциты Lymphocytes	%	29,96	27,22	11,67–81,50
	$\times 10^3/\text{мкл}$	1668,68	1555,00	810–2730
Т-клетки (CD3 ⁺ CD45 ⁺) T-cells (CD3 ⁺ CD45 ⁺)	%	74,30	76,55	49,40–90,20
	$\times 10^3/\text{мкл}$	1230,11	1159,00	494,00–2023,00
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺) T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	%	40,51	41,35	21,00–56,80
	$\times 10^3/\text{мкл}$	681,89	638,50	216,00–1398,00
Т-цитотоксические, супрессорные клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺) T-cytotoxic, suppressor cells (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	%	29,13	29,45	12,00–47,30
	$\times 10^3/\text{мкл}$	476,18	430,00	192,00–984,00
Иммунорегуляторный индекс (CD4/CD8) Immunoregulatory index (CD4/CD8)	–	1,52	1,30	0,50–4,00
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺) NKT-cells (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺)	%	1,70	0,60	0,10–15,20
	$\times 10^3/\text{мкл}$	29,59	12,00	1,30–362,00
NK-клетки (CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD16 ⁺) NK-cells (CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD16 ⁺)	%	16,60	15,55	1,20–34,80
	$\times 10^3/\text{мкл}$	285,97	282,00	14,00–770,00
Активированные лимфоциты (HLA-DR ⁺) Activated lymphocytes (HLA-DR ⁺)	%	13,71	12,85	4,70–32,50
	$\times 10^3/\text{мкл}$	228,16	200,50	57,00–790,00
В-клетки (CD19 ⁺ CD20 ⁺ CD45 ⁺) B-cells (CD19 ⁺ CD20 ⁺ CD45 ⁺)	%	6,81	6,75	0,30–19,10
	$\times 10^3/\text{мкл}$	118,18	100,50	5,00–318,00

ходьбе, 10 % испытывали небольшие трудности, 10 % – умеренные, 10 % – большие трудности. Пациентов, которые не в состоянии были ходить, не было. В отношении способности к самообслуживанию (до ИТ) выявлено, что 80 % пациентов не испытывали никаких трудностей с мытьем или одеванием, небольшие трудности испытывали 20 %, умеренных и больших трудностей никто не испытывал в данном вопросе; пациентов, которые не в состоянии сами мыться или одеваться, не было. Привычная повседневная деятельность давалась без труда 10 % пациентов, немного затруднительна была для 40 %, умеренно затруднительна – для 40 %, очень затруднительна – для 10 %. Пациентов, которые не в состоянии заниматься своей привычной повседневной деятельностью, не выявлено. Не испытывали боли или дискомфорта 55 % пациентов, испытывали небольшую боль/дискомфорт – 30 %, умеренную – 10 %, сильную – 5 %, чрезвычайно сильной боли не испытывал никто. Не испытывали тревоги или депрессии 35 % пациен-

тов, небольшую тревогу или депрессию испытывали 40 %, умеренную – 5 %, сильную – 10 %, крайне сильную – 10 % пациентов.

Таким образом, и показатели иммунного статуса, и состояние пациентов согласно опроснику качества жизни требовали проведения иммунокорректирующей терапии.

Препаратом выбора в нашей когорте пациентов с учетом показателей иммунного статуса, качества жизни и наличия основного заболевания был тималин.

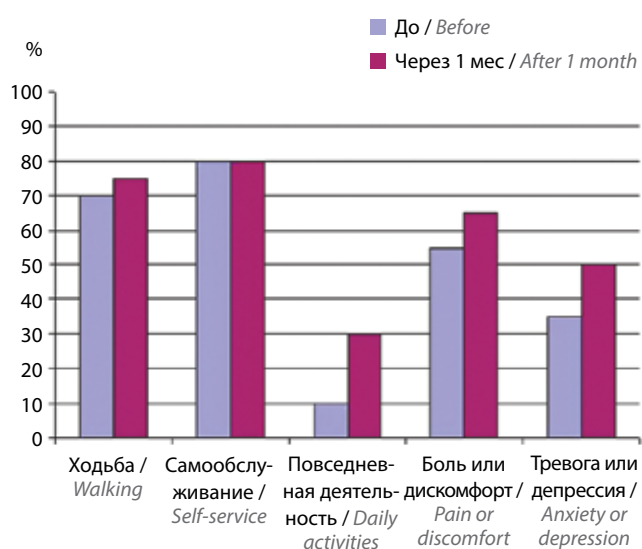
При оценке иммунологических показателей периферической крови в исследуемой когорте пациентов на фоне ИТ тималином значительных изменений в иммунном статусе не наблюдалось (табл. 2). Учитывая, что все пациенты получали противоопухолевую химиотерапию, отсутствие иммуносупрессии, по сравнению с исходными значениями, можно считать результатом проведения адъювантной ИТ тималином.

Таблица 2. Иммуногематологическая характеристика образцов периферической крови пациентов на фоне терапии тималином и стандартного противоопухолевого лечения

Table 2. Immuno-hematological characteristics of the peripheral blood of patients during thymalin therapy against the background of standard antitumor treatment

Показатель Indicator	Единицы измерения Units	Референсный интервал References	Среднее значение Mean	Медиана Median
Лейкоциты Leukocytes	$\times 10^3/\text{мкл}$	4000–9000	6121,36	6030,00
Лимфоциты Lymphocytes	%	1200–3000	30,49	28,40
	$\times 10^3/\text{мкл}$	19,0–37,0	1583,18	1465,00
Т-клетки (CD3 ⁺ CD45 ⁺) T-cells (CD3 ⁺ CD45 ⁺)	%	61,0–85,0	74,01	75,75
	$\times 10^3/\text{мкл}$	950–2080	1160,77	1093,00
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺) T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	%	35,0–55,0	40,24	42,05
	$\times 10^3/\text{мкл}$	580–1340	635,95	603,00
Т-цитотоксические (CD3 ⁺ CD8 ⁺) T-cytotoxic (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	%	19,0–35,0	28,13	30,20
	$\times 10^3/\text{мкл}$	370–970	440,36	408,50
Иммунорегуляторный индекс (CD4/CD8) Immunoregulatory index (CD4/CD8)	–	1,5–2,6	1,58	1,40
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺) NKT-cells (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺)	%	0,5–6,0	1,08	0,60
	$\times 10^3/\text{мкл}$	10–170	15,55	12,00
NK-клетки (CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD16 ⁺) NK-cells (CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD16 ⁺)	%	8,0–19,0	16,45	14,60
	$\times 10^3/\text{мкл}$	100–370	282,68	241,50
Активированные лимфоциты (HLA-DR ⁺) Activated lymphocytes (HLA-DR ⁺)	%	8,0–18,0	13,93	11,10
	$\times 10^3/\text{мкл}$	120–500	227,90	198,50
В-клетки (CD19 ⁺ CD20 ⁺ CD45 ⁺) B-cells (CD19 ⁺ CD20 ⁺ CD45 ⁺)	%	5,0–19,0	6,45	6,10
	$\times 10^3/\text{мкл}$	100–500	100,73	86,50

Через 1 мес проведения ИТ тималином 75 % пациентов не испытывали никаких трудностей при ходьбе (см. рисунок), 20 % испытывали небольшие трудности, 5 % – умеренные, больших трудностей никто не испытывал, и пациентов, которые не в состоянии ходить, не было выявлено. С самообслуживанием (мытьё или одевание) не испытывали никаких трудностей 80 % пациентов (см. рисунок), небольшие трудности испытывали 20 %, умеренных и больших трудностей в данном вопросе никто не испытывал, пациентов, которые не в состоянии сами мыться или одеваться, не было. Привычная повседневная деятельность давалась без труда 30 % пациентов (см. рисунок), немного затруднительна была для 20 %, умеренно затруднительна для 50 %; пациентов, которым слишком затруднительно или которые не в состоянии заниматься своей привычной повседневной деятельностью, выявлено не было. Не испытывали боли или дискомфорта 65 % пациентов (см. рисунок), испытывали небольшую боль/дискомфорт 20 % пациентов, умеренную – 15 %,



Динамика основных показателей опросника EQ-5D на фоне иммунотропной терапии

Dynamics of the main indicators EQ-5D questionnaire on the background of immunotropic therapy

сильную и чрезвычайно сильную боль не испытывал ни один пациент. Тревогу или депрессию не испытывали 50 % пациентов (см. рисунок), небольшую тревогу испытывали 50 % пациентов; умеренную, сильную и крайне сильную тревогу или депрессию не испытывал ни один человек.

