

УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
ЖУРНАЛ



*Молекулярный патогенез рака
щитовидной железы*

*Экспрессия CD204 и IDO1
в опухолях пищевода*

*Генетические факторы прогноза
терапии при раке прямой кишки*

*Клинико-морфологический
портрет опухолей
с микросателлитной
нестабильностью*

Оксид азота в канцерогенезе



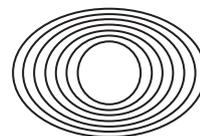
Журнал «Успехи молекулярной онкологии» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук. Журнал включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор, зарегистрирован в CrossRef, статьи индексируются с помощью идентификатора цифрового объекта (DOI).

 В сентябре 2020 г. журнал принят в Scopus.

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 Ы 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, ознакомить с наиболее значимыми работами отечественных и зарубежных исследователей в этой области, создать общую площадку, на которой специалисты разных областей, включая онкологов, молекулярных биологов, генетиков, биохимиков, вирусологов, химиотерапевтов, смогут поделиться результатами своих научных исследований.

О С Н О В А Н В 2 0 1 4 Г .

ТОМ 8
2'21

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

www.abvpress.ru

Прием статей:
онлайн на сайте
<http://umo.abvpress.ru/jour>

или по адресу
adv.mol.onc@ronc.ru

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

*Служба подписки и распространения
И.В. Шургаева, +7 (499) 929-96-19,
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.
2021. Том 8. № 2. 1–60.
Сдано в печать: 27.07.2021.
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2021
Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 93562
Отпечатано в типографии
«Мэйл Текнолоджи». 105082,
Москва, Переведеновский
переулок, 13, строение 16.
Тираж 1000 экз. Бесплатно.

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 им. 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)

Юришич 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)

Зарилзе 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.

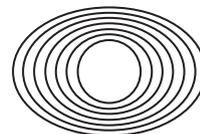
The journal is included in the Scientific Electronic Library and the Russian Science Citation Index (RSCI) and has an impact factor; it is registered in the CrossRef, its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

 In September 2020 the journal was accepted into Scopus.

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

2 Vol. 8
'21

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
www.abvpress.ru

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

Managing editor I.V. Puchkova
Proofreader T.N. Pomiluyko
Designer E.V. Stepanova
Maker-up O.V. Goncharuk
Subscription & Distribution Service
I.V. Shurgaeva, +7 (499) 929-96-19,
base@abvpress.ru

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

*Technologies, and Mass Media
(III No. ΦC77-57560
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.
2021. Vol. 8 No. 2. 1–60.
Submitted: 27.07.2021.

© PH "ABV-Press", 2021
Pressa Rossii catalogue index: 93562

Printed at the Mail Technology Ltd
105082, Moscow, Perevedenovsky lane,
13 building 16.

1000 copies.
Free distribution.

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 Scientific Center of Roentgenoradiology 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 City of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia)

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

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

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)

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

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)

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

- А.А. Михайлова, А.В. Шестаков, К.А. Чубакова, Е.В. Колоколова, В.Ю. Елисеев, М.Я. Костяева, Э.Г. Акперов, В.Е. Пилипенко, Т.В. Саприна, М.Р. Мухамедов, Е.Л. Чойнзонов*
Современные концепции молекулярного патогенеза рака щитовидной железы 8
- Е.Ю. Зубарева, М.А. Сеньчукова*
Прогностическая и предиктивная значимость остеопонтина при злокачественных новообразованиях. 23
- В.П. Дерягина, Н.И. Рыжова, Л.А. Савлущинская, К.И. Кирсанов*
Роль оксида азота и эндотелиальной NO-синтазы в канцерогенезе 29

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- О.В. Ковалева, М.А. Рашидова, Д.В. Самойлова, П.А. Подлесная, В.В. Мочальникова, А.Н. Грачев*
Прогностическая значимость экспрессии CD204 и IDO1 в опухолях пищевода 40
- В.А. Григоренко, Е.П. Куликов, С.А. Мерцалов, Ю.Д. Каминский, А.А. Никифоров, А.И. Судаков*
Генетические факторы прогноза неоадьювантной химиолучевой терапии при раке прямой кишки 47
- А.А. Мусаелян, В.Д. Назаров, А.С. Будникова, С.В. Лапин, С.Л. Воробьев, В.Л. Эмануэль, А.А. Захаренко, С.В. Орлов*
Клинико-морфологический портрет опухолей с микросателлитной нестабильностью 52

