

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАНЦЕРОГЕНЕЗА ФГБУ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА»  
МИНЗДРАВА РОССИИ

ISSN: 2313-805X (PRINT)  
ISSN: 2413-3787 (ONLINE)

# УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ  
ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ  
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ  
ЖУРНАЛ

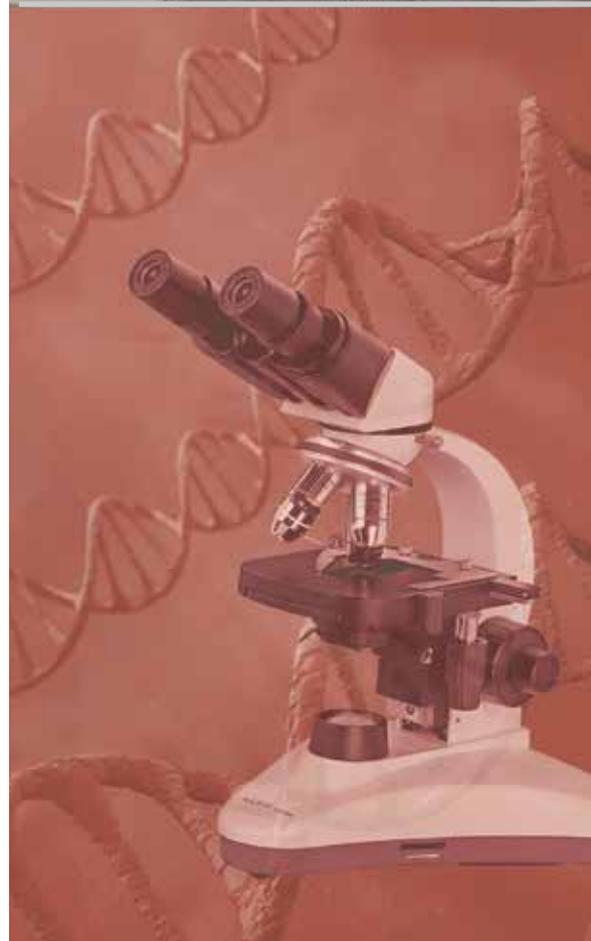


*Куркумин в лечении  
мультиформной  
глиобластомы*

*P-гликопротеин  
и резистентность  
к бортезомибу*

*Ингибин В  
при стромально-клеточных  
опухолях яичников*

ТОМ 7 № 1  
2020



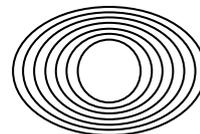
Журнал «Успехи молекулярной онкологии» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук.

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

Электронная версия журнала представлена в DOAJ.

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАНЦЕРОГЕНЕЗА ФГБУ «НМИЦ ОНКОЛОГИИ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА»  
МИНЗДРАВА РОССИИ

# УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ



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

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

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

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

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

**1** **ТОМ 7**  
**'20**

О С Н О В А Н   В   2 0 1 4   Г .

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

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

**Прием статей:**  
онлайн на сайте

<http://umo.abvpress.ru/jour>  
или по адресу [adv.mol.onc@ronc.ru](mailto:adv.mol.onc@ronc.ru)

*Выпускающий редактор* **Н.В. Жукова**  
*Корректор* **Т.Н. Помилуйко**  
*Дизайн* **Е.В. Степанова**  
*Верстка* **О.В. Гончарук**

*Служба подписки и распространения*  
**И.В. Шургаева, +7 (499) 929-96-19,**  
[base@abvpress.ru](mailto:base@abvpress.ru)

*Журнал зарегистрирован  
в Федеральной службе по надзору*

*в сфере связи, информационных  
технологий и массовых коммуникаций  
(ПИ № ФС77-57560 от 08.04.2014)*

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

ISSN: 2313-805X (Print)  
ISSN: 2413-3787 (Online)  
Успехи молекулярной онкологии.  
2020. Том 7. № 1. 1–48

© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2020

Подписной индекс в каталоге  
«Пресса России» – 93562

Отпечатано в типографии  
ООО «Медиакорол»

Тираж 1000 экз.

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

**Красильников Михаил Александрович**, д.б.н., профессор, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, директор Научно-исследовательского института канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующий отделом экспериментальной биологии опухолей (Москва, Россия)

## ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

## ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

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

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Берштейн Лев Михайлович**, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории онкоэндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

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

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

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

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

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

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

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

**Карпухин Александр Васильевич**, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» (Москва, Россия)

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

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

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

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

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

**Степанова Евгения Владиславовна**, д.м.н., директор Департамента комплексных программ и проектов Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Москва, Россия)

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

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

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

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

**Белицкий Геннадий Альтерович**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

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

**Давыдов Михаил Иванович**, д.м.н., профессор, академик РАН, член президиума РАН, заслуженный деятель науки РФ (Москва, Россия)

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

**Копнин Борис Павлович**, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории цитогенетики НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

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

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

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

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

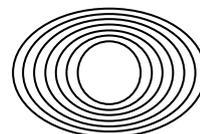
The journal "Advances in Molecular Oncology" is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of leading peer-reviewed scientific periodicals recommended to publish the basic research results of candidate's and doctor's theses.

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

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

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

# ADVANCES in MOLECULAR ONCOLOGY



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

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

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

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

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

FOUNDED IN 2014

1 Vol. 7  
'20

#### Founders:

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

#### Editorial Office:

Research Institute of Carcinogenesis,  
Floor 3, 24 Build. 15  
Kashirskoe Shosse, Moscow  
Tel./Fax: +7 (499) 929-96-19.  
e-mail: [abv@abvpress.ru](mailto:abv@abvpress.ru)  
[www.abvpress.ru](http://www.abvpress.ru)  
Article submission: on-line  
at <http://umo.abvpress.ru/jour>

or by e-mail  
to [adv.mol.onc@ronc.ru](mailto:adv.mol.onc@ronc.ru)

Managing editor N.V. Zhukova  
Proofreader T.N. Pomiluyko  
Designer E.V. Stepanova  
Maker-up O.V. Goncharuk

Subscription & Distribution Service  
I.V. Shurgaeva, +7 (499) 929-96-19,  
[base@abvpress.ru](mailto:base@abvpress.ru)

The journal was registered  
at the Federal Service for Surveillance  
of Communications, Information

Technologies, and Mass Media  
(III No. ФС77-57560 dated  
08 April 2014).

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

The editorial board is not responsible  
for advertising content.

The authors, point of view given  
in the articles may not coincide  
with the opinion of the editorial board.

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

Uspekhi molekulyarnoy  
onkologii. 2020. Vol. 7  
No. 1. 1—48

© PH "ABV-Press", 2020

Pressa Rossii catalogue  
index: 93562

Printed at the Mediacolor LLC

1,000 copies

**EDITOR-IN-CHIEF**

**Krasil'nikov Mikhail A.**, DSc, PhD, Professor, Deputy Director for Research Work of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Director of the Research Institute of Carcinogenesis, Head of Department of Experimental Biology of Tumors (Moscow, Russia)

**DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF**

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

**EXECUTIVE EDITOR**

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

**EDITORIAL BOARD**

**Berstein Lev M.**, MD, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Oncoendocrinology of the N.N. Petrov National Medical Research Oncology Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia)

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

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

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

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

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

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

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

**Karpukhin Aleksander V.**, DSc, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Molecular Genetics of Complex Inherited Diseases of the Medical Genetic Research Center (Moscow, Russia)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**EDITORIAL COUNCIL**

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

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

**Davydov Mikhail I.**, MD, PhD, Professor, Academician of RAS, Member of the Presidium of the RAS, Honored Scientist of the Russian Federation (Moscow, Russia)

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

**Kopnin Boris P.**, DSc, PhD, Professor, Head Researcher at the Cytogenetics Laboratory, Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

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

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

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

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

# Информация для авторов

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

## 1. Общие правила

Статья должна сопровождаться официальным направлением учреждения, в котором проведена данная работа, с подписью руководителя, заверенной печатью учреждения.

Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

## 2. Оформление данных о статье и авторах

Первая страница должна содержать:

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

Последняя страница должна содержать:

- Сведения об авторе, ответственном за связь с редакцией:
  - фамилия, имя, отчество полностью,
  - занимаемая должность,
  - ученая степень, ученое звание,
  - персональный международный идентификатор ORCID (подробнее: <http://orcid.org/>),
  - персональный идентификатор в РИНЦ (подробнее: [http://elibrary.ru/projects/science\\_index/author\\_tutorial.asp](http://elibrary.ru/projects/science_index/author_tutorial.asp)),
  - контактный телефон,
  - рабочий адрес с указанием индекса,
  - адрес электронной почты.
- Скан подписей всех авторов статьи.

## 3. Оформление текста

Статьи принимаются в форматах doc, docx, rtf.

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

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

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

**Описание клинических случаев** – не более 8 страниц.

**Обзор литературы** – не более 20 страниц.

**Краткие сообщения и письма в редакцию** – 3 страницы.

## 5. Резюме

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

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

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

## 6. Структура статей

Оригинальная статья должна содержать следующие разделы:

- введение,
- цель,
- материалы и методы,
- результаты,
- обсуждение,
- заключение (выводы),
- вклад всех авторов в работу,
- конфликт интересов для всех авторов (в случае его отсутствия необходимо указать: «Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов»),
- информированное согласие пациентов (для статей с авторскими исследованиями и описаниями клинических случаев),
- при наличии финансирования исследования – указать его источник (грант и т. д.),
- благодарности (раздел не является обязательным).

## 7. Иллюстративный материал

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

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

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

Все **рисунки** должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями. Фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита – «а», «б» и т. д. Все сокращения, обозначения в виде кривых, букв, цифр и т. д., использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подрисуночной подписи. Подписи к рисункам даются на русском и английском языках на отдельном листе после текста статьи в одном с ней файле. Все надписи на рисунках также должны быть переведены на английский язык.

**Таблицы** должны быть наглядными, иметь название и порядковый номер. Заголовки граф должны соответствовать их содержанию. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице. Вся информация, содержащаяся в таблице, включая ее название и примечание (если есть), должна быть переведена на английский язык.

## 8. Единицы измерения и сокращения

Единицы измерения даются в Международной системе единиц (СИ).

Сокращения слов не допускаются, кроме общепринятых. Все аббревиатуры в тексте статьи должны быть полностью расшифрованы при первом упоминании (например, полимерная цепная реакция (ПЦР)).

## 9. Список литературы

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

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

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

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

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

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

При ссылке на **статьи из журналов** после авторов указывают название статьи, название журнала, год, том, номер выпуска, страницы, DOI статьи (при наличии). При ссылке на **монографии** указывают также полное название книги, место издания, название издательства, год издания, число страниц. В ссылках на русскоязычные источники необходимо дополнительно указывать информацию для цитирования на латинице.

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

### Общие положения:

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

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

Полная версия требований представлена на сайте журнала.

**ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ**

*Т.И. Кушнир, Н.Е. Арноцкая, И.А. Кудрявцев, В.Е. Шевченко*

**Терапевтический потенциал куркумина для лечения мультиформной глиобластомы . . . . . 8**

*Л.Г. Соленова*

**Современные подходы к оценке влияния загрязнения окружающей среды на онкологический риск . . . . . 17**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**

*Л.А. Лалетина, Н.И. Моисеева, А.Ф. Карамышева*

**Значение предсуществующей лекарственной устойчивости, обусловленной гиперэкспрессией Р-гликопротеина, для формирования резистентности к бортезомибу . . . . . 23**

*Н.В. Любимова, А.М. Бейшембаев, Ю.С. Тимофеев, Н.Е. Кушлинский*

**Ингибин В при стромально-клеточных опухолях яичников . . . . . 32**

*Г.Г. Хакимова, Т.Н. Заботина, А.А. Трякин, А.А. Борунова, Т.В. Давыдова, А.Е. Калинин,  
Ю.В. Вахабова, Е.Н. Захарова, Д.В. Табаков*

**Анализ системного иммунитета и воспаления в прогнозе аденокарциномы желудка . . . . . 38**

---

## REVIEWS

*T.I. Kushnir, N.E. Arnotskaya, I.A. Kudryavtsev, V.E. Shevchenko*

**The therapeutic potential of curcumin for the treatment of glioblastoma multiforme ..... 8**

*L.G. Solenova*

**Current approaches to assessment of the impact of the environmental contamination on cancer risk ..... 17**

## EXPERIMENTAL REPORTS

*L.A. Laletina, N.I. Moiseeva, A.F. Karamysheva*

**The importance of preexisting drug resistance due to overexpression of P-glycoprotein for the formation of resistance to bortezomib ..... 23**

*N.V. Lyubimova, A.M. Beishembaev, Yu.S. Timofeev, N.E. Kushlinskii*

**Inhibin B in stromal-cell ovarian tumors ..... 32**

*G.G. Khakimova, T.N. Zabolina, A.A. Tryakin, A.A. Borunova, T.V. Davidova, A.E. Kalinin, Yu.V. Vakhobova, E.N. Zakharova, D.V. Tabakov*

**Analysis of systemic immunity and inflammation in the prognosis of gastric adenocarcinoma ..... 38**

# Терапевтический потенциал куркумина для лечения мультиформной глиобластомы

Т.И. Кушнир<sup>1,2</sup>, Н.Е. Арноцкая<sup>1</sup>, И.А. Кудрявцев<sup>1</sup>, В.Е. Шевченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, стр. 15;

<sup>2</sup>Институт биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 10, корп. 2

**Контакты:** Татьяна Ивановна Кушнир winard2@mail.ru

Мультиформная глиобластома (МГБ), астроцитомы IV степени, является наиболее распространенным и смертельно опасным типом первичной злокачественной опухоли головного мозга с медианой выживаемости 12–15 мес. Последние 15 лет терапия МГБ включает максимально безопасную хирургическую резекцию в комбинации с лучевой терапией и адъювантной химиотерапией темозоломидом. Низкая эффективность упомянутых методов лечения вынуждает исследователей искать подходящее альтернативное или дополнительное лечение МГБ. Было показано, что куркумин имеет терапевтический потенциал для борьбы с МГБ, воздействуя на пролиферацию клеток, апоптоз, клеточный цикл, инвазию и ангиогенные сигнальные пути. Кроме этого, куркумин обладает синергическим эффектом с химиотерапевтическими препаратами. Здесь мы суммировали текущие данные о куркумине как потенциальном терапевтическом агенте для лечения МГБ.

**Ключевые слова:** куркумин, мультиформная глиобластома, ангиогенез, апоптоз, инвазия

**Для цитирования:** Кушнир Т.И., Арноцкая Н.Е., Кудрявцев И.А., Шевченко В.Е. Терапевтический потенциал куркумина для лечения мультиформной глиобластомы. *Успехи молекулярной онкологии* 2020;7(1):8–16.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-1-8-16



## The therapeutic potential of curcumin for the treatment of glioblastoma multiforme

T.I. Kushnir<sup>1,2</sup>, N.E. Arnotskaya<sup>1</sup>, I.A. Kudryavtsev<sup>1</sup>, V.E. Shevchenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; Build. 15, 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

<sup>2</sup>Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, Peoples' Friendship University of Russia; Build. 2, 10 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

Glioblastoma multiforme (GBM), a grade IV astrocytoma, is the most common and deadly type of primary malignant brain tumor, with a patient's median survival rate ranging from 12 to 15 months. Over the last fifteen years, the treatment for GBM has included maximal safe surgical resection with combination radiotherapy and adjuvant temozolomide chemotherapy. The low efficacy of mentioned therapies has forced researchers to explore an appropriate alternative or complementary treatment for GBM. It has been shown that curcumin has therapeutic potentials to fight against GBM via affecting on cell proliferation, apoptosis, cell cycle, invasion and angiogenesis pathways. In addition, curcumin possess a synergistic impact with chemotherapeutic agents. Herein, we summarized the current findings on curcumin as potential therapeutic agent in the treatment of GBM.

**Key words:** curcumin, glioblastoma multiforme, angiogenesis, apoptosis, invasion

**For citation:** Kushnir T.I., Arnotskaya N.E., Kudryavtsev I.A., Shevchenko V.E. The therapeutic potential of curcumin for the treatment of glioblastoma multiforme. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2020;7(1):8–16. (In Russ.).

### Введение

Мультиформная глиобластома (МГБ), или астроцитомы IV степени злокачественности по классификации Всемирной организации здравоохранения, является наиболее распространенной первичной высокоинвазивной глиальной опухолью головного мозга человека.

Она характеризуется выраженным некрозом, пролиферацией микрососудов и устойчивостью к современным методам лечения [1–3]. Мультиформальная

терапия МГБ включает радикальное удаление опухоли мозга, лучевую терапию и химиотерапию [4]. Наиболее востребованные препараты для химиотерапии глиальных опухолей – темозоломид (ТЗМ), прокарбазин, ломустин, кармустин, нимустин, фотемустин, дакарбазин, иринотекан, этопозид, винкристин, цисплатин, карбоплатин, паклитаксел [5–7]. Недостатком всех этих препаратов является ограниченная способность подавлять интерфазные опухолевые клетки. Данный стандарт лечения используется на практике уже более

15 лет, однако не приводит к существенному улучшению состояния больных, а только увеличивает длительность безрецидивного периода [8]. Такое лечение паллиативное, нерадикальное, так как при этом не излечивается начальная причина заболевания.

Определенные надежды возлагаются на таргетные химиопрепараты, новые фармакогенные технологии [9], а также на противоопухолевую иммунотерапию [10]. При выполнении стандартного протокола комплексного лечения медиана выживаемости больных составляет 12–15 мес, без лечения – 3 мес. Несмотря на все усилия врачей, только 25 % больных могут прожить 2 года с момента постановки диагноза, что парадоксально на фоне значительных успехов в лечении других видов рака и их локализаций [3, 11].

Отчасти это объясняется тем, что глиальные опухоли – высокогетерогенная группа новообразований как на клеточном, так и на генетическом уровне. Патогенез МГБ недостаточно изучен, однако показано, что нарушения в регуляции клеточных сигнальных путей и генетические мутации играют решающую роль в возникновении, инвазии и прогрессировании этого заболевания [12]. Кроме того, для МГБ характерно отсутствие резких границ между опухолью и здоровой тканью мозга, что затрудняет удаление всех опухолевых клеток и служит причиной развития рецидива и роста опухоли [13]. Следует также отметить ограниченную эффективность современных технологий против опухолевых стволовых клеток – главной причины резистентности злокачественных глиальных опухолей.

Таким образом, МГБ представляет собой одну из самых сложных проблем современной медицины и тре-

бует разработки новых методов лечения. В последние десятилетия активно изучают химиотерапевтическую эффективность природных соединений и их производных для лечения злокачественных опухолей человека [12].

Куркумин представляет собой природное полифенольное соединение (рис. 1, 2), выделенное из куркумы (*Curcuma longa*) и обладающее широкими терапевтическими возможностями благодаря своим антиоксидантным, нейропротекторным, противовоспалительным и антипролиферативным свойствам [14]. Противоопухолевый потенциал куркумина вызвал большой интерес из-за возможности его длительного приема человеком и доказанной безопасности. Противоопухолевая активность куркумина обусловлена множеством биохимических механизмов, включая воздействие на мутагенез, онкогенез, метастазирование, регуляцию клеточного цикла, апоптоз и аутофагию [15]. Необходимо отметить, что липофильные свойства куркумина и способность проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) делают его потенциальным терапевтическим и протекторным средством при ряде неврологических заболеваний [16] и злокачественных новообразований, связанных с центральной нервной системой [12].

#### Общие сведения о куркумине

За последние несколько десятилетий использование диетических добавок приобрело значительную популярность благодаря возросшему интересу к натуральным продуктам и их потенциальной пользе для здоровья, так как они обладают лечебными возможностями для профилактики и предупреждения болезней [17]. Кроме этого, многие воспринимают их как



Рис. 1. Куркума (*Curcuma longa*) (адаптировано из [8])  
Fig. 1. *Curcuma longa* (adapted from [8])

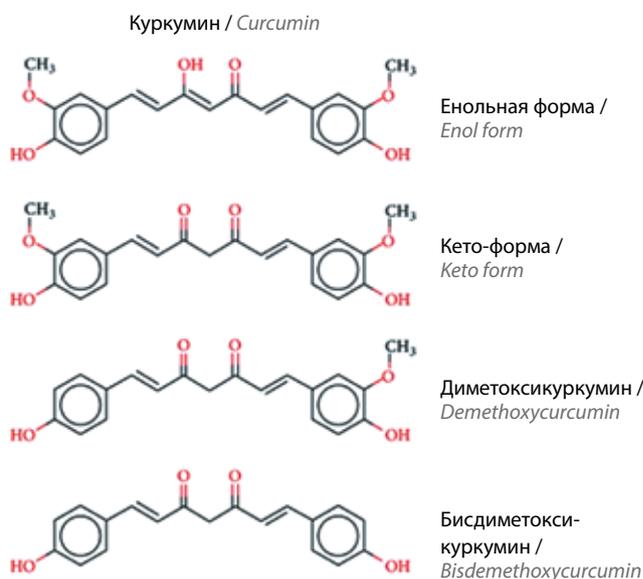


Рис. 2. Куркумин в его енольной и кето-форме, диметоксикуркумин и бисдиметоксикуркумин (адаптировано из [8])  
Fig. 2. Curcumin is presented in its enol form and keto form; demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin (adapted from [8])

менее токсичные по сравнению с синтетическими продуктами [18].

Куркума (*Curcuma longa*) – растение, относящееся к семейству имбиря (*Zingiberaceae*), давно признана за ее лечебные свойства, а куркумин был обнаружен в ее корневище [18–20]. Утверждается, что куркума широко использовалась при лечении различных заболеваний более 2500 лет, в основном в азиатских странах [21, 22]. Современные данные свидетельствуют о том, что куркумин может быть полезен при лечении широкого спектра заболеваний человека, включая болезнь Альцгеймера [23], болезнь Паркинсона [20], диабет, сердечно-сосудистые заболевания, артрит и различные новообразования, включая опухоли головного мозга [8, 12].

Куркума содержит примерно 70 % углеводов, 13 % влаги, 6 % белка, 6 % эфирных масел, 5 % жира, 3 % минералов, 3–5 % куркуминоидов и следовых количеств витаминов [24, 25]. Куркуминоиды (см. рис. 2), в свою очередь, состоят из куркумина (77 %), диметоксикуркумина (17 %) и бисдиметоксикуркумина (3 %) [26]. Стоит отметить, что другие куркуминоиды и их синтетические производные также обладают биологической активностью [22, 27].

Куркумин является полифенольным соединением, которое составляет 2–5 % порошка куркумы [15, 16]. Куркумин способен проникать через ГЭБ и накапливаться в гиппокампе. Присутствие большого количества липидов в головном мозге, липофильные свойства куркумина способствуют его доступности и усвоению клетками центральной нервной системы [12].

Результаты доклинических и клинических исследований продемонстрировали химиотерапевтический потенциал куркумина при различных типах опухолевых заболеваний, таких как лимфомы, множественная миелома, меланома, рак кожи, легкого, предстательной железы, молочной железы, яичников, мочевого пузыря, печени, желудочно-кишечного тракта и поджелудочной железы [27, 28].

Терапевтические эффекты куркумина изучались в многочисленных исследованиях, и на сегодняшний день представлен широкий спектр его фармакологической активности. Куркумин обладает противомикробной, противовоспалительной, антиатеросклеротической [29], антиоксидантной, антиангиогенной и противоопухолевой активностью [12, 20, 22, 27].

Куркумин воздействует на канцерогенные сигнальные пути, связанные с клеточной пролиферацией, апоптозом [30], аутофагией [31], ангиогенезом, иммунным ответом, инвазией и метастазированием [8, 15, 32] через факторы транскрипции, рецепторы, киназы, цитокины, ферменты и факторы роста [27].

Следует отметить, что куркумин снижает пролиферацию клеток МГБ и их радио- и химиорезистентность. Молекулярные механизмы этого действия связаны с транскрипционными факторами AP-1 и NF-κB и обусловлены ингибированием экспрессии JNK

и АКТ [15, 33]. Пониженная экспрессия Bcl-2 и ферментов репарации ДНК, таких как MGMT, ERCC-1, DNA-ПК, Ku70 и Ku80, приводит к устойчивости клеток глиомы к химио- и радиотерапии, но эти клетки остаются чувствительными к действию куркумина. Эта особенность предполагает, что комбинация куркумина с химиотерапевтическими препаратами или лучевой терапией может повысить чувствительность опухолевых клеток к химиотерапии или лучевой терапии [30, 34].

### **Влияние куркумина на инвазию, метастазирование и ангиогенез**

Клетки злокачественной глиомы чрезвычайно инвазивны. Они легко мигрируют и проникают в окружающую паренхиму головного мозга, приводя к прогрессированию заболевания [35]. Одним из методов, с помощью которого опухолевые клетки МГБ способны проникать в нормальную ткань мозга, является аномальная экспрессия матриксных металлопротеиназ (ММП), мембраноассоциированных или секретлируемых ферментов, участвующих в деградации внеклеточного матрикса [8, 27]. ММП-1 и ММП-3 связаны с инвазивностью глиомы, ММП-2 и ММП-9 играют главную роль в инвазии и миграции, а ММП-9 участвует в ангиогенезе [27, 36].

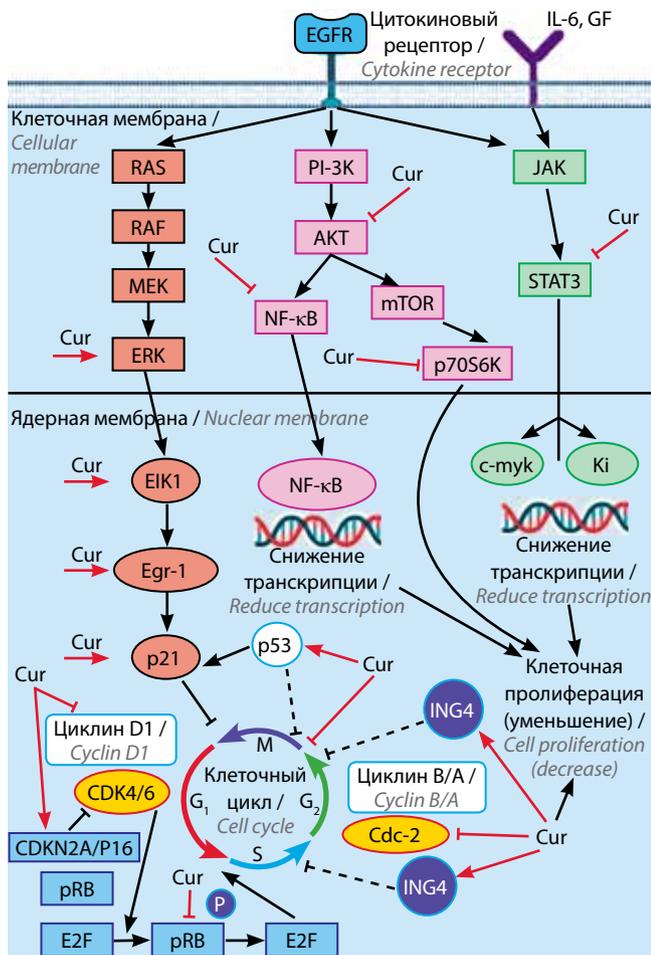
Ранее было показано, что куркумин подавляет экспрессию ММП-1, -3, -9 и -14 в клеточных линиях МГБ U87MG и U373MG, ингибируя AP-1 и MAP [8, 27]. Ингибирование уровня ММП-9 в клетках U87MG осуществлялось за счет подавления экспрессии MAPK (p38, JNK, ERK) [27].