В соответствии с оценкой по 100-балльной шкале (от наихудшего до наилучшего общего состояния здоровья) у 6 пациентов состояние здоровья улучшилось с 50 до 70 баллов, у 8 пациентов – с 40 до 50 баллов, у 3 пациентов – с 30 до 50 баллов, у 3 пациентов – с 35 до 50 баллов. Все пациенты отметили, что в процессе специального лечения основного заболевания у них не возникало той выраженности побочных эффектов, как раньше, до иммунотерапевтического сопровождения. Работавшие пациенты смогли вернуться к работе в дистанционном режиме прак-

тически сразу после выписки (при полной неработоспособности до начала приема тималина). Ни одному из пациентов не пришлось переносить очередной курс полихимиотерапии из-за токсичности.

Заключение

Таким образом, с учетом существующей иммуносупрессии и неадекватного функционирования иммунной системы иммунотерапевтическое сопровождение до оперативного вмешательства, в ходе проведения курсов полихимиотерапии или химиолучевой терапии, а также по окончании лечения целесообразно у всех онкологических больных. Применение тималина в составе стандартной терапии рака позволит рассчитывать на снижение ятрогенного воздействия химиопрепаратов, лучевой нагрузки и улучшение качества жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ventevogel M.S., Sempowski G.D. Thymic rejuvenation and aging. *Curr Opin Immunol* 2013;25(4):516–22. DOI: 10.1016/j.coi.2013.06.002.
2. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). СПб.: Наука, 1996. 74 с. [Morozov V.G., Navinson V.H. Peptide bioregulators (25 years of experimental and clinical research experience). Saint Petersburg: Nauka, 1996. 74 p. (In Russ.)].
3. Кузник Б.И., Лиханов И.Д., Даренская С.Д., Будажапова Т.И. Влияние Тималина и Вилона на состояние клеточного и гуморального иммунитета при хронических неспецифических заболеваниях легких у взрослых и детей. *Медицинская иммунология* 2002;4(2):366. [Kuznik B.I., Likhonov I.D., Darenkaya S.D., Budazhapova T.I. The effect of Thymalin and Vilone on the state of cellular and humoral immunity in chronic nonspecific lung diseases in adults and children. *Meditinskaya immunologiya = Journal of Medical Immunology* 2002;4(2):366. (In Russ.)].
4. Михайленко А.А., Коненков В.И., Базанов Г.А., Покровский В.И. Руководство по клинической иммунологии, аллергологии, иммуногенетике и иммунофармакологии. Под ред. В.И. Покровского. Т. 1. Тверь: Триада, 2005. 512 с. [Mikhailenko A.A., Konenkov V.I., Bazanov G.A., V.I. Pokrovsky Guidelines for clinical immunology, allergology, immunogenetics and immunopharmacology. Ed. by V.I. Pokrovsky. Vol. 1. Tver: Triada, 2005. 512 p. (In Russ.)].
5. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Витковский Ю.А. и др. Применение пептидных биорегуляторов в хирургии и онкологии. Чита: Полиграфсервис, 2001. 352 с. [Kuznik B.I., Navinson V.H., Vitkovsky Yu.A. et al. Application of peptide bioregulators in surgery and oncology. Chita: Polygraphservice, 2001. 352 p. (In Russ.)].
6. Маризина Ю.В., Абакушина Е.В., Пасова И.А., Каприн А.Д. Влияние лучевой терапии на фертильность. В кн.: Сборник материалов научно-практической конференции «Репродуктивные технологии в онкологии». Обнинск, 2015. С. 57. [Marizina Yu.V., Abakushina E.V., Pasova I.A., Kaprin A.D. The effect of radiotherapy on reproduction. In: Proceedings of the scientific-practical conference “Reproductive technologies in oncology”. Obninsk, 2015. P. 57. (In Russ.)].

Вклад авторов

И.А. Пасова: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, получение данных для анализа, написание текста рукописи;

Л.Ю. Гривцова: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Т.Ю. Мушкарина: получение данных для анализа;

Ю.В. Гельм: анализ полученных данных; написание текста рукописи;

С.А. Иванов: руководство исследованием.

Author's contribution

I.A. Pasova: development of research design, review of publications on the topic of the article, obtaining data for analysis, writing the text of the manuscript;

L.Yu. Gritsova: development of research design, review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained, writing the text of the manuscript;

T.Yu. Mushkarina: obtaining data for analysis;
Yu.V. Gelm: analysis of the data obtained; writing the text of the manuscript;
S.A. Ivanov: research leader.

ORCID авторов / ORCID of authors

И.А. Пасова / I.A. Pasova: <https://orcid.org/0000-0003-2579-0558>
Л.Ю. Гривцова / L.Yu. Grivtsova: <https://orcid.org/0000-0001-9103-9688>
Т.Ю. Мушкарина / T.Yu. Mushkarina: <https://orcid.org/0000-0002-1266-1792>
Ю.В. Гельм / Yu.V. Gelm: <https://orcid.org/0000-0001-8673-3616>
С.А. Иванов / S.A. Ivanov: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>

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

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Financing. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 04.02.2022. Принята к публикации: 14.02.2022.
Article submitted: 04.02.2022. Accepted for publication: 14.02.2022.

Использование бережливых технологий для оптимизации операционного блока в крупном федеральном центре – ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

И.С. Стилиди¹, Л.В. Косова¹, И.А. Дорошев¹, В.М. Кулушев¹, Д.А. Рябчиков¹, С.А. Артемьев², С.Н. Ильин², А.М. Казаков¹, Ю.А. Колбасюк³

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²Государственная корпорация по атомной энергии «Росатом»; Россия, 119017 Москва, ул. Большая Ордынка, 24;

³Фонд социальных и научных инициатив в области женского здоровья «Белая роза»; Россия, 143401 Красногорск, ул. Международная, 8

Контакты: Денис Анатольевич Рябчиков dr.denisr@mail.ru

Введение. Во всем мире проводят научные исследования, направленные на решение вопросов, связанных с доступностью и улучшением качества медицинской помощи населению посредством различных мероприятий, направленных на совершенствование интеграции и координирования производственных и технологических процессов в медицинских организациях. В наших предыдущих работах были изложены ключевые методы оптимизации работы операционного блока, а также продемонстрирована эффективность с обоснованием внедрения методов в работу не только операционного блока, но и подразделения, участвующего в предоперационной подготовке, но период оценки показателей эффективности составил 1 год. Поэтому исследование было продолжено в период 2017–2021 гг.

Цель исследования – оценка эффективности практического внедрения методологии бережливых технологий в работу операционного блока.

Материалы. Статистические данные по результатам работы хирургических отделений Научно-исследовательского института клинической онкологии ФГБНУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России за 2017–2021 гг.

Результаты. Расширение штата сотрудников, активное использование всех операционных, рациональное распределение медицинского оборудования и инструментария, изменение плана работы отделений и маршрутизации хирургических пациентов позволили не только увеличить поток пациентов, но и достичь мировых стандартов при планировании работы операционного блока. На примере прогрессивного роста количества операций по Научно-исследовательскому институту клинической онкологии с 10 470 в 2017 г. до 15 140 в 2021 г., а также на примере отдельно взятых хирургических отделений (хирургическое отделение № 15, отделение пластической хирургии) можно проследить процесс успешной оптимизации.

Выводы. Пример разработки и применения бережливых технологий в операционном блоке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России позволяет сделать вывод о необходимости грамотного подхода к оптимизации подразделения, что может быть достигнуто в относительно короткие сроки с помощью увеличения производительности. Бережливые технологии помогли существенно сократить предоперационный койко-день, существенно увеличить производительность операционного блока, а в результате увеличить количество оперативных вмешательств, выполняемых в центре.

Ключевые слова: операционный блок, оптимизация, хирургия

Для цитирования: Стилиди И.С., Косова Л.В., Дорошев И.А. и др. Использование бережливых технологий для оптимизации операционного блока в крупном федеральном центре – ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(1):64–7. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-64-67.

