

Определение химиорезистентности клеток рака яичников *in vitro*

К.А. Кузин¹, Т.И. Фетисов¹, Р.И. Князев^{1,2}, Л.Я. Фомина¹, Л.В. Мехеда¹, Е.А. Лесовая^{1,3}, Г.А. Белицкий¹, М.Г. Якубовская¹, К.И. Кирсанов^{1,4}

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

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 123242 Москва, ул. Баррикадная, 2/1;

³ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»; Россия, 390026 Рязань, ул. Высоковольтная, 9;

⁴ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Контакты: Константин Александрович Кузин kuzin_konstantin@mail.ru

Цель исследования — представить обоснование существующих подходов к тестированию химиорезистентности рака яичников *in vitro*, провести их сравнительный анализ и дать оценку перспектив их дальнейшего применения.

Материалы и методы. При подготовке обзора были проанализированы статьи по теме прогнозного определения химиорезистентности рака яичников к химиотерапевтическим препаратам, имеющиеся в информационных базах биомедицинской литературы SciVerse Scopus (158), PubMed (323), Web of Science (285), РИНЦ (64). В обзоре процитированы 37 современных публикаций, 12 работ из которых были опубликованы в течение последних 3 лет, а 16 статей относятся к первым публикациям по разработанным методикам, которые продолжают использовать в наши дни.

Результаты. Рассмотрены особенности основных методов оценки резистентности/чувствительности рака яичников к различным химиотерапевтическим препаратам с использованием первичных культур опухолевых клеток, получаемых из биопсийного/операционного материала. При тестировании в качестве основных оцениваемых характеристик опухолевых клеток рассмотрены пролиферативная и метаболическая активность, а также уровень клеточной гибели. Обсуждены методические особенности описываемых методов, а также перспективы их дальнейшего применения.

Заключение. Прогнозное выявление химиорезистентности рака яичников проводится на основании тестирования жизнеспособности опухолевых клеток в присутствии химиотерапевтического препарата. Обоснованием для совершенствования такого тестирования *in vitro* служат результаты исследований ключевых механизмов развития химиорезистентности опухолевых клеток.

Ключевые слова: рак яичников, платиносодержащий препарат, химиорезистентность, тест на химиорезистентность и чувствительность клеток, пролиферативная активность, жизнеспособность опухолевых клеток

Для цитирования: Кузин К.А., Фетисов Т.И., Князев Р.И. и др. Определение химиорезистентности клеток рака яичников *in vitro*. Успехи молекулярной онкологии 2019;6(4):8–25.

DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-4-8-25

Determination of chemoresistance of ovarian cancer cells *in vitro*

K.A. Kuzin¹, T.I. Fetisov¹, R.I. Knyazev^{1,2}, L.Ya. Fomina¹, L.V. Meheda¹, E.A. Lesovaya^{1,3}, G.A. Belitsky¹, M.G. Yakubovskaya¹, K.I. Kirsanov^{1,4}

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

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Health of Russia; 2/1 Barrikadnaya St., 125993 Moscow, Russia;

³I.P. Pavlov Ryazan State Medical University; 9 Vysokovol'tnaya St., Ryazan 390026, Russia;

⁴Peoples' Friendship University of Russia; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

Objectives: to provide a rationale for existing approaches for the evaluation of chemoresistance of ovarian cancer *in vitro*, to perform a comparative analysis of the methods and to assess the perspectives of their further application.

Materials and methods. For the review preparation, we analyzed articles on experimental testing of ovarian cancer resistance to chemotherapeutic agents, available at biomedical literature databases SciVerse Scopus (158), PubMed (323), Web of Science (285), RSCI (64). The review cited 37 recent publications, 12 of them being published over the past three years, and 16 articles being referred as pioneer publications on techniques previously and used today.

Results. Peculiarities of the main methods for assessing the resistance and sensitivity of a cancer to various chemotherapeutic drugs using primary cultures of tumor cells obtained from biopsy or surgical material are analyzed. Proliferative and metabolic activities as well as

the level of cell death were considered as the main evaluated characteristics of tumor cells. The methodological features of the described methods are discussed, as well as the prospects for their further application.

Conclusion. Predictive detection of chemoresistance of ovarian cancer is based on testing the viability of tumor cells in the presence of a chemotherapeutic drug. The results of studies of the key mechanisms of chemoresistance development in tumor cells provide the rationale for improving *in vitro* testing.

Key words: ovarian cancer, platinum-containing chemotherapy, chemoresistance, cell sensitivity and resistance assay, proliferative activity, tumor cell viability

For citation: Kuzin K.A., Fetisov T.I., Knyazev R.I. et al. Determination of chemoresistance of ovarian cancer cells *in vitro*. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(4):8–25. (In Russ.).

Введение

Злокачественные новообразования яичников являются одной из лидирующих гинекологических патологий по распространенности, заболеваемости и смертности. В 2018 г. в России был выявлен 13 701 новый случай злокачественных новообразований яичников, распространенность данного заболевания составила 76,2 случая на 100 тыс. населения [1]. Рак яичников (РЯ) – самая распространенная форма злокачественных новообразований яичников. Алгоритм лечебных мероприятий при выявлении РЯ включает циторедуктивное хирургическое вмешательство в сочетании с платиносодержащей химиотерапией [2]. Выбор платиносодержащих препаратов 1-й линии химиотерапии основан на эмпирических данных крупных рандомизированных клинических исследований, показавших эффективность для большинства пациенток. При этом персонализация лечения при 1-й линии не проводится, несмотря на тот факт, что такая терапия неэффективна для 10–40 % пациенток с РЯ (в зависимости от гистологического подтипа) [3, 4]. Эффективность проведенной терапии, которую определяют по длительности интервала без платиносодержащей химиотерапии при отсутствии прогрессирования заболевания, т. е. оценивают по факту по данным инструментального обследования и уровню опухолеассоциированного антигена СА125, служит обоснованием заключения о резистентности или чувствительности опухоли к производным платины. Если у пациента выявляют развитие резистентности к платиносодержащим препаратам по появлению платинорефрактерных (в процессе проведения терапии или в течение 1 мес после ее завершения) или платинорезистентных (в интервале от 1 до 6 мес) рецидивов, проводят химиотерапию с использованием паклитаксела, доцетаксела, доксорубина, гемцитабина, винорелбина, этопозиды, топотекана и других препаратов. Выбор другого химиотерапевтического средства (или их комбинации) также проводится без оценки потенциальной химиорезистентности [2].

Следует отметить, что все используемые в настоящее время для лечения РЯ химиотерапевтические препараты вызывают побочные эффекты, в том числе развитие анемии, осложнений со стороны желудочно-кишечного тракта, аллопедий и др., что приводит

к существенному ухудшению качества жизни. Многие из этих препаратов обладают генотоксической активностью, их действие на организм пациента может приводить к развитию вторичных опухолей, индуцированных химиотерапией [5, 6]. Кроме этого, их воздействие на опухолевые клетки приводит к повышению нестабильности генома и ускорению процесса прогрессии опухоли [7, 8]. С учетом того, что стратегия лечения РЯ построена на оценке результата предыдущего курса химиотерапии и все пациенты в конечном итоге получают курс токсического и неэффективного лечения платиносодержащими препаратами, а затем, возможно, и другими химиотерапевтическими препаратами, развитие методов прогнозирования химиорезистентности для проведения на этой основе персонализированного лечения чрезвычайно актуально для современной онкологии.

Одним из перспективных подходов к определению потенциальной химиорезистентности опухоли у пациентов с онкологическими заболеваниями является экспериментальное определение химиорезистентности/чувствительности опухолевых клеток *in vitro*. В представляемом обзоре обсуждены биологические детерминанты развития резистентности опухоли к химиотерапии, рассмотрены принципы определения химиорезистентности опухолевых клеток в системах *in vitro*, представлен сравнительный анализ ряда методических подходов, апробированных для выявления потенциальной химиорезистентности РЯ, и дана оценка перспектив развития экспериментального тестирования химиорезистентности РЯ.

Детерминанты развития резистентности опухоли к химиотерапии

Развитие резистентности опухоли к действию химиотерапевтических препаратов является центральной проблемой современной онкологии. Изучению этого процесса посвящены многие клинические и экспериментальные исследования, которые позволили определить основные детерминанты этого процесса и ключевые механизмы развития. При проведении химиотерапии действие препарата реализуется по 3 направлениям: 1) на опухолевые клетки, влияя на их жизнеспособность; 2) на нормальные клетки и организм пациента в целом, вызывая местные

и системные эффекты; 3) на взаимоотношения опухоли и организма [7]. Каждое из этих направлений характеризуется многофакторностью происходящих процессов, и разработка алгоритмов для их консолидированного анализа находится лишь в стадии развития. Так, интересной находкой клинических исследований по оценке системного действия химиотерапии на организм стали данные о существенной вариабельности фармакокинетики химиотерапевтических препаратов между пациентами [9]. В результате системное воздействие этих препаратов, которое обуславливает противоопухолевые и побочные эффекты, может различаться между пациентами в несколько раз при расчете дозы препарата с учетом площади поверхности тела. Это означает, что современный подход к расчету дозы препарата не является полностью оправданным, необходимо проведение корректировки дозы препарата на основании данных фармакокинетики.