Активатор плазминогена урокиназного типа (uPA) представляет собой сериновую протеазу, которая запускает деградационный каскад, преобразуя внеклеточный плазминоген в плазмин, затем разлагая коллаген внеклеточного матрикса и активируя другие ММП. Куркумин способен снижать активность uPA, предотвращая транслокацию RelA/NF-κB в ядро клетки [8].

X. Meng и соавт. показали, что куркумин подавляет активность сигнального каскада Hedgehog, влияя на экспрессию белков Gli1, SMO и Sufu, а также ингибируя эпителиально-мезенхимальный переход в различных опухолевых клетках [37].

Предполагают, что фасцин сверхэкспрессирован в клетках МГБ и может быть связан с миграцией и инвазией клеток глиомы. Результаты недавних исследований показали, что куркумин негативно регулирует экспрессию фасцина в клетках МГБ, влияя на сигнальный каскад STAT3 [35].

Важным фактором, участвующим в инвазии и метастазировании опухолей, является ангиогенез [8]. Взаимодействие между фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактором роста тромбоцитов (PDGF) с рапамицином (mTOR) у млекопитающих активирует ангиогенез [38]. Куркумин воздействует на весь процесс ангиогенеза, супрессируя экспрессию транскрипционных факторов, таких как NF-κB и факторов



**Рис. 3.** Куркумин (Cur) ингибирует пролиферацию клеток через различные сигнальные пути (PI3K/AKT, RAS, JAK/STAT), включающие, например, изменения PI3K/PTEN/AKT/STAT3 в цитоплазме и модуляцию клеточного цикла с помощью опухолевого супрессора TP53 и изменения RB1/CDK4/p16INK4A в ядре. Линия стрелки представляет индукцию, линия с тупым концом – репрессию, пунктирная стрелка – гипотетическую маркировку (адаптировано из [27])

**Fig. 3.** Curcumin (Cur) inhibits cell proliferation via various signaling pathways (PI3K/AKT, RAS, JAK/STAT), including, for example, changes in PI3K/PTEN/AKT/STAT3 in cytoplasm and modulation of the cell cycle via tumor suppressor TP53 and RB1/CDK4/p16INK4A alterations in nucleus. The arrow line represents induction, and the blunt-ended line represents repression. The dashed arrow represents hypothetical marking (adapted from [27])

проангиогенеза VEGF, bFGF и MMPs [39]. bFGF индуцирует ангиогенез, воздействуя на клетки гладких мышц и эндотелиальные клетки, а также выступая в роли хемоаттрактанта, и способствует пролиферации фибробластов и эпителиальных клеток [39]. MMP-9, в свою очередь, повышает эффективность VEGF, отвечающего за пролиферацию, проницаемость ГЭБ и ангиогенез [40]. Большая часть биологических свойств VEGF обусловлена его высоким сродством к рецепторам VEGFR-1 и VEGFR-2 на эндотелиальных клетках сосудов [38], а также к рецептору VEGFR-3 [8, 39]. Результаты, полученные на мышинной модели, позволяют предположить, что куркумин может ингибировать VEGF/Ang-2/TSP-1-опосредованный ангиогенез и рост опухоли [29].

### Антипролиферативное и противовоспалительное действие куркумина

Арест клеточного цикла в любой из 4 фаз приводит к ингибированию пролиферации и выживаемости клеток [34]. Существует множество данных, позволяющих предположить, что куркумин участвует в модуляции большинства сигнальных путей МГБ как в цитозоле, так и в ядре [8]. Молекулярные взаимодействия куркумина включают ингибирование пролиферации и снижение выживаемости клеток глиомы через воздействия на ключевые сигнальные каскады: PI3K/AKT, RAS и JAK/STAT, включая EGFR/PI3K/PTEN/RAS/STAT3; путь модуляции клеточного цикла, включающий изменения TP53/MDM2/MDM4/p14ARF и RB1/CDK4/p16INK4A/CDKN2B (рис. 3) [27, 36].

Сверхэкспрессия EGFR (рецептор эпидермального фактора роста) индуцирует нисходящие сигнальные пути, такие как PI3K/AKT, RAF/MEK/ERK и JAK/STAT [34], однако механизм ослабленной передачи сигналов ERK показал, что он необязательно может привести к усилению нисходящих сигналов. Клетки глиомы DBRTG, обработанные куркумином, не изменяли уровень EGFR и активность связанных с ним нижестоящих путей (RTK/RAS/PI3K) в цитозоле. В клетках U87MG и U138MG пролиферация ингибировалась посредством воздействия EGFR на ERK и нижестоящий сигнальный каскад PI3K соответственно [27].

Куркумин ингибировал фосфорилирование AKT/PKB и его нижестоящего субстрата p70S6K, NF-κB наряду с его регулируемыми генами цитопroteкции (IAPs и членами семейства bcl) и ферментами репарации ДНК (MGMT, Ku70, Ku80 и DNA-PKcs) в клетках U87MG, что приводило к ингибированию пролиферации и выживаемости клеток [34].

Результаты ряда исследований показали, что DAPK1 играет важную роль в клеточной смерти, вызванной действием куркумина [8]. DAPK1 опосредовал антипролиферативные и проапоптотические эффекты куркумина через регуляцию сигнальных путей STAT3, NF-κB и ингибирование каспазы 3 [34].

Результаты других исследований на клетках МГБ U251MG продемонстрировали, что куркумин повышал экспрессию p53, вызывая остановку клеточного цикла в фазе G<sub>2</sub>/M и увеличивая экспрессию супрессора опухоли ING4 [34]. Наряду с запуском апоптоза, p53 также ингибирует клеточный цикл и старение клеток в злокачественных опухолях [30]. В клетках глиомы DBRTG куркумин повышал уровень белка p53, а также ингибировал сигнальный путь RB, RB1/CDK4/p16INK4, участвующий в активации клеточного цикла в фазе G<sub>1</sub>/S через повышение/регуляцию CDKN2A/p16 и подавление фосфорилированного RB, арестовывая клетки в фазе G<sub>1</sub>/S [34].

При действии куркумина на клетки U87MG обнаружено, что транскрипционный фактор Egr-1 активировал транскрипцию p21 независимо от активации p53. Экспрессия Egr-1 индуцировалась куркумином

через ERK и JNK. Показано, что 5–10 мкМ куркумина может ингибировать пролиферацию за счет повышенной экспрессии DUSP-2 и ингибирования фосфорилирования ERK и JNK [8].

Сообщалось, что куркумин вызывает остановку клеточного цикла в фазе G<sub>2</sub>/M посредством подавления экспрессии циклина B1 и CDK1, регулируемой геном CDC2 [34]. X. Wang и соавт. обнаружили, что куркумин супрессирует экспрессию NEDD4, который способствует убиквитинопосредованной деградации PTEN (гомолога фосфатазы и тензина), что приводит к активации сигнального пути PI3K/АКТ и клеточной пролиферации [40].

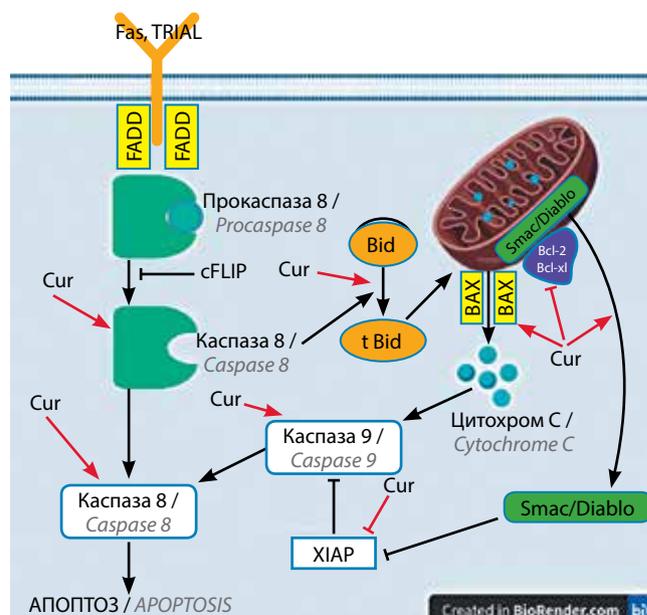
Считается, что противовоспалительным действием куркумин обладает благодаря гидроксильной и метоксигруппе [21]. Куркумин обеспечивает негативную регуляцию провоспалительных интерлейкинов (IL-1, -2, -6, -8 и -12), цитокинов (TNF $\alpha$ , моноцитарного хемоаттрактантного белка 1), тем самым подавляя JAK/STAT-сигнальный путь. Также утверждается, что куркумин регулирует воспалительный ответ путем подавления активности ферментов индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS), циклооксигеназы 2, липоксигеназы и ксантиноксидазы, что может приводить к подавлению активации NF- $\kappa$ B [22].

Отмечается, что биологические эффекты куркумина, по-видимому, в значительной степени зависят от введенной дозы. Так, низкие дозы, в диапазоне от 25 до 50 мг/кг, вызывали значительные иммуностимулирующие эффекты *in vivo*, тогда как более высокие концентрации приводили к иммуносупрессивным действиям за счет уменьшения пролиферации различных иммунных клеток [41].

### Куркумин активирует апоптотические пути

Апоптоз — процесс клеточного самоубийства, включающий внешний путь, связанный с рецептором смерти, и митохондриально-зависимый внутренний путь, участвующий в развитии и гомеостазе тканей многоклеточных организмов. Опосредованная куркумином индукция внешнего пути зависит от сигналинга Fas/CD95/TRAIL, активирующего каспазы 8 и 10. Эффекты этих каспаз сходятся во внутреннем пути, генерируя митохондриальный потенциал, вызывая расщепление Bid и высвобождение цитохрома С. Цитохром С, в свою очередь, активирует белки семейства Bcl-2, запускающие каскад каспаз, приводящих к гибели клеток в ответ на клеточные сигналы, включая стресс или повреждение ДНК. Также вместе с цитохромом С из митохондрий высвобождается проапоптотическая молекула Smac/Diablo в индуцированных куркумином клетках T98G и U87MG, подавляющая IAPs в цитозоле, что облегчает процесс апоптоза (рис. 4) [27].

В клетках глиомы DBTRG действие куркумина увеличивает экспрессию Вах и каспазы 3 и снижает уровень экспрессии Bcl-2, вызывая апоптоз посредством внутреннего пути. Также куркумин активно влия-



**Рис. 4.** Куркумин (Cur) индуцирует сигнальные пути, запускающие апоптоз посредством ингибирования антиапоптотических белков (Bcl-2, Bcl-xL, XIAP) и активации проапоптотических белков (BAX) для высвобождения цитохрома С и каскада каспаз. Линия стрелки представляет индукцию, линия с тупым концом — репрессию (адаптировано из [27])  
Fig. 4. Curcumin (Cur) induces signalling pathways triggering apoptosis via inhibition of antiapoptotic proteins (Bcl-2, Bcl-xL, XIAP) and activation of pro-apoptotic proteins (BAX) to release cytochrome c and cascade of caspases. The arrow line represents induction, and the blunt-ended line represents repression (adapted from [27])

ет на CDKN2A/p16, подавляя фосфорилированный RB [42].

Результаты исследования с использованием клеточной линии 8401 МГБ показали, что куркумин уменьшает пролиферацию клеток, снижает потенциал митохондриальной мембраны, индуцирует фрагментацию ДНК, индуцирует апоптоз через каспазозависимый путь (каспаза 3, 8 и 9) и ингибирует активность транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B [33]. В клеточной линии U87MG куркумин может вызывать апоптоз, подавляя антиапоптотические сигналы, стимулируя активацию каспазы 8 и повышая соотношение BAX/Bcl-2. Авторы этого исследования также сообщили, что экспрессия циклина D1, NF- $\kappa$ B, АКТ, ERK и Bcl-xL подавляется при обработке клеток B16F10 куркумином [8].

### Куркумин вызывает аутофагию в клетках глиомы

Аутофагия и сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR играют существенную роль в гибели и выживании клеток МГБ [43]. Аутофагия предотвращает накопление полиубиквитинированных и агрегированных белков во время развития или во время стресса, используя собственную лизосомальную систему клетки параллельно с убиквитин-протеасомной деградацией. Сообщалось, что куркумин подавляет рост клеток U87MG и U373MG путем индукции аутофагии через негативную регуляцию АКТ/mTOR киназы, активацию ERK1/2 и повышение экспрессии LC-3 II [27]. Показано, что

куркумин индуцирует аутофагию путем подавления экспрессии протеинкиназы В (АКТ)/mTOR/p70S6K и активации ERK1/2 в клетках U87MG и U373MG, несущих мутацию фосфатазы и PTEN [44].

Также известно, что куркумин активирует p21 посредством передачи сигналов NK-терминальной протеинкиназы ERK и c-JUN. Показано, что куркумин уменьшает рост клеток, ингибирует миграцию и снижает инвазивность благодаря ингибированию пути JAK/STAT3 [44]. A. Zanotto-Filho и соавт. продемонстрировали, что при использовании модели крысиной глиомы C6 куркумин вызывал уменьшение объема опухоли головного мозга [31].

### **Влияние куркумина на эффективность терапии мультиформной глиобластомы**

Использование ТЗМ в адьювантной химиотерапии МГБ приводит лишь к небольшому увеличению медианы выживаемости больных (до 14,6 мес) главным образом из-за формирования множественной лекарственной устойчивости, влияющей на активность O-(6)-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы [2].

Куркумин в сочетании с ТЗМ, по-видимому, обладает аддитивным цитотоксическим действием на клетки МГБ [1, 31]. Кроме этого, оба препарата вызывают остановку клеточного цикла в фазе G<sub>2</sub>/M через активацию белков, таких как Wee, Cdc2, CHK1 и Cdc25c [31]. Показано, что лечение ТЗМ с куркумином вызывает аутофагию, которая зависит от ERK1/2 и связана с ингибированием STAT3, NF-κB и PI3K/АКТ [8]. Н. Yin и соавт. обнаружили синергический эффект комбинации куркумина и ТЗМ в генерировании активных форм кислорода (АФК) [45]. Z.C. Gersey и соавт. предположили, что куркумин нацелен на стволовые клетки МГБ через индукцию АФК, возможно, путем снижения активности STAT3 [46]. Кроме этого, куркумин усиливает действие паклитаксела, цисплатина, этопозида, камптотецина и доксорубицина в клетках T98G, U87MG и U138MG [27].

Обнаружено, что клеточные линии LN18 и U138MG, обработанные 20 мкМ куркумина и 10 нМ паклитаксела, имеют индекс комбинации 0,1 и 0,09 соответственно, что указывает на синергический эффект. Эта комбинация активировала каспазу 3, каспазу 8 и кальпаин [47, 48], увеличивала отношение BAX/Bcl-2. В дополнение к синергическому действию куркумин может предотвращать химиорезистентность. Результаты исследования, проведенного в 2008 г. на крысах Sprague-Dawley, показали, что куркумин подавлял экспрессию белка, связанного с множественной лекарственной устойчивостью, — ABCG2 [8, 26]. Три мономера куркуминоидов снижали экспрессию ABC-транспортеров, включая ABCB1, ABCG2 и ABCC1, в опухолевых клетках, при этом не вызывая системную токсичность [26].

Куркумин по-разному сенситивизировал апоптоз в клетках U251MG и U87MG, которые были устойчивы к TRAIL-терапии. Изучение механизма комбини-

рованного эффекта куркумина и TRAIL-терапии на клетки U87MG показало, что расщепление прокаспаз 8, 9, 3 и цитохрома С, высвобождаемых из митохондрий, приводит к апоптозу. Также было обнаружено, что биологическая активность куркумина связана с присутствием гидроксильной и метоксигрупп, что способствовало началу разработки и синтезу новых аналогов куркумина [27].

### **Безопасность куркумина и его биодоступность**

Куркумин признан Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) как безопасное и нетоксичное соединение. Согласно отчетам Объединенного комитета экспертов Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (FAO)/Всемирной организации здравоохранения по пищевым добавкам (JECFA) и Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (EFSA) адекватное суточное потребление куркумина составляет не более 3 мг/кг [22].

Для определения максимально переносимой дозы и ее безопасности здоровым добровольцам давали 500–12000 мг куркумина. В результате было установлено, что потребление куркумина до 12 г в день не оказывает токсического воздействия на человека [27]. Согласно результатам других исследований куркумин безопасен в дозе 6 г/сут перорально в течение 4–7 нед [48].

Основным ограничением при изучении биодоступности куркумина на человеке является небольшое число здоровых добровольцев, поэтому необходимо проведение дополнительных исследований с участием более многочисленной популяции людей [48]. Тем не менее полученные данные показывают, что при приеме куркумина могут возникнуть некоторые побочные эффекты, такие как желудочно-кишечные расстройства. Существуют некоторые опасения относительно взаимосвязи потребления куркумина и ингибирования некоторых ферментов, участвующих в метаболизме лекарств, потенциальным повреждением ДНК и хелатированием железа [22]. Куркумин может вызывать повреждение и фрагментацию ДНК и приводить к апоптотической гибели клеток в здоровых и опухолевых тканях. Несмотря на то что куркумин является антиоксидантом, он может привести к временному увеличению АФК и снижению жизнеспособности клеток из-за истощения глутатиона [8]. Таким образом, требуется более тщательное изучение куркумина перед его добавлением к существующим химиотерапевтическим схемам [8, 22].

Необходимо отметить, что терапевтический потенциал куркумина ограничен его низкой растворимостью в водных средах, плохой биодоступностью и фармакокинетическими параметрами [49, 50]. Куркумин чувствителен к свету как в твердой форме, так и в виде раствора, поэтому образцы фармацевтического препарата на основе куркумина должны быть защищены от воздействия света [51].

Для того чтобы решить эти проблемы, разрабатываются различные материалы и смеси, которые можно комбинировать с куркумином для его направленной доставки к опухоли, например полимеры, липиды и наночастицы [19, 20, 52]. Активно используют липосомальный куркумин, наночастицы куркумина и фосфолипидные комплексы. Кроме этого, применение структурных аналогов куркумина может увеличивать биодоступность [49].

### Заключение

Противоопухолевые свойства природных соединений, содержащихся в специях и травах, давно привлекают внимание онкологов. При лечении МГБ используются различные клинические методы, включая хирургию, лучевую терапию и химиотерапию, однако до сих пор стандартная терапия МГБ не приводит к удовлетворительным результатам. В связи с этим необходимы новые более эффективные терапевтические подходы и препараты, учитывающие агрессивный, диффузный характер и химио- и радиорезистентность опухоли. Многоцелевое химиотерапевтическое лечение на основе куркумина может стать наиболее акту-

альным для МГБ. Данное полифенольное соединение имеет низкую токсичность и обладает рядом плейотропных свойств, включая противовоспалительное, антиоксидантное и противоопухолевое действие. Синергические эффекты куркумина с лучевой терапией и химиотерапией показали его потенциал для лечения МГБ. Более того, индуцированное куркумином многомолекулярное нацеливание на различные сигнальные пути, вовлеченные в развитие злокачественной опухоли, может сделать куркумин одним из потенциальных лидеров в современной противоопухолевой химиотерапии. Однако, несмотря на противоопухолевую активность куркумина в доклинических моделях и хорошую переносимость высоких доз препарата, его низкая биодоступность пока является проблемой, требующей своего решения. Другие структурные аналоги куркумина могут быть более биодоступными и эффективными и проектироваться так, чтобы лучше сочетаться с большими и хорошо контролируемыми клиническими испытаниями. Необходимо провести многоцелевые исследования по определению фармакологической эффективности куркумина, его аналогов и метаболитов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Shahcheraghi S.H., Zangui M., Lotfi M. et al. Therapeutic potential of curcumin in the treatment of glioblastoma multiforme. *Curr Pharm Des* 2019;25(3):333–42. DOI: 10.2174/1381612825666190313123704.
- Erices J.I., Torres A., Niechi I. et al. Current natural therapies in the treatment against glioblastoma. *Phytother Res* 2018;32(11):2191–201. DOI: 10.1002/ptr.6170.
- Huang B.R., Tsai C.H., Chen C.C. et al. Curcumin promotes connexin 43 degradation and temozolomide-induced apoptosis in glioblastoma cells. *Am J Chin Med* 2019;47(3):657–74. DOI: 10.1142/S0192415X19500344.
- Arevalo A.T., Erices J.I., Uribe D.A. et al. Current therapeutic alternatives and new perspectives in glioblastoma multiforme. *Curr Med Chem* 2017;24(25):2781–95. DOI: 10.2174/0929867324666170303122241.
- Schor N.F. New approaches to pharmacotherapy of tumors of the nervous system during childhood and adolescence. *Pharmacol Ther* 2009;122(1):44–55. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2009.01.001.
- Mierzwa M.L., Nyati M.K., Morgan M.A. et al. Recent advances in combined modality therapy. *Oncologist* 2010;15(4):372–81. DOI: 10.1634/theoncologist.2009-S105.
- Philip-Ephraim E.E., Eyoung K.I., Williams U.E. et al. The role of radiotherapy and chemotherapy in the treatment of primary adult high grade gliomas: assessment of patients for these treatment approaches and the common immediate side effects. *ISRN Oncol* 2012;902178. DOI: 10.5402/2012/902178.
- Klinger N.V., Mittal S. Therapeutic Potential of Curcumin for the Treatment of Brain Tumors. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016:1–14. DOI: 10.1155/2016/9324085.
- Misso G., Di Martino M.T., De R.G. et al. Mir-34: a new weapon against cancer? *Mol Ther Nucl Acid* 2014;3(9):e195. DOI: 10.1038/mtna.2014.47.
- Shah A.H., Bregy A., Heros D.O. et al. Dendritic cell vaccine for recurrent high-grade gliomas in pediatric and adult subjects: clinical trial protocol. *Neurosurgery* 2013;73(5):863–7. DOI: 10.1227/NEU.0000000000000107.
- Gulati S., Jakola A.S., Johannesen T.B., Solheim O. Survival and treatment patterns of glioblastoma in the elderly: a population-based study. *World Neurosurg* 2012;78(5):518–26. DOI: 10.1016/j.wneu.2011.12.008.
- Shabaninejad Z., Pourhanifeh M.H., Movahedpour A. et al. Therapeutic potentials of curcumin in the treatment of glioblastoma. *Eur J Med Chem* 2020;188:112040. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112040.
- Sherriff J., Tamangani J., Senthil L. et al. Patterns of relapse in glioblastoma multiforme following concomitant chemoradiotherapy with temozolomide. *Br J Radiol* 2013;86(1022):20120414. DOI: 10.1259/bjr.20120414.
- Hesari A., Rezaei M., Rezaei M. et al. Effect of curcumin on glioblastoma cells. *J Cell Physiol* 2019;234(7):10281–8. DOI: 10.1002/jcp.27933.
- Kunati S.R., Yang S., William B.M., Xu Y. An LC-MS/MS method for simultaneous determination of curcumin, curcumin glucuronide and curcumin sulfate in a phase II clinical trial. *J Pharm Biomed Anal* 2018;156:189–98. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.04.034.
- Ahmed T., Gilani A.H. Therapeutic potential of turmeric in Alzheimer's disease: curcumin or curcuminoids? *Phytother Res* 2014;28(4):517–25. DOI: 10.1002/ptr.5030.
- Hewlings S., Kalman D. Curcumin: a review of its' effects on human health. *Foods* 2017;6(10):pii:E92. DOI: 10.3390/foods6100092.
- Kotha R.R., Luthria D.L. Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. *Molecules* 2019; 24(16). DOI: 10.3390/molecules24162930.
- Tsuda T. Curcumin as a functional food-derived factor: degradation products, metabolites, bioactivity, and future perspectives. *Food Funct* 2018;9(2):705–14. DOI: 10.1039/c7fo01242j.
- Amalraj A., Pius A., Gopi S. et al. Biological activities of curcuminoids, other