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ 60

REVIEWS

- A.A. Mikhailova, A.V. Shestakov, K.A. Chubakova, E.V. Kolokolova, V. Yu. Eliseev, M. Ya. Kostyaeva, E.G. Akperov, V.E. Pilipenko, T.V. Saprina, M.R. Mukhamedov, E.L. Choinzonov*
Modern concepts of the molecular pathogenesis of thyroid cancer8
- E. Yu. Zubareva, M.A. Senchukova*
Prognostic and predictive significance of osteopontin in malignant neoplasms23
- V.P. Deryagina, N.I. Rizhova, L.A. Savluchinskaya¹, K.I. Kirsanov*
Role of nitric oxide and endothelial NO synthase in carcinogenesis29

EXPERIMENTAL REPORTS

- O.V. Kovaleva, M.A. Rashidova, V.V. Mochalnikova, D.V. Samoiloa, P.A. Podlesnaya, A.N. Gratchev*
Prognostic significance of CD204 and IDO1 expression in esophageal tumors40
- V.A. Grigorenko, E.P. Kulikov, S.A. Mertsalov, Yu.D. Kaminsky, A.A. Nikiforov, A.I. Sudakov*
Genetic prognostic factors for neoadjuvant chemoradiotherapy for colorectal cancer47
- A.A. Musaelyan, V.D. Nazarov, A.S. Budnikova, S.V. Lapin, S.L. Vorobyev, V.L. Emanuel, A.A. Zakharenko, S.V. Orlov*
Clinical and morphological portrait of tumors with microsatellite instability52

- INFORMATION FOR AUTHORS**60

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-8-22



Современные концепции молекулярного патогенеза рака щитовидной железы

А.А. Михайлова¹, А.В. Шестаков¹, К.А. Чубакова¹, Е.В. Колоколова¹, В.Ю. Елисеев¹, М.Я. Костяева¹,
Э.Г. Акперов¹, В.Е. Пилипенко¹, Т.В. Саприна¹, М.Р. Мухамедов^{1,2}, Е.Л. Чойнзон^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 634050 Томск,
Московский тракт, 2;

²Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук»; Россия, 634028 Томск, ул. Савиных, 12/1

Контакты: Александр Владимирович Шестаков Shestakov1808@gmail.com

Рак щитовидной железы – распространенное злокачественное новообразование эндокринной системы. В последние десятилетия показатели заболеваемости и смертности вследствие этой патологии стремительно увеличиваются. Большинство случаев дифференцированного рака щитовидной железы (фолликулярного и папиллярного гистотипов) клинически проявляются как узловой зоб. Неопределенность результатов цитологической диагностики (категории III и IV по классификации Bethesda (Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology)) обуславливает сложности в выборе тактики ведения пациентов.

Известно, что развитие, прогрессирование, инвазия и метастазирование раковых клеток регулируются множеством молекулярных механизмов. В данной статье описываются некоторые молекулярные аспекты онкогенеза узловых образований щитовидной железы, а также наиболее перспективные диагностические онкомаркеры. В частности, рассматривается роль генных мутаций, белковых маркеров, эпигенетических воздействий микроРНК, гистонов и метилирования ДНК в патогенезе рака щитовидной железы. Изучение патогенеза этого заболевания имеет прогностическую ценность и способствует поиску эффективных лечебно-диагностических методов и их совершенствованию. Поэтому в исследовании были рассмотрены применяемые в настоящий момент тест-панели, направленные на дооперационную дифференциальную диагностику узловых образований щитовидной железы.

Анализ и обобщение результатов исследований по данной теме позволят не только расширить понимание фундаментальных процессов онкогенеза, но и наметить перспективные направления планирования экспериментальных научных работ для разработки новых прогностических, диагностических и терапевтических технологий с целью повышения качества медицинской помощи пациентам с раком щитовидной железы.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, онкомаркеры, эпигенетика, микроРНК, гистоны, метилирование

Для цитирования: Михайлова А.А., Шестаков А.В., Чубакова К.А. и др. Современные концепции молекулярного патогенеза рака щитовидной железы. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):8–22. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-8-22.