На моделях *in vivo* было установлено, что изменения, происходящие под действием химиотерапевтического препарата в строме и микроокружении опухоли, включая формирование пула макрофагов, ассоциированных с опухолью, могут способствовать развитию химиорезистентности [8, 10].

Использование культур опухолевых клеток позволило наиболее полно изучить механизмы развития химиорезистентности при действии различных препаратов непосредственно в опухолевых клетках [8]. К таким механизмам относят: 1) увеличение активности пролиферации опухолевых клеток; 2) активацию компонентов системы множественной лекарственной устойчивости, обеспечивающей выведение токсических соединений из клетки; 3) активацию процессов детоксикации химиотерапевтических препаратов и продуктов их метаболизма; 4) снижение чувствительности к проапоптотическим сигналам; 5) увеличение активности репарации ДНК; 6) снижение уровня экспрессии генов белков, являющихся мишенями при таргетной терапии, а также изменения в их структуре.

Одни и те же механизмы развития резистентности могут включаться при действии различных химиотерапевтических средств, в то же время один препарат может запускать развитие резистентности одновременно по нескольким механизмам (табл. 1).

Общепринятая теория развития химиорезистентности опухоли, в том числе при РЯ, базируется на представлениях о дарвиновском естественном отборе резистентного опухолевого клона под действием химиотерапевтического препарата в качестве фактора селекции [11]. Данные исследования R.F. Schwarz и соавт. о гетерозиготности и клональной эволюции опухолей яичников хорошо согласуются с этими представлениями [12]. Тем не менее скорость приобретения химиорезистентности свидетельствует о существовании в опухолевых клетках механизмов адаптации к условиям существования в присутствии цитотоксических

агентов [8], а также о возможности горизонтального переноса генетической информации между опухолевыми клетками [13, 14].

Химиотерапия платиносодержащими препаратами вызывает повреждение ДНК путем образования межцепочечных «сшивок», что приводит к блокировке репликации, остановке клеточного цикла, нарушению процесса пролиферации и активации апоптоза [11]. При РЯ были описаны механизмы резистентности опухолевых клеток к платиносодержащим препаратам как существующие до лечения, так и приобретенные в процессе химиотерапии. Анализ опухолевых образцов, полученных от большого числа пациенток с резистентным РЯ, свидетельствовал о снижении внутриклеточного накопления цисплатина вследствие изменений в трансмембранном транспорте и эндоцитозе, об активации процессов репарации ДНК, изменении функционирования сигнальных путей, обеспечивающем усиление эпителиально-мезенхимального перехода и высокий уровень пролиферации. Важным молекулярным механизмом изменения активности сигнальных путей у пациенток с РЯ, обеспечивающим развитие химиорезистентности к препаратам платины, является гипо- и aberrантное метилирование ДНК. Поиск драйверных мутаций, которые ассоциированы с развитием приобретенной резистентности, выявил реверсные мутации генов *BRCA1/2* и потерю метилирования промотора *BRCA1*. В то же время эти молекулярно-генетические исследования обнаружили высокую частоту дисфункций системы рекомбинационной репарации и возможность создания «синтетической летали» путем применения ингибиторов PARP1.

Экспериментальное тестирование резистентности и чувствительности опухолевых клеток *in vitro*

Большинство противоопухолевых препаратов после распределения в организме и непосредственного попадания в опухолевые клетки реализуют свой цитотоксический эффект, влияя на жизненно важные клеточные биологические процессы. Биологические процессы, посредством которых противоопухолевые препараты реализуют свое цитотоксическое действие, наиболее активно происходят в быстро пролиферирующих клетках, к которым, несомненно, относятся опухолевые [9].

На уровне организма гибель злокачественных клеток после проведения химиотерапии выражается в уменьшении объема и количества опухолевых очагов, что позволяет оценить эффективность химиотерапии инструментальными методами (спиральная компьютерная томография, магнитно-резонансная томография). Существует несколько шкал оценки, в рамках которых полное исчезновение всех проявлений опухолевого процесса после химиотерапии по данным инструментальных методов обследования расценивается как полный ответ, уменьшение опухолевых очагов — как частичный ответ, отсутствие изменений

Таблица 1. Механизмы развития химиорезистентности в опухолевой клетке, выявляемые при действии различных препаратов

Table 1. Mechanisms of chemoresistance development in tumor cells for various drugs

Механизм развития химиорезистентности Mechanism of chemoresistance development	Группа химиотерапевтических препаратов Group of chemotherapeutical drugs	Механизм химиотерапевтического действия Mechanism of chemotherapeutical action
Увеличение активности пролиферации Increased proliferative activity	Платиносодержащие препараты Platinum-containing drugs	Образование в ДНК межцепочечных «сшивков» Formation of DNA interstrand cross-links
	Алкилирующие агенты Alkylating agents	Модификация оснований ДНК DNA base modification
	Антрациклины Anthracyclines	Образование аддуктов ДНК, ингибирование топоизомеразы II The formation of DNA adducts, inhibition of topoisomerase II
	Ингибиторы тирозиновых киназ Tyrosine kinase inhibitors	Ингибирование передачи активирующего сигнала Inhibition of activating signal transduction
Активация компонентов системы множественной лекарственной устойчивости Activation of components of multiple drug resistance	Таксаны Taxanes	Взаимодействуя с тубулином, нарушают работу микротрубочек, останавливают сегрегацию хроматид и запускают таким образом апоптоз Disrupt microtubule functioning, stop chromatid segregation inducing apoptosis due to interaction with tubulin
	Антрациклины Anthracyclines	Интеркалируют в ДНК, нарушают работу топоизомеразы II, останавливают биосинтез ДНК Intercalate into DNA, disrupt topoisomerase II functioning, stop DNA biosynthesis
	Винкаалкалоиды Vinca alkaloids	Взаимодействуя с тубулином, нарушают работу микротрубочек, таким образом останавливают сегрегацию хроматид, что препятствует делению и запускает апоптоз Interact with tubulin, disrupt microtubule functioning leading to arrested chromatid segregation which prevents division and initiates apoptosis
	Ингибиторы тирозиновых киназ Tyrosine kinase inhibitors	Ингибирование передачи активирующего сигнала Inhibition of activating signal transduction
Активация детоксикации химиотерапевтических препаратов и продуктов их метаболизма Activation of detoxication of chemotherapeutic drugs and their metabolic products	Все цитостатики All cytostatics	Разные механизмы действия Various mechanisms of action
	Ингибиторы тирозиновых киназ Tyrosine kinase inhibitors	Ингибирование передачи активирующего сигнала Inhibition of activating signal transduction
Снижение чувствительности к проапоптотическим сигналам Decreased sensitivity to pro-apoptotic signals	Все цитостатики All cytostatics	Разные механизмы действия Various mechanisms of action
	Ингибиторы тирозиновых киназ Tyrosine kinase inhibitors	Ингибирование передачи активирующего сигнала Inhibition of activating signal transduction
	АТ к онкобелкам Abs to oncoproteins	Ингибирование онкобелков Inhibition of oncoproteins
Увеличение активности репарации ДНК Increased DNA reparation	Платиносодержащие препараты Platinum-containing drugs	Образование в ДНК межцепочечных «сшивков» Formation of DNA interstrand cross-links
	Алкилирующие агенты Alkylating agents	Модификация оснований ДНК DNA base modification
Снижение экспрессии, изменения в структуре белков, являющихся мишенями при таргетной терапии Decreased expression, changes in the structure of chemotherapy target proteins	Таргетные препараты Targeted drugs	Взаимодействие с белками — компонентами активированных сигнальных путей — и их инактивация Interaction with proteins — components of activated signaling pathways — and their inactivation

в опухолевом процессе — как стабилизация процесса и, наконец, рост существующих или появление новых очагов — как прогрессирование заболевания. Кроме вышеприведенного метода эффективность химиотерапии в клинической практике можно оценивать посредством анализа: 1) выживаемости пациентов без прогрессирования заболевания, определяемой как период времени от момента рандомизации до появления рецидива опухоли или смерти пациента после получения противоопухолевой терапии; 2) общей выживаемости, определяемой как время от момента рандомизации или начала терапии до смерти пациента независимо от причины [15].