- biomolecules from turmeric and their derivatives – a review. *J Tradit Complement Med* 2016;7(2):205–33. DOI: 10.1016/j.jtme.2016.05.005.
21. Deogade S., Ghate S. Curcumin: therapeutic applications in systemic and oral health. *Int J Biol Pharm Res* 2015;6(4):281–90. DOI: 10.21276/ijbpr.
  22. Kocaadam B., Sanlier N. Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015;57(13):2889–95. DOI: 10.1080/10408398.2015.1077195.
  23. Lopresti A.L. Curcumin for neuropsychiatric disorders: a review of *in vitro*, animal and human studies. *J Psychopharmacol* 2017;31(3):287–302. DOI: 10.1177/0269881116686883.
  24. Prasad S., Gupta S.C., Tyagi A.K. et al. Curcumin, a component of golden spice: from bedside to bench and back. *Biotechnol Adv* 2014;32(6):1053–64. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.04.004.
  25. Nelson K.M., Dahlin J.L., Bisson J. et al. The essential medicinal chemistry of curcumin. *J Med Chem* 2017;60(5):1620–37. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00975.
  26. Chen L., Shi L., Wang W., Zhou Y. ABCG2 downregulation in glioma stem cells enhances the therapeutic efficacy of demethoxycurcumin. *Oncotarget* 2017;8(26):43237–47. DOI: 10.18632/oncotarget.18018.
  27. Luthra P.M., Lal N. Prospective of curcumin, a pleiotropic signalling molecule from *Curcuma longa* in the treatment of glioblastoma. *Eur J Med Chem* 2016;109:23–35. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.11.049.
  28. Hosseini A., Hosseinzadeh H. Antidotal or protective effects of *Curcuma longa* (turmeric) and its active ingredient, curcumin, against natural and chemical toxicities: A review. *Biomed Pharmacother* 2018;99:411–21. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.01.072.
  29. Luo Q., Luo H., Fu H. et al. Curcumin suppresses invasiveness and migration of human glioma cells *in vitro* by inhibiting HDGF/ $\beta$ -catenin complex. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2019;39(8):911–6. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2019.08.06.
  30. Mortezaee K., Salehi E., Mirtavoos-Mahyari H. et al. Mechanisms of apoptosis modulation by curcumin: implications for cancer therapy. *J Cell Physiol* 2019;234(8):12537–50. DOI: 10.1002/jcp.28122.
  31. Zanotto-Filho A., Braganhol E., Klafke K. et al. Autophagy inhibition improves the efficacy of curcumin/temozolomide combination therapy in glioblastomas. *Cancer Lett* 2015;358(2):220–31. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.12.044.
  32. Carolina Alves R., Perosa Fernandes R., Fonseca-Santos B. et al. A critical review of the properties and analytical methods for the determination of curcumin in biological and pharmaceutical matrices. *Crit Rev Anal Chem* 2019;49(2):138–49. DOI: 10.1080/10408347.2018.1489216.
  33. Dhandapani K.M., Mahesh V.B., Brann D.W. Curcumin suppresses growth and chemoresistance of human glioblastoma cells via AP-1 and NF $\kappa$ B transcription factors. *J Neurochem* 2007;102(2):522–38. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2007.04633.x.
  34. Trotta T., Panaro M.A., Prifti E. et al. Modulation of biological activities in glioblastoma mediated by curcumin. *Nutr Cancer* 2019;71(8):1241–53. DOI: 10.1080/01635581.2019.1604978.
  35. Park K.S., Yoon S.Y., Park S.H. et al. Anti-migration and anti-invasion effects of curcumin via suppression of fascin expression in glioblastoma cells. *Brain Tumor Res Treat* 2019;7(1):16–24. DOI: 10.14791/btrt.2019.7.e28.
  36. Ghosh S., Banerjee S., Sil P.C. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: a recent update. *Food Chem Toxicol* 2015;83:111–24. DOI: 10.1016/j.fct.2015.05.022.
  37. Meng X., Cai J., Liu J. et al. Curcumin increases efficiency of  $\gamma$ -irradiation in gliomas by inhibiting Hedgehog signaling pathway. *Cell Cycle* 2017;16(12):1181–92. DOI: 10.1080/15384101.2017.1320000.
  38. Saberi-Karimian M., Katsiki N., Caraglia M. et al. Vascular endothelial growth factor: an important molecular target of curcumin. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019;59(2):299–312. DOI: 10.1080/10408398.2017.1366892.
  39. Wang T.Y., Chen J.X. Effects of curcumin on vessel formation insight into the pro- and antiangiogenesis of curcumin. *Evid Based Complement Alternat Med* 2019. DOI:10.1155/2019/1390795.
  40. Wang X., Deng J., Yuan J. et al. Curcumin exerts its tumor suppressive function via inhibition of NEDD4 oncoprotein in glioma cancer cells. *Int J Oncol* 2017;51(2):467–77. DOI: 10.3892/ijo.2017.4037.
  41. Schneckeburger M., Dicato M., Diederich M.F. Anticancer potential of naturally occurring immunoeigenetic modulators: a promising avenue? *Cancer* 2019;125(10):1612–28. DOI: 10.1002/cncr.32041.
  42. Su C.C., Wang M.J., Chiu T.L. The anti-cancer efficacy of curcumin scrutinized through core signaling pathways in glioblastoma. *Int J Mol Med* 2010;26(2):217–24. DOI: 10.3892/ijmm\_00000455.
  43. Maiti P., Scott J., Sengupta D. et al. Curcumin and solid lipid curcumin particles induce autophagy, but inhibit mitophagy and the PI3K-Akt/mTOR pathway in cultured glioblastoma cells. *Int J Mol Sci* 2019;20(2). DOI: 10.3390/ijms20020399.
  44. Sordillo L.A., Sordillo P.P., Helson L. Curcumin for the treatment of glioblastoma. *Anticancer Res* 2015;35(12):6373–8.
  45. Yin H., Zhou Y., Wen C. et al. Curcumin sensitizes glioblastoma to temozolomide by simultaneously generating ROS and disrupting AKT/mTOR signaling. *Oncol Rep* 2014;32(4):1610–6. DOI: 10.3892/or.2014.3342.
  46. Gersey Z.C., Rodriguez G.A., Barbarite E. et al. Curcumin decreases malignant characteristics of glioblastoma stem cells via induction of reactive oxygen species. *BMC Cancer* 2017;17(1):99. DOI: 10.1186/s12885-017-3058-2.
  47. Hossain M., Banik N.L., Ray S.K., Synergistic anti-cancer mechanisms of curcumin and paclitaxel for growth inhibition of human brain tumor stem cells and LN18 and U138MG cells. *Neurochem Int* 2012;61(7):1102–13. DOI: 10.1016/j.neuint.2012.08.002.
  48. Soleimani V., Sahebkar A., Hosseinzadeh H. Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: review. *Phytother Res* 2018;32(6):985–95. DOI: 10.1002/ptr.6054.
  49. Devassy J.G., Nwachukwu I.D., Jones P.J. Curcumin and cancer: barriers to obtaining a health claim. *Nutr Rev* 2015;73(3):155–65. DOI: 10.1093/nutrit/nuu064.
  50. Schneider C., Gordon O.N., Edwards R.L. et al. Degradation of curcumin: from mechanism to biological implications. *J Agric Food Chem* 2015;63(35):7606–14. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b00244.
  51. Priyadarsini K.I. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules* 2014;19(12):20091–112. DOI: 10.3390/molecules191220091.
  52. Hussain Z., Thu H.E., Ng S.F. et al. Nanoencapsulation, an efficient and promising approach to maximize wound healing efficacy of curcumin: a review of new trends and state-of-the-art. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2017;150:223–41. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.11.036.

**Вклад авторов**

Т.И. Кушнир: обзор публикаций по теме статьи, написание отдельных глав рукописи, формирование общего списка литературы;  
Н.Е. Арноцкая: обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна обзора;  
И.А. Кудрявцев: написание отдельных глав рукописи;  
В.Е. Шевченко: научное редактирование текста, подготовка рукописи к публикации.

**Authors' contributions**

T.I. Kushnir: reviewing of publications of the article's theme, writing individual chapters of the manuscript, formation of a general list of references;  
N.E. Arnotskaya: reviewing of publications of the article's theme, developing the research design;  
I.A. Kudryavtsev: writing individual chapters of the manuscript;  
V.E. Shevchenko: scientific editing, manuscript preparation for publication.

**ORCID авторов/ORCID of authors**

Т.И. Кушнир/T.I. Kushnir: <https://orcid.org/0000-0001-9626-6847>  
Н.Е. Арноцкая/N.E. Arnotskaya: <https://orcid.org/0000-0002-0154-8604>  
И.А. Кудрявцев/I.A. Kudryavtsev: <https://orcid.org/0000-0001-7588-1066>  
В.Е. Шевченко/V.E. Shevchenko: <https://orcid.org/0000-0002-0401-9900>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

# Современные подходы к оценке влияния загрязнения окружающей среды на онкологический риск

Л. Г. Соленова

НИИ канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина»  
Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, стр. 15

**Контакты:** Лия Геннадьевна Соленова lsolenova@mail.ru

Современные оценки вклада загрязнения окружающей среды в онкологическую смертность находятся в диапазоне 1–20 %, существенно варьируя в зависимости от экологического состояния территорий, плотности размещения промышленных предприятий, профессионального состава населения. Подходы к анализу влияния загрязнения окружающей среды на риск формирования онкологических заболеваний включают:

- расстановку исследовательских приоритетов на локальном, региональном и общероссийском уровнях для выбора исследований, способных принести максимальную социальную выгоду;
- выбор метода исследования, адекватно отвечающего достижению поставленных целей;
- системный анализ планируемого исследования для определения обеспеченности всех этапов работы ресурсами, кадрами, информацией;
- мониторинг загрязнения атмосферного воздуха с анализом фракционного состава взвешенных частиц;
- сопряжение имеющихся баз данных по загрязнению окружающей среды и состоянию здоровья населения;
- использование достижений молекулярной биологии для определения донозологических проявлений канцерогенеза и разработке более тонких и разнообразных методов исследования причинно-следственных связей окружающей среды и канцерогенного риска.

Эффективная реализация актуальных планов действий, нацеленных на снижение влияния неблагоприятных факторов окружающей среды на онкологический риск для населения России, требует подготовки кадров, владеющих современными методами проведения эпидемиологических исследований, издания методических материалов, руководств, учебников, достаточного финансирования исследований.

**Ключевые слова:** окружающая среда, загрязнение, канцерогенные факторы, онкологический риск, расстановка приоритетов, подготовка кадров

**Для цитирования:** Соленова Л. Г. Современные подходы к оценке влияния загрязнения окружающей среды на онкологический риск. *Успехи молекулярной онкологии* 2020;7(1):17–22.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-1-17-22



## Current approaches to assessment of the impact of the environmental contamination on cancer risk

L. G. Solenova

Research Institute of Carcinogenesis, N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia;  
Build. 15, 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

The current estimates of the contribution of the environmental contamination to cancer mortality range from 1 to 20 %, being a function of the ecological conditions, the density of industrial enterprises, occupational composition of the population, and others. Assessment of the impact of environmental contamination on cancer risk includes: • setting research priorities on the local, regional, and on the all-Russian levels; • the selection of the research that may be maximally socially profitable; • the choice of the research method that the most adequately meets the research objectives; • systemic analysis of the planned research to determine the availability of the resources, personnel, and information; • monitoring of atmospheric pollutions with analysis of the fraction composition of the particulate matters; • coordination of available data basis on environment and the population health conditions; • the implementation of the of molecular biology to determine prenosological manifestation of carcinogenesis and development of fine and diverse research methods on relationships between the environment and cancer risk.

For effective implementation of the research objectives aimed to decrease the impact of hazard factors with special reference on cancer risk in the Russian population, it is necessary: to create training personnel capable of providing epidemiologic studies, using up-to day methods, publication of methodological materials, text books, and sufficient funding of studies.

**Key words:** environment, contamination, carcinogens, cancer risk, setting priorities, training personnel

**For citation:** Solenova L.G. Current approaches to assessment of the impact of the environmental contamination on cancer risk. *Uspekhii molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2020;7(1):17–22. (In Russ.).

### Введение

Злокачественные новообразования (ЗНО) относятся к числу социально значимых заболеваний, список которых утвержден Постановлением Правительства Российской Федерации от 01.12.2004 № 715. Онкологические заболевания занимают 2-е место в структуре смертности населения после сердечно-сосудистых заболеваний. В Указе Президента «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года» (№ 204 от 07.05.2018) определены значения целевых индикаторов, которые планируется достичь к 2024 г. в рамках нового федерального проекта. Один из них – снижение смертности от новообразований до 185,0 на 100 тыс. населения, что ниже уровня 2017 г. (200,6 на 100 тыс. населения) почти на 8 %.

Заболеваемость ЗНО и смертность от них населения России территориально варьируют в широком диапазоне показателей. По данным, например, за 2014 г., стандартизованный показатель заболеваемости в России составил 235 на 100 тыс. населения среди мужчин и женщин. Крайние показатели – 144 (Республика Дагестан) и 319 (Чукотский автономный округ) на 100 тыс. населения [1]. Несомненно, такие различия обусловлены действием комплекса факторов: экологическим состоянием территорий, плотностью размещения промышленных предприятий, национальными особенностями, образом жизни населения и др.

«Положение о социально-гигиеническом мониторинге», утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации (от 02.02.2006 № 60), определяет в качестве его ключевых задач получение достоверной и объективной информации о состоянии окружающей среды (ОС) и здоровья населения, ее системный анализ, разработку предложений для принятия управленческих решений и их информационную поддержку. Решение поставленных задач во многом относится к области, разрабатываемой экологической эпидемиологией. Это выявление вредных факторов ОС, определение этиологических связей между их воздействием и нарушением здоровья населения и на основе полученных эпидемиологических данных – разработка предложений по профилактике вредного влияния факторов ОС на здоровье населения, прежде всего канцерогенного воздействия. В последние годы к ним добавились задачи оценки риска в виде определения вероятности канцерогенных эффектов на индивидуальном и популяционном уровнях в результате воздействия вредных факторов с последующим управлением риском.

### Вклад средовых факторов в онкологическую заболеваемость

Этиология ЗНО включает сложную комбинацию и взаимодействие различных факторов, таких как наследственная предрасположенность, питание, курение, характер репродуктивного поведения, загрязне-

ние ОС и производственной среды и др. Оценки вклада средовых и профессиональных канцерогенных факторов в смертность населения от ЗНО варьируют в широком диапазоне в зависимости от методов расчета и того, что именно авторы включают в понятие ОС. По общепринятым оценкам, сделанным более 30 лет назад английскими эпидемиологами Р. Доллом и Р. Пито, доля смертей от ЗНО, обусловленных загрязнением ОС, составляет 2 % (<1–5 %), действием профессиональных факторов – 4 % (2–8 %) [2]. Многочисленные оценки последних лет, определяющие вклад загрязнения ОС в онкологическую смертность, в том числе и предлагаемые Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), находятся в диапазоне 1–20 % [3]. Вклад этих факторов в смертность от отдельных локализаций ЗНО значительно различается. Например, вклад загрязнения воздуха в смертность от рака легкого ВОЗ оценивает в 47 %: 17 % – загрязнение жилищной среды, 14 % – загрязнение атмосферного воздуха, 7 % – содержание радона в помещениях, 7 % – профессиональная экспозиция, 2 % – недобровольное курение [4].

Если принять среднюю цифру 10 %, то, например, в 2017 г. в России число смертей от ЗНО, обусловленных действием канцерогенных факторов ОС, могло составить 29,5 тыс. Эти значения относятся ко всему населению, в то время как наличие источников загрязнения, социально-профессиональная структура населения и их проекция на онкологическую заболеваемость и смертность могут иметь существенные территориальные различия. Как известно, в России существует множество городов, в которых предприятия с канцерогеноопасными производствами несут градообразующую функцию с формированием соответствующего атмосферного фона и широкой занятостью в них местного населения. Можно предполагать, что доля обусловленной этими факторами онкологической патологии в таких городах существенно выше представленных ранее оценок, относящихся ко всей популяции.

Население в целом далеко не однородно в отношении чувствительности к действию вредных факторов ОС: существуют группы, наиболее восприимчивые к действию канцерогенов. В первую очередь это относится к детям. ЗНО у детей входят в число не только социально значимых, но и медико-географических критериев здоровья населения, применяемых при оценке экологического состояния территории. Местности с постоянным превышением уровня детской онкологической заболеваемости в 1,5–2 раза относят к зонам чрезвычайной экологической ситуации, в 2 раза и более – к зонам экологического бедствия [5]. Существенные региональные различия онкологической заболеваемости детей в России предполагают наличие определяющих факторов. Не исключено, что на высокие показатели детской онкологической заболеваемости, например, в ряде промышленных

областей России влияет высокая техногенная нагрузка, в том числе и канцерогенами, на ОС. По оценкам ВОЗ, примерно 5 % случаев ЗНО у детей обусловлено экспозицией к канцерогенам в ОС [4]. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что из-за быстрого роста клеток и незрелости систем организма дети во время внутриутробного развития, в раннем детстве и пубертатном периоде особенно чувствительны к токсическому и канцерогенному воздействию табачного дыма, полициклических ароматических углеводородов, взвешенных частиц, нитрозаминов, пестицидов, полихлорированных дифенилов, металлов и радиации. Некоторые злокачественные опухоли имеют длительный латентный период развития. У детей впереди долгая жизнь, и потенциал канцерогенных факторов, воздействовавших на детский организм в указанные временные окна, может иметь отсроченный эффект и реализоваться в виде ЗНО с большей вероятностью, чем идентичное воздействие на взрослых. Весьма вероятно, что экспозиция детей к канцерогенам в большей степени влияет на онкологический риск в течение всей жизни человека, чем на риск возникновения рака в детстве, и актуальность изучения этих взаимосвязей не вызывает сомнений [6, 7].

Загрязнение ОС и производственной среды, в отличие от наследственных, поведенческих причин, относится к числу контролируемых и управляемых, т. е. в значительной степени предотвратимых, факторов онкологического риска посредством целенаправленного применения санитарных, технических, технологических мероприятий, законодательных и нормативных мер.

Примеры установленной связи воздействия факторов ОС и производственной среды с онкологическим риском весьма многочисленны [8]. Их спектр постоянно расширяется. Так, результаты недавних исследований подтвердили связь риска развития рака молочной железы с кумулятивной экспозицией к пестицидам, другим химическим соединениям (дихлордифенилтрихлорэтану, диоксидам, растворителям и др.), а также с загрязнением атмосферного воздуха [9, 10]. Развитие новых технологий и соединений несет с собой их потенциальное воздействие на общее население и профессиональные группы, а значит, возникновение новых рисков, требующих изучения и оценки.

Наибольшее число эпидемиологических исследований посвящено влиянию загрязнения атмосферного воздуха на онкологический риск, поскольку это та среда, контакт с которой неизбежен и может нанести наиболее существенный ущерб здоровью. Эксперты Международного агентства по изучению рака пришли к заключению, что существует достаточно доказательств канцерогенности загрязнения атмосферного воздуха (группа 1). Доказана его связь с раком легкого (взвешенные частицы — канцерогенный фактор, вызывающий развитие этого заболевания (группа 1)), выявлена положительная связь с риском развития рака мочевого пузыря. Загрязнение воздуха и взвешен-

ные частицы, обладая генотоксичными свойствами, вызывают генетические повреждения, являющиеся предшественниками канцерогенеза и способные усиливать злокачественную прогрессию через оксидативный стресс и постоянное воспаление [11].

Загрязнение атмосферного воздуха на отдельных территориях России существенно отличается как по составу, так и по уровню содержания отдельных компонентов, поэтому несомненна необходимость эпидемиологических исследований, оценивающих онкологический риск населения в условиях конкретного загрязнения ОС [12].

Промышленные и бытовые отходы в почве, содержащие канцерогенные вещества, могут быть источником вторичного загрязнения воздуха, а также поверхностных водоемов и грунтовых вод. Возможно поступление канцерогенов из воды и почвы в сельскохозяйственные продукты, а с ними — в организм человека. По данным за 2017 г., в России выбросы в атмосферу составили 15,5 млн т от стационарных и 14,6 млн т от передвижных источников, сброс загрязненных сточных вод составил 13,6 млрд м<sup>3</sup> [13]. Поэтому эпидемиологический мониторинг онкологического риска в комплексе с данными по загрязнению ОС канцерогенами необходим для принятия мер, ограничивающих их воздействие на популяцию.

#### **Расстановка приоритетов при изучении связи окружающая среда – онкологический риск**

С учетом масштаба проблемы ОС и онкологического риска, а также разнообразия входящих факторов становится очевидной необходимость системного подхода, четкой организации, эффективного использования средств в ее исследовании. В настоящее время ведущим принципом является расстановка приоритетов, которая диктуется в том числе и необходимостью рационального распределения финансовых средств. Теме определения приоритетов, а также наиболее иллюстративных показателей для их характеристики в свете растущего понимания комплексной природы их связи и взаимодействия было посвящено совещание Европейского бюро ВОЗ 27–28 апреля 2017 г. (Кашкайш, Португалия) [14].

Отечественная эпидемиология ЗНО не может развиваться в отрыве от международного пути развития этой фундаментальной науки: подходы к исследованиям должны быть в русле их общемирового направления, в котором ключевым моментом является расстановка приоритетов в эпидемиологии рака, для чего могут быть применены следующие критерии:

- масштаб воздействия — численность населения, подвергающегося возможному канцерогенному воздействию;
- острота воздействия на здоровье населения (тип, частота, уровень и тренды экспозиции);
- тяжесть заболевания — высокая онкологическая заболеваемость, смертность и инвалидность;

- рост показателей онкологической заболеваемости;
- природа воздействия вещества или смеси агентов — пути поступления (атмосферный воздух, вода, почва);
- вероятность отдаленных неблагоприятных эффектов на протяжении всей жизни человека — от пренатального периода до пожилого возраста;
- наличие кластеров экспозиции и эффекта;
- высокие показатели заболеваемости фоновыми заболеваниями, обусловленными загрязнением ОС;
- существование особо чувствительных и уязвимых групп среди населения (дети, инвалиды, пожилые люди);
- социальный запрос на профилактику воздействия, возможность предотвращения воздействия, наличие административной поддержки, средств и возможностей;
- инновация и развитие — получение новых знаний или углубление/детализация существующих, например выявление новых локализаций при действии известных канцерогенных факторов;
- новизна — идентификация новых рисков, малоизвестных опасных или новых этиологических факторов.

Растет число исследований, посвященных факторам ОС, обладающим доказанным или вероятным генотоксическим и эпигенетическим действием, повреждающим действием на иммунную и эндокринную системы организма человека, что в конечном итоге может привести к развитию ЗНО и других заболеваний. Современная эпидемиология объединяет их общим термином омиксных данных, которые наряду с персональными показателями, биомаркерами позволяют характеризовать экспосом человека — совокупность внешних и внутренних факторов, действующих на организм и формирующих его внутреннюю среду и ответ на них. В настоящее время изучение экспосома входит в число исследовательских приоритетов в эпидемиологии рака [15–18].

Лимитирующие показатели загрязнения ОС и производственной среды в основном относятся к отдельным его компонентам. Однако, как правило, загрязнение ОС представлено смесями канцерогенных и неканцерогенных повреждающих агентов, действие которых определяется их качественным и количественным составом. Поэтому актуальными направлениями исследований являются эпидемиологическое изучение действия смесей и оценка связанного с ними канцерогенного риска [19].

Базы данных по состоянию здоровья населения, концентрирующие рутинную информацию по заболеваемости и смертности, имеют ограниченную возможность ее использования для изучения связей ОС и здоровья. В случае использования данных необходим сбор дополнительной информации в соответствии с задачами исследования. Целесообразна координированная разработка индивидуальных регистров (канцер-регистры, регистры врожденных пороков разви-

тия, профессиональных заболеваний и др.), которые можно было бы совмещать с данными мониторинга ОС, регистрами профессиональной занятости населения.

В отношении мониторинга воздуха следует отметить, что его уровень в России не отвечает мировым стандартам, т. е. круглогодичному непрерывному слежению в течение 24 ч с получением характеристик загрязнения не только по содержанию отдельных загрязнителей, но и возможностью анализа взвешенных частиц с учетом фракционного состава. Последнее особенно важно, поскольку в настоящее время именно респираторной части пыли (PM<sub>2,5</sub> и PM<sub>10</sub>) отводится существенная роль в развитии рака легкого, других заболеваний органов дыхания, сердечно-сосудистых заболеваний и др. Эти фракции обладают наибольшей адсорбционной способностью в отношении вредных соединений, включая канцерогены.

### Заключение

В эпидемиологии ЗНО приоритетность определяют уже существующие и новые направления с использованием адекватных методов исследования связи ОС — онкологический риск:

- загрязнение атмосферного воздуха канцерогенными факторами различной природы с точной оценкой экспозиции;
- загрязнение воды, почвы и продуктов питания канцерогенами, в частности пестицидами;
- промышленные выбросы канцерогенных веществ, их рассеивание в ОС и оценка риска, связанного с этим;
- новые профессиональные факторы, несущие возможный канцерогенный риск, например наночастицы;
- действие смесей химических соединений, обладающих различным канцерогенным потенциалом в зависимости от их состава;
- разработка чувствительных маркеров воздействия, эффекта и восприимчивости организма с использованием омиксных технологий;
- изучение экспосома как совокупности внешних и внутренних факторов, действующих на организм и формирующих его внутреннюю среду и ответ на них.

Следует подчеркнуть, что по своей природе эпидемиологические исследования всегда в определенной степени обладают новизной, так как они выполняются на территориях с разными климатическими условиями, уровнями и спецификой загрязнения ОС, популяционными характеристиками, обусловленными демографическими, этническими, экономическими, социальными и прочими различиями, существенно влияющими на степень онкологического риска. Результаты эпидемиологических исследований, характеризующих влияние конкретных экологических и социально-экономических условий на онкологическую заболеваемость населения, определяют разработку целенаправленных превентивных мер.

Кратко суммируя все сказанное, можно сформулировать следующие подходы к анализу влияния загрязнения ОС на риск формирования онкологических заболеваний:

- расстановка исследовательских приоритетов на локальном, региональном и общероссийском уровнях для выбора исследований, способных принести максимальную социальную выгоду;
- выбор метода исследования, адекватно отвечающего достижению поставленных целей;
- системный анализ планируемого исследования для определения обеспеченности всех этапов работы ресурсами, кадрами, информацией;
- совершенствование системы мониторинга загрязнения атмосферного воздуха, в частности анализ взвешенных частиц с учетом фракционного состава;
- создание механизма сопряжения имеющихся баз данных о загрязнении ОС и состоянии здоровья населения;
- использование достижений молекулярной биологии для определения донозологических проявлений канцерогенеза и разработка более тонких и разнообразных методов исследования причинно-следственных связей ОС и канцерогенного риска.

В свете изложенного нельзя не отметить, что состояние изучения действия факторов ОС на онкологическую заболеваемость и смертность населения в России вряд ли можно признать благополучным, и главной причиной является нехватка специалистов в области эпидемиологии неинфекционных заболеваний. Отсутствуют современные методические руководства по аналитической эпидемиологии на русском

языке. В российских журналах уровень требований к представляемым материалам ниже, чем в зарубежных соответствующего профиля. Отсутствие достаточного числа компетентных специалистов в области экологической эпидемиологии не позволяет повысить требования к публикуемым эпидемиологическим материалам. Финансирование научно-исследовательских и практических учреждений, в круг интересов которых входит изучение здоровья населения эпидемиологическими методами, оставляет желать лучшего. Это приводит к невозможности использования в исследованиях адекватных, но дорогостоящих эпидемиологических методов. Таким образом, для улучшения ситуации с исследованиями в области эпидемиологии ЗНО в первую очередь необходимы:

- подготовка кадров, владеющих современными методами проведения эпидемиологических исследований (эпидемиологов, специалистов по программному обеспечению и статистической обработке данных);
- издание методических материалов, руководств, учебников по эпидемиологии неинфекционных заболеваний;
- адекватное финансирование исследований;
- расширение международного сотрудничества между российскими и зарубежными специалистами для интенсификации внедрения международного опыта в российскую практику.