Modern concepts of the molecular pathogenesis of thyroid cancer

A.A. Mikhailova¹, A.V. Shestakov¹, K.A. Chubakova¹, E.V. Kolokolova¹, V.Yu. Eliseev¹, M.Ya. Kostyaeva¹, E.G. Akperov¹,
V.E. Pilipenko¹, T.V. Saprina¹, M.R. Mukhamedov^{1,2}, E.L. Choinzonov^{1,2}

¹Siberian State Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Moskovsky trakt, 634050 Tomsk, Russia;

²Scientific Research Institute of Oncology of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;
12/1 Savinykh St., 634028 Tomsk, Russia

Contacts: Alexander Vladimirovich Shestakov Shestakov1808@gmail.com

Thyroid cancer remains the most common malignancy of the endocrine system worldwide. The indicators of its morbidity and mortality rates have been increasing rapidly over the last decades. Most cases of differentiated thyroid cancer (follicular and papillary histotypes) are clinically manifested by nodular goiter frequently combined with uncertain results of cytological diagnosis (categories III and IV according to the Bethesda (Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology) classification). All of that makes it difficult to choose a proper tactic for patient treatment.

It is known that the development, progression, invasion, and metastasis of cancer cells are regulated by a variety of molecular mechanisms. This review describes several molecular aspects of thyroid nodules oncogenesis, as well as its most

promising diagnostic tumor markers. Following molecular pathways are described in particular: gene mutations, protein tumor markers, and epigenetic effects of micro-RNA, histones, as well as DNA methylation. The study of the pathogenesis of this disease has a prognostic value and contributes to the search for effective therapeutic and diagnostic methods and their improvement. That is why we also reviewed modern test panels aimed at preoperative differential diagnosis of thyroid nodules.

Summarizing the results of world research on this topic allows us not only to expand the understanding of the fundamental processes of oncogenesis, but also to outline promising areas for future experimental research projects. All of that together will contribute to developing new prognostic, diagnostic and therapeutic technologies, and as a result, will improve the quality of medical care for patients with thyroid cancer.

Key words: thyroid cancer, tumor biomarkers, epigenomics, microRNAs, histones, DNA methylation

For citation: Mikhailova A.A., Shestakov A.V., Chubakova K.A. et al. Modern concepts of the molecular pathogenesis of thyroid cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):8–22. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-8-22.

ВВЕДЕНИЕ

Рак щитовидной железы (РЩЖ) входит в число наиболее распространенных эндокринных опухолей. Онтогенез и клинические аспекты этого заболевания еще не изучены полностью. При проведении ультразвукового исследования (УЗИ) узловые образования щитовидной железы (ЩЖ) обнаруживаются в 65 % случаев [1]. На сегодняшний день основным методом дифференциальной диагностики узловой патологии ЩЖ является тонкоигольная пункционная аспирационная биопсия (ТАБ) под контролем УЗИ с последующей цитологической оценкой по классификации Bethesda (Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology). Однако в 30 % случаев поставить точный диагноз, опираясь лишь на цитологические признаки, не представляется возможным [2]. Трудности в диагностике РЩЖ вызывают необходимость более глубокого изучения патогенеза этого заболевания на молекулярном и генетическом уровнях. Это важное научное направление имеет ключевое значение в комплексной оценке особенностей канцерогенеза различных гистотипов РЩЖ, в том числе дифференцированного РЩЖ. Не вызывает сомнений, что изучение патогенеза данного заболевания имеет прогностическую ценность, способствует поиску эффективных лечебно-диагностических методов и их совершенствованию.

МУТАЦИИ ДНК, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В настоящее время уже достигнуто определенное понимание молекулярного патогенеза РЩЖ. Данный процесс тесно связан с дисфункцией нескольких основных внутриклеточных сигнальных путей и обусловленными ею нарушениями. Центральное место в этих механизмах занимают генетические и эпигенетические изменения, такие как мутации, увеличение числа копий генов и aberrантное метилирование. Большинство подобных трансформаций представляют собой перспективные терапевтические мишени, а также диагностические и прогностические молекулярные маркеры, изучение которых поможет модифицировать

стратегию ведения пациентов с узловыми образованиями ЩЖ и повысить качество оказания медицинской помощи. Рассмотрим гены, мутации которых играют большую роль в онкогенезе папиллярного (ПРЩЖ) и фолликулярного (ФРЩЖ) рака щитовидной железы.