В соответствии с ответом на терапию злокачественные опухоли *in vivo* можно разделить на чувствительные к определенному химиотерапевтическому препарату, характеризующиеся полным исчезновением или уменьшением размеров очагов после проведения лечения (полный или частичный ответ) и резистентные к определенному цитостатику, характеризующиеся ростом или появлением новых очагов на фоне проведения химиотерапии.

Как было отмечено ранее, резистентность злокачественных клеток к противоопухолевым препаратам — основная проблема клинической онкологии. Ряд злокачественных опухолей являются резистентными к химиотерапии до лечения, у других резистентность может развиваться на фоне или после его проведения.

В настоящее время резистентность опухоли к химиотерапевтическому препарату определяется по результатам объективного обследования пациента после проведения химиотерапии. В то же время есть основания утверждать, что резистентность опухоли может быть предсказана с помощью лабораторных тестов по определению чувствительности и резистентности опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам (Chemotherapy Sensitivity and Resistance assays, CSR-тесты).

CSR-тесты были разработаны и используются с середины XX века [16]. Основным принципом CSR-тестов является оценка жизнеспособности опухолевых клеток, полученных от пациента после их обработки или в присутствии цитостатического агента. Технология получения результатов в различных видах CSR-тестов отличается, но все они включают следующие этапы: 1) выделение опухолевых клеток и помещение их в среду *in vitro*; 2) культивирование опухолевых клеток после обработки или совместно с химиотерапевтическими препаратами; 3) количественную оценку показателя, который позволяет определить чувствительность или резистентность опухолевых клеток к цитостатику; 4) интерпретацию полученных результатов и создание отчета о чувствительности или резистентности клеток.

При тестировании химиорезистентности РЯ выделение опухолевых клеток из асцитической жидкости осуществляют методом центрифугирования; выделение

из образцов опухолевой ткани — методами механической и ферментативной диссоциации. Культивирование клеток *in vitro* проводят в виде суспензии, в условиях двух- или трехмерного роста. В качестве основных показателей, по которым судят о чувствительности или резистентности опухолевых клеток к химиотерапевтическому препарату, используют: 1) активность пролиферации (клоногенный тест, тест на включение $^3\text{[H]}$ -тимидина); 2) активность метаболизма (МТТ-тест, АТФ-тесты); 3) активность клеточной гибели (MiCK-тест, ChemoFX-тест). При интерпретации полученных данных чувствительными к химиотерапевтическому препарату считают опухолевые клетки, большинство из которых неспособны пролиферировать или погибают при культивировании в его присутствии *in vitro*, резистентными — клетки, которые сохраняют жизнеспособность в присутствии цитостатика.

Очевидно, что методика культивирования опухолевых клеток совместно с цитостатиками, используемая в CSR-тестах, является моделированием процесса химиотерапевтического лечения пациента. Следует признать, что при культивировании опухолевых клеток пациента *in vitro* нельзя точно воспроизвести микроокружение опухоли *in vivo* и закономерности экспозиции опухолевых клеток цитостатикам в организме. Этим отчасти объясняется некоторое расхождение результатов экспериментального тестирования и наблюдаемых в клинической практике. Тем не менее способность к пролиферации и высокая метаболическая активность опухолевых клеток в присутствии химиотерапевтического препарата в условиях *in vitro*, несомненно, свидетельствуют о существовании в опухоли клона клеток, резистентных к химиотерапии.

За более чем полувековую историю использования CSR-тестов были проведены исследования по сопоставлению результатов тестирования опухолевых клеток на резистентность/чувствительность *in vitro* и эффективности химиотерапии при различных видах злокачественных опухолей. В 2017 г. были опубликованы результаты метаанализа, в который авторы включили 34 исследования, позволяющие рассчитать чувствительность, специфичность и точность тестов, отражающих их корреляцию с ответом опухоли на химиотерапию при различных нозологиях у 1835 пациентов. Под чувствительностью теста авторы подразумевали долю больных с истинной чувствительностью в популяции, у которых наблюдался ответ на химиотерапию; под специфичностью — долю пациентов с истинной резистентностью в популяции, у которых не наблюдалось ответа на химиотерапию; под точностью теста — долю больных с истинной чувствительностью и истинной резистентностью в общей популяции пациентов, которым проводилось тестирование. В соответствии с данными метаанализа в подавляющем большинстве исследований точность CSR-тестов была выше 80 %, что подтверждает гипотезу о высокой вероятности правильного прогнозирования ответа опухоли на химиотерапию

по результатам тестирования резистентности/чувствительности опухолевых клеток к цитостатикам *in vitro* [17]. При этом возможность увеличения выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости при проведении химиотерапии в соответствии с результатами CSR-тестов остается открытым вопросом, так как истинное влияние уменьшения размеров опухолевых узлов, обусловленное действием цитостатиков на продолжительность жизни пациентов, до сих пор не изучено, и уменьшение размеров опухолевой массы может не приводить к увеличению ни выживаемости без прогрессирования, ни общей выживаемости. Отдельно следует сказать о прогностической значимости выявления чувствительности опухолевых клеток, определяемой как вероятность ответа опухоли на химиотерапию при выявлении чувствительности опухолевых клеток *in vitro*, и прогностической значимости выявления резистентности опухолевых клеток, определяемой как вероятность отсутствия ответа опухоли на химиотерапию при выявлении резистентности *in vitro* (табл. 2). С учетом того, что CSR-тесты проводятся с использованием биопсийного материала и результаты тестирования не могут экстраполироваться на все опухолевые клетки в организме в силу гетерогенности опухоли [12], следует признать, что прогностическая значимость выявления резистентности в CSR-тестах должна быть выше, чем прогностическая значимость выявления чувствительности, так как всегда остается вероятность существования резистентного клона в опухолевой ткани, не попавшего в анализируемый образец.

В табл. 2 представлена стандартная схема оценки результатов для расчета диагностической чувствительности, специфичности и прогностической значимости использования CSR-тестов.

CSR-тесты в клинических исследованиях химиорезистентности рака яичников

Стратегия выполнения всех CSR-тестов в опубликованных исследованиях по прогностическому определению химиорезистентности РЯ заключалась в оценке жизнеспособности опухолевых клеток при их культивировании в присутствии анализируемых препаратов. Для определения жизнеспособности опухолевых клеток в качестве оцениваемой характеристики рассматривали: 1) пролиферативную активность; 2) метаболическую активность; 3) степень индукции гибели клеток. При этом были использованы различные методические подходы, которые приведены далее.

CSR-тесты, оценивающие пролиферативную активность опухолевых клеток

Тест на колониюобразование (Human Tumor Cloning Assay, HTCA) является исторически первым тестом, разработанным в 1970-х годах А. Hamburger и S. E. Salmon для определения чувствительности первичных культур опухолевых клеток к противоопухолевым препаратам [18]. Клоногенный тест основан на способности отдельных опухолевых клеток делиться и давать начало колониям при культивировании в обогащенном агаре. Результаты тестирования получают путем подсчета и дальнейшего сравнения количества колоний, выросших из предварительно обработанных и необработанных химиотерапевтическим агентом опухолевых клеток.

Тест на экстремальную резистентность к химиотерапевтическому препарату (Extreme Drug Resistance Assay, EDRA) был разработан D. H. Kern и соавт. в 1980-х годах [19]. Тест основан на использовании меченого

Таблица 2. Оценка результатов использования CSR-тестов

Table 2. Evaluation of CSR tests

Чувствительность опухолевых клеток в эксперименте <i>in vitro</i> Tumor cell sensitivity <i>in vitro</i>	Ответ опухоли на химиотерапевтическое лечение Tumor response to chemotherapeutical treatment	
	Присутствует Present	Отсутствует Absent
Присутствует Present	Число пациентов с истинной чувствительностью, определенной по результатам тестирования <i>in vitro</i> (ИЧ) Number of patients with true sensitivity determined by the results of an <i>in vitro</i> test (TS)	Число пациентов с ложной чувствительностью, определенной по результатам тестирования <i>in vitro</i> (ЛЧ) Number of patients with false sensitivity determined by the results of an <i>in vitro</i> test (FS)
Отсутствует Absent	Число пациентов с ложной резистентностью, определенной по результатам тестирования <i>in vitro</i> (ЛР) Number of patients with false resistance determined by the results of an <i>in vitro</i> test (FR)	Число пациентов с истинной резистентностью, определенной по результатам тестирования <i>in vitro</i> (ИР) Number of patients with true resistance determined by the results of an <i>in vitro</i> test (TR)

Примечание. Чувствительность теста = $ИЧ / (ИЧ + ЛР)$; специфичность теста = $ИР / (ИР + ЛЧ)$; прогностическая значимость выявления чувствительности = $ИЧ / (ИЧ + ЛЧ)$; прогностическая значимость выявления резистентности = $ИР / (ИР + ЛР)$; точность теста = $(ИЧ + ИР) / (ИЧ + ЛЧ + ИР + ЛР)$.