The use of lean technologies to optimize operating unit of a major Federal center – N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia

Ivan S. Stilidi¹, Lilia V. Kosova¹, Igor A. Doroshev¹, Vadim M. Kulushev¹, Denis A. Ryabchikov¹, Sergey A. Artemiev², Sergey N. Ilyin², Alexey M. Kazakov¹, Yuriy A. Kolbasuk³

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²State Atomic Energy Corporation “Rosatom”; 24 Bolshaya Ordynka St., Moscow 119017, Russia;

³Fund of social and scientific initiatives in the field of women’s health “White Rose”; 8 Mezhdunarodnaya St., Krasnogorsk 143401, Russia

Contacts: Denis Anatolyevich Ryabchikov dr.denisr@mail.ru

Introduction. Various scientific studies are carried out all over the world aimed at solving issues related to the availability and improvement of the quality of medical care to the population through various measures aimed at improving the integration and coordination of production and technological processes in medical organizations. In our previous works, the key methods for optimizing the operation of the operating unit were outlined, and efficiency was demonstrated with justification for the introduction of methods into the work of not only the operating unit, but also the unit involved in preoperative preparation, but the period for evaluating performance indicators was 1 year. Therefore, the study was continued in the period 2017–2021.

The purpose of the study is to evaluate the effectiveness of the practical implementation of the lean technology methodology in the operation of the operational unit.

Materials. Statistical data on the results of work of surgical departments of the Research Institute of Clinical Oncology of N.N. Blokhin National Research Medical Center of the Ministry of Health of the Russia for 2017–2021.

Results. The expansion of the staff, the active use of all operating rooms, the rational distribution of medical equipment and instruments, the change in the work plan of departments and the routing of surgical patients allowed not only to increase the flow of patients, but also to achieve world standards when planning the operation of the operating unit. Using the example of a progressive increase in the number of operations at the Research Institute of Clinical Oncology from 10 470 in 2017 to 15 140 in 2021, as well as the example of individual surgical departments (surgery departments No. 15, plastic surgery departments), it is possible to trace the process of successful optimization.

Conclusion. An example of the development and application of lean technologies in the operating unit of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia makes it possible to conclude that a competent approach to optimizing the unit is necessary, which can be achieved in a relatively short time by increasing productivity. Lean technologies have helped to significantly reduce the preoperative bed-day, significantly increase the productivity of the operating unit, and as a result, increase the number of surgical interventions performed at the center.

Key words: operating unit, optimization, surgery

For citation: Stilidi I.S., Kosova L.V., Doroshev I.A. et al. The use of lean technologies to optimize operating unit of a major Federal center – N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2022;21(1):64–7. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-64-67.

Введение

Оказание населению доступной и качественной медицинской помощи – основная задача учреждений здравоохранения. Во всем мире проводят научные исследования, направленные на решение вопросов, связанных с доступностью и улучшением качества медицинской помощи населению посредством различных мероприятий по совершенствованию интеграции и координирования производственных и технологических процессов в медицинских организациях. Одним из таких процессов является оптимизация работы операционного блока (ОБ) медицинских центров. По данным зарубежных медицинских организаций, около 50 % общих расходов

связано с содержанием ОБ, при этом более 50 % дохода клиники формируется из средств, полученных в результате хирургического этапа лечения пациентов [1–5]. В Российской Федерации ОБ крупных медицинских центров также являются основной статьей их расходов и доходов, однако на сегодняшний день точных статистических данных недостаточно.

Ранее нами были сформулированы задачи и определены важные этапы исследования для оптимизации работы ОБ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с применением методологии бережливых технологий и было показано, что рациональный подход к оптимизации подразделения может в относительно короткие сроки увеличить его

производительность, позволив использовать все потенциальные мощности подразделений центра [6, 7]. Однако на момент подготовки публикации [6] период оценки показателей эффективности составил всего 1 год. Для дальнейшей оценки эффективности практического внедрения бережливых технологий в работу ОБ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и получения точных статистических данных исследование было продолжено в период 2017–2021 гг.

Цель исследования – оценка эффективности практического внедрения методологии бережливых технологий в работу ОБ.

Материалы

Анализ эффективности работы ОБ проведен на основании статистических данных по результатам работы хирургических отделений Научно-исследовательского института клинической онкологии (НИИ КО) ФГБНУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России за 2017–2021 гг.

Результаты

Сравнение показателей, отражающих эффективность работы ОБ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» до и после реорганизационных мероприятий, нами было опубликовано ранее [6, 7].

В таблице представлены новые данные, полученные после оптимизации работы ОБ, по количеству операций на примере 2 отделений и по НИИ КО в целом.

Оптимизация работы ОБ с применением бережливых технологий привела к прогрессивному росту количества операций в НИИ КО в целом и в отдельно взятых хирургических отделениях. Хирургическое

отделение опухолей молочных желез и отделение реконструктивной пластической хирургии продемонстрировали оперативный ответ на нововведения, что повлекло быстрое повышение производительности подразделений. В 2021 г. в НИИ КО выполнено значительно больше операций, чем ежегодно выполнялось в 2017–2020 гг. (в 2021 г. – 15 140, а в 2017 г. – 10 470 операций в год). Из таблицы видно, что количество операций увеличивается с каждым годом как в НИИ КО в целом, так и в отдельно взятых отделениях. Вышеизложенные данные свидетельствуют о преимуществах введения масштабных преобразований в контексте оптимизации.

Выводы

Данные, полученные за 2017–2021 гг., подтверждают, что активное использование всех операционных, рациональное распределение медицинского оборудования и инструментария, внедрение транспортной службы, изменение плана работы отделений и маршрутизации хирургических пациентов позволили не только увеличить количество операций, но и достичь мировых стандартов при планировании работы ОБ. Внедрение бережливых технологий в крупном федеральном центре, таком как ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», с высоким оборотом пациентов позволило в относительно короткие сроки увеличить производительность ОБ и количественный показатель хирургических операций, сократить предоперационный койко-день. Полученные нами результаты позволяют рекомендовать использование методологии бережливых технологий для оптимизации и улучшения качества работы медицинских центров Российской Федерации.

Количество операций с 2017 г. (до начала оптимизации) по 2021 г. (в процессе и после окончания оптимизации) на примере Научно-исследовательского института клинической онкологии (НИИ КО) и двух хирургических отделений ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

The number of operations from 2017 (before optimization) to 2021 (during and after optimization) on the example of the Research Institute of Clinical Oncology and two surgical departments of the N. N. Blokhin National Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia

Год Year	Количество операций Number of operation		
	НИИ КО Research Institute of Clinical Oncology	Отделение пластической хирургии Plastic surgery department	Онкологическое отделение хирургических методов лечения № 15 Oncological department of surgical methods of treatment No. 15
2021	15 140	708	1357
2020	14 062	623	871
2019	13 642	615	707
2018	12 498	550	595
2017	10 470	451	635

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Denton B., Viapiano J., Vogl A. Optimization of surgery sequencing and scheduling decisions under uncertainty. *Health Care Manag Sci* 2007;10(1):13–24. DOI: 10.1007/s10729-006-9005-4.
- Cardoen B., Demeulemeester E., Beliën J. Operating room planning and scheduling: a literature review. *Eur J Oper Res* 2010;201(3):921–32. DOI: 10.1016/j.ejor.2009.04.011.
- Hans E.W., Nieberg T. Operating room manager game. *INFORMS Transactions on Education* 2007;8(1):25–36. DOI: 10.1287/ited.8.1.25.
- McIntosh C., Dexter F., Epstein R.H. The impact of service-specific staffing, case scheduling, turnovers, and first-case starts on anesthesia group and operating room productivity: a tutorial using data from an Australian hospital. *Anesth Analg* 2006;103(6):1499–516. DOI: 10.1213/01.ane.0000244535.54710.28.
- Magerlein J.M., Martin J.B. Surgical demand scheduling: a review. *Health Serv Res* 1978;13:418–33.
- Стилиди И.С., Дорошев И.А., Кулушев В.М. и др. Оптимизация работы операционного блока в условиях высокого пациентооборота с применением бережливых технологий. *Менеджер здравоохранения* 2019;3:12–23. [Stilidi I.S., Doroshev I.A., Kulushev V.M. et al. Optimization of the operation of the operating unit in conditions of high patient turnover with the use of lean technologies. *Menedzher Zdravoohraneniya = Health Care Manager* 2019;3:12–23. (In Russ.)].
- Дорошев И.А., Стилиди И.С., Рябчиков Д.А. и др. Оптимизация работы операционного блока в условиях высокого пациентооборота с применением бережливых технологий. *Евразийский онкологический журнал* 2020;8(2):787. [Doroshev I.A., Stilidi I.S., Ryabchikov D.A. et al. Optimization of the operation of the operating unit in conditions of high patient turnover with the use of lean technologies. *Evrasiyskiy Onkologicheskii Zhurnal = Eurasian Journal of Oncology* 2020;8(2):787. (In Russ.)].