BRAF. Протоонкогеном и одним из факторов развития рака является *BRAF* – ген, кодирующий белки регуляции молекулярных путей роста клеток. Мутации данного гена приводят к экспрессии *BRAF V600E* – мутантного белка, а также активации серин/треонинкиназы 6–11, содействуя тем самым онкогенезу, инициации метастазирования и рецидиву опухоли [3].

RAS. Ген *RAS* (изоформы *HRAS*, *KRAS*, *NRAS*), кодирующий белок, который связывает энергетическую молекулу ГТФ (гуанозинтрифосфата), активирует внутриклеточные сигнальные пути, а также регулирует транскрипцию генов дифференцировки и пролиферации клетки. *RAS* является двойным активатором путей MAPK (митогенактивированная протеинкиназа) и PI3K/Akt (фосфоинозитид-3-киназа/протеинкиназа B). Исходя из связи мутаций в гене *RAS* с фосфорилированием протеинкиназы B, можно сказать, что они, вероятно, участвуют в активации только пути PI3K/Akt, что провоцирует онкогенез ЩЖ. Изоформы *HRAS*, *KRAS*, *NRAS* также принимают участие в онкогенезе, инвазии и метастазировании при ФРЩЖ и ПРЩЖ [3].

PTEN. Ген *PTEN* кодирует одноименный фермент (липидную фосфатазу), который, в свою очередь, дефосфорилирует фосфоинозитидфосфаты – продукты PI3K. Это приводит к снижению активности Akt и регулированию пролиферации и апоптоза клетки. Установлено, что мутации и делеции в гене *PTEN* являются характерными генетическими изменениями, способствующими онкогенезу и увеличивающими степень инвазии ФРЩЖ при синдроме Коудена и фолликулярном варианте ПРЩЖ [3].

TERT. Ген *TERT* кодирует теломеразную обратную транскриптазу, являющуюся каталитической субъединицей белка теломеразы. *TERT* – промотор теломеразной обратной транскриптазы, его мутации приводят к высокой теломеразной активности и повышенной экспрессии гена *TERT*. Функция последнего заключается

в добавлении повторяющейся последовательности ДНК (TTAGGG) к 3'-концу цепи ДНК в области теломер всех хромосом. Высокая теломеразная активность в соматических клетках способствует неограниченному делению клетки, а также активации протоонкогенов. Мутации TERT коррелируют с более низкими показателями безрецидивной выживаемости у пациентов с малоинвазивным, инкапсулированным, ангиоинвазивным фолликулярным раком. Такая корреляционная связь отсутствует в отношении больных с широкоинвазивным ФРЦЖ. Также есть доказательства того, что мутации промотора *TERT* связаны с агрессивным ПРЦЖ. Установлено, что одновременное наличие мутаций в *BRAF V600E* и TERT значительно увеличивает риск рецидива опухоли и повышает уровень смертности у пациентов с РЦЖ [4–6].

Помимо изменения генетического профиля, большая роль в патогенезе ФРЦЖ и ПРЦЖ принадлежит неконтролируемой активности различных внутриклеточных сигнальных путей, в том числе MAPK, PI3K/Akt, NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, – универсальному фактору транскрипции, контролирующему экспрессию генов иммунного ответа), RASSF1/MST1/FOXO3 (RAS-ассоциированному домену, содержащему белок 1), STE20-like protein kinase (STE20-подобной серин/треонин-протеинкиназе), Wnt/β-catenin, HIF-1α (фактору, индуцируемому гипоксией, 1-альфа), TSHR (сигнальному пути рецептора тиреотропного гормона), которые регулируют рост, пролиферацию, апоптоз и метаболизм клеток [3].