Решение этих насущных задач позволит создать условия, обеспечивающие разработку и эффективную реализацию актуальных планов действий, нацеленных на снижение влияния неблагоприятных факторов ОС на онкологический риск для населения России.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2015. 236 с. [State of oncological care in Russia in 2014. Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU "NMITS radiologii" Minzdrava Rossii, 2015. 236 p. (In Russ.)].
2. Долл Р., Пито Р. Причины рака. Пер. с англ. Ю.Д. Ивашенко. Под ред. А.И. Быкореза. Киев: Наукова думка, 1984. 254 с. [Doll R., Pito R. The causes of cancer. Translation from English Yu.D. Ivashchenko. Ed.: A.I. Bykorez. Kiev: Naukova dumka, 1984. 254 p. (In Russ.)].
3. Madia F., Worth A., Whelan M., Corvi R. Carcinogenicity assessment: addressing the challenges of cancer and chemicals in the environment. *Environ Int* 2019;128:417–29. DOI: 10.1016/j.envint.2019.04.067.
4. Prüss-Ustün A., Wolf J., Corvalan C. et al. Preventing disease through healthy environments: a global assessment of the environmental burden of disease. WHO 2016. Pp. 1–176.
5. Критерии оценки экологической обстановки территорий для выявления зон чрезвычайной экологической ситуации и зон экологического бедствия. М.: Министерство охраны окружающей среды и природных ресурсов РФ, 1992. 56 с. [Criteria of assessment of territorial ecological state to reveal zones of extreme ecological situations and zones of ecological calamity. Moscow: Ministry protection of environment and natural resources of RF, 1992. 56 p. (In Russ.)].
6. Biro F.M., Deardorff J. Identifying opportunities for cancer prevention during preadolescence and adolescence: puberty as a window of susceptibility. *Adolesc Health* 2013;52(Suppl. 5):15–20. DOI: 10.1016/j.jadohealth.2012.09.019.
7. Hughes C., Waters M.D. What stressors cause cancer and when?: Windows of Developmental Susceptibility in Reproduction and Cancer. 2017. DOI: 10.1002/9781119023647.ch1.
8. Clapp R.W., Howe G., Lefevre M.J. Environmental and occupational causes of cancer. A review of recent scientific literature. Lowell: Center for sustainable production, 2005. 46 p.
9. Rodgers K.M., Udesky J.O., Rudel R.A., Brody J.G. Environmental chemicals and breast cancer: an updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms. *Environ Res* 2018;160:152–82. DOI: 10.1016/j.envres.2017.08.045.
10. Rudel R.A., Fenton S.E., Ackerman J.M. et al. Environmental exposures and

- mammary gland development: state of the science, public health implications, and research recommendations. *EHP* 2011;119(8):1053–61.  
DOI: 10.1289/ehp.1002864.
11. IARC monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Outdoor Air Pollution. Lion, 2015;109. Available at: [file:///C:/Users/tnnik/Downloads/mono109\\_secured.pdf](file:///C:/Users/tnnik/Downloads/mono109_secured.pdf).
  12. Земляная Г.М., Соленова Л.Г., Кислицын В.А. Загрязнение атмосферного воздуха и смертность населения в областных и краевых центрах Российской Федерации. *Вестник РАМН* 2006;5:7–12. [Zemlyanaya G.M., Solenova L.G., Kislitsin V.A. Atmospheric air pollution and population mortality in Russian Federation regions. *Vestnik RAMN = Bulletin of RAMS* 2006;5:7–12. (In Russ.)].
  13. Российский статистический ежегодник 2018. М.: Росстат, 2018. 694 с. [Russian statistical yearbook 2018. Moscow: Rosstat, 2018. 694 p. (In Russ.)].
  14. Setting research priorities in environment and health. Report of a meeting in Cascais, Portugal 27–28 April 2017.
  15. Boffetta P. Biomarkers in cancer epidemiology: an integrative approach *Carcinogenesis* 2010;31(1):121–6. DOI: 10.1093/carcin/bgp269.
  16. Verma M., Banerjee H.N. Metabolomic approaches in cancer epidemiology *Diseases* 2015;3(3):167–75. DOI: 10.3390/diseases3030167.
  17. Khoury M.J., Freedman A.N., Gillanders E.M. et al. Frontiers in cancer epidemiology: a challenge to the research community from the Epidemiology and Genomics Research Program at the National Cancer Institute. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21(7):999–1001. DOI: 10.1158/1055-9965.
  18. Vineis P. From John Snow to omics: the long journey of environmental epidemiology. *Eur J Epidemiol* 2018;33:355–63. DOI: 10.1007/S10654-018-0398-4.
  19. Bopp S.K., Barouki R., Brack W. et al. Current EU research activities on combined exposure to multiple chemicals. *Environ Int* 2018;120:544–62. DOI: 10.1016/J.Envint.2018.07.037.

**ORCID автора/ORCID of author**

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

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

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

# Значение предсуществующей лекарственной устойчивости, обусловленной гиперэкспрессией Р-гликопротеина, для формирования резистентности к бортезомибу

Л.А. Лалетина, Н.И. Моисеева, А.Ф. Карамышева

НИИ канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, стр. 15

Контакты: Лидия Александровна Лалетина [ranlidia@gmail.com](mailto:ranlidia@gmail.com)

**Цель исследования** – изучить влияние предсуществующей лекарственной устойчивости по механизму активации ABC-транспортеров – гиперэкспрессии Р-гликопротеина (Pgp) – на пути развития резистентности к протеасомному ингибитору бортезомибу. **Материалы и методы.** В качестве моделей использовали культуры RPMI8226 и K562/i-S9 (с гиперэкспрессией Pgp) и их резистентные к бортезомибу сублинии RPMI8226/btz-6 и K562/i-S9vlc. Применяли методы МТТ-теста, проточной цитометрии, вестерн-блоттинга и полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием системы Human Signal Transduction Pathway Finder.

**Результаты.** В клетках сублинии RPMI8226/btz-6 не изменялась экспрессия основных белков PI3K-АКТ и NF-κB-сигнальных путей. Однако в клетках сублинии K562/i-S9vlc с гиперэкспрессией Pgp значительно повышалась экспрессия АКТ-киназы и снижалась экспрессия белка PTEN. В клетках сублинии RPMI8226/btz-6 были найдены значительные изменения в экспрессии генов (42 %), относящихся к ряду основных сигнальных путей в опухолевой клетке, а именно активация 3–4 генов в сигнальных путях, относящихся к гипоксии, оксидативному стрессу, PPAR и p53. Наибольшая активация в этих клетках обнаружена в TGFβ-сигнальном пути. В устойчивых клетках K562/i-S9vlc усилилась экспрессия только 5 генов (10 %): Fas, HMOX1, CPT2, ICAM и SOCS3. Также были выделены 3 гена, экспрессия которых изменилась в обеих устойчивых сублиниях: Fas, HMOX1 и CPT2. Далее мы показали, что в сублинии RPMI8226/btz-6, наряду с изменениями экспрессии генов сигнальной трансдукции, присутствует большой пул CD138-негативных клеток, а в сублинии K562/i-S9vlc повышается количество клеток, экспрессирующих CD34, и снижается количество CD13.

**Заключение.** Мы выявили, что в формировании устойчивости к бортезомибу в клетках с отсутствием экспрессии Pgp и в клетках с гиперэкспрессией этого белка задействованы разные сигнальные пути. Кроме этого, клеточной линии без активированных путей устойчивости необходимы более масштабные перестройки в сигнальной системе для приобретения резистентности к бортезомибу. Однако и в том и в другом случае бортезомиб приводит к изменению иммунофенотипа клеток – к появлению дедифференцированных субпопуляций.

**Ключевые слова:** бортезомиб, множественная миелома, Р-гликопротеин, сигнальные пути, АКТ, PTEN, NF-κB, TGFβ, иммунофенотип, CD138, CD34

**Для цитирования:** Лалетина Л.А., Моисеева Н.И., Карамышева А.Ф. Значение предсуществующей лекарственной устойчивости, обусловленной гиперэкспрессией Р-гликопротеина, для формирования резистентности к бортезомибу. Успехи молекулярной онкологии 2020;7(1):23–31.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-1-23-31



## The importance of preexisting drug resistance due to overexpression of P-glycoprotein for the formation of resistance to bortezomib

L.A. Laletina, N.I. Moiseeva, A.F. Karamysheva

Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; Build. 15, 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

**Objective of the study.** In our work we investigated the effect of pre-existing drug resistance by the mechanism of activation of ABC transporters – P-glycoprotein (Pgp) overexpression – on the development of resistance to the proteasome inhibitor bortezomib.

**Materials and methods.** Cultures RPMI8226 and K562/i-S9 (with Pgp overexpression) and their bortezomib-resistant sublines RPMI8226/btz-6 and K562/i-S9vlc were used as models. The methods used were MTT test, flow cytometry, Western blot and real-time polymerase chain reaction using the Human Signal Transduction Pathway Finder system.

**Results.** The expression of the main PI3K-АКТ and NF-κB signaling pathways did not change in RPMI8226/btz-6 subline cells. However, АКТ kinase expression was significantly increased and PTEN protein expression was reduced in K562/i-S9vlc cells with Pgp-overexpression. Significant changes in gene expression (42 %) were found in RPMI8226/btz-6 cells related to a number of main signaling pathways in the tumor cell, namely: activation of 3–4 genes in signaling pathways related to hypoxia, oxidative stress, PPAR and p53. The highest activation in these cells was found in the TGFβ signaling pathway. In resistant K562/i-S9vlc cells, expression of only 5 genes (10 %) increased:

*Fas, HMOX1, CPT2, ICAM, and SOCS3. Three genes were also identified that changed in both resistant sublines: Fas, HMOX1 and CPT2. Further, we showed that in the RPMI8226/btz-6 subline, along with changes in the expression of signal transduction genes, there is a large pool of CD138-negative cells, and in the K562/i-S9v1c subline, the number of cells expressing CD34 increases and the number of CD13 decreases.*

**Conclusion.** *We found that different signaling pathways are involved in the formation of resistance to bortezomib in the absence of Pgp expression and its overexpression. In addition, a cell line without activated resistance pathways requires more extensive rearrangements in the signal system to acquire resistance to bortezomib. However, in both cases, bortezomib leads to a change in the immunophenotype of the cells – to the appearance of dedifferentiated subpopulations.*

**Key words:** *bortezomib, multiple myeloma, P-glycoprotein, signal pathways, AKT, PTEN, NF-κB, TGFβ, immunophenotype, CD138, CD34*

**For citation:** *Laletina L.A., Moiseeva N.I., Karamysheva A.F. The importance of preexisting drug resistance due to overexpression of P-glycoprotein for the formation of resistance to bortezomib. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2020;7(1):23–31. (In Russ.).*

## Введение

Исследование механизмов устойчивости к различным лекарственным средствам остается одним из главных направлений современной онкологии. В клинической практике часто существуют 2 ситуации: развитие резистентности к лекарственному препарату после курсов лечения и изначальная устойчивость к тому или иному веществу, т.е. предсуществующая резистентность [1]. Предсуществующая устойчивость часто связана с гиперэкспрессией ABC-транспортера Р-гликопротеина (Pgp). Активация Pgp характерна как для солидных опухолей, так и для опухолей кровяной системы, в частности для множественной миеломы (ММ).

В случае ММ гиперэкспрессия Pgp может являться результатом предшествующей терапии цитостатическими препаратами: мелфаланом, доксорубицином, циклофосфамидом [2], однако сейчас они не используются в 1-й линии терапии ММ. Также экспрессия Pgp увеличивается в ответ на гипоксию, которая развивается в костном мозге, пораженном ММ [3]. Кроме этого, показано, что гиперэкспрессия Pgp наблюдается в клетках при плазмоцитоклеточной лейкемии, генерализованного варианта ММ [4]. В нашей работе мы оценивали влияние гиперэкспрессии Pgp на пути формирования устойчивости к протеасомному ингибитору бортезомибу, который входит в 1-ю линию лечения ММ.

Устойчивость к бортезомибу может быть связана и с изменением во многих сигнальных путях, таких как PI3K/AKT/PTEN/mTOR [5] и путь NF-κB [6]. Однако эти пути по-разному функционируют в клетках, чувствительных к химиопрепаратам и уже резистентных к ним [7].

Также важным аспектом резистентности является изменение иммунофенотипа опухолевых клеток, исследование которого важно и с практической точки зрения, – определение резидуальной болезни. Клетки ММ характеризуются экспрессией CD38<sup>+</sup> и специфического маркера CD138 или синдекана 1. Синдекан 1 (SDC1, CD138) – ключевая молекула адгезии клеточной поверхности, необходимой для поддержания морфологии клеток и взаимодействия с микроокружением,

и его дисфункция связана с опухолевой прогрессией и ответом на химиотерапию [8].

**Цель исследования** – изучение влияния предсуществующей лекарственной устойчивости по механизму активации ABC-транспортеров – гиперэкспрессии Pgp – на пути развития резистентности к протеасомному ингибитору бортезомибу.

## Материалы и методы

**Клеточные культуры.** В работе использовали клетки линии ММ RPMI8226 и клетки K562/i-S9, которые были получены из линии хронического миелолейкоза человека K562 путем трансфекции геном *MDR1* (ABCВ1). Клетки K562/i-S9 предоставлены Е.Б. Мечетнером (Калифорнийский университет, Ирвайн, США). Клеточные линии RPMI8226 получены из российской коллекции культур клеток позвоночных института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Также в работе использовали полученные нами ранее сублинии, устойчивые к бортезомибу, – RPMI8226/btz-6 [9] и K562/i-S9v1c [10]. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10 % телячьей эмбриональной сыворотки (FCS; PAA, Австрия) при температуре 37 °С в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub>.

**МТТ-тест.** Подробная методика оценки цитотоксичности веществ описана в нашей предыдущей статье [9]. Вкратце, клетки рассевали в 96-луночные планшеты по 20–25 тыс. клеток в лунку и инкубировали в течение 48 ч с бортезомибом (PS-341) (Selleckchem, США) либо с доксорубицином (Sigma-Aldrich, США). Вычисляли IC<sub>50</sub> – полумаксимальную эффективную концентрацию препарата, которая вызывает гибель 50 % клеток. Уровень оптической плотности определяли с помощью спектрофотометра MultiScan FC (Thermo Scientific, США) при длине волны 492 нм.

**Проточная цитофлуориметрия.** Экспрессию белков оценивали методом прямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител PE-CD38 (Merc Millipore, США), FITC-CD13 (Elabscience, США), APC-CD138, FITC-CD34 (Sony Biotechnology, США), APC-CD19, PE-CD20 (BD Biosciences, США) на проточном цитометре BD FACSCanto II (BD Biosciences, США) с программным обеспечением DiVa. Суспензию

нефиксированных клеток (500 тыс. клеток на 1 точку) инкубировали в 100 мкл PBS (натрий-фосфатном буфере) с добавлением антител в соотношении, указанном в протоколе производителя, в течение 40 мин в темноте при комнатной температуре. Затем дважды отмывали в PBS. В качестве маркера жизнеспособности клеток использовали пропидий йодид (PI).

**Оценка экспрессии генов различных сигнальных путей с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).** Тотальную РНК выделяли из клеток реагентом RNA PureZol (Bio-Rad, США) по протоколу производителя. Качество РНК проверяли с помощью электрофореза в 1 % агарозном геле, содержащем 0,01 % бромистого этидия. Обратную транскрипцию проводили с помощью ревертазы М-MLV (Thermo Fisher Scientific, США). Для анализа экспрессионной активности генов сигнальных путей использовали систему Human Signal Transduction Pathway Finder RT2Profiler PCR Array (Qiagen, США), в которую входят 84 пары праймеров к целевым генам для сигнальных путей, а также 5 генов домашнего хозяйства. ПЦР-РВ проводили с интеркалирующим флуоресцентным агентом Eva Green (Синтол, Россия). ПЦР-РВ ставили в амплификаторе компании Bio-Rad (США). Шаги амплификации: 95 °С – 5:00 мин, 92 °С – 00:10 мин, 60 °С – 00:20 мин, кривая плавления (Melt-кривая) с 72 до 95 °С. Проводили 2 независимых эксперимента. Оценку результатов ПЦР-РВ осуществляли методом  $\Delta\Delta C_t$  (разница циклов амплификации исследуемого гена и контрольного гена).

**Вестерн-блоттинг.** Получение клеточных лизатов, разделение белков в геле и перенос на мембрану проводили согласно описанным ранее методам [9]. Для равномерного нанесения белка в каждой пробе определяли концентрацию общего белка по методу Бредфорда [11], в лунки наносили по 50 нг белковых лизатов. Мембраны инкубировали со специфическими моноклональными антителами в соответствии с протоколом производителя в течение ночи при температуре 4 °С. Далее мембраны инкубировали со вторыми антителами, конъюгированными с пероксидазой (Jackson ImmunoResearch, США), в разведении 1:10 000 в течение 1 ч и затем проявляли с помощью ECL-реагента (Thermo Fisher, США). Съемку проводили на приборе для люминесцентного анализа ImageQuantLas 4000 (США). При необходимости количественную оценку содержания белка осуществляли методом денситометрии с помощью программы ImageJ. Антитела, использованные в работе: АКТ Antibody Rabbit mAb #9272, NF-κB p65 (D14E12) XP® Rabbit mAb #8242, Phospho-NF-κB p65 (Ser536) (93H1) Rabbit mAb #3033, PTEN (138G6) Rabbit mAb #9559 (Cell Signaling Technology, Нидерланды), β-Actin Antibody (C4) HRPsc-47778 HRP (Santa Cruz Biotechnology, США).

**Статистический анализ.** Опыты ставили в 2–3 повторах, данные представлены как  $M \pm SD$ . Статистический анализ данных проводили с помощью парамет-

рического t-теста. Статистически значимой разницей считалась при  $p < 0,05$ .

### Результаты

#### Оценка устойчивости в парах клеточных линий.

В работе мы исследовали значение гиперэкспрессии Pgp на пути развития устойчивости клеток к протеасомному ингибитору бортезомибу. Работа велась на 2 клеточных линиях: K562/i-S9, гиперэкспрессирующей Pgp, и RPMI8226, в которой Pgp не экспрессируется, а также на 2 полученных сублиниях, резистентных к бортезомибу: K562/i-S9vlc и RPMI8226/btz-6.

Ранее мы продемонстрировали, что в клетках сублинии RPMI8226/btz-6 устойчивость к бортезомибу повышается в 2 раза и при этом появляется перекрестная устойчивость к доксорубину, не связанная с Pgp, так как мы показали полное отсутствие экспрессии этого белка на поверхности клеток данной сублинии [9]. Для сублинии K562/i-S9vlc были характерны 10-кратная устойчивость к бортезомибу и повышение количества Pgp [10], и на 1-м этапе мы исследовали, появилась ли у резистентных к бортезомибу клеток K562/i-S9vlc дополнительная устойчивость и к доксорубину (табл. 1). Сублиния клеток K562/i-S9vlc устойчивость к доксорубину не приобрела ( $p > 0,05$ ).

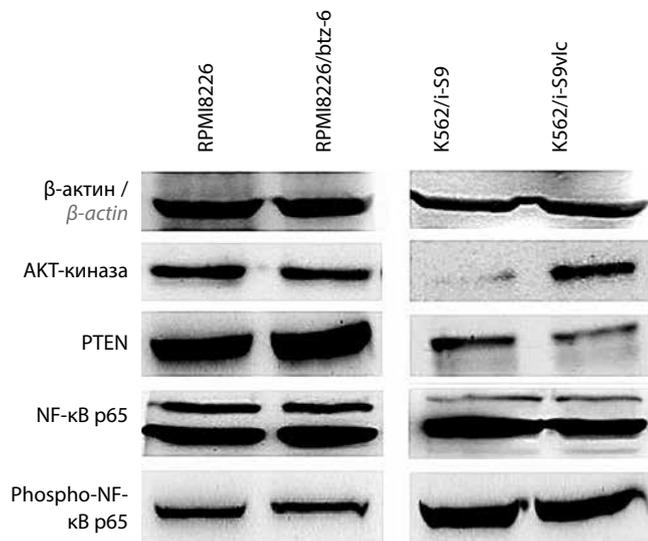
**Таблица 1.** Оценка чувствительности клеточных культур к бортезомибу и доксорубину

Table 1. Evaluation of sensitivity of cell lines to bortezomib and doxorubicin

| Препарат<br>Agent                      | IC <sub>50</sub><br>IC <sub>50</sub> |              | Индекс<br>устойчивости<br>Resistance<br>index | p     |
|--|--------------------------------------|--------------|---|-------|
|  | K562/i-S9                            | K562/i-S9vlc |   |       |
| Бортезомиб, нМ<br>Bortezomib,<br>nM    | 18,9 ± 9,1                           | 208,4 ± 58,8 | 11  | 0,002 |
| Доксорубин, мкМ<br>Doxorubicin,<br>mcM | 3,8 ± 0,6                            | 5,3 ± 2,3    | 1,4   | >0,05 |

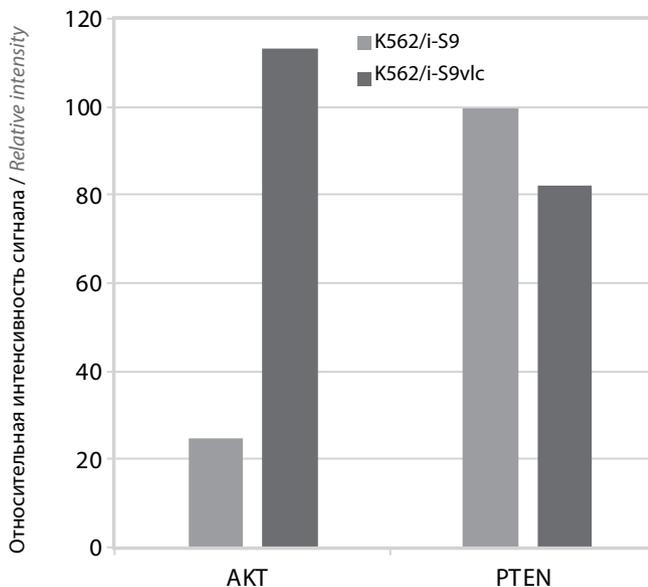
#### Оценка изменения количества основных белков АКТ- и NF-κB-сигнальных путей в парах родительских и устойчивых сублиний.

Ранее мы показали, что в устойчивых к бортезомибу клетках K562/i-S9vlc увеличение экспрессии Pgp может регулироваться за счет повышения активности АКТ-киназы [10], поэтому следующей нашей задачей стало исследование влияния бортезомиба на изменение основных белков АКТ- и NF-κB-сигнальных путей, связанных с апоптозом и пролиферацией в устойчивых к нему сублиниях. Мы показали, что экспрессия всех исследованных нами белков, таких как АКТ, PTEN, NF-κB, Phospho-NF-κB, не меняется в устойчивых к бортезомибу клетках сублинии RPMI8226/btz-6 и остается такой же, как и в клетках линии RPMI8226 (рис. 1).



**Рис. 1.** Экспрессия белков АКТ, PTEN, NF-κВ, Phospho-NF-κВ в паре чувствительных и устойчивых к бортезомибу клеточных линий RPMI8226, RPMI8226/btz-6 и K562/i-S9, K562/i-S9vlc

**Fig. 1.** The expression of proteins AKT, PTEN, NF-κB, Phospho-NF-κB in a pair of sensitive and bortezomib-resistant cell lines RPMI8226, RPMI8226/btz-6 and K562/i-S9, K562/i-S9vlc



**Рис. 2.** Денситометрия сигналов АКТ-киназы и PTEN в паре K562/i-S9 и K562/i-S9vlc

**Fig. 2.** Densitometry of AKT kinase and PTEN signals in a pair K562/i-S9 and K562/i-S9vlc cells

Однако в клетках сублинии K562/i-S9vlc мы наблюдали значительное повышение количества АКТ-киназы и небольшое снижение экспрессии белка PTEN по сравнению с клетками линии K562/i-S9. Количество белков NF-κВ и Phospho-NF-κВ оставалось равным в паре родительских и устойчивых линий K562/i-S9 и K562/i-S9vlc (рис. 2).

**Сравнение активации экспрессии генов различных сигнальных путей в парах клеточных линий, устойчивых к бортезомибу.** Для оценки активности генов, относя-

щихся к ряду основных сигнальных путей в опухолевой клетке, использовали набор для ПЦП-PB RT2 Profiler PCR Array Human Signal Transduction Pathway Finder. В анализ вошли гены, для которых стандартное отклонение по  $\Delta Ct$  в 2 опытах не превышало 1,5; был единственный и выраженный пик при анализе Melt-кривых, а уровень изменения генов был в 10 и более раз больше/меньше относительно чувствительных клеток.