Вклад авторов

И.С. Стилиди, Л.В. Косова, И.А. Дорошев, С.А. Артемьев, С.Н. Ильин: организация оптимизации, разработка идеи, концепции, дизайна исследования, редактирование текста рукописи;
В.М. Кулушев, Д.А. Рябчиков, А.М. Казаков, Ю.А. Колбасюк: предоставление материалов, сбор и обработка данных, написание текста рукописи.

Author's contribution

I.S. Stilidi, L.V. Kosova, I.A. Doroshev, S.A. Artemiev, S.N. Ilyin: optimization organization, development of the idea, concept, design of the study, editing of the manuscript;
V.M. Kulushev, D.A. Ryabchikov, A.M. Kazakov, Yu.A. Kolbasyuk: providing materials, collecting and processing data, writing the text of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

И.С. Стилиди / I.S. Stilidi: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>
Л.В. Косова / L.V. Kosova: <https://orcid.org/0000-0002-8885-4339>
И.А. Дорошев / I.A. Doroshev: <https://orcid.org/0000-0002-1610-1741>
В.М. Кулушев / V.M. Kulushev: <https://orcid.org/0000-0003-0677-2338>
Д.А. Рябчиков / D.A. Ryabchikov: <https://orcid.org/0000-0003-2670-2361>
С.А. Артемьев / S.A. Artemiev: <https://orcid.org/0000-0002-9043-4261>
С.Н. Ильин / S.N. Ilyin: <https://orcid.org/0000-0002-8326-3820>
А.М. Казаков / A.M. Kazakov: <https://orcid.org/0000-0002-9534-2729>
Ю.А. Колбасюк / Yu.A. Kolbasyuk: <https://orcid.org/0000-0002-9632-6800>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 20.01.2021. Принята к публикации: 22.02.2022.

Article submitted: 20.01.2021. Accepted for publication: 22.02.2022.

Противоопухолевая эффективность сонодинамической терапии с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте

Е.Л. Протопович, Д.А. Церковский

ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»; Республика Беларусь, 223040 аг. Лесной

Контакты: Дмитрий Александрович Церковский tzerkovsky@mail.ru

Введение. Сонодинамическая терапия – одно из актуальных направлений научных исследований в экспериментальной онкологии. Метод основан на комбинированном применении фотосенсибилизирующих агентов и ультразвукового излучения с определенными параметрами. В результате такого взаимодействия происходит индуцирование сонохимических реакций и эффекта кавитации в опухолевой клетке. Следствием является ее гибель (апоптоз, аутофагия).

Цель исследования – изучение противоопухолевой эффективности сонодинамической терапии с фотосенсибилизатором (ФС) хлоринового ряда в эксперименте на лабораторных животных с перевивными опухолями.

Материалы и методы. Работа выполнена на 50 лабораторных животных (белые беспородные крысы) весом 250 ± 50 г. В качестве опухолевых моделей использовали лимфосаркому Плисса (ЛФС) и альвеолярный рак печени РС1 (РС1), перевитые подкожно. ФС хлоринового ряда (РУП «Белмедпрепараты», Беларусь) вводился внутривенно в дозе 2,5 мг/кг. Локальное ультразвуковое воздействие осуществляли через 2,5–4 ч после введения ФС однократно с помощью аппарата для ультразвуковой терапии (УЗТ) Phyaaction U (Гумна Уніфу, Бельгия) с частотами 1,04 и 3 МГц, интенсивностью 2 Вт/см², продолжительностью 10 мин в непрерывном режиме. Для каждого из опухолевых штаммов исследование выполнялось на 25 лабораторных животных, распределенных на группы (по 5 особей): интактный контроль; УЗТ (1,04 МГц); УЗТ (3 МГц); ФС + УЗТ (1,04 МГц); ФС + УЗТ (3 МГц). Критериями оценки противоопухолевой эффективности были показатели динамики роста перевивных опухолей: средний объем опухолей (V_{cp} , см³), коэффициент торможения роста опухолей (ТРО, %), коэффициент абсолютного прироста опухолей (K) и частота полных регрессий через 60 сут после воздействия (%).

Результаты. Для ЛФС V_{cp} в исследуемых группах составил $32,72 \pm 7,23$; $26,81 \pm 1,06$; $14,80 \pm 5,08$; $9,37 \pm 6,05$ и $22,25 \pm 4,91$ см³ соответственно ($p < 0,05$). Коэффициент ТРО в опытных группах составил 20,27; 54,77; 71,36 и 31,99 % соответственно. Коэффициент K в исследуемых группах составил 21,64; 14,52; 6,12; 4,91 и 15,34 соответственно. Частота полных регрессий опухолей – 0, 20, 20, 40 и 0 % соответственно. Для РС1 V_{cp} в исследуемых группах составил $23,29 \pm 5,11$; $6,22 \pm 2,22$; $11,78 \pm 4,57$; $6,38 \pm 2,57$ и $13,06 \pm 3,53$ см³ соответственно ($p < 0,05$). Коэффициент ТРО в опытных группах составил 73,25; 49,42; 72,60 и 43,92 % соответственно. Коэффициент K в исследуемых группах составил 8,34; 1,11; 3,39; 2,91 и 5,05 соответственно. Частота полных регрессий опухолей – 0, 0, 0, 40 и 0 % соответственно.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о тенденции к увеличению противоопухолевой эффективности комбинированного применения ФС и сонодинамической терапии на различных по гистологической структуре и характеру роста перевивных опухолях, а также о перспективности дальнейших исследований соносенсибилизирующих свойств фотосенсибилизирующих агентов.

Ключевые слова: лабораторные животные, перевивные опухоли, сонодинамическая терапия, фотосенсибилизатор

Для цитирования: Протопович Е.Л., Церковский Д.А. Противоопухолевая эффективность сонодинамической терапии с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(1):68–75. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-68-75.

Antitumor efficiency of sonodynamic therapy in combination with chlorine-based photosensitizer in experiments

Egor L. Protopovich, Dmitry A. Tzerkovsky

N. N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus; Lesnoy 223040, Republic Belarus

Contacts: Dmitry Alexandrovich Tzerkovsky tzerkovsky@mail.ru

Introduction. Sonodynamic therapy is a topical research area in experimental oncology. The method is based on the combined use of photosensitizing agents with ultrasonic radiation with certain parameters. The result of this interaction is the induction of sonochemical reactions and the effect of cavitation in the tumor cell. The consequence is its death (apoptosis, autophagy).

The study objective is to investigate the antitumor efficacy of sonodynamic therapy with a chlorine-based photosensitizer (PS) in an experiments on laboratory animals with transplantable tumors.

Materials and methods. The experimental study was performed on 50 white outbred rats weighing 250 ± 50 grams. Subcutaneously transplanted Pliss lymphosarcoma (PLS) and alveolar liver cancer RS1 (RS1) were used as tumor models. Chlorine-based PS (Belmedpreparaty, Republic Belarus) was injected intravenously at a dose of 2.5 mg/kg. The ultrasound sessions (US) were carried out 2.5–4 hours (depending on the tumor strain) after the administration of the PS using the device Phyaaction U (Gymna Yniphy, Belgium) with frequencies of 1.04 and 3 MHz, intensity of 2 W/cm² and duration of 10 minutes in continuous mode. For each of the tumor model the study was performed on 25 laboratory animals subdivided into groups of 5 individuals: intact control, US 1.04 MHz; US 3 MHz; PS + US 1.04 MHz and PS + US 3 MHz. The criteria for assessing the antitumor efficacy were indicators of the dynamics of the growth of transplanted tumors: average volume of tumors (V_{av} , cm³), the coefficient of tumor growth inhibition (TGI, %), coefficient of absolute growth of tumors (K) and the frequency of complete regressions 60 days after treatment (%).