VDR FokI. Это ген рецептора витамина D. Активация данного рецептора регулирует транскрипцию генов, оказывает противоопухолевое действие, стимулирует дифференцировку и апоптоз, а также уменьшает клеточную пролиферацию, воспаление, ангиогенез и опухолевую инвазию. В ходе исследования Т-аллеля гена *VDR FokI* и генотипа ТТ выявлена их связь с повышенным риском развития агрессивного ПРЦЖ. Таким образом, полиморфизм гена *VDR FokI* может служить фактором плохого прогноза при оценке риска развития ПРЦЖ [7].

ANGPTL2. Этот ген кодирует одноименный белок регуляции ангиогенеза, а также углеводного и липидного обмена. Его экспрессия увеличивает пролиферацию клеток опухоли, способствует миграции и инвазии РЦЖ, значительно ухудшает прогноз заболевания [8].

CHEK2. Этот ген кодирует белок, участвующий в поддержании стабильности генома и контролирующей процессы клеточного деления и репарации ДНК. Данный белок активируется в ответ на повреждение молекулы ДНК, блокируя клеточный цикл в фазе G1 или запуская процесс апоптоза. Установлена ассоциация между наличием мутаций в гене *CHEK2* и повышенным риском развития ПРЦЖ [9].

В некоторых исследованиях отмечена значимая роль других маркеров ПРЦЖ, таких как lncRNA

(длинные некодирующие РНК), регулирующих различные биологические клеточные процессы. Исследована регуляция lncRNA LINC00704, которая может значительно нарушить пролиферацию раковых клеток ЩЖ и образование колоний, ингибировать прогрессирование клеточного цикла, инвазию клеток и индуцировать их апоптоз. Дисфункция таких РНК предрасполагает к онкогенезу и прогрессированию рака, в частности ПРЦЖ. BRAF-активированная небелковая кодирующая РНК (BANCR) коррелирует с метастазированием в лимфатические узлы. Более того, ее экспрессия влияет на пролиферацию и миграцию клеток и индукцию апоптоза. BANCR регулирует пролиферацию клеток путем активации путей ERK/MAPK и PI3K/Akt. Предполагается, что BANCR играет роль в онкогенном процессе и может рассматриваться и как новая потенциальная цель, и как прогностический фактор для ПРЦЖ [10, 11].

Потенциальными онкомаркерами выступают гены микроокружения РЦЖ, в частности *CXCL10*, *AGTR1*, *CTGF*, *FAM3B*, *IL11*, *IL17C*, *PTH2R* и *SPAG11A*, которые кодируют белки регуляции иммунной функции клеток. Предполагается, что активность перечисленных, а также других подобных генов микроокружения опухоли может быть фактором благоприятного прогноза общей выживаемости для пациентов с ПРЦЖ [12, 13].

Таким образом, в онкогенезе ФРЦЖ и ПРЦЖ большую роль играет дисфункциональная активность следующих генов: *BRAF*, *HRAS*, *KRAS*, *NRAS*, *PTEN*, *PIK3CA*, *AKT1*, *CTNNB1*, *TP53*, *IDH1*, *EGFR*, *HCTC*, *RET*, *NTRK1* и *TERT* (TERT). Существуют и менее изученные генетические маркеры, включая мутации в генах *ANGPTL2*, *VDR FokI* и *CHEK2*. Кроме того, в современных исследованиях отмечаются большая роль в патогенезе РЦЖ lncRNA, а также дисфункции генетических маркеров микроокружения дифференцированного РЦЖ (*CXCL10*, *AGTR1*, *CTGF*, *FAM3B*, *IL11*, *IL17C*, *PTH2R* и *SPAG11A*).

БЕЛКОВЫЕ МАРКЕРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАКОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Следующей не менее важной группой онкомаркеров являются белковые биомаркеры. Наиболее изученные и значимые представители данной группы – матриксные металлопротеиназы (MMP: MMP-1, 2, 7, 9), тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP: TIMP-1, 2), фактор роста эндотелия сосудов типа С (VEGF-C), основной фактор роста фибробластов (bFGF), Е-кадгерин, дизадгерин, галектин-3, рецептор хемокинов (chemokine receptor type 4, CXCR4), хемокин подсемейства СХС (stromal cell-derived factor-1, CXCL12), моноклональные антитела, направленные против поверхностного белка мезотелиальных клеток (hector battifora mesothelial epitope-1, HBME-1), прототипный маркер естественных киллеров (CD56).