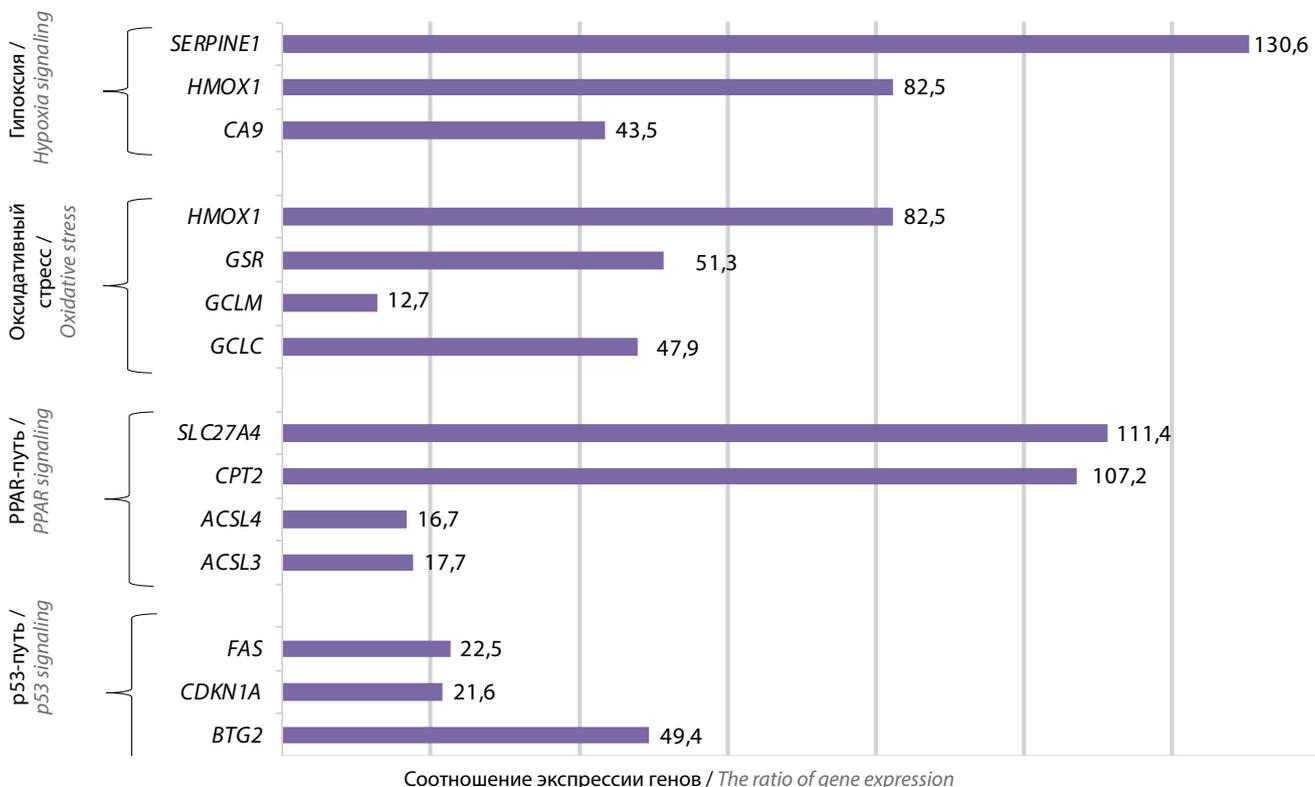
В паре RPMI8226/RPMI8226/btz-6 были выявлены более сильные изменения в экспрессии генов: из 57 попавших в анализ генов в RPMI8226/btz-6 увеличилась экспрессия 24 (42 %) генов, при этом экспрессия большинства генов в этой сублинии выросла в 30 раз и более. В сублинии RPMI8226/btz-6 мы выявили активацию 2 генов – *CCL5* и *BIRC3*, связанных с NF-κВ-сигнальной системой, и 3–4 генов в сигнальных путях, относящихся к гипоксии, оксидативному стрессу, PPAR и p53 (рис. 3). Наибольшие изменения произошли в TGFβ-сигнальном пути: в клетках RPMI8226/btz-6 свою экспрессию увеличили 6 из 8 генов (рис. 4). В паре RPMI8226/RPMI8226/btz-6 не произошло значимых изменений в генах, относящихся к сигнальным путям JAK/STAT, WNT, Notch, Hedgehog.

В устойчивых клетках K562/i-S9vlc усилилась экспрессия только 5 (10 %) из 47 генов: *Fas*, *HMOX1*, *CPT2*, *ICAM* и *SOCS3*, экспрессия этих генов в сублинии K562/i-S9vlc была повышена в 10–20 раз по сравнению с родительскими клетками K562/i-S9. Мы выделили 3 гена, которые изменились в обеих устойчивых сублиниях: *Fas* (Fas (TNF receptor superfamily, member 6)), *HMOX1* (Heme oxygenase (decycling) 1) и *CPT2* (Carnitine palmitoyltransferase 2).

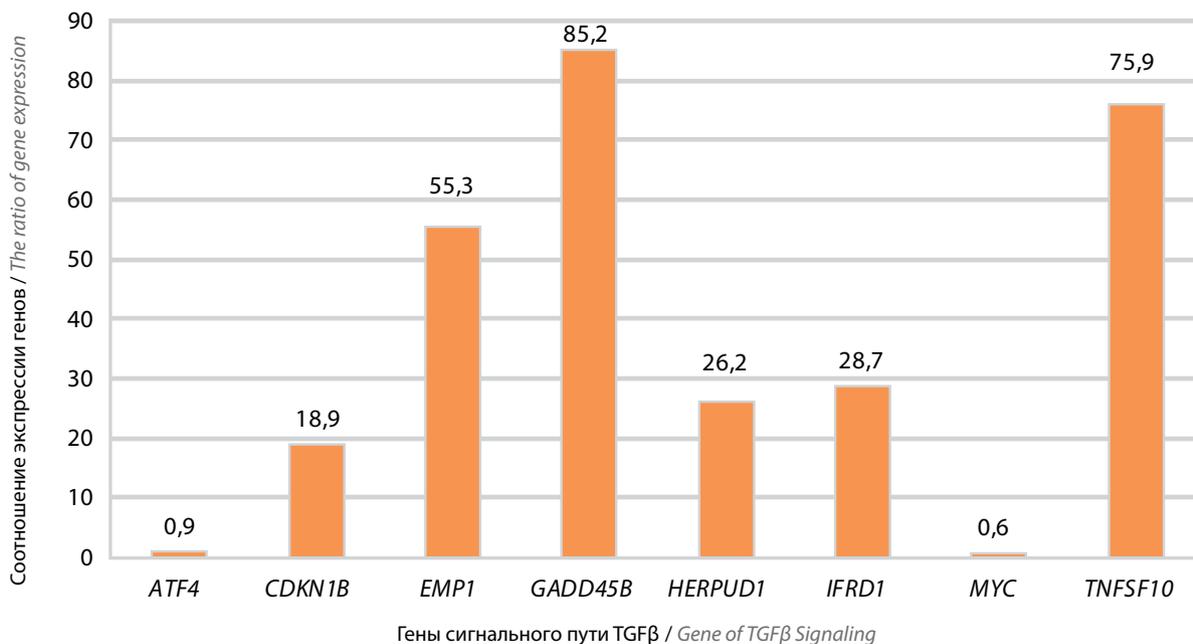
**Влияние бортезомиба на иммунофенотип устойчивых к нему сублиний клеток гемопоэтического ряда.** По результатам нашей предыдущей работы мы выдвинули гипотезу о том, что бортезомиб, возможно, способствует отбору определенных популяций клеток с измененным иммунофенотипом.

Клетки ММ характеризуются иммунофенотипом CD38<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup>, однако есть данные, что CD138-негативная субпопуляция, вероятно, может быть стволовклеточной опухолевой популяцией для ММ. Поэтому в этой части работы в паре родительских и устойчивых линий ММ RPMI8226 и RPMI8226/btz-6 мы сравнили количество поверхностных антигенов CD38 и CD138, а также CD19, CD20, относящихся к маркерам ранней дифференцировки для плазматических клеток.

Мы не обнаружили значительных изменений в количестве CD19 ( $p > 0,05$ ) и CD20 ( $p > 0,05$ ) между родительскими и устойчивыми линиями ММ RPMI8226 и RPMI8226/btz-6, их значения оказались низкими и варьировали на уровне погрешности. Также в этой сублинии не наблюдалось изменений в экспрессии белка CD38 ( $p > 0,05$ ) на поверхности клеток в сравнении с родительской линией. Однако мы наблюдали



**Рис. 3.** Гены сигнальных путей, экспрессия которых возросла более чем в 10 раз в сублинии RPMI8226/btz-6 по сравнению с RPMI8226  
**Fig. 3.** Genes of signaling pathways, the expression of which increased by more than 10 times in the subline RPMI8226/btz-6 compared with RPMI8226



**Рис. 4.** Изменение экспрессии генов TGFβ-сигнального пути в устойчивой к бортезомибу сублинии RPMI8226/btz-6 по сравнению с линией RPMI8226  
**Fig. 4.** Change in gene expression of the TGFβ signaling pathway in the bortezomib-resistant subline RPMI8226/btz-6 compared to RPMI8226

снижение на 35 % ( $p = 0,01$ ) количества антигена CD138 в сублинии RPMI8226/btz-6. Таким образом, мы показали наличие большого пула CD138-негативных клеток в сублиниях ММ, устойчивых к бортезомибу. Результаты представлены в табл. 2 и на рис. 5.

Далее на паре родительских и устойчивых линий хронического миелолейкоза K562/i-S9 и K562/i-S9vic было проведено сравнение количества антигена CD13, являющегося маркером дифференцировки бластных клеток и маркера стволовых клеток CD34. В сублинии

K562/i-S9vlc наблюдались повышение количества клеток, экспрессирующих CD34 ( $p = 0,03$ ), и снижение количества CD13 ( $p = 0,02$ ). Результаты представлены в табл. 2 и на рис. 6.

**Таблица 2.** Экспрессия белков на поверхности клеток родительских и устойчивых к бортезомибу сублиний (проточная цитофлуориметрия), %

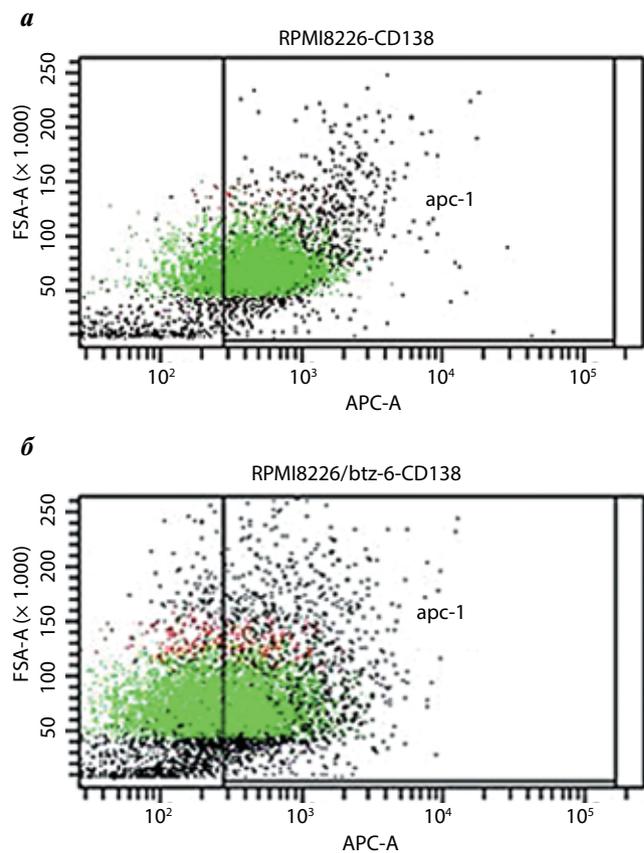
**Table 2.** Expression of proteins on the cell surface of parent and resistant to bortezomib subline (flow cytometry), %

| Маркер<br>Marker | RPMI8226         | RPMI8226/btz-6      | $p$   |
|------------------|------------------|---------------------|-------|
| CD38             | 90,5 ± 2,4       | 92,4 ± 5,1          | >0,05 |
| CD138            | 88,1 ± 4,4       | 53,2 ± 4,1          | 0,01  |
| CD19             | 0,2 ± 0,1        | 0,5 ± 0,3           | >0,05 |
| CD20             | 0,3 ± 0,1        | 0,2 ± 0,1           | >0,05 |
|                  | <b>K562/i-S9</b> | <b>K562/i-S9vlc</b> |       |
| CD34             | 0,8 ± 0,3        | 6,0 ± 1,5           | 0,03  |
| CD13             | 9,9 ± 1,8        | 3,4 ± 0,6           | 0,02  |
| CD38             | 0,3 ± 0,1        | 0,3 ± 0,1           | >0,05 |

### Обсуждение

Проведен сравнительный анализ пар родительских и устойчивых к бортезомибу сублиний, в одной из которых исходно гиперэкспрессирован Pgr. Мы показали, что в клетках с исходно невысоким уровнем экспрессии ABC-транспортёров, которые приобрели устойчивость к бортезомибу, существенно иначе активируются сигнальные системы, чем в клетках с исходной гиперэкспрессией Pgr.

Ранее мы показали, что в клетках сублинии K562/i-S9vlc повышено количество фосфорилированной формы АКТ-киназы [10]. Сигнальный каскад PI3K/АКТ/PTEN/mTOR играет одну из ключевых ролей в клетке. Однако он часто бывает нарушен при опухолевой трансформации. Показано, что активация сигнального пути PI3K/АКТ в опухолевых клетках может регулировать устойчивость опухолевых клеток к действию химиотерапевтических препаратов [5]. PTEN является одним из немногих негативных регуляторов PI3K/АКТ-сигнального пути, что делает его антионкогеном [1, 12]. Однако мы нашли работу, в которой показано, что гиперэкспрессия PTEN влияет на чувствительность опухолевых клеток с гиперэкспрессией Pgr к действию лекарств и эта чувствительность может как повышаться, так и понижаться [13]. Наши данные свидетельствуют о том, что в клетках сублинии RPMI8226/btz-6 PI3K/АКТ-сигнальный путь не задействован в формировании устойчивости к бортезомибу. Однако на основании данных нашей предыдущей работы [10] и результатов, полученных в этом исследовании, мы полагаем, что бортезомиб

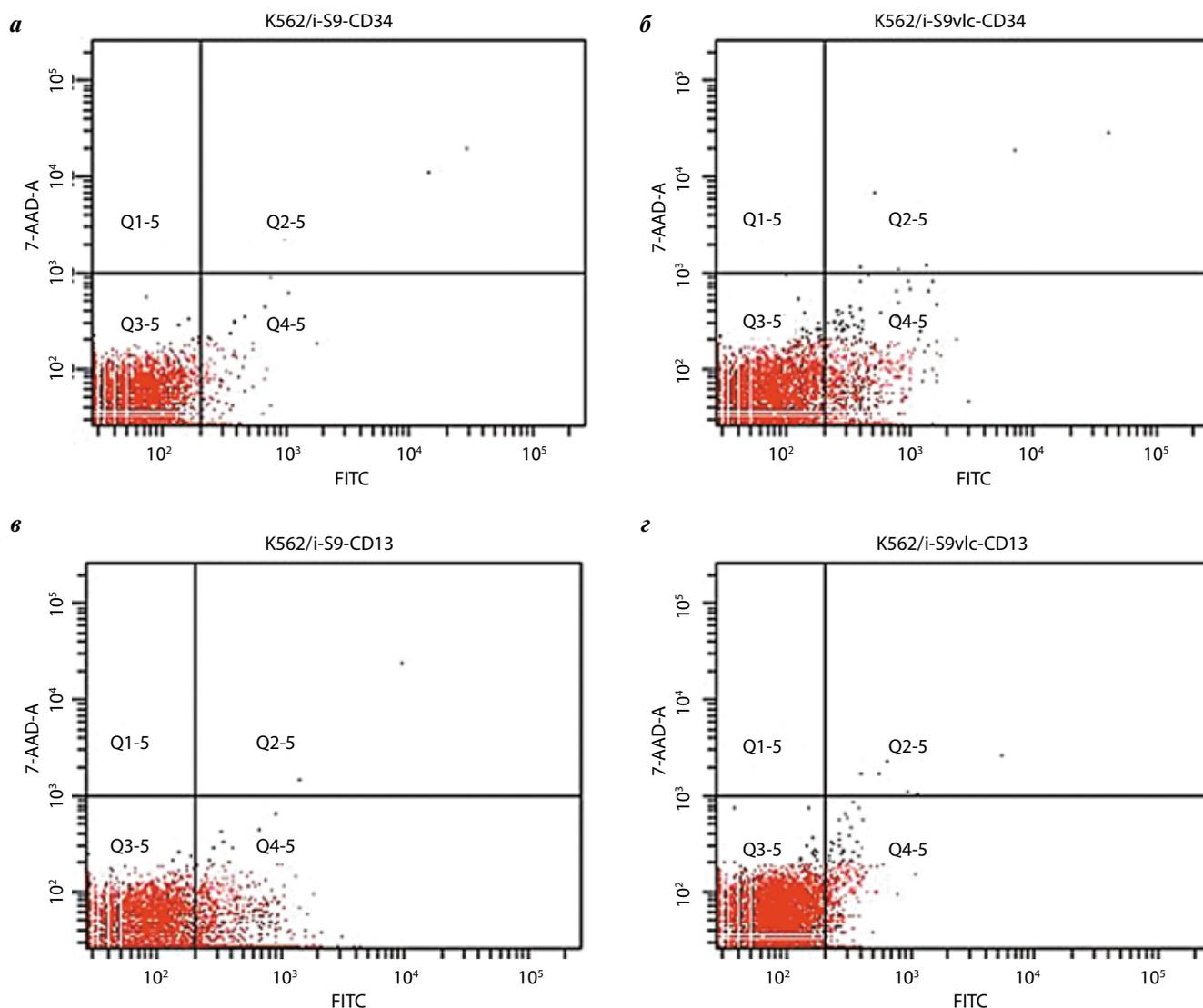


**Рис. 5.** Определение экспрессии белка CD138: а – популяция клеток RPMI8226, окрашенных антителами к белку CD138, – 88,1 %; б – популяция клеток RPMI8226/btz-6, окрашенных антителами к белку CD138, – 53,2 % ( $p = 0,01$ )

**Fig. 5.** Determination of CD138 protein expression: а – RPMI8226 cell population stained with antibodies to CD138 is 88.1 %; б – RPMI8226/btz-6 cell population stained with antibodies to CD138 is 53.2 % ( $p = 0.01$ )

участвует в активации этого сигнального пути в сублинии K562/i-S9vlc, при этом в этих клетках наблюдается снижение экспрессии белка PTEN. Мы предполагаем, что под воздействием бортезомиба в этой сублинии отбираются устойчивые к нему клоны со сниженной экспрессией PTEN, что, в свою очередь, может приводить к повышению активности PI3K/АКТ-сигнального пути. Мы нашли несколько работ, в которых показано, что бортезомиб способствует повышению экспрессии PTEN. В одной из них бортезомиб повышает уровень PTEN в клетках рака молочной железы SKBR3, устойчивых к трастузумабу [14], однако мы не обнаружили работ, в которых бортезомиб оказывает влияние на снижение экспрессии этого белка.

Другой сигнальный путь – NF-κB, изменения в активности которого мы сравнивали в парах родительских и устойчивых к бортезомибу сублиний, важен для пролиферации и выживания не только нормальных лимфоидных клеток, но и для В-клеточных опухолей, включая ММ. Ингибирующее действие бортезомиба на путь NF-κB изначально было основной причиной его использования в протоколах лечения онкологических больных [6, 7]. Однако есть работы,



**Рис. 6.** Определение экспрессии белка CD34 и CD13: а – популяция клеток K562/i-S9, окрашенных антителами к белку CD34, – 1,0 %; б – популяция клеток K562/i-S9vlc, окрашенных антителами к белку CD34, – 7,5 % ( $p = 0,03$ ); в – популяция клеток K562/i-S9, окрашенных антителами к белку CD13, – 9,9 %; г – популяция клеток K562/i-S9vlc, окрашенных антителами к белку CD13, – 3,4 % ( $p = 0,02$ )

**Fig. 6.** Determination of protein expression of CD34 and CD13: а – K562/i-S9 cell population stained with antibodies to CD34 is 1.0 %; б – K562/i-S9vlc cell population stained with antibodies to rCD34 is 7.5 % ( $p = 0.03$ ); в – K562/i-S9 cell population stained with antibodies to CD13 is 9.9 %; г – K562/i-S9vlc cell population stained with antibodies to CD13 is 3.4 % ( $p = 0.02$ )

в которых показано, что бортезомиб может также вызывать активацию канонического пути NF- $\kappa$ B [15]. В нашей работе мы не обнаружили существенных изменений в экспрессии этого белка и его фосфорилированной формы в обоих парах родительских и устойчивых к бортезомибу сублиний.

Мы выявили значимую активацию генов, относящихся к TGF $\beta$ -сигнальному пути, в клетках сублинии RPMI8226/btz-6, а также генов, связанных с ответом на гипоксию и оксидативный стресс. В случае ММ TGF $\beta$ -сигнальный путь активно изучается в связи с участием в механизмах остеолитических поражений костей [16]. Было показано, что опухолеассоциированные фибробласты от больных ММ, резистентных к бортезомибу, протектируют клетки RPMI8226 от апоптоза, запускаемого бортезомибом, за счет проду-

цирования IL-6, IL-8, IGF-1 и TGF $\beta$  [17]. В другой статье также была показана связь адаптации к гипоксии клеток ММ через активацию TGF $\beta$ /Smad-пути с приобретением некоторых характеристик стволовых клеток [18].

В следующей части нашей работы мы подробно сравнивали иммунофенотип чувствительных и устойчивых к бортезомибу сублиний. Существует мнение о том, что CD138-негативные клетки миеломы могут оказаться миеломаиницирующими. W. Matsui и соавт. впервые описали CD138-негативную популяцию как популяцию с большим клоногенным потенциалом, чем CD138-позитивные клетки миеломы [19, 20]. Однако есть работы, в которых эти данные не подтвердились, авторы не обнаружили различий между CD138-негативной и позитивной субпопуляциями ММ [21]. Из

данных литературы известно, что в клетках линии миеломы человека RPMI8226 есть минорная популяция клеток, не экспрессирующих CD138 [20]. Также есть сведения о том, что популяция CD138-негативных клеток, в отличие от CD138<sup>+</sup>, экспрессирует антигены CD19 и CD20, характерные для зрелых В-клеток [22]. В нашем исследовании мы показали, что бортезомиб способствует отбору CD138-негативной популяции клеток в сублинии RPMI8226/btz-6, не экспрессирующих антигены CD19 и CD20. Действительно ли это отбор CD138-негативной популяции, это вопрос, который нам предстоит выяснить, так как известно, что бортезомиб способствует «отрезанию» CD138 с поверхности клеток [23, 24].

CD13 является маркером миелоидной дифференцировки клеток. Исходно в клетках K562 достаточно низкий уровень экспрессии этого белка – около 9 % [25], и показано, что его повышение в клетках линии K562 свидетельствует о сдвиге дифференцировки в миело-

моноцитарном направлении [26]. В наших исследованиях мы обнаружили, что в сублинии K562/i-S9v1c снижается количество CD13 на поверхности клеток, при этом возрастает количество CD34 и отсутствует CD38. Мы полагаем, что такое изменение иммунофенотипа может быть связано с отбором менее дифференцированных клонов.

### Заключение

Мы выявили, что в формировании устойчивости к бортезомибу в случае отсутствия экспрессии Pgp и его гиперэкспрессии задействованы разные сигнальные пути. Кроме этого, клеточной линии без активированных путей устойчивости необходимы более масштабные перестройки в сигнальной системе для приобретения резистентности к бортезомибу. Однако и в том и в другом случае бортезомиб приводит к изменению иммунофенотипа клеток – к увеличению минорных популяций менее дифференцированных клеток.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ставровская А.А., Стромская Т.П. Транспортные белки семейства ABC и множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток. *Биохимия* 2008;73(5):735–50. [Stavrovskaya A.A., Stromskaya T.P. Transporters of ABC protein superfamily and multidrug resistance of tumor cells. *Biokhimiya = Biochemistry* 2008;73(5):735–50. (In Russ.)].
2. Robak P., Drozdz I., Szemraj J. et al. Drug resistance in multiple myeloma. *Cancer Treat Rev* 2018;70:199–208. DOI: 10.1016/J.CTRV.2018.09.001.
3. Muz B., Kusdono H.D., Azab F. et al. Tariquidar sensitizes multiple myeloma cells to proteasome inhibitors via reduction of hypoxia-induced P-gp-mediated drug resistance. *Leuk Lymphoma* 2017;58(12):2916–25. DOI: 10.1080/10428194.2017.1319052.
4. Besse A., Stolze S.C., Rasche L. et al. Carfilzomib resistance due to ABCB1/MDR1 overexpression is overcome by nelfinavir and lopinavir in multiple myeloma. *Leukemia* 2018;32(2):391–401. DOI: 10.1038/leu.2017.212.
5. McCubrey J.A., Steelman L.S., Abrams S.L. et al. Roles of the RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT pathways in malignant transformation and drug resistance. *Adv Enzyme Regul* 2006;46:249–79. DOI: 10.1016/j.advenzreg.2006.01.004.
6. Traenckner E.B., Wilk S., Baeuerle P.A. A proteasome inhibitor prevents activation of NF-kappa B and stabilizes a newly phosphorylated form of I kappa B-alpha that is still bound to NF-kappa B. *EMBO J* 1994;13(22):5433–41.
7. Karin M., Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annu Rev Immunol* 2000;18:621–63. DOI: 10.1146/annurev.immunol.18.1.621.
8. Akl M.R., Nagpal P., Ayoub N.M. et al. Molecular and clinical profiles of syndecan-1 in solid and hematological cancer for prognosis and precision medicine. *Oncotarget* 2015;6(30):28693–715. DOI: 10.18632/oncotarget.4981.
9. Лалетина Л.А., Моисеева Н.И., Климова Д.А., Ставровская А.А. Роль ABC-транспортёров в формировании лекарственной устойчивости к бортезомибу при множественной миеломе. *Успехи молекулярной онкологии* 2019;6(1):49–55. DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-1-49-56. [Lalietina L.A., Moiseeva N.I., Klimova D.A., Stavrovskaya A.A. The role of ABC transporters in drug resistance to bortezomib in multiple myeloma. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(1):49–55. (In Russ.)].
10. Панищева Л.А., Какпакова Е.С., Рыбалкина Е.Ю., Ставровская А.А. Влияние протеасомного ингибитора бортезомиба на экспрессию генов множественной лекарственной устойчивости и активность киназы. *Биохимия* 2011;76(9):1238–47. [Panishcheva L.A., Kakpakova E.S., Rybalkina E.Yu., Stavrovskaya A.A. Effect of the proteasome inhibitor bortezomib on gene expression of multidrug resistance and kinase activity. *Biokhimiya = Biochemistry* 2011;76(9):1238–47. (In Russ.)].
11. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72(2):248–54. DOI: 10.1006/abio.1976.9999.
12. Копнин Б.П. Энциклопедия клинической онкологии. М.: РЛС-Пресс, 2004. С. 34–53. [Kopnin B.P. Encyclopedia of clinical oncology. Moscow: RLS-Press, 2004. Pp. 34–53. (In Russ.)].
13. Щербакоева Е.А., Стромская Т.П., Рыбалкина Е.Ю., Ставровская А.А. Влияние повышения активности гена/белка опухолевого супрессора PTEN на чувствительность малигнизированных клеток к химиотерапевтическим препаратам. *Биологические мембраны* 2007;24:143–50. [Scherbakova E.A., Stromskaya T.P., Rybalkina E.Yu., Stavrovskaya A.A. Influence of human tumor suppressor PTEN on the sensitivity of malignant cells to anticancer drugs. *Biologicheskie membrany = Biological Membranes* 2007;24:143–50. (In Russ.)].
14. Fujita T., Doihara H., Washio K. et al. Proteasome inhibitor bortezomib increases PTEN expression and enhances trastuzumab-induced growth inhibition in trastuzumab-resistant cells. *Anticancer Drugs* 2006;17(4): 455–62. DOI: 10.1097/01.cad.0000198910.90819.06.
15. Hideshima T., Ikeda H., Chauhan D. et al. Bortezomib induces canonical nuclear factor-kappaB activation in multiple myeloma cells. *Blood* 2009;114(5):1046–52. DOI: 10.1182/blood-2009-01-199604.
16. Matsumoto T., Abe M. TGF-β-related mechanisms of bone destruction in multiple myeloma. *Bone*

- 2011;48(1):129–34.  
DOI: 10.1016/j.bone.2010.05.036.
17. Frassanito M., De Veirman K., Desantis V. et al. Halting pro-survival autophagy by TGF $\beta$  inhibition in bone marrow fibroblasts overcomes bortezomib resistance in multiple myeloma patients. *Leukemia* 2016;30:640–8.  
DOI: 10.1038/leu.2015.289.
18. Nakagawa Y., Ashihara E., Yao H. Multiple myeloma cells adapted to long-exposure of hypoxia exhibit stem cell characters with TGF- $\beta$ /Smad pathway activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;496(2):490–6.  
DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.01.034.
19. Matsui W., Wang Q., Barber J.P. et al. Clonogenic multiple myeloma progenitors, stem cell properties, and drug resistance. *Cancer Res* 2008;68(1):190–7.  
DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-3096.
20. Matsui W., Huff C.A., Wang Q. et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells. *Blood* 2004;103(6):2332–6.  
DOI: 10.1182/blood-2003-09-3064.
21. Palumbo A., Avet-Loiseau H., Oliva S. et al. Revised international staging system for multiple myeloma: a report from International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* 2015;33(26):2863–9.  
DOI: 10.1200/JCO.2015.61.2267.
22. Reghunathan R., Bi C., Liu S.C. et al. Clonogenic multiple myeloma cells have shared stemness signature associated with patient survival. *Oncotarget* 2013;4(8):1230–40.  
DOI: 10.18632/oncotarget.1145.
23. Ramania V.C., Sanderson R.D. Chemotherapy stimulates syndecan-1 shedding: a potentially negative effect of treatment that may promote tumor relapse. *Matrix Biol* 2014;35:215–22.  
DOI: 10.1016/j.matbio.2013.10.005.
24. Bandari S.K., Purushothaman A., Ramani V.C. et al. Chemotherapy induces secretion of exosomes loaded with heparanase that degrades extracellular matrix and impacts tumor and host cell behavior. *Matrix Biol* 2018;(65):104–18.  
DOI: 10.1016/j.matbio.2017.09.001.
25. Inoue T., Swain A., Nakanishi Y., Sugiyama D. Multicolor analysis of cell surface marker of human. *Anticancer Res* 2014;34(8):4539–50.
26. Kamano H., Ohnishi H., Tanaka T. et al. Effects of the antisense v-myb' expression on K562 human leukemia cell proliferation and differentiation. *Leuk Res* 1990;14(10):831–9.  
DOI: 10.1016/0145-2126(90)90171-5.