Note. Test sensitivity = $TS / (TS + FR)$; test specificity = $TR / (TR + FS)$; prognostic value of sensitivity determination = $TS / (TS + FS)$; prognostic value of resistance determination = $TR / (TR + FR)$; test accuracy = $(TS + TR) / (TS + FS + TR + FR)$.

тритием нуклеозида тимидина для оценки интенсивности биосинтеза ДНК, которая отражает пролиферативную активность опухолевых клеток.

Добавление в среду культивирования радиоактивного тимидина с последующей его детекцией позволяет оценивать уровень пролиферативной активности опухолевых клеток, обработанных и необработанных химиотерапевтическими препаратами. Особенностью теста, отраженной в названии EDRA, является культивирование в процессе тестирования опухолевых клеток в концентрациях цитостатиков, многократно превышающих терапевтические, что обеспечивает высокую прогностическую значимость выявления этим тестом резистентности опухолевых клеток.

Тесты, оценивающие метаболическую активность опухолевых клеток

Тест с МТТ-реагентом (МТТ-тест) основан на способности митохондрий живых клеток восстанавливать растворимую соль тетразолия (3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтетразол – МТТ-реагент) в нерастворимые кристаллы формазана. Метод впервые был описан Black и Speeg в 1953 г. [20]. и адаптирован Т. Mosman в 1983 г. [21]. Методика теста сводится к культивированию выделенных опухолевых клеток в среде с цитостатиками и без них с последующей инкубацией клеток с МТТ-реагентом. Образовавшиеся окрашенные кристаллы формазана растворяют с использованием диметилсульфоксида (ДМСО) или изопропанола и оценивают уровень метаболической активности по интенсивности окрашивания раствора с помощью колориметрии. Результаты тестирования получают при сравнении показателей клеток до культивирования с химиотерапевтическим агентом и после него. Согласно данным J. M. Sargent чувствительность МТТ-теста при опухолях яичников составляет 81 %. При этом 5-летняя выживаемость пациентов, получивших препараты, к которым опухолевые клетки были чувствительны в *in vitro*-тесте, была статистически значимо выше, чем у пациентов, получивших препараты, к которым наблюдалась резистентность (табл. 3) [22].

HDRA (Histoculture Drug Response Assay) – модификация МТТ-теста, при которой оценку метаболической активности проводят с использованием гистокультуры, полученной из опухолевого образца. HDRA был предложен в 1991 г. Его особенностью является использование тонких срезов фрагментов опухолевой ткани, культивируемых на коллагеновой подложке, что позволяет в большей степени сохранять гистоархитектонику опухолевой ткани и в максимально возможной степени для экспериментов *in vitro* воспроизводить микроокружение исходной опухоли.

Тесты, основанные на оценке количества аденозинтрифосфата (АТФ). К данной категории относят тесты, в основе которых лежит измерение уровня АТФ, соответствующего уровню метаболической активности

клеток. Известно, что для реализации широкого ряда метаболических процессов клетке необходимо определенное количество АТФ, а после гибели клетки уровень метаболизма быстро снижается и содержание АТФ падает. Содержание АТФ оценивают в лизате клеток с помощью реакции превращения люциферина в оксилуциферин, поскольку энергетическим источником реакции служит АТФ и по регистрации уровня биолюминесценции можно оценить его содержание в опухолевых клетках.

Особенностью данных тестов является возможность использования гипoadгезионных условий культивирования, обеспечивающих селективный рост злокачественных клеток в среде [23].

Тесты, оценивающие степень индукции гибели опухолевых клеток

Оценка кинетики оптических характеристик микрокультуры (MicroCulture Kinetic assay, MiCK-тест). MiCK-тест основан на изменении оптической плотности суспензии опухолевых клеток при развитии апоптоза. По степени изменения оптической плотности в суспензии опухолевых клеток после их обработки химиотерапевтическими препаратами в сравнении с характеристикой необработанных клеток можно судить об их химиорезистентности [24].

Chemo FX – коммерческое название теста, в основе которого лежит подсчет количества жизнеспособных клеток после их окрашивания красителем DAPI. Методика ChemoFX-теста является многоэтапной и включает получение первичной культуры опухолевых клеток, последующую морфологическую и иммунофенотипическую верификацию злокачественного характера полученных клеток с дальнейшим культивированием совместно с химиотерапевтическими препаратами и без них. Результаты тестирования получают путем сравнения количества жизнеспособных клеток при культивировании в присутствии цитостатиков и без них. Особенностями теста являются этап морфологического и иммунофенотипического подтверждения злокачественной природы клеток в первичной культуре и автоматизированный подсчет количества жизнеспособных клеток [25].

В табл. 3 приведена краткая характеристика клинических исследований, а также популяции пациенток и основные результаты, полученные при сопоставлении данных тестирования опухолевых клеток на резистентность/чувствительность *in vitro* с эффективностью химиотерапии у пациенток с диагнозом РЯ.

К сожалению, подход к оценке результатов в большинстве исследований различался, при этом в ряде исследований в качестве результата химиотерапии рассматривалась выживаемость пациентов, в других – объективный ответ опухоли, оцениваемый с помощью инструментальных методов. Следует отметить, что большинство исследований носило ретроспективный характер, дизайн многих из них был неудачным.

Таблица 3. Результаты анализа влияния использования CSR-тестов в клинических исследованиях
 Table 3. The results of analysis of using CSR-assays in clinical trials

Принцип метода Method principle	Название метода, авторы исследования Method name, study authors	Характеристики исследования. Популяция пациентов. Сравнимые группы Study characteristics. Patient populations. Compared groups			Основные результаты Main results
		1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	3-я группа 3 rd group	
Тесты, оценивающие пролиферативную активность опухолевых клеток Tests evaluating proliferative activity of cells	НТСА, Southwest Oncology Group [26]	108 пациенток, получивших терапию наиболее активными препаратами по результатам клоногенного теста 108 patients who received therapy with the most active drugs according to the clonogenic assay	108 пациенток с рецидивом рака яичников после предшествующей терапии 108 female patients with recurrent ovarian cancer after previous therapy	—	Статистически значимая разница в количестве объективных ответов между 1-й и 2-й группами: 28 и 11 % ($p = 0,03$). Отсутствие статистически значимой разницы в показателях общей выживаемости между 1-й и 2-й группами: 6,25 и 7,25 мес соответственно Statistically significant difference in the number of objective responses between the 1 st and 2 nd groups: 28 and 11 % ($p = 0,03$). Absence of statistically significant difference in overall survival between the 1 st and 2 nd groups: 6.25 and 7.25 months respectively
		18 пациенток, получивших терапию наиболее активными препаратами по результатам клоногенного теста 18 patients who received therapy with the most active drugs according to the clonogenic assay	Проспективное нерандомизированное. 108 пациенток с рецидивом рака яичников после предшествующей терапии Prospective non-randomized. 108 female patients with recurrent ovarian cancer after previous therapy	90 пациенток, у которых не удалось определить чувствительность или которые были резистентны ко всем препаратам по результатам клоногенного теста, получили лечение на усмотрение лечащего врача 90 patients with undetermined sensitivity or who were resistant to all drugs according to the clonogenic assay, received treatment at the discretion of the attending physician	
Тесты, оценивающие чувствительность к препаратам в тесте Tests evaluating sensitivity to drugs in the test	НТСА, М. Federico и соавт. [27] НТСА, М. Federico et al. [27]	93 пациентки с вновь установленным раком яичников стадий II–IV 93 female patients with repeat diagnosis of stage II–IV ovarian cancer	Ретроспективное, наблюдательное. Ретроспективное наблюдательное. 93 female patients with repeat diagnosis of stage II–IV ovarian cancer	—	Статистически значимой разницы в показателях общей выживаемости между группами не наблюдалось: 41 мес (95 % ДИ 15–62 мес) для 1-й группы и 30 мес (95 % ДИ 22–38 мес) для 2-й ($p = 0,38$). No statistically significant difference in overall survival between the two groups: 41 months (95 % CI 15–62 months) for the 1 st group and 30 months (95 % CI 22–38 months) for the 2 nd group ($p = 0,38$)
		20 пациенток, получивших препараты, к которым была выявлена чувствительность в тесте 20 patients receiving drugs with determined sensitivity in the test	73 пациентки, получившие препараты, к которым была выявлена резистентность в тесте 73 patients receiving drugs with undetermined sensitivity in the test	—	