Матриксные металлопротеиназы. MMP-1, -2, -9 – белки семейства MMP, разрушающие внеклеточный

матрикс (коллаген, фибронектин, ламинин, протеогликаны) посредством образования капилляров в опухолевой ткани и создания благоприятных условий для инвазии клеток эндотелия. Матриксные металлопротеиназы обеспечивают проникновение сосудов в опухоль и способность опухолевых клеток растворять базальные мембраны путем протеолитической деградации. Это, в свою очередь, увеличивает риск инвазии опухолевых клеток в кровоток и последующего метастазирования в различные органы и ткани [14]. Повышенный уровень экспрессии белков MMP-2 и MMP-9 является фактором неблагоприятного прогноза в отношении метастазирования. Отмечается положительная корреляция между сверхэкспрессией MMP-2 и MMP-9 и более высокими показателями опухолевой инвазии, ангиогенеза и метастазирования опухоли [15, 16].

Тканевые ингибиторы металлопротеиназ. TIMP являются секреторными белками и специфическими ингибиторами MMP. Механизм ингибирования реализуется как в фазе активации проферментов, так и в фазе активации MMP. Функция TIMP в норме сводится к регрессии опухолевого роста, т.е. к подавлению всех изменений, вызываемых MMP (увеличение размера, числа опухолей, активация ангиогенеза). Однако информация о роли TIMP в онкогенезе противоречива. В ряде исследований отмечена парадоксально высокая экспрессия белков TIMP-1, а также неизменная или высокая экспрессия TIMP-2, что было ассоциировано с повышенным риском рецидива опухоли [17]. Наблюдается также значимая корреляция белков группы TIMP с большим размером опухоли, поздней клинической стадией, а также повышенной интраитреоидной и сосудистой инвазиями [18].

Фактор роста эндотелия сосудов типа С. Белки, относящиеся к семейству VEGF, представляют собой гликопротеины, основными функциями которых являются активация формирования новых кровеносных и лимфатических сосудов, а также повышение их проницаемости. Факторы семейства VEGF взаимодействуют с клеткой через тирозинкиназные рецепторы, что активирует остаток тирозина интрацитоплазматической части рецептора и запускает сигнальные каскады в эндотелиальных клетках. Повышенная экспрессия VEGF-C преобладает в опухолях с преимущественным метастазированием в лимфатические узлы, кроме того, она напрямую связана с высокой плотностью лимфатических сосудов и более низкими показателями выживаемости [19]. Местный инвазивный рост является признаком прогрессирования опухоли и независимым прогностическим фактором неблагоприятного исхода у пациентов с ПРЩЖ [20, 21].

Основной фактор роста фибробластов (bFGF). Это многофункциональный регуляторный пептид, который вызывает рост новых капилляров и действует как мощный митоген, стимулирующий митоз и пролиферацию. Основной фактор роста фибробластов активирует пролиферацию в клетках эндотелия в кооперации

с другими ангиостимулирующими факторами за счет связывания со специфическими трансмембранными и внутрицитоплазматическими рецепторами. Данное взаимодействие стимулирует выброс опухолевыми клетками различных протеолитических ферментов и коллагеназ, что способствует метастазированию и инфильтрации. Имеются данные о том, что высокая экспрессия основного фактора роста фибропластов коррелирует с агрессивным течением карцином ЩЖ [22].

Е-кадгерин. Этот белок представляет собой однопроходный трансмембранный гликопротеин, кодируемый геном, и играет большую роль в кальций-зависимой межклеточной адгезии эпителиальных клеток. Считается, что утрата межклеточных «мостиков» и связи с соседними эпителиальными клетками является одним из первых этапов развития опухоли [23]. Предположительно сниженная экспрессия Е-кадгерина в значительной степени связана с предрасположенностью к развитию ПРЩЖ, низкой степенью его дифференцировки и высоким уровнем метастазирования в лимфатические узлы. Все вышеперечисленное может рассматриваться в качестве потенциальных факторов неблагоприятного прогноза течения заболевания [24].