**Благодарность.** Авторы выражают большую признательность Т.И. Фетисову, к.б.н. А.М. Шербакову и к.фарм.н. М.А. Барышниковой за помощь в подготовке статьи.

**Acknowledgment.** Authors express special thanks to T.I. Fetisov, A.M. Shcherbakov, Ph. D. and M.A. Baryshnikova, Ph. D. for valuable advice during the preparation of the article.

#### Вклад авторов

Л.А. Лалетина, Н.И. Моисеева: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

А.Ф. Карамышева: обзор публикаций по теме статьи.

#### Authors' contributions

L.A. Laletina, N.I. Moiseeva: developing the research design, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, reviewing of publications of the article's theme, article writing;

A.F. Karamysheva: reviewing of publications of the article's theme.

#### ORCID авторов/ORCID of authors

Л.А. Лалетина/L.A. Laletina: <https://orcid.org/0000-0002-8839-5881>

Н.И. Моисеева/N.I. Moiseeva: <https://orcid.org/0000-0001-6697-7154>

А.Ф. Карамышева/A.F. Karamysheva: <https://orcid.org/0000-0003-2587-1761>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант мол\_а №18-315-00075).

**Financing.** The study was performed with the support of the Russian Foundation for Basic Research (grant мол\_а No. 18-315-00075).

**Статья поступила:** 17.02.2020. **Принята к публикации:** 03.03.2020.

**Article submitted:** 17.02.2020. **Accepted for publication:** 03.03.2020.

# Ингибин В при стромально-клеточных опухолях яичников

Н.В. Любимова<sup>1</sup>, А.М. Бейшембаев<sup>2</sup>, Ю.С. Тимофеев<sup>1</sup>, Н.Е. Кушлинский<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации им. С.Б. Даниярова Минздрава Кыргызской Республики; Кыргызская Республика, 720064 Бишкек, ул. Боконбаева, 144а

**Контакты:** Нина Васильевна Любимова biochimia@yandex.ru

**Введение.** К опухолям стромы полового тяжа относится семейство разных по строению и биологическим особенностям опухолей, включая гормонально-активные опухоли яичников, такие как гранулезоклеточная опухоль яичника (ГКОЯ) и опухоль яичника из клеток Сертоли–Лейдига. Для данных типов опухолей особое значение имеет анализ биохимических маркеров, к одним из самых перспективных относится ингибин В.

**Цель исследования** – сравнительный анализ сывороточных уровней ингибина В у больных со стромально-клеточными опухолями и другими типами злокачественных новообразований.

**Материалы и методы.** Обследованы 64 женщины с первичными опухолями яичников (31 – ГКОЯ, 16 – опухоль из клеток Сертоли–Лейдига, 17 – аденокарцинома). Группу сравнения составили 20 больных со злокачественными опухолями других локализаций, контрольную группу – 74 женщины без онкологических заболеваний и 37 больных с доброкачественными неоплазиями яичников. Определение уровня ингибина В в сыворотке крови проводили с использованием стандартизованного иммуноферментного набора Inhibin B Gen II ELISA (Beckman Coulter, США).

**Результаты.** При анализе уровня ингибина В выявлено его повышение при ГКОЯ и опухолях из клеток Сертоли–Лейдига, тогда как при аденокарциномах яичника и злокачественных опухолях других локализаций секреция ингибина В не отличалась от таковой в контрольной группе. Чувствительность ингибина В в диагностике ГКОЯ составила 93,5 %, при опухолях из клеток Сертоли–Лейдига – 81,3 % при специфичности по контролю 100 %.

**Заключение.** Ингибин В – высокоэффективный биомаркер ГКОЯ и опухолей яичников из клеток Сертоли–Лейдига, при анализе уровня которого следует учитывать функциональный статус яичников.

**Ключевые слова:** ингибин В, гранулезоклеточная опухоль яичника, опухоль из клеток Сертоли–Лейдига, биохимический маркер

**Для цитирования:** Любимова Н.В., Бейшембаев А.М., Тимофеев Ю.С., Кушлинский Н.Е. Ингибин В при стромально-клеточных опухолях яичников. Успехи молекулярной онкологии 2020;7(1):32–7.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-1-32-37



## Inhibin B in stromal-cell ovarian tumors

N. V. Lyubimova<sup>1</sup>, A. M. Beishembaev<sup>2</sup>, Yu. S. Timofeev<sup>1</sup>, N. E. Kushlinskii<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>S. B. Daniyarova Kyrgyz State Medical Institute for Retraining and Further Training, Ministry of Health of the Kyrgyz Republic; 144a Bokonbaeva St., Bishkek 720064, Kyrgyz Republic

**Background.** Tumors of stroma of the sex cord include a family of tumors that are diverse in structure and biological characteristics, including hormone-active ovarian tumors, such as granulosa cell tumor (GCT) of the ovary and a tumor from Sertoli–Leydig cells. For these types of tumors, of particular importance is the analysis of biochemical markers, among which the most promising is inhibin B.

**The objective of the study.** Comparative analysis of inhibin B levels in the blood serum of patients with stromal cell tumors and other types malignancies.

**Materials and methods.** 64 patients with primary ovarian tumors were examined: 31 – GCT of the ovary, 16 – tumors from Sertoli–Leydig cells, 17 – adenocarcinomas. Comparison group – 20 patients with malignant tumors of other localizations, control – 74 healthy women and 37 patients with benign ovarian tumors. Inhibin B was determined in blood serum using the standardized Inhibin B Gen II ELISA (Beckman Coulter, USA) immunoassay.

**Results.** The analysis of inhibin B levels in last days of the luteal phase, show an increase of marker level in patients with GCT and tumors from Sertoli–Leydig cells, while in ovarian adenocarcinomas and malignant tumors of other locations inhibin B secretion doesn't differ from the control. The sensitivity of inhibin B in diagnostics of GCT was 93.5 %, in tumor from Sertoli–Leydig cells – 81.3 % with specificity – 100 %.

**Conclusion.** Inhibin B is an effective biomarker of GCT and ovarian tumors from Sertoli–Leydig cells, which results must be interpreted according the functional state of the ovaries.

**Key words:** inhibin B, granulosa cell tumor of the ovary, a tumor from Sertoli–Leydig cells, biochemical marker

**For citation:** Lyubimova N. V., Beishembaev A. M., Timofeev Yu. S., Kushlinskii N. E. Inhibin B in stromal-cell ovarian tumors. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2020;7(1):32–7. (In Russ.).

## Введение

К новообразованиям стромы полового тяжа относятся большое семейство разных по строению и биологическим особенностям опухолей, которые содержат клетки зернистой оболочки фолликулов, тека-клетки, клетки Сертоли и Лейдига, фибробласты стромально-клеточного происхождения как в чистом виде, так и в смешанном варианте. Стромально-клеточные опухоли яичников составляют 7–8 % всех злокачественных новообразований яичников. Стромально-клеточные опухоли яичников зачастую могут развиваться у взрослых женщин, составляя от 3 до 5 % новообразований яичников в данной возрастной группе [1–5].

В ряде случаев стромально-клеточные опухоли яичников могут протекать без клинических проявлений, что затрудняет своевременную постановку диагноза. В последние годы активно исследуются молекулярно-биологические особенности стромально-клеточных опухолей яичников.

Гранулезоклеточная опухоль яичника (ГКОЯ) относится к группе новообразований стромы полового тяжа яичников, которая входит в более крупную группу гранулезо-стромально-клеточных опухолей. Согласно морфологическим характеристикам и особенностям клинической картины ГКОЯ подразделяются на 2 типа: ювенильный и взрослый. ГКОЯ взрослого типа составляют более 90 % всех ГКОЯ и около 1 % всех овариальных неоплазий. Они чаще встречаются у женщин в пери- и постменопаузальном периодах, при этом средний возраст пациенток с данной нозологией составляет 50–55 лет [1, 6, 7]. Характерной особенностью взрослого типа ГКОЯ является выраженная гормональная активность с гиперпродукцией стероидных и пептидных гормонов, которая обуславливает клиническую картину и течение заболевания [8, 9]. Благодаря медленному росту и патогномичным гормональным симптомам взрослый тип ГКОЯ часто выявляется на ранних стадиях [10].

Другим биологически активным типом стромально-клеточных новообразований являются опухоли из клеток Сертоли–Лейдига, составляющие около 0,5 % злокачественных опухолей яичников. Опухоли из клеток Сертоли–Лейдига выявляются у женщин различных возрастных групп, однако преобладают молодые пациентки репродуктивного возраста. При данном типе опухолей свойственно повышение секреции тестостерона при снижении фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона, андростендиона, что сопровождается клинической симптоматикой вирилизации. Однако выраженная эндокринная симптоматика в 50 % случаев отсутствует, что затрудняет постановку диагноза [11]. При иммуногистохимическом исследовании опухолевой ткани помимо стандартных маркеров используют  $\alpha$ -ингибин, экспрессия которого характерна для клеток опухоли. В целом для опухолей из клеток Сертоли–Лейдига присуще достаточно благоприятное течение, однако отсутствие

единой тактики диагностики и лечения требует разработки новых диагностических подходов [11–14].

В обследовании больных со стромально-клеточными опухолями важное значение имеют биохимические маркеры. Так, способность продуцировать ряд стероидных и пептидных гормонов является отличительной особенностью ГКОЯ. Один из таких биохимических маркеров – ингибин В, относящийся к гликопротеидным гормонам семейства  $\beta$ -трансформирующих факторов роста, которые продуцируются гонадами. Физиологическая роль ингибинов заключается в регуляции секреции фолликулостимулирующего гормона гипофизом. Описано множество различных форм ингибинов, среди которых наибольшее диагностическое значение имеет ингибин В [9, 15, 16]. У женщин этот гормон продуцируется гранулезными клетками фолликулов и его уровень значительно варьирует в зависимости от фазы цикла. Повышение секреции ингибина В происходит в начале фолликулярной фазы с последующим нарастанием до максимума к ее середине, после чего в конце фазы наблюдается небольшое снижение с последующим пиком концентрации маркера в овуляцию. В течение лютеиновой фазы секреция ингибина В уменьшается до минимальных концентраций к 26–28-му дню. Таким образом, секреция ингибина В у женщин в период беременности в последние дни лютеиновой фазы может свидетельствовать о продукции гормона клетками опухоли [17]. Опубликован ряд научных работ, подтверждающих значение ингибина В как эффективного диагностического маркера ГКОЯ. В этих исследованиях описывается высокая чувствительность ингибина В при впервые выявленных и рецидивных ГКОЯ [16, 18–22].

**Цель исследования** – сравнительный анализ сывороточных уровней ингибина В у больных со стромально-клеточными опухолями и другими типами злокачественных новообразований.

## Материалы и методы

В исследование включены 64 пациентки в возрасте 28–59 лет с опухолями яичников различных гистологических типов, которые проходили обследование в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина с 2010 по 2019 г. Из них у 31 больной выявлены ГКОЯ, у 16 – опухоли яичника из клеток Сертоли–Лейдига, у 17 – овариальные аденокарциномы. В группу сравнения вошли 20 больных со злокачественными опухолями других локализаций (молочная железа, матка, легкие). Все пациентки были обследованы до начала какого-либо специфического лечения. Диагноз был верифицирован по данным морфологического исследования. Контрольная группа состояла из 74 женщин без онкологических заболеваний, 54 из них в возрасте 24–48 лет с сохраненным менструальным циклом и 20 – в возрасте 49–70 лет (период постменопаузы). Также в качестве патологического контроля были обследованы 37 пациенток

в возрасте 17–74 лет с диагностированными доброкачественными новообразованиями яичников.

Определение уровня ингибина В проводили во взятой натощак в утренние часы сыворотке крови с использованием стандартизованной иммуноферментной тест-системы Inhibin B Gen II ELISA (Beckman Coulter, США) в плащечном формате с помощью полуавтоматического иммуноферментного анализатора ВЕР 2000 (Siemens, Германия).

Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 10 методами непараметрического анализа с использованием критерия Манна–Уитни. Расчет пороговых уровней проводили в программе SPSS с помощью ROC-анализа. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты

В целях стандартизации исследования и отработки диагностического порогового уровня ингибина В для его последующего использования в оценке значимости как опухолевого маркера выполнен анализ результатов обследования 74 практически здоровых женщин. В связи с зависимостью уровня секреции ингибина В от менопаузального статуса анализ проводили раздельно в 2 подгруппах, состоящих из 54 женщин с сохраненной менструальной функцией и 20 женщин в состоянии постменопаузы. Согласно данным, отраженным в табл. 1, для ингибина В характерна выраженная цикличность секреции.

**Таблица 1.** Концентрация ингибина В в сыворотке крови здоровых женщин и пациенток с доброкачественными новообразованиями яичников в зависимости от фазы менструального цикла, пг/мл

**Table 1.** Inhibin B concentrations in blood serum of healthy women and patients with benign ovarian neoplasms depending on menstrual cycle phase, pg/ml

| Состояние менструального цикла<br>Menstrual cycle status | Практически здоровые женщины (n = 74)<br>Particularly healthy women (n = 74) | Женщины с доброкачественными новообразованиями яичников (n = 37)<br>Women with benign ovarian neoplasms (n = 37) |
|--|--|--|
| 5–7-й день<br>5–7 <sup>th</sup> day                      | 52,3 (18,3–186,5)  | 34 (31,1–49,7)   |
| 12–16-й день<br>12–16 <sup>th</sup> day                  | 5,3 (11–103)   | –  |
| 26–28-й день<br>26–28 <sup>th</sup> day                  | 0 (0–6)  | 0 (0–1,6)  |
| Постменопауза<br>Postmenopause                           | 0 (0–5,8)  | 0 (0–4,2)  |

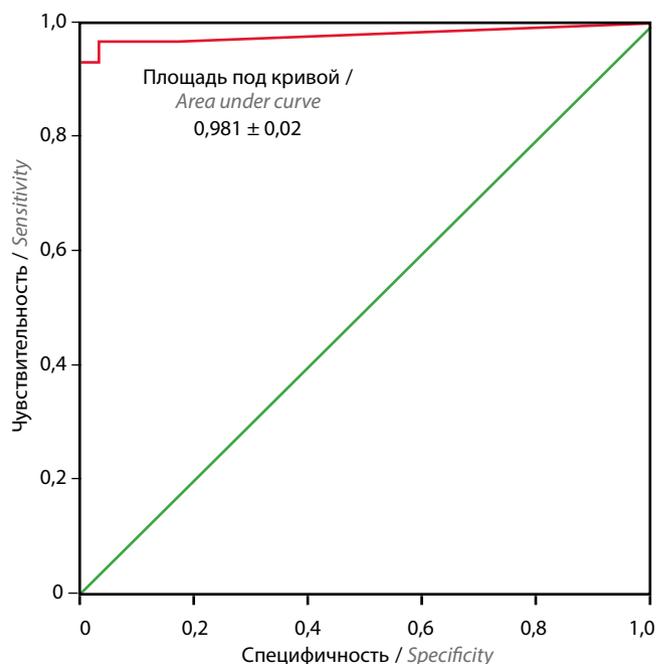
**Примечание.** Результаты в таблице представлены в виде медианы и интервалов min–max.

**Note.** Results in the table are represented in medians and min–max interval.

Как видно из табл. 1, для женщин в период пременопаузы характерна выраженная вариабельность уровней ингибина В зависимости от фазы менструального цикла. Наиболее высокие уровни гормона были выявлены у женщин, находящихся в фолликулярной фазе, тогда как в середине цикла медиана существенно снижалась. В последние дни лютеиновой фазы медиана уровня ингибина В соответствовала 0 (0–6) пг/мл. В то же время у женщин контрольной группы без выявленных онкологических заболеваний вариабельность концентрации ингибина В в период постменопаузы была незначительной. У всех женщин старшей возрастной группы (период постменопаузы) концентрация ингибина В не превышала аналитическую чувствительность метода (6 пг/мл) при медиане 0 пг/мл. Закономерности, установленные в контрольной группе, подтверждались результатами исследования ингибина В у больных с доброкачественными овариальными неоплазиями. Так, уровни маркера в данной группе не отличались от таковых в контрольной группе.

Полученные результаты показали выраженную зависимость концентрации ингибина В в сыворотке крови от менопаузального статуса и фазы цикла у женщин в период пременопаузы.

Уровни ингибина В у женщин контрольной группы в период постменопаузы, а также в лютеиновой фазе менструального цикла колебались в пределах 0–6 пг/мл. Установленная закономерность служит основанием для рекомендации определения уровней ингибина В в сыворотке крови пациенток с сохраненным менструальным циклом со стромально-клеточными опухолями яичников в последние (26–28-й) дни цикла. Согласно проведенному ROC-анализу (см. рисунок) пороговый



**ROC-анализ диагностической эффективности ингибина В**  
ROC-analysis of inhibin B diagnostic efficacy

уровень при измерении концентраций маркера в указанные дни цикла или в период постменопаузы составлял 6 нг/мл и находился на уровне аналитической чувствительности метода. Для ингибина В получено высокое значение площади под кривой (AUC), что свидетельствовало о высокой диагностической эффективности маркера.

Таким образом, анализ уровней ингибина В проводится в тех условиях, в которых его физиологическая продукция интактными яичниками снижается до минимума. В этом случае повышение уровней маркера свидетельствует о наличии патологической секреции. Результаты определения уровней ингибина В в сыворотке крови больных с различными новообразованиями и в контрольной группе представлены в табл. 2.

У пациенток с впервые выявленной ГКОЯ медиана уровня ингибина В (137 пг/мл) была достоверно ( $p = 0,00001$ ) выше, чем в контрольной группе, а также в группах пациенток с аденокарциномами яичника ( $p = 0,00002$ ) и злокачественными неоплазиями других локализаций ( $p = 0,00012$ ). При ГКОЯ наблюдалась выраженная вариабельность показателя, при этом максимальное значение достигало 2670 нг/мл. Расчет диагностической эффективности ингибина В проводили с учетом порогового уровня, полученного по данным ROC-анализа (6 пг/мл), при этом у больных с ГКОЯ частота повышения концентрации ингибина В достигала 93,5 %. Представленные результаты исследования свидетельствуют о высоком уровне диагностической чувствительности анализируемого маркера в обследовании первичных ГКОЯ при специфичности по контролю, достигающей 100 %.

При других типах новообразований стромы полового тяжа – опухолях яичника из клеток Сертоли–Лейдига – была также характерна повышенная секреция

ингибина В. Медиана маркера при данном гистологическом типе составила 36,8 пг/мл, достоверно превышая медиану как в контрольной группе ( $p = 0,0001$ ), так и в группе аденокарцином яичников ( $p = 0,025$ ) и опухолей других локализаций ( $p = 0,039$ ). По сравнению с ГКОЯ медиана уровней ингибина В при опухолях из клеток Сертоли–Лейдига была ниже (36,8 пг/мл против 137 пг/мл), однако различия носили характер тенденции ( $p = 0,09$ ).

Медианы уровней ингибина В при аденокарциномах яичника, а также при злокачественных опухолях других локализаций не отличались от таковых в контрольной группе ( $p > 0,05$ ). Концентрация ингибина В при овариальных аденокарциномах в большинстве случаев была низкой и лишь у нескольких больных выше, чем пороговые значения, при максимальной концентрации 9,3 пг/мл. В то же время при злокачественных новообразованиях, локализованных в других органах, превышения порогового уровня не наблюдалось во всей выборке.

### Обсуждение

Полученные нами данные подтверждают результаты работ других авторов [16, 21, 22], описывающих высокую диагностическую эффективность ингибина В. В то же время в литературе отсутствуют четкие критерии по использованию маркера в зависимости от функциональной активности яичников.

В наших предыдущих работах [18, 19] впервые в стране были показаны высокие диагностические возможности ингибина В при ГКОЯ. При этом больший акцент делался на диагностику рецидивов заболевания, поскольку группы первичных больных были представлены меньшим числом пациенток, чем в текущем исследовании. В настоящей работе на большей выборке первичных больных со стромально-клеточными опухолями

**Таблица 2.** Концентрация ингибина В в сыворотке крови больных с опухолями яичников и другими опухолями

**Table 2.** Inhibin B concentrations in blood serum of patients with neoplasms of ovary and other localisations

| Группа<br>Group  | n  | Концентрация ингибина В, пг/мл<br>Inhibin B concentration, pg/ml |                                      | Частота превышения порогового уровня, %<br>Frequency of cut off level exceeding, % |
|--|----|--|--------------------------------------|--|
|  |    | Медиана (квартили)<br>Median (quartiles)                         | Интервал min–max<br>Interval min–max |  |
| Первичные гранулезоклеточные опухоли яичника<br>Primary ovarian granulosa cell tumor | 31 | 137 (65,7–454,0)   | 0–2670                               | 93,5   |
| Опухоль из клеток Сертоли–Лейдига<br>Tumor from Sertoli–Leydig cells                 | 16 | 36,8 (20,6–73,7)   | 0–146                                | 81,3   |
| Аденокарциномы яичников<br>Ovarian adenocarcinomas                                   | 17 | 0,3 (0–4,9)  | 0–9,3                                | 17,6   |
| Злокачественные опухоли других локализаций<br>Malignant tumor (over localisation)    | 20 | 0,9 (0–1,5)  | 0–5,9                                | 0  |
| Контрольная<br>Control   | 74 | 0 (0–0,2)  | 0–6                                  | 0  |

яичников различных типов (ГКОЯ, опухоли из клеток Сертоли–Лейдига) подтверждена высокая диагностическая чувствительность ингибина В, а высокая специфичность маркера показана не только на контрольной группе, но и на основе анализа репрезентативных групп пациенток с другими заболеваниями.

Нами был использован дифференцированный подход с учетом менопаузального статуса и фазы цикла, что позволило получить достаточно высокую чувствительность ингибина В в качестве маркера ГКОЯ и опухоли из клеток Сертоли–Лейдига. Результаты сравнительного анализа продемонстрировали высокую специфичность маркера, который не повышался как у женщин без онкологических заболеваний, так и у женщин с доброкачественными овариальными неоплазиями и злокачественными опухолями других локализаций (молочная железа, матка, легкие). Исключение

составили пациентки с аденокарциномами яичников, у которых в ряде случаев выявлялось крайне незначительное повышение уровня ингибина В в сыворотке крови. Это может быть связано как с гетерогенностью опухолей и возможным наличием гранулезоклеточного компонента, так и с индивидуальной вариабельностью секреции гормона.