Продолжение табл. 3
Continuation of table 3

Принцип метода Method principle	Название метода, авторы исследования Method name, study authors	Характеристики исследования. Популяция пациентов. Сравниваемые группы Study characteristics. Patient populations. Compared groups			Основные результаты Main results
		1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	3-я группа 3 rd group	
Тесты, оценивающие пролиферативную активность опухолевых клеток Tests evaluating proliferative activity of cells	EDRA, R. W. Holloway и соавт. [28] EDRA, R. W. Holloway et al. [28]	79 пациенток с вновь выявленным раком яичников стадий ПС-IV 79 female patients with repeat diagnosis of stage PS-IV ovarian cancer	Ретроспективное, наблюдательное. Retrospective observational.	—	Медианы времени до прогрессирования и медианы общей выживаемости статистически значимо различаются для групп. Медиана времени до прогрессирования для 1-й группы – 6 мес, для 2-й – 24 мес (ОР 2,64; 95 % ДИ 1,43-4,89; $p = 0,0011$); медиана общей выживаемости – 24 мес для 1-й группы, не достигнута на сроке наблюдения 32 мес Median time to progression and median overall survival were significantly different between the groups. Median time to progression for the 1 st group was 6 months, for the 2 nd group – 24 months (OR 2.64; 95 % CI 1.43–4.89; $p = 0.0011$); median overall survival was 24 months in the 1 st group and wasn't reached in the 2 nd group at 32 months
	EDRA, W.D. Joo и соавт. [29] EDRA, W.D. Joo et al. [29]	78 пациенток с диагнозом рака яичников, фаллопиевых труб или первичного рака брюшины 78 female patients with a diagnosis of ovarian, fallopian tube or primary peritoneal cancer	Ретроспективное. Retrospective.	—	Отсутствие различий в объективном ответе на терапию между группами. Объективный ответ в 1-й группе – 87,5 %, во 2-й – 71,8 % ($p = 0,107$) Absence of differences in objective response to therapy between the groups. Objective response in the 1 st group was 87.5 %, in the 2 nd group – 71.8 % ($p = 0.107$)
		39 пациенток, которым был проведен EDRA-тест. По результатам теста выявлена резистентность, замещены. 39 patients who underwent the EDRA test. Per the test results, drugs which showed resistance were substituted	39 пациенток, которым не проводился EDRA-тест, получили стандартную химиотерапию 39 patients who didn't undergo the EDRA test and received standard chemotherapy	—	

Продолжение табл. 3
Continuation of table 3

Принцип метода Method principle	Название метода, авторы исследования Method name, study authors	Характеристики исследования. Популяция пациентов. Сравнимые группы Study characteristics. Patient populations. Compared groups			Основные результаты Main results
		1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	3-я группа 3 rd group	
Тесты, оценивающие пролиферативную активность опухолевых клеток Tests evaluating proliferative activity of cells	EDRA, V. Loizzi и соавт. [30] EDRA, V. Loizzi et al. [30]	72 пациентки с платиночувствительным рецидивным раком яичников (рецидив >6 мес после окончания терапии) Retrospective. 72 female patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer (recurrence > 6 months after therapy completion)	Ретроспективное.	—	Статистически значимая разница в объективном ответе: 65 % в 1-й группе и 35 % — во 2-й ($p = 0,02$). Статистически значимая разница в показателях выживаемости без прогрессирования: 15 мес — для 1-й группы и 7 мес — для 2-й ($p = 0,0002$). Статистически значимая разница в показателях общей выживаемости: 38 мес для 1-й группы и 21 мес для 2-й ($p = 0,005$) Statistically significant difference in objective response: 65 % in the 1 st group and 35 % in the 2 nd group ($p = 0,02$). Statistically significant difference in progression-free survival: 15 months in the 1 st group and 7 months in the 2 nd group ($p = 0,0002$). Statistically significant difference in overall survival: 38 months in the 1 st group and 21 months in the 2 nd group ($p = 0,005$)
		36 пациенток, получивших терапию препаратами, к которым наблюдалась низкая резистентность в EDRA-тесте 36 patients who received therapy with drugs that showed low resistance in the EDRA test	36 пациенток, которым не проводился EDRA-тест, получили терапию на усмотрение лечащего врача 36 patients who didn't receive the EDRA test, received therapy at the discretion of the attending physician	—	
	EDRA, V. Loizzi et al. [30]	38 пациенток с платинорезистентным рецидивным раком яичников (рецидив <6 мес после окончания терапии) Retrospective. 38 female patients with platinum-resistant recurrent ovarian cancer (recurrence <6 months after therapy completion)	Ретроспективное.	—	Отсутствие различий в ответе на терапию, выживаемости без прогрессирования, общей выживаемости. Объективный ответ для 1-й группы — 21 %, для 2-й — 16 % ($p = 0,68$). Выживаемость без прогрессирования для 1-й группы — 5 мес, для 2-й — 6 мес ($p = 0,9$). Общая выживаемость для 1-й группы — 13 мес, для 2-й — 12 мес ($p = 0,88$) No differences in therapy response, progression-free survival, overall survival. Objective response for the 1 st group was 21 %, for the 2 nd group — 16 % ($p = 0,68$). Progression-free survival for the 1 st group was 5 months, for the 2 nd group — 6 months ($p = 0,9$). Overall survival for the 1 st group was 13 months, for the 2 nd group — 12 months ($p = 0,88$)
		19 пациенток, получивших терапию препаратами, к которым наблюдалась низкая резистентность в EDRA-тесте 19 patients who received therapy with drugs that showed low resistance in the EDRA test	19 пациенток, которым не проводился EDRA-тест, получили терапию на усмотрение лечащего врача 19 patients who didn't receive the EDRA test, received therapy at the discretion of the attending physician	—	

Продолжение табл. 3
Continuation of table 3

Принцип метода Method principle	Название метода, авторы исследования Method name, study authors	Характеристики исследования. Популяция пациентов. Сравнимые группы Study characteristics. Patient populations. Compared groups			Основные результаты Main results
		1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	3-я группа 3 rd group	
Тесты, оценивающие пролиферативную активность опухолевых клеток Tests evaluating proliferative activity of cells	EDRA, A.D. Tiersten и соавт. [31] EDRA, A.D. Tiersten et al. [31]	22 пациентки с диагнозом рака яичников, фаллопиевых труб или первичного рака брюшины стадий III–IV Retrospective. 22 female patients with a diagnosis of stage III–IV ovarian, fallopian tube or primary peritoneal cancer	22 пациентки с диагнозом рака яичников, фаллопиевых труб или первичного рака брюшины стадий III–IV Retrospective.	—	Отсутствие различий в показателях выживаемости без прогрессирования между группами No differences in progression-free survival between the groups
		7 пациенток, у которых по данным EDRA-теста не было определено резистентности к карбоплатину 7 patients without resistance to carboplatin per the EDRA test	15 пациенток, у которых по данным EDRA-теста была определена резистентность к карбоплатину 15 patients with resistance to carboplatin per the EDRA test	—	
	EDRA, A.D. Tiersten и соавт. [31] EDRA, A.D. Tiersten et al. [31]	19 пациенток с диагнозом рака яичников, фаллопиевых труб или первичного рака брюшины стадий III–IV Retrospective. 19 female patients with a diagnosis of stage III–IV ovarian, fallopian tube or primary peritoneal cancer	19 пациенток с диагнозом рака яичников, фаллопиевых труб или первичного рака брюшины стадий III–IV Retrospective.	—	Отсутствие различий в показателях выживаемости без прогрессирования между группами No differences in progression-free survival between the groups
		9 пациенток, у которых по данным EDRA-теста не было определено резистентности к паклитакселу 9 patients without resistance to paclitaxel per the EDRA test	10 пациенток, у которых по данным EDRA-теста была определена резистентность к паклитакселу 10 patients with resistance to paclitaxel per the EDRA test	—	