Results. For PLS V_{av} in groups were 32.72 ± 7.23 ; 26.81 ± 1.06 ; 14.80 ± 5.08 ; 9.37 ± 6.05 and 22.25 ± 4.91 cm³, respectively ($p < 0.05$). The coefficients TGI in the experimental groups were 20.27; 54.77; 71.36 and 31.99 %, respectively. Indicators K in groups were 21.64; 14.52; 6.12; 4.91 and 15.34, respectively. The frequency of complete tumor regressions 60 days after the start of the experiment was 0, 20, 20, 40 and 0 %, respectively. For RS1 V_{av} in groups were 23.29 ± 5.11 ; 6.22 ± 2.22 ; 11.78 ± 4.57 ; 6.38 ± 2.57 and 13.06 ± 3.53 cm³, respectively ($p < 0.05$). The coefficient of TGI in the experimental groups were 73.25; 49.42; 72.60 and 43.92 %, respectively. Indicators K in groups were: 8.34; 1.11; 3.39; 2.91 и 5.05, respectively. The frequency of complete tumor regressions 60 days after the start of the experiment was 0, 0, 0, 40 and 0 %, respectively.

Conclusions. The data obtained indicate a trend towards an increase in the antitumor effectiveness of the combined use of PS and sonodynamic therapy on various histological structures and growth patterns of transplanted tumors, as well as the prospects for further studies of the sonosensitizing properties of photosensitizing agents.

Key words: laboratory animals, transplanted tumors, sonodynamic therapy, photosensitizer

For citation: Protopovich E. L., Tzerkovsky D. A. Antitumor efficiency of sonodynamic therapy in combination with chlorine-based photosensitizer in experiments. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2022;21(1):68–75. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-68-75.

Введение

Сонодинамическая терапия (СДТ) является актуальным направлением научных исследований в экспериментальной и клинической онкологии. По мнению ряда авторов, ультразвуковое (УЗ) излучение с частотой от 0,5 до 3 МГц и интенсивностью от 0,5 до 5 Вт/см² способно повышать цитотоксичность различных лекарственных средств, что связано с увеличением проницаемости клеточных мембран и реализацией эффектов кавитации, локальной УЗ-гипертермии и соно-индуцированного свободно-радикального окисления биологических структур опухолевой клетки [1]. В первую очередь к таким препаратам относят радиосенсибилизаторы (метронидазол, димексид и др.) и ряд химиопрепаратов (цисплатин, блеомицин, этопозид, адриамицин, 5-фторурацил и др.) [2].

В последние годы определенный интерес представляют исследования, направленные на изучение соносенсибилизирующих свойств фотосенсиби-

заторов (ФС), в основном применяемых для фотодинамической терапии в экспериментальных и клинических условиях. Первым ФС, соносенсибилизирующая активность которого была доказана в экспериментальных исследованиях *in vitro* и *in vivo*, был гематопорфирин [3].

Предшествующие исследования в данном направлении, выполненные на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» (Республика Беларусь), были направлены на изучение непосредственных результатов (оценка площадей некрозов и деструктивных изменений в опухолевой ткани) применения СДТ с данным ФС хлоринового ряда [4, 5]. Основной научной идеей данного исследования является изучение и доказательство новых свойств ФС хлоринового ряда в эксперименте *in vivo* на лабораторных животных с различными по характеру роста и гистологической структуре первичными опухолями на основании анализа отдаленных результатов

предложенных режимов воздействия. Предполагается, что цитотоксичность данного ФС будет значительно усиливаться под влиянием УЗ-излучения с определенными параметрами.

Цель исследования — изучение противоопухолевой эффективности СДТ с ФС хлоринового ряда в эксперименте на лабораторных животных с различными перевивными опухолями.

Материалы и методы

Лабораторные животные. Пилотное исследование выполнено на 50 белых беспородных крысах обоих полов, полученных из вивария ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», с массой тела от 250 ± 50 г, в возрасте 2,5–3 мес. Длительность карантина перед включением в эксперимент составляла 14 сут. Лабораторные животные содержались в специальных клетках в стандартных условиях пищевого и питьевого рациона в соответствии с действующими нормами содержания экспериментальных животных. Условиями содержания были: 12-часовой режим освещения, температура 20–22 °С, влажность 50–60 %, индивидуальные клетки — по 5 особей в каждой. Показатели влажности, температуры, освещенности в помещении соответствовали действующим санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию вивариев (Санитарные правила и нормы 2.1.2.12-18-2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденные Постановлением главного санитарного врача Республики Беларусь от 31.10.2006 № 131).

Опухолевый штамм. Штамм лимфосаркомы Плисса (ЛФС) был получен Г.Б. Плиссом в 1960 г. от крысы-самки, которая с рождения получала диету, содержащую 3,3-дихлорбензидин. Опухоль состоит из мелких и крупных лимфоидных клеток (лимфобластов) с высокой митотической активностью. Перевиваемость штамма составляет 75–100 %. Опухоль растет быстро. Продолжительность жизни лабораторных животных с перевивными опухолями варьирует от 12 до 95 сут [6].

Опухолевый штамм альвеолярного рака печени РС1 (РС1) был получен Л.Л. Малюгиной в 1956 г. при перевивке опухоли печени, индуцированной у крысы 2-ацетиламинофлюореном. Первичная опухоль имела строение гепатомы и холангиомы. При перевивках элементы гепатомы исчезли. В настоящее время опухоль имеет строение альвеолярного слизистого рака. Перевиваемость штамма составляет 90–100 %. Опухолевые клетки с явлениями ослизнения сгруппированы в виде ячеек, разделенных прослойками соединительной ткани. Опухоль растет медленно. Продолжительность жизни крыс после перевивки — до 75 сут [7].

Опухолевая модель. Опухолевую модель у лабораторных животных создавали путем подкожного пассивирования *in vivo*. Подкожная перевивка включала введение под кожу левой паховой области 0,5 мл 10 % взвеси опухолевых клеток в 0,6 % растворе Хенкса. Лабораторных животных с ЛФС включали в эксперимент на 7-е сутки после перевивки, с РС1 — на 21-е сутки после перевивки.

Этические аспекты. Экспериментальные исследования были проведены в соответствии с международным законодательством и действующими в Республике Беларусь нормативными правовыми актами по проведению экспериментальных исследований с лабораторными животными, а именно:

- Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986) с изменениями в соответствии с положениями протокола (СЕД № 170 от 02.12.2005).
- Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (от 22.09.2010).
- Технический кодекс установившейся практики 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика» (GLP), утвержденный постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008.

Экспериментальные исследования соответствовали ряду принципов 3Rs, разработанных W.M. Russel и R.L. Berch (The principles of humane experimental technique. Wheathampstead (UK): Universities Federation for Animal Welfare, 1959 г.), а именно:

- reduction — сокращение количества используемых лабораторных животных в эксперименте;
- refinement — усовершенствование методики проведения эксперимента за счет применения обезболивающих и нетравматических методов.

Лабораторных животных вводили в наркоз (нейролептаналгезия: 0,005 % раствор фентанила + 0,25 % раствор дроперидола в соотношении 2:1, по 0,2 мл на 100 г массы тела внутримышечно). После окончания периода наблюдения за лабораторными животными их умерщвление выполнялось с помощью общепринятых методов эвтаназии (*aether pro narcosi*) с соблюдением гуманных методов обращения с лабораторными животными.

Фотосенсибилизатор. В качестве фотосенсибилизирующего агента использовали ФС хлоринового ряда «Фотолон» (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь), представляющий собой тринатриевую соль хлорина еб с повидоном К17. ФС представлял собой порошок лиофилизированный для приготовления раствора для внутривенного введения в виде пористой массы зеленовато-черного цвета, 100 мг (регистрационный номер 16/11/886 от 08.11.2016).