### Заключение

Подтверждено важное значение биохимического обследования, включающего анализ уровней ингибина В у больных с ГКОЯ и опухолями яичников из клеток Сертоли–Лейдига. Сывороточный уровень ингибина В у женщин в период постменопаузы или на 26–28-й день менструального цикла является высокочувствительным и специфичным биохимическим маркером этих типов опухолей.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Bryk S., Farkkila A., Bützow R. et al. Clinical characteristics and survival of patients with an adult-type ovarian granulosa cell tumor: a 56-year single-center experience. *Int J Gynecol Cancer* 2015;25(1):33–41. DOI: 10.1097/IGC.0000000000000304.
- Давыдов М.И. Лекции по онкогинекологии. М.: МЕДпресс-информ, 2009. С. 288–322. [Davydov M.I. Lectures on gynecological oncology. Moscow: MEDpress-inform, 2009. Pp. 288–322. (In Russ.)].
- Козаченко В.П. Опухоли стромы полового тяжа. Онкогинекология 2015;(4):41–7. [Kozachenko V.P. Sex cord stromal tumors. *Onkoginekologiya = Oncogynecology* 2015;(4):41–7. (In Russ.)].
- Liang L., Menzin A., Lovecchio J.L., Navarro M.D. Ovarian Sertoli–Leydig cell tumor with predominant heterologous mucinous differentiation and foci of hepatocytic differentiation: case report and review of the literature. *Ann Clin Lab Sci* 2015;45(3):348–51.
- Tretarre B., Molinie F., Woronoff A.S. et al. Ovarian cancer in France: trends in incidence, mortality and survival, 1980–2012. *Gynecol Oncol* 2015;139(2):324–9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.09.013.
- Seagle B.L., Ann P., Butler S., Shahabi S. Ovarian granulosa cell tumor: A National Cancer Database study. *Gynecol Oncol* 2017;146(2):285–91.
- Levin G., Zigron R., Haj-Yahya R. et al. Granulosa cell tumor of ovary: A systematic review of recent evidence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018;225:57–61. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2018.04.002.
- Rey R., Sabourin J.C., Vénara M. et al. Anti-Müllerian hormone is a specific marker of sertoli- and granulosa-cell origin in gonadal tumors. *Hum Pathol* 2000;31(10):1202–8. DOI: 10.1053/hupa.2000.18498.
- Robertson D.M., Stephenson T., Pruyers E. et al. Inhibins/activins as diagnostic markers for ovarian cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2002;191(1):97–103. DOI: 10.1016/s0303-7207(02)00060-6.
- Färkkilä A., Haltia U.M., Tapper J. et al. Pathogenesis and treatment of adult-type granulosa cell tumor of the ovary. *Ann Med* 2017;49(5):435–47. DOI: 10.1080/07853890.2017.1294760.
- Черепанова Е.В., Лактионов К.П., Анурова О.А. и др. Клинико-морфологические особенности опухолей яичников из клеток Сертоли–Лейдига. Опухоли женской репродуктивной системы 2010;(4):83–8. [Cherepanova E.V., Laktionov K.P., Anurova O.A. et al. Clinical and morphological features of ovarian tumors from Sertoli–Leydig cells. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy = Tumors of the Female Reproductive System* 2010;(4):83–8. (In Russ.)].
- Alam K., Maheshwari V., Rashid S. et al. Bilateral Sertoli–Leydig cell tumor of the ovary: a rare case report. *Indian J Pathol Microbiol* 2009;52(1):97–9. DOI: 10.4103/0377-4929.44981.
- Cabrera-Cantu F., Urrutia-Osorio M., Valdez-Arellano F. et al. Sertoli–Leydig cell tumor in a 12-year-old girl: a review article and case report. *Arch Gynecol Obstet* 2014;290(4):791–6. DOI: 10.1007/s00404-014-3293-6.
- Schneider D.T., Orbach D., Cecchetto G. et al. Ovarian Sertoli–Leydig cell tumours in children and adolescents: an analysis of the European Cooperative Study Group on Pediatric Rare Tumors (EXPeRT). *Eur J Cancer* 2015;51(4):543–50. DOI: 10.1016/j.ejca.2014.11.013.
- Burger H.G., Robertson D.M., Cahir N. et al. Characterization of inhibin immunoreactivity in post-menopausal women with ovarian tumors. *Clin Endocrinol* 1996;44(4):413–8. DOI: 10.1046/j.1365-2265.1996.627450.x.
- Burger H.G., Fuller P.J., Chu S. et al. The inhibins and ovarian cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2001;180(1–2):145–8. DOI: 10.1016/s0303-7207(01)00519-6.
- Groome N.P., Illingworth P.J., O'Brien M. et al. Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(4):1401–5. DOI: 10.1210/jcem.81.4.8636341.
- Бейшембаев А.М., Любимова Н.В., Абаев В.М. и др. Применение ингибина В при рецидивах гранулезоклеточных опухолей яичников. Опухоли женской репродуктивной системы 2010;(3):68–72. [Beishembaev A.M., Lyubimova N.V., Abaev V.M. et al. The use of inhibin B in relapses of granulosa cell tumors of the ovaries. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy = Tumors of the Female Reproductive System* 2010;(3):68–72. (In Russ.)].
- Любимова Н.В., Бейшембаев А.М., Кушлинский Д.Н. и др. Гранулезоклеточные опухоли яичников и ингибин В. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2010;150(11):567–70. [Lyubimova N.V., Beishembaev A.M., Kushlinskii D.N. et al. Granulosa cell tumors of the ovary and inhibin B.

- Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2010;150(11): 567–70. (In Russ.)).
20. Жордания К.И., Кержковская Н.С., Паяниди Ю.Г. и др. Гранулезоклеточные опухоли яичника. Диагностика и лечение. Онкогинекология 2014;(2):33–41. [Zhordania K.I., Kerzhkovskaya N.S., Payanidi U.G. et al. Granulosa cell tumors of the ovary. Onkoginekologiya = Oncogynecology 2014;(2):33–41. (In Russ.)].
21. Haltia U.M., Hallamaa M., Tapper J. et al. Roles of human epididymis protein 4, carbohydrate antigen 125, inhibin B and anti-Müllerian hormone in the differential diagnosis and follow-up of ovarian granulosa cell tumors. Gynecol Oncol 2017;144(1):83–9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.11.018.
22. Mom C.H., Engelen M.J., Willems P.H. Granulosa cell tumors of the ovary: the clinical value of serum inhibin A and B levels in a large single center. Gynecol Oncol 2007;105(2):365–72. DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.12.034.

#### Вклад авторов

Н.В. Любимова: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи;

А.М. Бейшембаев: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи, получение данных для анализа, анализ полученных данных;

Ю.С. Тимофеев: получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;

Н.Е. Кушлинский: разработка дизайна исследования.

#### Authors' contributions

N.V. Lyubimova: developing the research design, article writing;

A.M. Beishembaev: developing the research design, article writing, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;

Yu.S. Timofeev: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing, reviewing of publications of the article's theme;

N.E. Kushlinskii: developing the research design.

#### ORCID авторов/ORCID of authors

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

А.М. Бейшембаев/A.M. Beishembaev: <https://orcid.org/0000-0003-4915-2219>

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

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют 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.

**Информированное согласие.** Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Informed consent.** All patients gave written informed consent to participate in the study.

**Статья поступила:** 14.02.2020. **Принята к публикации:** 03.03.2020.

**Article submitted:** 14.02.2020. **Accepted for publication:** 03.03.2020.

## Анализ системного иммунитета и воспаления в прогнозе аденокарциномы желудка

Г.Г. Хакимова, Т.Н. Заботина, А.А. Трякин, А.А. Борунова, Т.В. Давыдова, А.Е. Калинин,  
Ю.В. Вахабова, Е.Н. Захарова, Д.В. Табаков

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

Контакты: Гулноз Голибовна Хакимова hgg\_doc@mail.ru

**Цель исследования** – изучить состояние клеточного иммунитета у больных аденокарциномой желудка.

**Материалы и методы.** С 2017 по 2018 г. в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина 45 ранее нелеченных больных аденокарциномой желудка (25 – с I–III стадиями, 20 – с IV стадией) получили хирургическое/комбинированное лечение или самостоятельную химиотерапию соответственно. Забор периферической крови осуществляли перед началом лечения. Исследовали клеточный состав периферической крови, а также параметры системного иммунитета, определенных методом проточной цитометрии ( $CD3^+CD4^+$ ;  $CD3^+CD8^+$ ;  $CD4^+CD8^+$ ;  $CD4^+/CD8^+$ ;  $CD3^-CD16^+CD56^+$ ;  $CD3^-CD19^+$ ), и их прогностическую значимость в отношении показателей общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования.

**Результаты.** Высокий ( $>208,7$ ) уровень тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса ассоциировался с высокими показателями выживаемости без прогрессирования (медиана 8,1 мес против 4,5 мес ( $p = 0,0027$ )). Фактором благоприятного прогноза в отношении общей выживаемости явилось повышение числа  $CD3^-CD19^+$ -лимфоцитов (отношение рисков (ОР) 0,91; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,85–0,97;  $p = 0,007$ ), а неблагоприятного прогноза – повышение числа нейтрофилов (ОР 1,26; 95 % ДИ 1,05–1,50;  $p = 0,012$ ), числа тромбоцитов (ОР 1,01; 95 % ДИ 1,0–1,01;  $p = 0,043$ ), а также числа NK-клеток (ОР 1,04; 95 % ДИ 1,0–1,09;  $p = 0,029$ ).

**Заключение.** Показатели клеточного состава периферической крови, характеризующие системную воспалительную реакцию, а также показатели системного иммунитета могут служить дополнительными прогностическими факторами при раке желудка.

**Ключевые слова:** аденокарцинома желудка, клеточный иммунитет, субпопуляция лимфоцитов, нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс

**Для цитирования:** Хакимова Г.Г., Заботина Т.Н., Трякин А.А. и др. Анализ системного иммунитета и воспаления в прогнозе аденокарциномы желудка. Успехи молекулярной онкологии 2020;7(1):38–46.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-1-38-46



### Analysis of systemic immunity and inflammation in the prognosis of gastric adenocarcinoma

G.G. Khakimova, T.N. Zabolina, A.A. Tryakin, A.A. Borunova, T.V. Davidova, A.E. Kalinin,  
Yu. V. Vakhabova, E.N. Zakharova, D.V. Tabakov

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

**Objective:** to study the state of cellular immunity in patients with gastric adenocarcinoma.

**Materials and methods.** From 2017 to 2018, 45 previously untreated patients with gastric adenocarcinoma (25 with stage I–III, 20 with stage IV) received surgical/combined treatment or independent chemotherapy, respectively, at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology. Peripheral blood sampling was carried out before starting treatment. We studied the cellular composition of peripheral blood, as well as systemic immunity parameters determined by flow cytometry ( $CD3^+CD4^+$ ;  $CD3^+CD8^+$ ;  $CD4^+CD8^+$ ;  $CD4^+/CD8^+$ ;  $CD3^-CD16^+CD56^+$ ;  $CD3^-CD19^+$ ), and their prognostic significance in relation to overall survival and progression-free survival.

**Results.** The prognostic value of the relative indicator of platelet lymphocytic index was determined: progression-free survival in patients with a high level of platelet-lymphocytic index ( $>208,7$ ) was higher: 8.1 months versus 4.5 months ( $p = 0.0027$ ). A favorable prognosis for overall survival was an increase in the number of  $CD3^-CD19^+$  lymphocytes (hazard ratio (HR) 0.91; 95 % confidence interval (CI) 0.85–0.97;  $p = 0.007$ ), and an unfavorable prognosis was an increase in the number of neutrophils (HR 1.26; 95 % CI 1.05–1.50;  $p = 0.012$ ), platelet count (HR 1.01; 95 % CI 1.0–1.01;  $p = 0.043$ ), as well as an increase in the number of NK cells (HR 1.04, 95 % CI 1.0–1.09;  $p = 0.029$ ).

**Conclusion.** Indicators of the cellular composition of peripheral blood, characterizing a systemic inflammatory reaction, as well as indicators of systemic immunity, can serve as additional prognostic factors for gastric cancer.

**Key words:** gastric adenocarcinoma, cellular immunity, subpopulation of lymphocytes, neutrophilic lymphocytic index, platelet lymphocytic index

**For citation:** Khakimova G.G., Zabolina T.N., Tryakin A.A. et al. Analysis of systemic immunity and inflammation in the prognosis of gastric adenocarcinoma. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2020;7(1):38–46. (In Russ.).

### Введение

Рак желудка (РЖ) занимает 5-е место среди онкологических заболеваний (1 313 000 случаев) и является 3-й причиной смертности от рака (819 000 случаев смерти) в мире [1]. В структуре онкологической заболеваемости в России РЖ устойчиво занимает лидирующие позиции. Несмотря на снижение заболеваемости РЖ за последние 10 лет, около 40 тыс. россиян ежегодно умирают от этой патологии [2]. За год в России диагностируется 45–49 тыс. новых случаев РЖ, что составляет более 11 % всех злокачественных опухолей [3]. По данным О. Yazıcı и соавт., 5-летняя общая выживаемость (ОВ) пациентов с РЖ в мире в 2016 г. составила не более 20–30 % [4]. В то же время при местно-распространенных опухолях примерно в 50 % случаев после адьювантного лечения наблюдается местный/системный рецидив, и 5-летняя ОВ достигается только в 10–15 % случаев [5]. При метастатическом процессе паллиативная химиотерапия дает незначительный выигрыш с медианой ОВ приблизительно 8–10 мес [6]. Несмотря на то что агрессивная хирургическая тактика и расширенные операции являются стандартом, при котором можно добиться полного излечения, с воздействием на предположительно существующие даже на ранних стадиях имплантационные или гематогенные метастазы с помощью адьювантной, неоадьювантной, регионарной, внутрисполостной химиотерапии, результаты все еще довольно скромны. Поэтому понятны стремления ученых найти «ключ» к пониманию возможностей патогенетической регуляции процессов роста и дифференцировки злокачественной клетки [4].

Особый интерес представляет оценка роли иммунной системы в контроле опухолевого роста и, соответственно, в прогнозе заболевания. Иммунная система и клетки, инфильтрирующие опухоль, являются объектом активного изучения [7–9], поскольку им отводится ключевая роль в формировании противоопухолевого иммунитета. Многообразие субпопуляций иммунных клеток, а также основных продуктов их синтеза и путей совместного взаимодействия может объяснять как активацию путей противоопухолевой защиты, так и потенцирование прогрессирования заболевания. Кроме этого, анализ данных литературы последних лет показал несомненную прогностическую ценность системных воспалительных индексов, основанных на подсчете соотношений нейтрофилов, лимфоцитов и тромбоцитов в периферической крови пациентов с колоректальным раком [10], РЖ [11, 12] и гепатоцеллюлярным раком [13], что позволяет использовать эти показатели в клинической практике на этапе планирования комплексного лечения пациентов со злокачественными новообразованиями, а также максимально рано выявлять признаки развития рецидива заболевания.

**Цель исследования** — изучить состояние клеточно-иммунитета у больных аденокарциномой желудка.

### Материалы и методы

Проведено проспективное исследование со случайным формированием выборки с включением больных РЖ, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в период с 2017 по 2018 г. Анализ статуса системного иммунитета в периферической крови осуществляли однократно, до начала лечения.

Основные критерии включения пациентов в исследование: возраст старше 18 лет, морфологическая верификация опухоли — аденокарцинома желудка, вне зависимости от стадии заболевания.

Основные критерии исключения: наличие в анамнезе воспалительных заболеваний за последние 3 мес, поддерживающая антибактериальная и иммуномодулирующая терапия на момент включения в исследование.

Лечение проводили согласно существующим стандартам (I–III стадии — хирургическое или комбинированное лечение; IV стадия — лекарственная терапия).

До начала лечения всем пациентам проведен стандартный комплекс обследований: физикальный осмотр, клинический и биохимический анализ крови, электрокардиограмма в 12 отведениях, компьютерная томография в целях уточнения распространенности опухолевого процесса. Все пациенты имели удовлетворительный общий статус, определенный по шкале ECOG, — 0–1 балл.

**Лабораторные методы.** Для выявления прогностической ценности клинических маркеров воспаления был проведен расчет следующих соотношений (по результатам клинического анализа крови на этапе исходной оценки): 1) нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ); 2) тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс (ТЛИ).

Анализ показателей субпопуляций лимфоцитов периферической крови осуществляли методом проточной цитометрии в целях определения структуры иммунных клеток CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>; CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>; CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>; CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>; CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>.

**Проточно-цитометрический анализ.** Структуру субпопуляций иммунокомпетентных клеток оценивали по связыванию с моноклональными антителами различной специфичности методом многопараметрового количественного анализа на проточном цитометре FACSCalibur (BD Biosciences). Для каждого образца анализировали не менее 2000 клеток в CD45<sup>+</sup>-гейте. Использовали DotPlot-анализ цитограмм с коммерческим программным обеспечением BD CellQuest PRO software (BD Biosciences). Дальнейшую обработку FSC-файлов первичных цитометрических данных проводили с помощью программного пакета WinMDI версии 2.8.

**Статистическая обработка результатов.** Статистическая обработка материала и расчеты показателей проведены с использованием статистического пакета лицензионных программ Statistica для Windows v. 10 (однофакторный анализ, корреляционный анализ по Спирмену, описательная статистика сравнения

количественных показателей по Манну–Уитни, анализ Каплана–Майера) и SPSS v21 (ROC-кривые, многофакторный анализ). Количественные переменные отклонялись от нормального распределения (тест Колмогорова–Смирнова) и представлены медианой с указанием 25-го и 75-го квартилей. Категориальные переменные выражали в процентах и абсолютных значениях.

Статистическую значимость различий между количественными показателями вычисляли по t-критерию Стьюдента по непараметрическим критериям Манна–Уитни и Вилкоксона. Для сравнения качественных параметров применяли точный критерий Фишера и  $\chi^2$ . Различия считали значимыми при  $p < 0,05$  (допустимый уровень  $\alpha$ -ошибки 5 %). Степень взаимосвязи параметров оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену. Определение границ с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности выполняли методом построения ROC-кривой.

**Основные оцениваемые параметры.** Основными конечными точками в данном исследовании были ОВ и выживаемость без прогрессирования (ВБП). ОВ определяли как время от момента постановки диагноза РЖ до момента смерти пациента от любой причины либо до даты последнего контакта с больным. ВБП определяли как время от начала лечения заболевания до времени регистрации имеющихся проявлений болезни либо до появления новых метастатических очагов. Показатели выживаемости рассчитывали из реальных данных о длительности жизни каждого больного на момент завершения исследования с использованием метода Каплана–Майера. Кривые выживаемости сравнивали с использованием *log-rank*-теста.

### Результаты

**Характеристика пациентов.** В исследование были включены 45 пациентов с РЖ (19 (42,2 %) мужчин и 26 (57,8 %) женщин). Возраст пациентов варьировал от 37 до 80 лет (средний возраст  $60,9 \pm 10,9$  года, медиана 62 года). В НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в 2017–2018 гг. 25 (55,6 %) пациентов с локализованным РЖ получили на 1-м этапе хирургическое лечение (1-я группа), 20 (44,4 %) пациентов с IV стадией – химиотерапевтическое лечение (2-я группа). Медиана наблюдения за больными составила 18,5 (15,2–20,4) мес (в 1-й группе – 18,3 (15,2–19,2) мес, во 2-й – 19,5 (8,7–22,7) мес).

Из 20 (44,4 %) пациентов 2-й группы метастатическое поражение было представлено асцитом у 10 больных, метастазами в легких – у 2, метастазами в печень – у 5, у 3 пациентов диссеминация затрагивала несколько областей (печень, легкие, висцеральные и забрюшинные лимфатические узлы). Характеристика больных представлена в табл. 1.

**Исследование факторов системного воспаления.** Полученные результаты представлены в табл. 2.

Таблица 1. Характеристика пациентов

Table 1. Patient characteristics

| Характеристика<br>Characteristic  | 1-я группа<br>1 <sup>st</sup> group | 2-я группа<br>2 <sup>nd</sup> group | Всего<br>Total |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------|
| Число пациентов, n (%)<br>Number of patients, n (%)                             | 25 (55,6)                           | 20 (44,4)                           | 45 (100)       |
| Средний возраст, лет<br>Mean age, years   | 65<br>(60–69)                       | 58<br>(44,5–64,0)                   | 62<br>(58–67)  |
| Возрастная группа, n (%):<br>Age group, n (%):                                  |                                     |                                     |                |
| до 45 лет<br>under 45 years   | 0                                   | 5 (25)*                             | 5 (11,1)       |
| 46–60 лет<br>46–60 years  | 7 (28)                              | 6 (30)                              | 13 (28,9)      |
| старше 60 лет<br>above 60 years   | 18 (72)                             | 9 (45)                              | 27 (60,0)      |
| Пол, n (%):<br>Gender, n (%):   |                                     |                                     |                |
| мужской<br>male   | 10 (40)                             | 9 (45)                              | 19 (42,2)      |
| женский<br>female   | 15 (60)                             | 11 (55)                             | 26 (57,8)      |
| Стадия TNM, n (%):<br>TNM stage, n (%):   |                                     |                                     |                |
| I   | 3 (16,7)                            | 0                                   | 3 (9,7)        |
| II  | 6 (33,3)                            | 0                                   | 6 (19,4)       |
| III   | 9 (50,0)                            | 0                                   | 9 (29,0)       |
| IV  | 0                                   | 13 (100)                            | 13 (41,9)      |
| Степень дифференцировки, n (%):<br>Differentiation grade, n (%):                |                                     |                                     |                |
| G <sub>1</sub>  | 3 (12)                              | 2 (10)                              | 5 (11,1)       |
| G <sub>2</sub>  | 8 (32)                              | 6 (30)                              | 14 (31,1)      |
| G <sub>3</sub>  | 14 (56)                             | 12 (60)                             | 26 (57,8)      |
| Тип по классификации<br>Lauren, n (%):<br>Lauren classification type,<br>n (%): |                                     |                                     |                |
| кишечный<br>intestinal  | 16 (64)                             | 12 (60)                             | 28 (62,2)      |
| диффузный<br>diffuse  | 7 (28)                              | 6 (30)                              | 13 (28,9)      |
| смешанный<br>mixed  | 2 (8)                               | 2 (10)                              | 4 (8,9)        |
| Статус MSI, n (%):<br>MSI status, n (%):  |                                     |                                     |                |
| MSS   | 23 (92)                             | 20 (100)                            | 43 (95,6)      |
| MSI-H   | 2 (8)                               | 0                                   | 2 (4,4)        |
| Гиперэкспрессия<br>HER2, n (%):<br>HER2 hyperexpression,<br>n (%):              |                                     |                                     |                |
| нет<br>absent   | 0                                   | 11 (55)                             | 11 (24,4)      |
| есть<br>present   | 0                                   | 6 (30)                              | 6 (13,3)       |
| неизвестно<br>not known   | 25 (100)                            | 3 (15)                              | 28 (62,2)      |

\*Статистические различия между группами ( $p < 0,008$ ).

\*Significant differences between the groups ( $p < 0,008$ ).

Таблица 2. Результаты анализа клинических маркеров воспаления

Table 2. Results of analysis of clinical inflammation markers

| Показатель<br>Characteristic   | 1-я группа (n = 25)<br>1 <sup>st</sup> group (n = 25) |                       | 2-я группа (n = 20)<br>2 <sup>nd</sup> group (n = 20) |                       | Сравнение между<br>1-й и 2-й группами,<br>p (Манна–Уитни)<br>Comparison between the 1 <sup>st</sup> and<br>2 <sup>nd</sup> groups, p (Mann–Whitney) |
|--|---|-----------------------|---|-----------------------|---|
|  | Медиана<br>Median                                     | Квартили<br>Quartiles | Медиана<br>Median                                     | Квартили<br>Quartiles |   |
| <b>Показатели периферической крови</b><br>Peripheral blood characteristics |   |                       |   |                       |   |
| Нейтрофилы, × 10 <sup>9</sup> /л<br>Neutrophils, × 10 <sup>9</sup> /L      | 4,90  | 3,17–8,84             | 3,63  | 3,04–5,17             | 0,147   |
| Тромбоциты, × 10 <sup>9</sup> /л<br>Platelets, × 10 <sup>9</sup> /L        | 265,0   | 222,0–311,0           | 270,0   | 221,0–348,5           | 0,793   |
| Лимфоциты, × 10 <sup>9</sup> /л<br>Lymphocytes, × 10 <sup>9</sup> /L       | 2,13  | 1,65–2,75             | 1,68  | 1,44–2,40             | 0,337   |
| <b>Относительные индексы</b><br>Relative indices                           |   |                       |   |                       |   |
| Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс<br>Neutrophil-lymphocyte ratio           | 2,29  | 1,36–4,99             | 2,19  | 1,55–2,85             | 0,954   |
| Тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс<br>Platelet-lymphocyte ratio            | 120,19  | 92,11–168,56          | 154,0   | 113,0–228,76          | 0,278   |

**Примечание.** Достоверных различий нет.

*Note.* No significant differences observed.

При анализе маркеров воспаления у пациентов с РЖ относительно референсных значений нормы (уровни нейтрофилов  $2-6,85 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоцитов  $1,10-3,20 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоцитов  $180-320 \times 10^9/\text{л}$ ) выявлено, что у 2/3 (73–78 %) пациентов показатели нейтрофилов, лимфоцитов и тромбоцитов соответствуют норме. В то же время отмечено, что в 1-й группе число пациентов с отклонением количества нейтрофилов от нормы достоверно выше, чем во 2-й группе (40 % против 10 %;  $p = 0,025$  по Фишеру), при одинаковых значениях доли повышенных лимфоцитов и тромбоцитов в обеих группах (24 % против 30 %; 24 % против 20 %). Количество нейтрофилов у 90 % пациентов с метастатическим РЖ (2-я группа) соответствует норме, тогда как в 1-й группе всего в 60 % случаев не отмечается отклонение от нормального диапазона числа нейтрофилов (табл. 3).

При этом повышение числа нейтрофилов и НЛИ встречается преимущественно у мужчин и более выражено в 1-й группе ( $r = -0,58$ ;  $r = -0,74$ ). Повышение числа тромбоцитов чаще встречается при кишечном типе аденокарциномы желудка и преимущественно представлено во 2-й группе ( $r = -0,66$ ).

**Исследование системного клеточного иммунитета в периферической крови.** Полученные результаты представлены в табл. 4.

При оценке клинических маркеров воспаления и системного иммунитета относительно таких клинических факторов, как возраст, пол, стадия заболевания, степень дифференцировки (G) и тип по класси-

фикации Laugen, у 45 пациентов с РЖ зависимость не обнаружена. Однако при подгрупповом анализе выявлено, что у пациентов 1-й группы с повышением числа нейтрофилов растет и число В-клеток ( $R = 0,65$ ). Помимо этого, медиана числа нейтрофилов при III стадии оказалась достоверно выше, чем при I–II стадиях ( $7,02 \times 10^9/\text{л}$  против  $3,48 \times 10^9/\text{л}$ ;  $p = 0,045$ ) и при IV стадии ( $7,02 \times 10^9/\text{л}$  против  $3,63 \times 10^9/\text{л}$ ;  $p = 0,0170$ ). ТЛИ был достоверно выше у пациентов 2-й группы по сравнению с таковым у больных с локализованными стадиями (154,03 против 113,09;  $p = 0,0450$ ). Отмечено снижение числа цитотоксических эффекторных клеток по мере увеличения стадии заболевания (39,90 для I–II стадий против 24,70 для IV стадии;  $p = 0,0170$ ). Выявлено увеличение числа НК-клеток у пациентов с большей распространенностью опухолевого процесса: при I–II, III и IV стадиях – 11,8; 13,0 и 21,3 соответственно, но уменьшение числа В-клеток при IV стадии по сравнению с III (1,0 против 1,9;  $p = 0,0130$ ).