Продолжение табл. 3
Continuation of table 3

Принцип метода Method principle	Название метода, авторы исследования Method name, study authors	Характеристики исследования. Популяция пациентов. Сравнимые группы Study characteristics. Patient populations. Compared groups			Основные результаты Main results
		1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	3-я группа 3 rd group	
Тесты, оценивающие жизнеспособность клеток по их метаболической активности Tests evaluating cell viability per their metabolic activity	МТТ, Х. Ху и соавт. [32] МТТ, Х. Ху et al. [32]	72 пациентки с диагнозом рака яичников стадий I–IV (FIGO), которым была проведена неoadъювантная химиотерапия препаратами карбоплатин и паклитаксел Retrospective. 72 female patients with a diagnosis of stage I–IV (FIGO) ovarian cancer who received neoadjuvant therapy with carboplatin and paclitaxel	23 пациентки с опухолями, чувствительными к карбоплатину и паклитакселу 23 patients with tumors sensitive to carboplatin and paclitaxel	20 пациенток с опухолями, резистентными к карбоплатину и паклитакселу 20 patients with tumors resistant to carboplatin and paclitaxel	Статистически значимая разница в объективном ответе между 1-й и 3-й группами. В 1-й группе объективный ответ (полный или частичный) наблюдался у 20 пациенток, во 2-й – у 18, в 3-й – у 9 Statistically significant difference in objective response between the 1 st and 3 rd groups. In the 1 st group objective response (either complete or partial response) was observed in 20 patients, in the 2 nd group in 18 patients, in the 3 rd group in 9 patients
		43 пациентки с диагнозом рака яичников стадий I–IV (FIGO), которым была проведена адъювантная химиотерапия препаратами карбоплатин и паклитаксел Retrospective. 43 female patients with a diagnosis of stage I–IV (FIGO) ovarian cancer who received adjuvant therapy with carboplatin and paclitaxel	11 пациенток с опухолями, чувствительными к карбоплатину и паклитакселу 11 patients with tumors sensitive to carboplatin and paclitaxel	16 пациенток с опухолями, резистентными к карбоплатину и паклитакселу 16 patients with tumors resistant to carboplatin and paclitaxel	Статистически значимая разница в объективном ответе между 1-й и 3-й группами. В 1-й группе объективный ответ (полный или частичный) наблюдался у 12 пациенток, во 2-й – у 8, в 3-й – у 5 Statistically significant difference in objective response between the 1 st and 3 rd groups. In the 1 st group objective response (either complete or partial response) was observed in 12 patients, in the 2 nd group in 8 patients, in the 3 rd group in 5 patients
		16 пациенток с опухолями, чувствительными к карбоплатину и паклитакселу 16 patients with tumors sensitive to carboplatin and paclitaxel	11 пациенток с опухолями, чувствительными к карбоплатину и паклитакселу 11 patients with tumors sensitive to carboplatin and paclitaxel	16 пациенток с опухолями, резистентными к карбоплатину и паклитакселу 16 patients with tumors resistant to carboplatin and paclitaxel	

Продолжение табл. 3
Continuation of table 3

Принцип метода Method principle	Название метода, авторы исследования Method name, study authors	Характеристики исследования. Популяция пациентов. Сравниваемые группы Study characteristics. Patient populations. Compared groups			Основные результаты Main results
		1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	3-я группа 3 rd group	
Тесты, оценивающие жизнеспособность клеток по их метаболической активности Tests evaluating cell viability per their metabolic activity	HDRA, S. Nakada и соавт. [33] HDRA, S. Nakada et al. [33]	10 пациенток с опухолями, чувствительными к цисплатину по данным HDRA-теста 10 patients with tumors sensitive to cisplatin per the HDRA-test	19 пациенток с опухолями, резистентными к цисплатину по данным HDRA-теста 19 patients with tumors resistant to cisplatin per the HDRA-test	—	<p>В 1-й группе объективный ответ (полный или частичный) наблюдался у 9 пациенток. Во 2-й группе у 15 пациенток не наблюдалось объективного ответа (стабилизация + прогрессирование).</p> <p>Статистически значима разница в показателях 5-летней выживаемости между 1-й и 2-й группами: 50 и 11 % соответственно ($p < 0,05$)</p> <p>In the 1st group objective response (complete or partial response) was observed in 9 patients. In the 2nd group, no objective response (stabilization + progression) was observed in 15 patients.</p> <p>Statistically significant difference in 5-year survival between the 1st and 2nd groups: 50 and 11 % respectively ($p < 0.05$)</p>
	HDRA, P.S. Jung и соавт. [34] HDRA, P.S. Jung et al. [34]	73 пациентки с диагнозом рака яичников стадий III–IV (FIGO), которым была выполнена первичная циторедуктивная операция и проведена химиотерапия препаратами карбоплатин и паклитаксел Retrospective. 73 female patients with a diagnosis of stage III–IV (FIGO) ovarian cancer who underwent primary cytoreductive surgery and chemotherapy with carboplatin and paclitaxel	73 пациентки с диагнозом рака яичников стадий III–IV (FIGO), которым была выполнена первичная циторедуктивная операция и проведена химиотерапия препаратами карбоплатин и паклитаксел Retrospective. 73 female patients with a diagnosis of stage III–IV (FIGO) ovarian cancer who underwent primary cytoreductive surgery and chemotherapy with carboplatin and paclitaxel	49 пациенток с опухолями, резистентными либо к карбоплатину, либо к паклитакселу 49 patients with tumor resistant to either carboplatin or paclitaxel	—

Продолжение табл. 3
Continuation of table 3

Принцип метода Method principle	Название метода, авторы исследования Method name, study authors	Характеристики исследования. Популяция пациентов. Сравнимые группы Study characteristics. Patient populations. Compared groups			Основные результаты Main results
		1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	3-я группа 3 rd group	
		Пр проспективное рандомизированное. Проспективное рандомизированное. 147 пациенток с платинорезистентным рецидивом рака яичников Prospective randomized. 147 female patients with platinum-resistant ovarian cancer recurrence			
Тесты, оценивающие жизнеспособность клеток по их метаболической активности Tests evaluating cell viability per their metabolic activity	АТР-ТСА, I.A. Cree и соавт. [35] АТР-ТСА, I.A. Cree et al. [35]	74 пациентки, получившие терапию препаратами в соответствии с результатами АТР-ТСА-теста 74 patients who received therapy with drugs in accordance with the АТР-ТСА-test	73 пациентки, получившие терапию препаратами на выбор лечащего врача 73 patients who received therapy at the discretion of the attending physician	—	Отсутствие различий в количестве объективных ответов между 1-й и 2-й группами: 40,5 и 31,5 % соответственно ($p < 0,3$). Отсутствие различий в медиане времени до прогрессирования между 1-й и 2-й группами: 104 и 93 дня соответственно ($p < 0,14$). Отсутствие статистически значимой разницы в показателях общей выживаемости. Авторы отметили необычайно высокое количество объективных ответов во 2-й группе и объяснили это «эффектом обучения» No difference in the number of objective responses between the 1 st and 2 nd groups: 40.5 and 31.5 % respectively ($p < 0.3$). No difference in median time to progression between the 1 st and 2 nd groups: 104 and 93 days respectively ($p < 0.14$). No statistically significant difference in overall survival. The authors noted an unusually high number of objective responses in the 2 nd group and interpreted it as “training effect”
Тесты, оценивающие степень индукции гибели опухолевых клеток Tests evaluating the level of induction of tumor cell death	МиСК, E. Salom и соавт. [24] МиСК, E. Salom et al. [24]	98 пациенток с диагнозом первичного или рецидивного рака яичников любой стадии 98 female patients with a diagnosis of primary or recurrent ovarian cancer at any stage	38 пациенток, получивших терапию препаратами, к которым была выявлена резистентность 38 patients who received therapy with drugs for which resistance was observed	—	Статистически значимая разница в количестве рецидивов между 1-й и 2-й группами: 53,3 и 76,3 % соответственно ($p = 0,02$). Статистически значимая разница в медиане общей выживаемости между 1-й и 2-й группами: >45 и 25 мес соответственно ($p = 0,003$) Statistically significant difference in the number of recurrences between the 1 st and 2 nd groups: 53.3 and 76.3 % respectively ($p = 0.02$). Statistically significant difference in median overall survival between the 1 st and 2 nd groups: >45 and 25 months respectively ($p = 0.003$)