Введение ФС осуществлялось следующим образом: после введения животных в наркоз (нейролептаналгезия) они фиксировались мягкими резиновыми фиксаторами к операционному столу и с помощью специального катетера проводилась катетеризация хвостовой вены с последующим осуществлением в условиях затемненного помещения внутривенной инфузии ФС в дозе 2,5 мг/кг (согласно инструкции по медицинскому применению).

Сеанс ультразвуковой терапии (УЗТ). Локальное УЗ-воздействие осуществляли однократно с помощью аппарата для УЗТ Phyaaction U (Gymna Yniphy, Бельгия) с рабочей частотой импульсов 1,04 и 3 МГц, интенсивностью импульсов 2 Вт/см² и продолжительностью 10 мин в непрерывном режиме после обработки поверхности экспериментальной опухоли специальным гелем. УЗ-воздействие начинали через 2,5–3 ч после введения ФС у лабораторных животных с опухолевым штаммом ЛФС и через 3,5–4 ч после введения ФС у лабораторных животных с опухолевым штаммом РС1.

Дизайн исследования. Все воздействия проводились на 7-е сутки после перевивки ЛФС и на 21-е сутки – для РС1, по достижении диаметра опухолевого узла не менее 4–5 мм. Для каждого из опухолевых штаммов исследование выполнялось на 25 лабораторных животных, случайным образом распределенных на группы по 5 особей:

- интактный контроль;
- УЗТ: 1,04 МГц, 2 Вт/см², 10 мин;
- УЗТ: 3 МГц, 2 Вт/см², 10 мин;
- ФС 2,5 мг/кг + УЗТ: 1,04 МГц, 2 Вт/см², 10 мин;
- ФС 2,5 мг/кг + УЗТ: 3 МГц, 2 Вт/см², 10 мин.

Критерии оценки противоопухолевой эффективности терапии. Оценка противоопухолевой эффективности воздействий осуществляли по показателям: динамика изменения объема опухоли (V), коэффициент абсолютного прироста опухоли (K) и коэффициент торможения роста опухоли (ТРО).

Объем опухолей вычисляли по формуле:

$$V = \frac{1}{6} \pi \times d_1 \times d_2 \times d_3,$$

где $d_{1,2,3}$ – 3 взаимно перпендикулярных диаметра опухоли (см); $\pi/6 = 0,52$ – постоянная величина; V – объем опухоли (см³).

Коэффициент абсолютного прироста опухоли (K) рассчитывали по формуле:

$$K = \frac{(V_t - V_0)}{V_0},$$

где: V_0 – исходный объем опухоли (до введения химиопрепарата); V_t – объем опухоли на определенный срок наблюдения.

Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО, %) рассчитывали по формуле:

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

где: V_k – средний объем опухоли в контрольной группе (см³); V_0 – средний объем опухоли в основной группе (см³).

Количественные критерии оценки ингибирующего эффекта на перевивных опухолях у лабораторных животных были следующими (табл. 1) [8].

Таблица 1. Критерии оценки противоопухолевой эффективности терапии

Table 1. Criteria for evaluating antitumor efficacy of therapy

Критерий Criteria	Эффективность Efficacy
ТРО <20 % TGI <20 %	0
ТРО <20–50 % TGI <20–50 %	±
ТРО <51–80 % TGI <51–80 %	+
ТРО <81–90 % TGI <81–90 %	++
ТРО <91–100 % + <50 % полных регрессий TGI <91–100 % + <50 % complete response	+++
ТРО <91–100 % + >50 % полных регрессий TGI <91–100 % + >50 % complete response	++++

Примечание. ТРО – торможение роста опухоли.
Note. TGI – tumor growth inhibition.

Динамику роста перевивных опухолей регистрировали начиная с 7-х суток после перевивки опухолевого штамма ЛФС и с 21-х суток – для РС1 в течение 2 нед с интервалом 2–3 сут.

Частота полных регрессий оценивалась через 60 сут после перевивки и проведенных воздействий при отсутствии визуальных и пальпаторных признаков опухолевого роста (в процентах от общего количества лабораторных животных в группах) [8].

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка экспериментальных данных и графическое представление результатов проводились с помощью пакетов прикладных программ MS Excel 2010, Origin Pro (версия 7.0) и Statistica (версия 8.0). Для оценки достоверности различий использовали U -критерий Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Перевиваемость опухолей ЛФС и РС1 у лабораторных животных составила 100 %.

В 1-й части экспериментального исследования на 25 лабораторных животных с перевивной опухолью ЛФС изучена противоопухолевая эффективность

Таблица 2. Показатели противоопухолевой эффективности ультразвуковой и сонодинамической терапии у лабораторных животных с перевивными опухолями (лимфосаркома Плисса)

Table 2. Indicators of the antitumor efficacy of ultrasound and sonodynamic therapy in laboratory animals with transplantable tumors (Pliss lymphosarcoma)

Группа Group	V_{cp} , см ³ V_{av} , см ³		K	TPO, % TGI, %	Частота полных регрессий опухолей, % Frequency of complete response, %
	На 1-е сутки On day 1	На 14-е сутки On day 14			
Интактный контроль Intact control	1,45 ± 0,23	32,72 ± 7,23	21,64	—	0
УЗТ: 1,04 МГц, 2 Вт/см ² , 10 мин US: 1.04 MHz, 2.0 W/cm ² , 10 min	1,73 ± 0,29	26,81 ± 1,06	14,52	20,27	20
УЗТ: 3 МГц, 2 Вт/см ² , 10 мин US: 3.0 MHz, 2.0 W/cm ² , 10 min	2,08 ± 0,31	14,80 ± 5,08*	6,12	54,77	20
ФС 2,5 мг/кг + УЗТ: 1,04 МГц, 2 Вт/см ² , 10 мин PS 2.5 mg/kg + US: 1.04 MHz, 2.0 W/cm ² , 10 min	1,59 ± 0,36	9,37 ± 6,05*	4,91	71,36	40
ФС 2,5 мг/кг + УЗТ: 3 МГц, 2 Вт/см ² , 10 мин PS 2.5 mg/kg + US: 3.0 MHz, 2.0 W/cm ² , 10 min	1,36 ± 0,29	22,25 ± 4,91	15,34	31,99	0

*Различия с интактным контролем статистически значимы, $p < 0,05$.

* Differences with intact control are statistically significant, $p < 0.05$.

Примечание. Здесь и в табл. 3: V_{cp} – средний объем опухолей; K – коэффициент абсолютного прироста опухоли; TPO – торможение роста опухоли; УЗТ – ультразвуковая терапия; ФС – фотосенсибилизатор.

Note. Here and in table 3: V_{av} – the average volume of tumors; K – coefficient of absolute tumor growth; TGI – tumor growth inhibition; US – ultrasound therapy; PS – photosensitizer.

СДТ с ФС согласно дизайну исследования. Результаты исследования представлены в табл. 2 и на рис. 1.

Применение УЗТ с частотой 3 МГц и интенсивностью 2 Вт/см² приводило к статистически значимому торможению роста перевивных опухолей ЛФС по сравнению с УЗТ с частотой 1,04 МГц и интенсивностью 2 Вт/см² (средний объем опухоли (V_{cp}): 14,80 ± 5,08 см³ против 26,81 ± 1,06 см³, $p = 0,041$). Однако предварительное введение ФС «Фотолон» с последующим сеансом УЗТ с частотами 1,04 и 3 МГц приводило к уменьшению V_{cp} : 22,25 ± 4,91 см³ (для 3 МГц) и 9,37 ± 6,05 см³ (для 1,04 МГц) ($p = 0,12$).

Стоит отметить, что при использовании УЗТ с частотой 1,04 МГц в группах с внутривенным введением ФС и без такового отмечено статистически значимое торможение роста перевивных опухолей (см. табл. 2, $p = 0,016$). А при использовании УЗТ с частотой 3 МГц в группах с внутривенным введением ФС и без такового отмечена обратная тенденция (см. табл. 2, $p = 0,31$).

Оптимальной схемой лечения является внутривенное введение ФС в дозе 2,5 мг/кг с последующим через 2,5–3 ч однократным воздействием УЗ-излучением с частотой 1,04 МГц и интенсивностью 2 Вт/см². Через 2 нед после реализации воздействий V_{cp} составил 9,37 ± 6,05 см³; коэффициент K – 4,91, TPO – 71,36 %, частота полных регрессий – 40 % (+).