CXCR4 и CXCL12. Эти белки входят в семейство низкомолекулярных структурно родственных белков, связывающихся с хемокиновыми рецепторами, которые, в свою очередь, ассоциированы с гетеротримерными G-белками. Сигнальная ось CXCL12/CXCR4, по-видимому, способствует миграции клеток РЩЖ путем активации сигнальных путей Akt и ERK, что активирует MMP-2 и в конечном счете приводит к миграции и инвазии раковых клеток [25]. Согласно результатам исследований, совместная экспрессия CXCR4 и CXCL12 положительно коррелирует с метастазами ПРЩЖ в лимфатические узлы, а высокая экспрессия CXCR4, стимулирующего ангиогенез, в значительной степени связана с большим размером опухоли в случае как ПРЩЖ, так и ФРЩЖ [26].

НВМЕ-1. Этот маркер относится к классу моноклональных антител, направленных против поверхностного белка мезотелиальных клеток. Считается, что высокая экспрессия НВМЕ-1 имеет наиболее важное диагностическое значение в качестве индикатора злокачественности ПРЩЖ [27–29]. В отношении ФРЩЖ данные касательно экспрессии НВМЕ противоречивы: в некоторых исследованиях отмечается диагностическая ценность данного белка, в то время как в других она отрицается [30, 31].

CD56. Этот гомофильный белок семейства иммуноглобулинов обеспечивает адгезию нервных клеток и присутствует на фолликулярных эпителиальных клетках нормальной ткани ЩЖ. Считается, что CD56 участвует в регуляции клеточной подвижности, гомофильной связи между нейронами, стимуляции роста нервов, а его экспрессия может влиять на миграционную способность опухолевых клеток. Согласно

результатам недавних исследований, сниженная экспрессия данного белка способствует метастатическому распространению опухолевых клеток в регионарные лимфатические узлы за счет повышенной экспрессии лимфангиогенных факторов VEGF-C и VEGF-D [32]. Помимо этого, сниженная экспрессия CD56 коррелирует с метастатическим потенциалом и неблагоприятным прогнозом в отношении выживаемости, что может иметь диагностическую ценность при дифференциальной диагностике ПРЩЖ и ее доброкачественных поражений, при которых экспрессия этого белка нормальная или высокая [29, 33].

Галектин-3. Это белок семейства лектинов, который может экспрессироваться как внутриклеточно, так и во внеклеточном матриксе. Его aberrантная экспрессия в нормальных клетках ЩЖ фактически блокирует программу апоптоза, позволяя накапливать мутации ДНК и молекулярные изменения, которые, в свою очередь, способствуют развитию рака [34]. Повышенная экспрессия галектина-3 обуславливает неопластическую трансформацию и ингибирует апоптоз. В ряде работ было показано, что галектин-3 может играть роль маркера роста злокачественных опухолей ЩЖ [35]. Особенно часто сверхэкспрессия данного маркера обнаруживается при высокодифференцированном раке, в частности при ПРЩЖ. Возможность использования экспрессии галектина-3 в диагностике ФРЩЖ на сегодняшний день неоднозначна [28].

МИКРОРНК, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

К новейшим маркерам РЩЖ относят микроРНК (miRNA) — молекулы, участвующие в транскрипционных и посттранскрипционных процессах и, соответственно, влияющие на дифференцировку, ангиогенез, пролиферацию и апоптоз клеток за счет механизмов эпигенетической регуляции [2]. Образование микроРНК начинается в ядре, где образуется первичная двухцепочечная молекула первичной микроРНК [36]. Затем в результате модификаций и связывания с белками формируется микроРНК-индуцируемый комплекс, который регулирует процесс транскрипции путем прямого воздействия на матричную РНК (мРНК) [37, 38]. МикроРНК приводит к деградации целевой мРНК, в результате чего уровни микроРНК и белков-мишеней регулируемой мРНК становятся обратно пропорциональными [39]. МикроРНК можно обнаружить как внутри клеток, так и во внеклеточных жидкостях (крови, моче, слюне, спинномозговой жидкости), что позволяет рассматривать эти молекулы в качестве потенциальных маркеров онкогенеза, в том числе при РЩЖ [40].