Окончание табл. 3
End of table 3

Принцип метода Method principle	Название метода, авторы исследования Method name, study authors	Характеристики исследования. Популяция пациентов. Сравнимые группы Study characteristics. Patient populations. Compared groups			Основные результаты Main results
		1-я группа 1 st group	2-я группа 2 nd group	3-я группа 3 rd group	
Тесты, оценивающие степень индукции гибели опухолевых клеток Tests evaluating the level of induction of tumor cell death	Chemo FX, T.J. Herzog и соавт. [36] Chemo FX, T.J. Herzog et al. [36]	192 пациентки с вновь выявленным раком яичников стадий III–IV (FIGO) ovarian cancer retrospective.	Ретроспективное.	39 пациенток с опухолями, резистентными к карбоплатину или цисплатину 39 patients with tumors resistant to carboplatin or cisplatin	Общая выживаемость в 1, 2 и 3-й группах составила 72,5; 48,6 и 28,2 мес соответственно. Статистически значимая разница в показателях общей выживаемости наблюдалась между 1, 2 и 3-й группами ($p = 0,0386$) Overall survival in the 1 st , 2 nd and 3 rd groups was 72.5, 48.6 and 28.2 months respectively. Statistically significant difference in overall survival was observed between the 1 st , 2 nd and 3 rd groups ($p = 0.0386$)
		20 пациенток с опухолями, чувствительными к карбоплатину или цисплатину 20 patients with tumors sensitive to carboplatin or cisplatin	133 пациентки с опухолями с промежуточной чувствительностью к карбоплатину или цисплатину 133 patients with tumors with intermediate sensitivity to carboplatin or cisplatin	39 пациенток с опухолями, резистентными к карбоплатину или цисплатину 39 patients with tumors resistant to carboplatin or cisplatin	
Тесты, оценивающие степень индукции гибели опухолевых клеток Tests evaluating the level of induction of tumor cell death	Chemo FX, T. Rutherford и соавт. [37] Chemo FX, T. Rutherford et al. [37]	262 пациентки с вновь выявленным раком яичников стадий III–IV (FIGO) ovarian cancer prospective.	Проспективное.	187 пациенток, получивших терапию препаратами, к которым была выявлена промежуточная чувствительность и резистентность 187 patients who received therapy with drugs that showed intermediate sensitivity and resistance	Статистически значимая разница в медиане времени до прогрессирования между 1-й и 2-й группами: 8,8 и 5,9 мес соответственно (ОР 0,67; 95 % ДИ 0,50–0,91; $p = 0,009$). Статистически значимая разница в медиане общей выживаемости между 1-й и 2-й группами: 37,5 и 23,9 мес соответственно (ОР 0,61; 95 % ДИ 0,41–0,89, $p = 0,01$) Statistically significant difference in median time to progression between the 1 st and 2 nd groups: 8.8 and 5.9 months respectively (OR 0.67; 95 % CI 0.50–0.91; $p = 0.009$). Statistically significant difference in median overall survival between the 1 st and 2 nd groups: 37.5 and 23.9 months respectively (OR 0.61; 95 % CI 0.41–0.89, $p = 0.01$)
		262 пациентки с рецидивными раком яичников, фаллопиевых труб и первичного рака брюшины 262 female patients with platinum-resistant and platinum-resistant recurrences of ovarian, fallopian tube and primary peritoneal cancers	187 пациенток, получивших терапию препаратами, к которым была выявлена промежуточная чувствительность и резистентность 187 patients who received therapy with drugs that showed intermediate sensitivity and resistance	187 пациенток, получивших терапию препаратами, к которым была выявлена промежуточная чувствительность и резистентность 187 patients who received therapy with drugs that showed intermediate sensitivity and resistance	

Примечание. HTSA – тест на колониеобразование; ДИ – доверительный интервал; EDRA – тест на экстремальную резистентность к химиотерапевтическому препарату; ОР – отношение рисков; HDRA – МТТ-тест в модификации с использованием гистокультур; МСК – оценка кинетики оптических характеристик микрокультуры.
Note. HTSA – Human Tumor Cloning Assay; CI – confidence interval; EDRA – Extreme Drug Resistance Assay; OR – odds ratio; HDRA – Histoculture Drug Response Assay; MCK – MicroCulture Kinetic assay.

Кроме этого, большинство исследований включало небольшое число пациенток, что не обеспечило выявление статистически значимых различий между группами. Однако эти данные свидетельствуют об активном внедрении крупными научными центрами мира CSR-тестов для прогнозирования химиорезистентности. Эксперты ASCO (American Society of Clinical Oncology) отмечают потенциальную важность развития методов оценки чувствительности опухолевых клеток *in vitro* и необходимость проведения дальнейших клинических исследований в этой области.

Заключение

В последние годы задачей химиотерапевтов стало не только продление жизни онкологического пациента, но и обеспечение ему нормального качества жизни. Это делает необходимым пересмотр стратегии химиотерапевтического лечения пациентов с РЯ, так как в настоящее время потенциальную резистентность опухолевых клеток к назначаемому препарату не анализируют. Выбор курса химиотерапии основан на оценке результатов предыдущего курса, и все

пациенты в конечном итоге получают курс токсического и неэффективного лечения платиносодержащими препаратами, а затем, возможно, и другими химиотерапевтическими препаратами. Одним из выходов из данной ситуации является развитие методов экспериментального определения химиорезистентности клеток РЯ *in vitro*. Современные методики выявления химиорезистентности опухолевых клеток проводят на основании оценки жизнеспособности опухолевых клеток в присутствии препарата. Обоснованием для совершенствования такого тестирования *in vitro* служат результаты исследований ключевых механизмов развития химиорезистентности опухолевых клеток. Перспективы развития этого метода связывают с использованием технологий консолидации информации по клиническим особенностям течения заболевания, данным инструментального обследования, молекулярно-генетического анализа и экспериментального тестирования жизнеспособности опухолевых клеток в присутствии химиотерапевтического препарата с выявлением индуцированных химиотерапевтическим препаратом молекулярных изменений.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 236 с. [State of oncological care in Russia in 2018. Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMIRTS radiologii” Minzdrava Rossii, 2019. 236 p. (In Russ.)].
2. Туляндин С.А., Коломиец Л.А., Морхов К.Ю. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака яичников, первичного рака брюшины и рака маточных труб. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO, 2018;8:145–55. [Tyulyandin S.A., Kolomiets L.A., Morkhov K.Yu. et al. Practical guidelines on drug treatment of ovarian cancer, primary peritoneal cancer and fallopian tube cancer. Malignant tumors: RUSSCO practical guidelines, 2018;8:145–55. (In Russ.)].
3. Markman M., Rothman R., Hakes T. et al. Second-line platinum therapy in patients with ovarian cancer previously treated with cisplatin. *J Clin Oncol* 1991;9(3):389–93. DOI: 10.1200/JCO.1991.9.3.389.
4. Van Zyl B., Tang D., Bowden N.A. Biomarkers of platinum resistance in ovarian cancer: what can we use to improve treatment. *Endocr Relat Cancer* 2018;25(5):303–18. DOI: 10.1530/ERC-17-0336.
5. Belitsky G.A., Kirsanov K.I., Lesovaya E.A., Yakubovskaya M.G. Prevention of therapy-related malignancies in cancer survivors. *Oncotarget* 2019;10(22):2114–5. DOI: 10.18632/oncotarget.26781.
6. Белицкий Г.А., Кирсанов К.И., Лесовая Е.А., Якубовская М.Г. Лекарственный канцерогенез: факторы риска и возможности предотвращения. *Успехи биологической химии* 2020;60:173–226. [Belitskiy G.A., Kirsanov K.I., Lesovaya E.A., Yakubovskaya M.G. Drug carcinogenesis: risk factors and prevention opportunities. *Uspekhi biologicheskoy khimii* = *Advances in Biological Chemistry* 2020;60:173–226. (In Russ.)].
7. Vasan N., Baselga J., Hyman D.M. A view on drug resistance in cancer. *Nature* 2019 575(7782):299–309. DOI: 10.1038/s41586-019-1730-1.
8. Cree I.A., Charlton P. Molecular chess? Hallmarks of anti-cancer drug resistance. *BMC Cancer* 2017;17(1):10. DOI: 10.1186/s12885-016-2999-1.
9. Nygren P. What is cancer chemotherapy? *Acta Oncol* 2001;40(2–3):166–74. DOI: 10.1080/02841860151116204.
10. Hanahan D., Coussens L.M. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2012;21(3):309–22. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.022.
11. Alkema N.G., Wisman G.B., van der Zee A.G. et al. Studying platinum sensitivity and resistance in high-grade serous ovarian cancer: Different models for different questions. *Drug Resist Updat* 2016;24:55–69. DOI: 10.1016/j.drup.2015.11.005.
12. Schwarz R.F., Ng C.K., Cooke S.L. et al. Spatial and temporal heterogeneity in high-grade serous ovarian cancer: a phylogenetic analysis. *PLoS Med* 2015;12(2):e1001789. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001789.
13. Cornelison R., Llana D.C., Landen C.N. Emerging therapeutics to overcome chemoresistance in epithelial ovarian cancer: a mini-review. *Int J Mol Sci* 2017;18(10). DOI: 10.3390/ijms18102171.
14. Scherbakov A.M., Sorokin D.V., Tatarskiy V.V. Jr et al. The phenomenon of acquired resistance to metformin in breast cancer cells: the interaction of growth pathways and estrogen receptor signaling. *IUBMB Life* 2016;68(4):281–92. DOI: 10.1002/iub.1481.
15. Тихомирова А.В. Критерии оценки клинической эффективности противоопухолевых лекарственных препаратов.

- Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2019;9(1):34–40. DOI: 10.30895/1991-2919-2019-9-1-34-40. [Tikhomirova A.V. Criteria for evaluation of clinical efficacy of anticancer medicines. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo premineniya* = The Bulletin of the Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products 2019;9(1):34–40. (In Russ.)].
16. Grendys E.C. Jr, Fioria J.V., Orr J.W. Jr et al. Overview of a chemoresponse assay in ovarian cancer. *Clin Transl Oncol* 2014;16(9):761–9. DOI: 10.1007/s12094-014-1192-8.
 17. Blom K., Nygren P., Larsson R., Andersson C.R. Predictive value of *ex vivo* chemosensitivity assays for individualized cancer chemotherapy: a meta-analysis. *SLAS Technol* 2017;22(3):306–14. DOI: 10.1177/2472630316686297.
 18. Hamburger A., Salmon S.E. Primary bioassay of human myeloma stem cells. *J Clin Invest* 1977;60(4):846–54. DOI: 10.1172/JCI108839.
 19. Kern D.H., Drogemuller C.R., Kennedy M.C. et al. Development of a miniaturized, improved nucleic acid precursor incorporation assay for chemosensitivity testing of human solid tumors. *Cancer Res* 1985;45(11–1): 5436–41.
 20. Wilson J.K., Sargent J.M., Elgie A.W. et al. A feasibility study of the MTT assay for chemosensitivity testing in ovarian malignancy. *Br J Cancer* 1990;62(2):189–94. DOI: 10.1038/bjc.1990.258.
 21. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65(1–2):55–63. DOI:10.1016/0022-1759(83)90303-4.
 22. Sargent J.M. The use of the MTT assay to study drug resistance in fresh tumour samples. *Recent Results Cancer Res* 2003;161:13–25. DOI: 10.1007/978-3-642-19022-3_2.
 23. Andreotti P.E., Cree I.A., Kurbacher C.M. et al. Chemosensitivity testing of human tumors using a microplate adenosine triphosphate luminescence assay: clinical correlation for cisplatin resistance of ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1995; 55(22):5276–82.
 24. Salom E., Penalver M., Homesley H. et al. Correlation of pretreatment drug induced apoptosis in ovarian cancer cells with patient survival and clinical response. *J Transl Med* 2012;10:162. DOI: 10.1186/1479-5876-10-162.
 25. Brower S.L., Fensterer J.E., Bush J.E. The ChemoFxa assay: an *ex vivo* chemosensitivity and resistance assay for predicting patient response to cancer chemotherapy. *Methods Mol Biol* 2008;414:57–78. DOI: 10.1007/978-1-59745-339-4_6.
 26. Von Hoff D.D., Kronmal R., Salmon S.E. et al. A Southwest Oncology Group study on the use of a human tumor cloning assay for predicting response in patients with ovarian cancer. *Cancer* 1991;67(1):20–7. DOI: 10.1002/1097-0142(19910101)67:1<20::aid-cnrcr2820670105>3.0.co;2-u.
 27. Federico M., Alberts D.S., Garcia D.J. et al. *In vitro* drug testing of ovarian cancer using the human tumor colony-forming assay: comparison of *in vitro* response and clinical outcome. *Gynecol Oncol* 1994;55(3–2):S156–63. DOI: 10.1006/gyno.1994.1356.
 28. Holloway R.W., Mehta R.S., Finkler N.J. et al. Association between *in vitro* platinum resistance in the EDR assay and clinical outcomes for ovarian cancer patients. *J Gynecol Oncol* 2002;87(1):8–16. DOI: 10.1006/gyno.2002.6797.
 29. Joo W.D., Lee J.Y., Kim J.H. et al. Efficacy of taxane and platinum-based chemotherapy guided by extreme drug resistance assay in patients with epithelial ovarian cancer. *J Gynecol Oncol* 2009;20(2):96–100. DOI: 10.3802/jgo.2009.20.2.96.
 30. Loizzi V., Chan J.K., Osann K. et al. Survival outcomes in patients with recurrent ovarian cancer who were treated with chemoresistance assay-guided chemotherapy. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(5):1301–7. DOI: 10.1067/s0002-9378(03)00629-x.
 31. Tiersten A.D., Moon J., Smith H.O. et al. Chemotherapy resistance as a predictor of progression-free survival in ovarian cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy and surgical cytoreduction followed by intraperitoneal chemotherapy: a Southwest Oncology Group Study. *Oncology* 2009;77(6):395–9. DOI: 10.1159/000279386.
 32. Xu X., Dai H., Zhao Y. et al. *In vitro* chemosensitivity assay of ascites in epithelial ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2013;34(6):559–64.
 33. Nakada S., Aoki D., Ohie S. et al. Chemosensitivity testing of ovarian cancer using the histoculture drug response assay: sensitivity to cisplatin and clinical response. *Int J Gynecol Cancer* 2005;15(3):445–52. DOI: 10.1111/j.1525-1438.2005.15307.x.
 34. Jung P.S., Kim D.Y., Kim M.B. et al. Progression-free survival is accurately predicted in patients treated with chemotherapy for epithelial ovarian cancer by the histoculture drug response assay in a prospective correlative clinical trial at a single institution. *Anticancer Res* 2013;33(3):1029–34.
 35. Cree I.A., Kurbacher C.M., Lamont A. et al. A prospective randomized controlled trial of tumour chemosensitivity assay directed chemotherapy versus physician's choice in patients with recurrent platinum-resistant ovarian cancer. *Anticancer Drugs* 2007;18(9):1093–101. DOI: 10.1097/CAD.0b013e3281de727e.
 36. Herzog T.J., Krivak T.C., Fader A.N., Coleman R.L. Chemosensitivity testing with ChemoFX and overall survival in primary ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2010;203(1):68.e1–6. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.01.059.
 37. Rutherford T., Orr J. Jr, Grendys E. Jr et al. A prospective study evaluating the clinical relevance of a chemoresponse assay for treatment of patients with persistent or recurrent ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2013;131(2):362–7. DOI: 10.1016/j.ygyno.2013.08.009.

Вклад авторов

К.А. Кузин: проведение системного анализа и обобщение данных, подготовка текста обзора;
 Т.И. Фетисов: подготовка таблицы «Результаты анализа влияния использования CSR-тестов в клинических исследованиях»;
 Р.И. Князев: подготовка раздела «Экспериментальное тестирование резистентности и чувствительности опухолевых клеток *in vitro*»;
 Л.Я. Фомина, Л.В. Мехеда: подготовка раздела «CSR-тесты в клинических исследованиях химиорезистентности рака яичников»;
 Е.А. Лесовая: подготовка раздела «Детерминанты развития резистентности опухоли к химиотерапии»;
 Г.А. Белицкий: проведение системного анализа и обобщение данных;
 М.Г. Якубовская, К.И. Кирсанов: определение структуры обзора, проведение системного анализа и обобщение данных.

Authors' contributions

K.A. Kuzin: systemic analysis and data consolidation, manuscript preparation;
 T.I. Fetisov: preparation of the table “The results of analysis of using CSR-assays in clinical trials”;
 R.I. Knyazev: preparation of the section “Experimental testing of tumor cells resistance and sensitivity *in vitro*”;

L.Ya. Fomina, L.V. Meheda: preparation of the section “CSR-assays in ovarian cancer chemoresistance clinical trials”;
E.A. Lesovaya: preparation of the section “Determinants of chemotherapy resistance development in cancer”;
G.A. Belitsky: systemic analysis and data consolidation;
M.G. Yakubovskaya, K.I. Kirsanov: determination of review structure, systemic analysis and data consolidation.

ORCID авторов/ORCID of authors

К.А. Кузин/К.А. Kuzin: <https://orcid.org/0000-0001-8474-8195>
Т.И. Фетисов/Т.И. Fetisov: <https://orcid.org/0000-0002-5082-9883>
Р.И. Князев/Р.И. Knyazev: <https://orcid.org/0000-0002-6341-0897>
Е.А. Лесовая/Е.А. Lesovaya: <https://orcid.org/0000-0002-1967-9637>
М.Г. Якубовская/М.Г. Yakubovskaya: <https://orcid.org/0000-0002-9710-8178>
К.И. Кирсанов/К.И. Kirsanov: <https://orcid.org/0000-0002-8599-6833>

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

Финансирование. Данное исследование выполняется в рамках экспериментального государственного задания Минздрава России при координации ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России.
Financing. This research is conducted under the auspices of the experimental governmental assignment of the Ministry of Health of the Russia and coordinated by the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Ministry of Health of the Russia.