Во 2-й части экспериментального исследования на 25 лабораторных животных с перевивной опухолью РС1 определены и изучены оцениваемые критерии

противоопухолевой эффективности предложенных воздействий согласно дизайну исследования (табл. 3, рис. 2).

Применение УЗТ с частотой 1,04 МГц и интенсивностью 2 Вт/см² приводило к торможению роста перевивных опухолей РС1 по сравнению с УЗТ с частотой 3 МГц и интенсивностью 2 Вт/см² (V_{cp} : 6,22 ± 2,22 см³ против 11,78 ± 4,57 см³, $p = 0,29$). Однако предварительное введение ФС «Фотолон» с последующим сеансом УЗТ с частотами 1,04 и 3 МГц приводило к уменьшению V_{cp} : 13,06 ± 3,53 см³ (для 3 МГц) и 6,38 ± 2,57 см³ (для 1,04 МГц) ($p = 0,15$).

Следует отметить, что при использовании УЗТ с частотой 1,04 МГц в группах с внутривенным введением ФС и без такового отмечены идентичные данные о торможении роста перевивных опухолей (см. табл. 3, $p = 0,96$). При использовании УЗТ с частотой 3 МГц в группах с внутривенным введением ФС и без такового отмечена такая же тенденция (см. табл. 3, $p = 0,83$).

Оптимальной схемой лечения лабораторных животных с опухолевым штаммом РС1 с наиболее эффективными показателями среднего объема опухолей ($V_{cp} = 6,38 ± 2,57$ см³), коэффициентов K (2,91) и TPO (72,60 %), а также частоты полных регрессий (40 %) является внутривенное введение ФС в дозе 2,5 мг/кг с последующим через 3,5–4 ч локальным УЗ-воздействием на опухоль с частотой 1,04 МГц, интенсивностью 2 Вт/см² и длительностью 10 мин (+). Дополнительно стоит отметить тот факт, что в группе

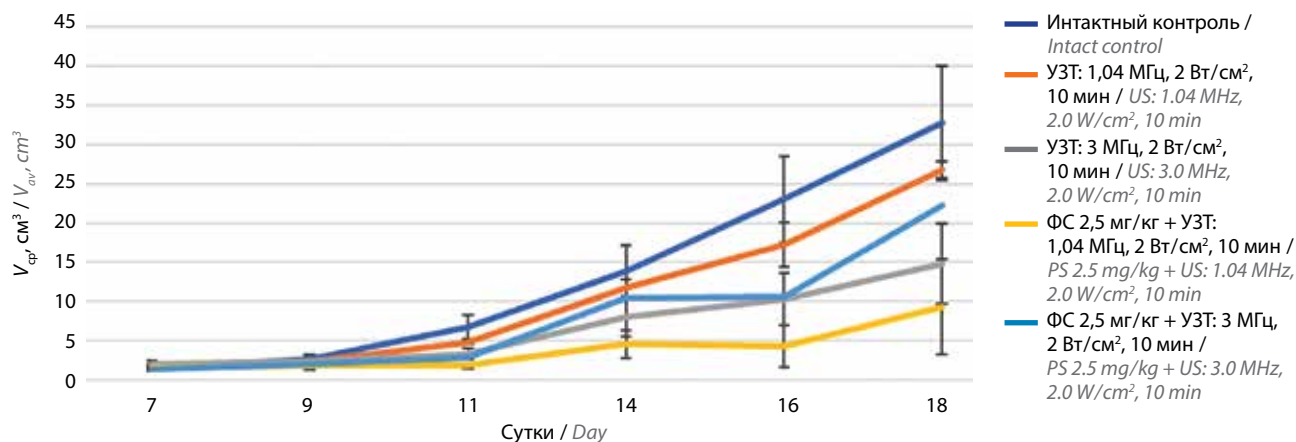


Рис. 1. Динамика среднего объема ($V_{ср}$) перевивных опухолей (лимфосаркомы Плисса) в исследуемых группах после начала эксперимента. Здесь и на рис. 2: УЗТ – ультразвуковая терапия; ФС – фотосенсибилизатор

Fig. 1. Dynamics of the average volume (V_{av}) of grafted tumors (Pliss lymphosarcoma) in studied groups after the start of experiment. Here and on fig. 2: US – ultrasound therapy; PS – photosensitizer

Таблица 3. Показатели противоопухолевой эффективности ультразвуковой и сонодинамической терапии у лабораторных животных с перевивными опухолями (альвеолярный рак печени РС1)

Table 3. Indicators of the antitumor efficacy of ultrasound and sonodynamic therapy in laboratory animals with transplantable tumors (alveolar liver cancer RS1)

Группа Group	$V_{ср}, \text{cm}^3$ $V_{ав}, \text{cm}^3$		К	ТРО, TGI, %	Частота полных регрессий опухолей, % Frequency of complete response, %
	На 1-е сутки On day 1	На 14-е сутки On day 14			
Интактный контроль Intact control	2,49 ± 0,69	23,29 ± 5,11	8,34	—	0
УЗТ: 1,04 МГц, 2 Вт/см ² , 10 мин US: 1.04 MHz, 2.0 W/cm ² , 10 min	2,96 ± 0,47	6,22 ± 2,22*	1,11	73,25	0
УЗТ: 3 МГц, 2 Вт/см ² , 10 мин US: 3.0 MHz, 2.0 W/cm ² , 10 min	2,67 ± 0,79	11,78 ± 4,57*	3,39	49,42	0
ФС 2,5 мг/кг + УЗТ: 1,04 МГц, 2 Вт/см ² , 10 мин PS 2.5 mg/kg + US: 1.04 MHz, 2.0 W/cm ² , 10 min	2,63 ± 0,59	6,38 ± 2,57*	2,91	72,60	40
ФС 2,5 мг/кг + УЗТ: 3 МГц, 2 Вт/см ² , 10 мин PS 2.5 mg/kg + US: 3.0 MHz, 2.0 W/cm ² , 10 min	2,15 ± 0,89	13,06 ± 3,53*	5,05	43,92	0

*Различия с интактным контролем статистически значимы, $p < 0,05$.

*Differences with intact control are statistically significant, $p < 0.05$.

лабораторных животных, пролеченных с идентичными параметрами УЗ-воздействия без введения ФС, зарегистрированы аналогичные показатели: $6,22 \pm 2,22 \text{ cm}^3$, 1,11 и 73,25 % соответственно. Вместе с тем частота полных регрессий пролеченных опухолей составила 0 %. Определение наиболее оптимальной схемы лечения в данном случае будет проводиться в перспективе в дальнейших дополнительных экспериментах.

Первым ФС, соносенсибилизирующая активность которого была доказана в экспериментальных исследованиях *in vitro* и *in vivo*, был гематопорфирин [3].

На данный момент авторами из ряда исследовательских центров в странах Европы и Юго-Восточной Азии представлены результаты экспериментальных исследований по изучению соносенсибилизирующего эффекта различных классов фотосенсибилизирующих агентов [9–12]. Более подробная информация о результатах данных исследований представлена в нашей предыдущей публикации [1].