**Прогностическое значение системного клеточного иммунитета в периферической крови.** За время наблюдения 18,5 (15,2–20,4) мес от прогрессирования основного заболевания умерли 3 (12 %) из 25 больных 1-й группы и 10 (50 %) из 20 пациентов 2-й группы ( $p = 0,007$ ). Прогрессирование заболевания зарегистрировано у 29 (62,2 %) пациентов: у 20 (100 %) во 2-й группе и у 9 (36 %) в 1-й.

В 1-й группе 1-летняя ОВ составила  $92,0 \pm 5,4$  %, во 2-й –  $70,0 \pm 10,2$  %; 1-летняя ВВП –  $64,0 \pm 9,6$  и  $10,0 \pm 6,7$  % соответственно.

Таблица 3. Показатели факторов воспаления относительно референсных значений

Table 3. Comparison of inflammation factors' values to reference values

| Показатель<br>Characteristic                               | 1-я группа (n = 25), n (%)<br>1 <sup>st</sup> group (n = 25), n (%) | 2-я группа (n = 20), n (%)<br>2 <sup>nd</sup> group (n = 20), n (%) | Всего, n (%)<br>Total, n (%) |
|--|---|---|------------------------------|
| Нейтрофилы:<br>Neutrophils:                                |   |   |                              |
| выше/ниже нормальных показателей<br>lower/higher than norm | 10 (40)   | 2 (10)*   | 12 (26,7)                    |
| нормальные показатели<br>normal values                     | 15 (60)   | 18 (90)   | 33 (73,3)                    |
| Лимфоциты:<br>Lymphocytes:                                 |   |   |                              |
| выше/ниже нормальных показателей<br>lower/higher than norm | 6 (24)  | 6 (30)  | 12 (26,7)                    |
| нормальные показатели<br>normal values                     | 19 (76)   | 14 (70)   | 33 (73,3)                    |
| Тромбоциты:<br>Platelets:                                  |   |   |                              |
| выше/ниже нормальных показателей<br>lower/higher than norm | 6 (24)  | 4 (20)  | 10 (22,2)                    |
| нормальные показатели<br>normal values                     | 19 (76)   | 16 (80)   | 35 (77,8)                    |

\* $p = 0,025$ .

Таблица 4. Результаты анализа клинических характеристик системного иммунитета

Table 4. Results of analysis of clinical characteristics of systemic immunity

| Показатель иммунитета<br>в крови<br>Immunity characteristic in blood | 1-я группа (n = 25)<br>1 <sup>st</sup> group (n = 25) |                       | 2-я группа (n = 20)<br>2 <sup>nd</sup> group (n = 20) |                       | Сравнение между<br>1-й и 2-й группами,<br>p (Манна–Уитни)<br>Comparison between the 1 <sup>st</sup> and<br>2 <sup>nd</sup> groups, p (Mann–Whitney) |
|--|---|-----------------------|---|-----------------------|---|
|  | Медиана<br>Median                                     | Квартили<br>Quartiles | Медиана<br>Median                                     | Квартили<br>Quartiles |   |
| CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (N = 35–46)                        | 39,7  | 29,6–45,5             | 37,3  | 32,0–49,1             | 0,828   |
| CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (N = 25–35)                        | 32,8  | 23,0–41,2             | 24,7  | 20,5–33,6             | 0,075   |
| CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (N = 1,2–2,4)                      | 1,7   | 1,1–2,7               | 2,0   | 1,2–2,3               | 0,882   |
| CD4/CD8  | 0,9   | 0,8–1,1               | 0,9   | 0,8–1,8               | 0,401   |
| CD3 <sup>-</sup> CD19 <sup>+</sup>                                   | 1,6   | 1,3–2,2               | 1,0   | 0,6–1,5               | 0,017   |
| CD3 <sup>-</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>                 | 11,8  | 7,3–25,0              | 21,3  | 9,4–30,4              | 0,140   |

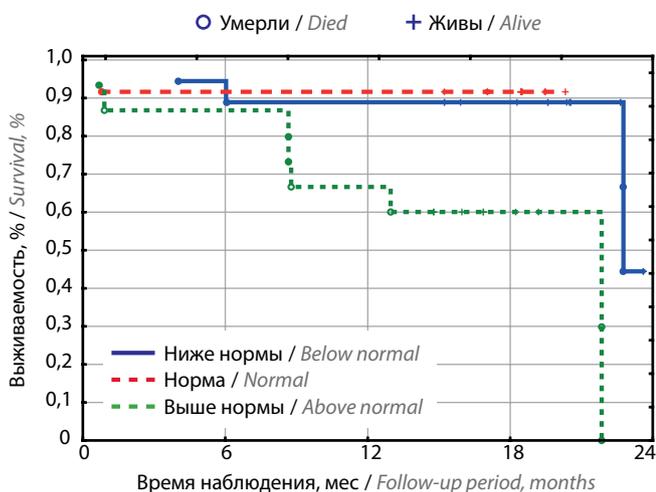
Для определения независимых прогностических признаков, влияющих на показатели ВБП и ОВ, выполнен последовательный регрессионный анализ Кокса. В него были включены показатели системного иммунитета – CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>; CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>; CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>; CD3<sup>-</sup> CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>; CD3<sup>-</sup> CD19<sup>+</sup> и показатели системного воспаления – уровни нейтрофилов, тромбоцитов, лимфоцитов, НЛИ, ТЛИ из однофакторного анализа с уровнем  $p < 0,05$ . Результаты нашего анализа выявили влияние количества НК-клеток на ОВ (относительный риск (ОР) 1,04; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,0–1,09;  $p = 0,029$ ). Диапазон процентного содержания CD3<sup>-</sup> CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>-НК-кле-

ток у исследуемой когорты больных составил 10–24 % (табл. 5).

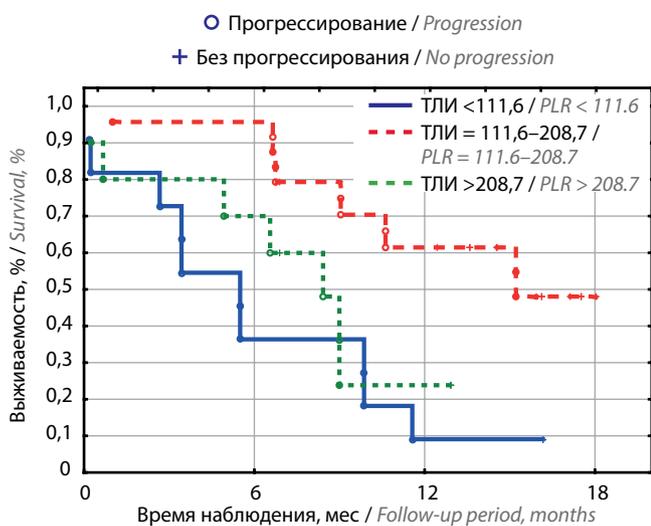
Для определения зависимости ОВ от уровня НК-клеток (N = 10–24 %) больные РЖ были распределены на 3 группы: ниже нормы; норма; выше нормы (ниже нормы – норма  $p = 0,861$ ; выше нормы – норма  $p = 0,049$ ; ниже нормы – выше нормы  $p = 0,012$ ) по *log-rank*-тесту.

На рис. 1 продемонстрировано, что высокие показатели НК-клеток свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе.

При анализе влияния показателей системного воспаления на выживаемость выявлена взаимосвязь ВБП



**Рис. 1.** Влияние  $CD3^+CD16^+CD56^+$ -NK-клеток на показатели общей выживаемости  
**Fig. 1.** Effect of  $CD3^+CD16^+CD56^+$ -NK-cells on overall survival



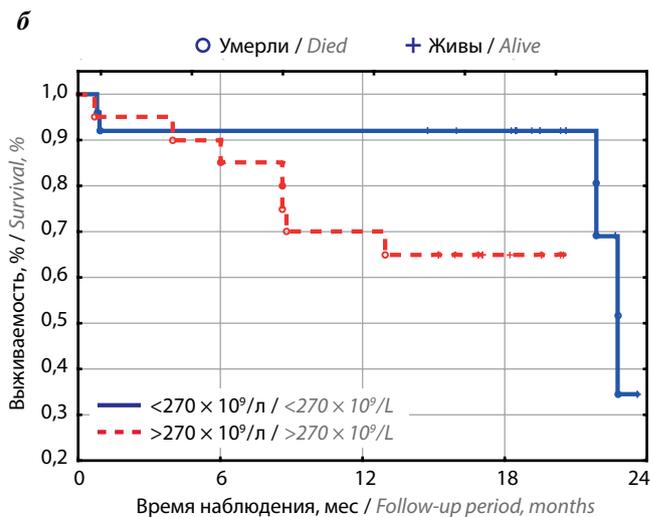
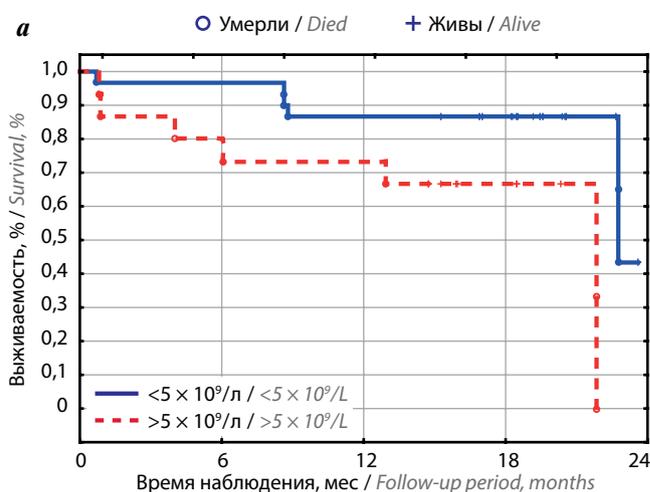
**Рис. 2.** Влияние тромбоцитарно-лимфоцитарный индекса (ТЛИ) на показатели выживаемости без прогрессирования  
**Fig. 2.** Effect of platelet-lymphocyte ratio (PLR) on progression-free survival

и ТЛИ. Для оценки прогностической ценности ТЛИ на выживаемость мы использовали 3 диапазона значений, которые выделили с учетом 25-го и 75-го квартилей [14]:

- низкий уровень (ТЛИ <111,6);
- нормальный (ТЛИ = 111,6–208,7);
- высокий (ТЛИ >208,7).

Для низкого уровня ТЛИ ( $n = 11$ ) 1-летняя ВБП составила  $9,1 \pm 8,7$  % (медиана 4,5 мес), для нормального ( $n = 24$ ) –  $61,6 \pm 10,1$  % (медиана 15,2 мес), для высокого ( $n = 10$ ) –  $24,0 \pm 14,5$  % (медиана 8,1 мес) для среднего диапазона значений ( $p = 0,0027$ ) (рис. 2). Помимо этого, однофакторный анализ подтвердил значимое влияние числа нейтрофилов и тромбоцитов на показатели ОВ: ОР 1,26; 95 % ДИ 1,05–1,50;  $p = 0,012$  и ОР 1,01; 95 % ДИ 1,00–1,01;  $p = 0,043$  соответственно.

Сравнение ОВ пациентов с нормальными и повышенными показателями нейтрофилов и тромбоцитов



**Рис. 3.** Граница показателя нейтрофилов (а) и тромбоцитов (б) при анализе ROC-кривой  
**Fig. 3.** Boundary values for neutrophils (a) and platelets (b) in ROC curve analysis

не выявило достоверных различий. В связи с этим с использованием метода построения ROC-кривой были определены границы с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности. Для нейтрофилов граница составила  $5 \times 10^9/л$ , для тромбоцитов –  $270 \times 10^9/л$  (рис. 3). Сравнение ОВ в группах дало следующие результаты: для нейтрофилов  $p = 0,019$ , для тромбоцитов  $p = 0,049$ .

По результатам последовательного регрессионного многофакторного анализа для больных РЖ было выделено 3 независимых прогностических признака (табл. 6).

Из табл. 6 видно, что все 3 показателя являются факторами неблагоприятного прогноза течения РЖ. При подгрупповом однофакторном анализе Кокса показателей системного и клеточного иммунитета выявлено, что ни один из показателей достоверно не влияет на БРВ и ОВ у пациентов с локальными и местно-распространенными формами РЖ. Однако у пациентов 2-й группы выявлена зависимость ОВ и ВБП от следующих показателей: ОВ от уровней нейтрофилов

**Таблица 5.** Признаки, влияющие на показатели общей выживаемости больных раком желудка, по результатам однофакторного анализа

**Table 5.** Characteristics affecting overall survival of patients with stomach cancer per one-factor analysis

| Показатель<br>Characteristic                                     | Относительный риск (95 % доверительный интервал)<br>Relative risk (95 % confidence interval) | <i>p</i> |
|--|--|----------|
| Нейтрофилы<br>Neutrophils  | 1,26 (1,05–1,50)   | 0,012    |
| Тромбоциты<br>Platelets  | 1,01 (1,00–1,01)   | 0,043    |
| Лимфоциты<br>Lymphocytes   | 1,50 (0,89–2,52)   | 0,128    |
| Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс<br>Neutrophil-lymphocyte ratio | 1,22 (0,84–1,75)   | 0,292    |
| Тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс<br>Platelet-lymphocyte ratio  | 1,00 (0,99–1,01)   | 0,779    |
| CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>                                | 1,01 (0,96–1,06)   | 0,754    |
| CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>                                | 0,96 (0,90–1,02)   | 0,176    |
| CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>                                | 1,21 (0,92–1,59)   | 0,169    |
| CD4/CD8  | 1,17 (0,44–3,10)   | 0,749    |
| CD3 <sup>-</sup> CD19 <sup>+</sup>                               | 1,06 (0,84–1,35)   | 0,611    |
| CD3 <sup>-</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>             | 1,04 (1,00–1,09)   | 0,029    |

(ОР 1,33; 95 % ДИ 1,08–1,65;  $p = 0,008$ ), тромбоцитов (ОР 1,01; 95 % ДИ 1,00–1,02;  $p = 0,006$ ), CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>-NK-клеток (ОР 1,09; 95 % ДИ 1,02–1,16;  $p = 0,007$ ); ВБП от уровней нейтрофилов (ОР 1,34; 95 % ДИ 1,07–1,67;  $p = 0,010$ ), тромбоцитов (ОР 1,01; 95 % ДИ 1,01–1,02;  $p = 0,0006$ ), НЛИ (ОР 2,80; 95 % ДИ 1,36–5,75;  $p = 0,005$ ) и CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>-NK-клеток (ОР 1,05; 95 % ДИ 1,01–1,10;  $p = 0,023$ ). Помимо этого, при однофакторном анализе зависимости ОВ и ВБП от клинических факторов выявлено, что с увеличением возраста пациентов и стадии заболевания уменьшается ВБП (ОР 1,06; 95 % ДИ 1,01–1,12;  $p = 0,012$  и ОР 2,79; 95 % ДИ 1,57–4,95;  $p = 0,0005$  соответственно).

### Обсуждение

При изучении системного иммунитета больных РЖ были получены достоверные различия между группами в содержании CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-цитотоксических эффекторных клеток, CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>-В-клеток и CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>-NK-клеток. Отмечена прямо пропорциональная связь между клетками эффекторного звена иммунитета. Так, у больных 1-й группы содержание специфических цитотоксических лимфоцитов досто-

**Таблица 6.** Факторы, достоверно влияющие на показатели общей выживаемости больных раком желудка, по результатам многофакторного регрессионного анализа

**Table 6.** Factors significantly affecting overall survival of patients with stomach cancer per multifactorial regression analysis

| Показатель<br>Characteristic  | Относительный риск (95 % доверительный интервал)<br>Relative risk (95 % confidence interval) | <i>p</i> |
|---|--|----------|
| Нейтрофилы (N = 2–6,85 × 10 <sup>9</sup> /л)<br>Neutrophils (N = 2–6,85 × 10 <sup>9</sup> /L) | 1,26 (1,05–1,50)   | 0,012    |
| Тромбоциты (N = 180–320 × 10 <sup>9</sup> /л)<br>Platelets (N = 180–320 × 10 <sup>9</sup> /L) | 1,01 (1,00–1,01)   | 0,043    |
| CD3 <sup>-</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> (N = 10–24 %)                            | 1,04 (1,00–1,09)   | 0,029    |

верно выше по сравнению с таковым у пациентов 2-й группы. Одновременно с этим выявлено, что процентное содержание CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>-NK-клеток у пациентов 2-й группы, напротив, оказалось достоверно выше показателей 1-й группы – 11,0 % против 21,3 % ( $p < 0,05$ ). Оценка показателей выживаемости с помощью однофакторного регрессионного анализа Кокса выявила отрицательное влияние высокого уровня NK-клеток на ОВ пациентов с РЖ (ОР 1,04; 95 % ДИ 1,0–1,09;  $p = 0,029$ ). Таким образом, увеличение доли клеток эффекторного звена в пользу NK-клеток с одновременным уменьшением числа цитотоксических Т-лимфоцитов свидетельствует о неэффективном иммунном ответе пациентов 2-й группы. Аналогичные данные были получены М. Desbois и соавт. и G.O. Liu и соавт. [15, 16], выявившими зависимость между инфльтрацией NK-клетками опухоли и показателями выживаемости.

Интересно отметить, что процентное содержание специфических эффекторных цитотоксических CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-Т-клеток в структуре Т-клеточного звена оказалось выше у пациентов 1-й группы, чем 2-й (32,8 % против 24,7 %;  $p = 0,05$ ), что свидетельствует о специфической активности иммунной системы на более ранних стадиях РЖ.

Прогностическая значимость CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-Т-клеток при РЖ исследовалась и в наблюдении G.O. Liu и соавт. [16]. Авторами проанализированы данные 274 больных РЖ III стадии, разделенных на группы с высоким и низким уровнем CD8<sup>+</sup>-Т-клеток. При медиане наблюдения 21,4 мес было обнаружено, что у пациентов с высоким уровнем CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-Т-клеток в периферической крови был статистически достоверно лучший послеоперационный прогноз, чем у пациентов с низким уровнем CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-Т-клеток (45,32 мес против 23,52 мес;  $p = 0,02$ ). Анализ В-лимфоцитов у пациентов с РЖ выявил, что процентное содержание CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup> оказалось ниже показателей нормы. В то же время число В-клеток у пациентов 1-й группы по

сравнению со 2-й (1,6 % против 1,0 %) оказалось достоверно выше, что коррелировало с благоприятным течением заболевания ( $p = 0,01$ ).

Согласно последним данным зарубежной литературы НЛИ и ТЛИ могут являться информативными факторами прогноза течения РЖ в связи с обнаруженным их влиянием на ОВ пациентов. Так, по данным М. Могі и соавт., повышение значения НЛИ у пациентов с аденокарциномой желудка, получавших адъювантную химиотерапию, является фактором неблагоприятного прогноза, влияющим как на ОВ, так и на БРВ [17].

В нашем исследовании не получено достоверных данных о влиянии НЛИ на показатели выживаемости, однако с помощью метода построения ROC-кривой были определены границы с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности. Для нейтрофилов граница составила  $5 \times 10^9/\text{л}$ , а их количество напрямую коррелирует со стадией заболевания. Оказалось, что уровень нейтрофилов достигает своего максимума при III стадии болезни, а при I–II и IV стадиях показатели находятся в пределах  $3,48–3,63 \times 10^9/\text{л}$

( $p = 0,045$ ). Метод построения ROC-кривой определил границы с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности для тромбоцитов, что составило  $270 \times 10^9/\text{л}$ . При анализе ТЛИ в зависимости от стадии заболевания выявлено повышение его значения по мере прогрессирования заболевания. Так, значение ТЛИ при I–II стадиях РЖ составило 113 нг/мл, при IV – 154 нг/мл ( $p = 0,045$ ). Аналогичные результаты были получены при анализе данных 723 пациентов с аденокарциномой желудка или желудочно-пищеводного соединения и показали, что именно повышенный показатель ТЛИ является достоверным фактором прогноза течения заболевания, оказывающим влияние как на ОВ, так и на безрецидивную выживаемость [18].

### Заключение

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о возможности использования показателей клеточного иммунитета и системного воспалительного ответа у больных РЖ в качестве дополнительных прогностических маркеров оценки ВВП и ОВ.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice C., Allen C. et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol* 2017;3(4):524–48. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.5688.
- Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2004 г. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2008; 19(2 прил.1):52–90. [Davydov M.I., Aksel' E.M. The incidence of malignant neoplasms of the population of Russia and the CIS countries in 2004. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina RAMN = Bulletin of the Russian Research Center N.N. Blokhin RAMS* 2008; 19(2 att. 1):52–90. (In Russ.)].
- Давыдов М.И., Тер Ованесов М.В. Современная стратегия хирургического лечения рака желудка. Современная онкология 2000;2(1):4–10. [Davydov M.I., Ter-Ovanesov M.D. A modern strategy for the surgical treatment of gastric cancer. *Sovremennaya onkologiya = Modern Oncology* 2000;2(1):4–10. (In Russ.)].
- Yazici O., Sendur M.A., Ozdemir N., Aksoy S. Targeted therapies in gastric cancer and future perspectives. *World J Gastroenterol* 2016;22(2):471–89. DOI: 10.3748/wjg.v22.i2.471.
- Waddell T., Verheij M., Allum W. et al. Gastric cancer: ESMO-ESSO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24 Suppl 6:vi57–63. DOI: 10.1093/annonc/mdt344.
- Okines A.F., Norman A.R., McCloud P. et al. Meta-analysis of the REAL-2 and ML17032 trials: evaluating capecitabine-based combination chemotherapy and infused 5-fluorouracil-based combination chemotherapy for the treatment of advanced oesophago-gastric cancer. *Ann Oncol* 2009;20(9):1529–34. DOI: 10.1093/annonc/mdp047.
- Бережная Н.М. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения. Онкология 2009;1(2):86–93. [Berezhnaya N.M. The interaction of cells of the immune system with other components of the microenvironment. *Onkologiya = Oncology* 2009;1(2):86–93. (In Russ.)].
- Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420(6917):860–7. DOI: 10.1038/nature01322.
- Takenaka Y., Oya R., Kitamiura T. et al. Platelet count and platelet-lymphocyte ratio as prognostic markers for head and neck squamous cell carcinoma: Meta-analysis. *Head Neck* 2018;40(12):2714–23. DOI: 10.1002/hed.25366.
- Mori M., Shuto K., Kosugi C. et al. An increase in the neutrophil-to-lymphocyte ratio during adjuvant chemotherapy indicates a poor prognosis in patients with stage II or III gastric cancer. *BMC Cancer* 2018;18(1):1261. DOI: 10.1186/s12885-018-5171-2.
- Galon J., Pages F., Marincola F.M. et al. Cancer classification using the immunoscore: a worldwide task force. *J Transl Med* 2012;10:205. DOI: 10.1186/1479-5876-10-205.
- Passardi A., Scarpini E., Cavanna L. et al. Inflammatory indexes as predictors of prognosis and bevacizumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *Oncotarget* 2016;7(22):33210–9. DOI: 10.18632/oncotarget.8901.
- Gunaldi M., Goksu S., Erdem D. et al. Prognostic impact of platelet/lymphocyte and neutrophil/lymphocyte ratios in patients with gastric cancer: a multicenter study. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(4):5937–42.
- Кутукова С.И., Беляк Н.П., Раскин Г.А. и др. Системное воспаление и иммунологическое микроокружение в прогнозе течения солидных опухолей. Злокачественные опухоли 2019;9(1):29–37. DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-1-29-37. [Kutukova S.I., Belyak N.P., Raskin G.A. et al. Cistemnoe vospalenie i immunologicheskoe mikrookruzhenie v prognoze techeniya solidnykh opukholey. *Zlo-kachestvennyye opukholy = Malignant Tumors* 2019;9(1):29–37. (In Russ.)].
- Desbois M., Rusakiewicz S., Locher C. et al. Natural killer cells in non-hematopoietic malignancies. *Front Immunol* 2012;3:395. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00395.

16. Liu G.O., Song-Wen H., Ke P. Prognostic significance of preoperative CD8+ central memory T cells for operable and advanced gastric cancer *Int J Clin Exp Pathol* 2017;10(3):3424–30.
17. Mantovani A., Romero P., Palucka A.K., Marincola F.M. Tumor immunity: effector response to tumor and role of the microenvironment. *Lanset* 2008;371(9614): 771–83.  
DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60241-X.
18. Тупицын Н.Н. Иммунофенотип рака молочной железы. В кн.: Рак молочной железы. Под ред. Н.Е. Кушлинского, С.М. Портного, К.Г. Лактионова. М.: РАМН, 2005. С. 174–197. [Tupicin N.N. Immunophenotype of breast cancer. *Mammary Cancer*. Eds.: N.E. Kushlinskii, S.M. Portnoy, K.G. Laktionov. Moscow: RAMN, 2005. Pp. 174–197. (In Russ.)].

**Вклад авторов**

Г.Г. Хакимова: сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста статьи;  
Т.Н. Заботина, А.А. Трякин: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста;  
А.А. Борунова, Т.В. Давыдова, А.Е. Калинин, Ю.В. Вахабова, Е.Н. Захарова, Д.В. Табаков: сбор и обработка материала.

**Authors' contributions**

G.G. Khakimova: sample collection and processing, statistical analysis, article writing;  
T.N. Zabolina, A.A. Tryakin: development of study concept and design, article editing;  
A.A. Borunova, T.V. Davydova, A.E. Kalinin, Yu.V. Vakhobova, E.N. Zakharova, D.V. Tabakov: sample collection and processing.

**ORCID авторов/ORCID of authors**

Г.Г. Хакимова/G.G. Khakimova: <https://orcid.org/0000-0002-4970-5429>  
Т.Н. Заботина/T.N. Zabolina: <https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>  
А.А. Трякин/A.A. Tryakin: <https://orcid.org/0000-0003-2245-214X>  
А.А. Борунова/A.A. Borunova: <https://orcid.org/0000-0001-5874-5804>  
А.Е. Калинин/A.E. Kalinin: <https://orcid.org/0000-0001-7457-3889>  
Е.Н. Захарова/E.N. Zakharova: <https://orcid.org/0000-0003-2790-6673>  
Д.В. Табаков/D.V. Tabakov: <https://orcid.org/0000-0002-1509-2206>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют 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.

**Информированное согласие.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Informed consent.** All patients gave written informed consent to participate in the study.