При интерпретации ключевых механизмов, лежащих в основе повреждения опухолевой клетки при комбинированном применении ФС и УЗТ, ученые приходят к выводу, что ведущим звеном в реализации

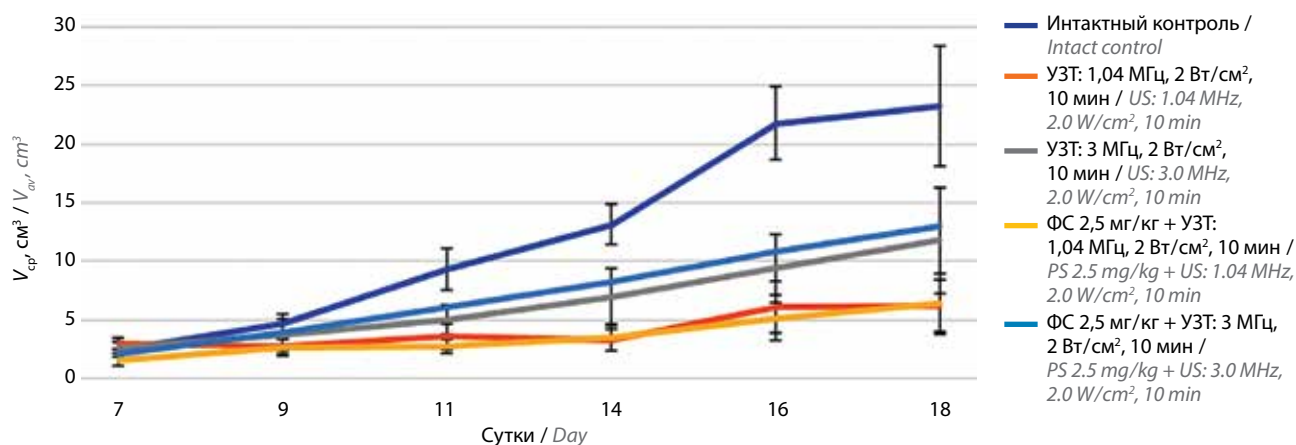


Рис. 2. Динамика среднего объема (V_{cp}) перевивных опухолей (альвеолярного рака печени РС1) в исследуемых группах после начала эксперимента
Fig. 2. Dynamics of the average volume (V_{av}) of grafted tumors (alveolar liver cancer RS1) in studied groups after the start of experiment

противоопухолевого эффекта УЗ-излучения, переводящего молекулу ФС из основного состояния в возбужденное, являются активные формы кислорода (супероксид-анион (O_2^-), гидроксил-радикал ($\cdot OH$), гидроген-пероксид (H_2O_2)), образование которых потенцирует развитие каскада физико-химических процессов, приводящих к летальным повреждениям таких клеточных компонентов, как цитоплазматические мембраны и гранулярная эндоплазматическая сеть [13, 14]. Обладая высоким окислительным потенциалом, активные формы кислорода взаимодействуют с липидами мембран органелл опухолевой клетки с образованием продуктов окисления, дестабилизацией и последующим разрушением клетки в целом. Следствием реализации окислительного стресс-синдрома являются апоптоз и аутофагия [15].

Заключение

Полученные на основании анализа непосредственных и отдаленных результатов экспериментального исследования пилотные данные свидетельствуют о наличии тенденции к более выраженному торможению роста перевивных опухолей с различной гистологической структурой при использовании схемы комбинированного лечения, включающей применение ФС с последующим проведением сеансов УЗТ, по сравнению с УЗТ в монорежиме. Подводя итог вышесказанному, можно сделать вывод, что реализация данного экспериментального исследования в дальнейшем является перспективной и актуальной для экспериментальной онкологии. С целью оптимизации режимов УЗТ с ФС хлоринового ряда экспериментальные исследования на лабораторных животных с перевивными опухолями в дальнейшем будут продолжены.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tzerkovsky D.A., Protopovich E.L., Stupak D.S. Sonodynamic and sonophotodynamic therapy in oncology. *Biomedical Photonics* 2019;8(2):31–46. DOI: 10.24931/2413-9432-2019-8-2-31-46.
2. Rosenthal I., Sostaric J.Z., Riesz P. Sonodynamic therapy – a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrason Sonochem* 2004;11(6):349–63. DOI: 10.1016/j.ulsonch.2004.03.004.
3. Yumita T., Nishigaki T., Umemura K., Umemura S.I. Synergetic effect of ultrasound and hematoporphyrin on sarcoma 180. *Jpn J Cancer Res* 1990;81(3):304–8. DOI: 10.1111/j.1349-7006.1990.tb02565.x.
4. Tzerkovsky D.A., Alexandrova E.N., Chalau V.N., Istomin Yu.P. Effects of combined sonodynamic and photodynamic therapies with photolon on a glioma C6 tumor model. *Exp Oncol* 2012;34(4):332–5.
5. Церковский Д.А., Александрова Е.Н., Чалов В.Н., Истомин Ю.П. Соно-фотодинамическая терапия с фотолоном саркомы М-1 крыс. *Российский биотерапевтический журнал* 2012;11(4):29–31. [Tzerkovsky D.A., Alexandrova E.N., Chalau V.N., Istomin Yu.P. Sono-photodynamic therapy for sarcoma M1 in rats. *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2012;11(4):29–31. (In Russ.)].
6. Лимфосаркома Плисса (электронный ресурс). Режим доступа: http://www.bionco.ru/methods/exp_chemotherapy/strains/char_strains/LSP/. Дата доступа: 22.10.2020. [Pliss Limfosarkoma (electronic resource). Access mode:

- http://www.bionco.ru/methods/exp_chemotherapy/strains/char_strains/LSP/. Access date: 22.10.2020. (In Russ.).
7. Холангиома (альвеолярный рак печени PC1) (электронный ресурс). Режим доступа: http://www.bionco.ru/methods/exp_chemotherapy/strains/char_strains/rs1/. Дата доступа: 22.10.2020. [Holangioma (al'veolyarniy rak pečeni RS1) (electronic resource). Access mode: http://www.bionco.ru/methods/exp_chemotherapy/strains/char_strains/rs1/. Access date: 22.10.2020. (In Russ.)].
 8. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. С. 637–651 [Treshalina E.M., Zhukova O.S., Gerasimova G.K. et al. Methodological guidelines for the study of antitumor activity of pharmacological substances. In: Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moscow: Meditsina, 2005. С. 637–651. (In Russ.)].
 9. Jia Y., Wang X., Liu Q. et al. Sonodynamic action of hypocrellin B triggers cell apoptosis of breast cancer cells involving caspase pathway. *Ultrasonics* 2017;73:154–61. DOI: 10.1016/j.ultras.2016.09.013.
 10. Shen J., Cao S., Sun X. et al. Sinoporphyrin sodium-mediated sonodynamic therapy inhibits RIP3 expression and induces apoptosis in the H446 small cell lung cancer cell line. *Cell Physiol Biochem* 2018;51(6): 2938–54. DOI: 10.1159/000496045.
 11. Lia E., Sunc Y., Lu G. et al. Sinoporphyrin sodium based sonodynamic therapy induces anti-tumor effects in hepatocellular carcinoma and activates p53/caspase 3 axis. *Int J Biochem Cell Biol* 2019;113:104–14. DOI: 10.1016/j.biocel.2019.01.009.
 12. Prada F., Sheybani N., Franzini A. et al. Fluorescein-mediated sonodynamic therapy in a rat glioma model. *J Neurooncol* 2020;148(3):445–54. DOI: 10.1007/s11060-020-03536-2.
 13. Costley D., McEwan C., Fowley C. et al. Treating cancer with sonodynamic therapy: a review. *Int J Hyperthermia* 2015;32(2):107–17. DOI: 10.3109/02656736.2014.992484.
 14. Escoffre J.M., Bouakaz A.B. *Therapeutic ultrasound*. Switzerland: Springer, 2016. 459 p.
 15. McHale A.P., Callan J.F., Nomikou N. et al. Sonodynamic therapy: concept, mechanism and application to cancer treatment. *Adv Exp Med Biol* 2016;880:429–50. DOI: 10.1007/978-3-319-22536-4_22.

Вклад авторов

Е.Л. Протопович: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, получение данных для анализа, анализ полученных данных;

Д.А. Церковский: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи.

Author's contribution

E.L. Protopovich: development of research design, review of publications on the topic of the article, obtaining data for analysis, analysis of the data obtained;

D.A. Tzerkovsky: development of research design; review of publications on the topic of the article, obtaining data for analysis, analysis of the data obtained, writing the text of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.Л. Протопович / E.L. Protopovich: <https://orcid.org/0000-0002-7513-1545>

Д.А. Церковский / D.A. Tzerkovsky: <https://orcid.org/0000-0001-7444-7997>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований Национальной академии наук Беларуси (грант № М19М-137, 2019–2021 гг.).

Financing. The work was performed with the financial support of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research of the National Academy of Sciences of Belarus (grant No. M19M-137, 2019–2021).

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

Compliance with principles of bioethics. The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes.

Статья поступила: 26.10.2021. Принята к публикации: 14.02.2022.

Article submitted: 26.10.2021. Accepted for publication: 14.02.2022.