В последние годы количество изучаемых микроРНК сильно возросло. Ученые продолжают открывать новые молекулы. Наиболее изученными являются miRNA-21, -146b-5p, -221-3p, -222-3p, -222, -146b

[41]. Проведено множество исследований по изучению микроРНК в качестве маркеров онкогенеза при РЩЖ. Было обнаружено, что циркулирующие уровни miRNA-146b-5p, -221-3p и -222-3p у пациентов с ПРЩЖ выше, чем у здоровых людей [42–44], тогда как уровни miRNA-222 и miRNA-146b различаются при ПРЩЖ и доброкачественных образованиях ЩЖ [42, 45, 46]. Уровни miRNA-21 в плазме пациентов с фолликулярным РЩЖ выше, чем в плазме пациентов с доброкачественными узлами или ПРЩЖ. Известно, что у больных ПРЩЖ более высокий уровень экспрессии miRNA-181a, чем у больных ФРЩЖ [47]. У пациентов с ПРЩЖ циркулирующие уровни miRNA-146a-5p, -146b-5p, -221-3p и -222-3p снижаются после удаления опухоли [42–44, 46].

Согласно данным проведенного в 2014 г. Y. Zhang и соавт. метаанализа 18 исследований, в которых участвовали 543 пациента с доброкачественными ($n = 277$) и злокачественными ($n = 266$) узлами ЩЖ, анализ результатов микроРНК, полученных методом ТАБ под контролем УЗИ, позволяет более точно определить наличие злокачественных новообразований, чем обычное цитологическое исследование. Чувствительность составила 0,77 (95 % доверительный интервал (ДИ) 0,70–0,83), специфичность — 0,75 (95 % ДИ 0,68–0,81), прогностическая ценность истинно положительного результата — 3,1 (95 % ДИ 2,4–4,0), прогностическая ценность ложноположительного результата — 0,30 (95 % ДИ 0,23–0,39) [48].

S. Paskas и соавт. проанализировали эффективность панели, состоящей из 4 маркеров (мутации *BRAF V600E*, miRNA-221, miRNA-222 и белка галектин-3), с помощью разработанного ими алгоритма. Согласно результатам исследования, данный диагностический алгоритм позволяет в 2 раза сократить количество оперативных вмешательств на ЩЖ за счет уточнения неопределенных результатов цитологического исследования. Из 120 образцов категорий III и IV по международной классификации Bethesda в 62 случаях были выявлены доброкачественные новообразования, 9 из которых все-таки оказались злокачественными. В итоге чувствительность данной панели составила 73,5 %, специфичность — 89,8 % и точность — 75,7 %. Эти данные показывают перспективность клинического применения названной диагностической панели [49].

МикроРНК также можно использовать в качестве прогностического маркера. Например, в ходе исследования ПРЩЖ С. Chou и соавт., проведенного на базе медицинского центра Kaohsiung Chang Gung Memorial Hospital (Тайвань) (участвовали 100 человек после тиреоидэктомии), было выявлено, что показатели общей выживаемости среди пациентов с более высокими уровнями экспрессии miRNA-146b значительно хуже, чем среди больных, у которых отмечались более низкие уровни этой микроРНК в опухолях. Сверхэкспрессия miRNA-146b значительно увеличивает пролиферацию,

миграцию и инвазивность клеток и вызывает устойчивость к апоптозу, индуцированному химиотерапией [50].

По результатам исследования, проведенного в Италии F. Rosignolo и соавт., данные которого подтверждаются другими источниками, риск рецидива ПРЩЖ, рассчитанный по рекомендациям Американской тиреоидной ассоциации (American Thyroid Association), был положительно связан с повышенной экспрессией miRNA-146b-5p, miRNA-222-3p, а также с пониженной экспрессией miRNA-1179 и miRNA-7-2-3p [51, 52].

Ученые продолжают изучать микроРНК и открывать новые механизмы патогенеза РЩЖ. Так, Z. Zhang и соавт. исследовали miRNA-574-5p, FOXN3 (Forkhead Box Protein N3) и молекулярный путь Wnt/ β -catenin на культуре клеток ПРЩЖ и ФРЩЖ. Измерения проводились с помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени и вестерн-блоттинга. В результате было выявлено, что miRNA-574-5p активирует ген *FOXN3*, который, в свою очередь, вызывает экспрессию белка β -catenin, что способствует прогрессированию рака. Этот новый механизм требует дальнейшего изучения в качестве мишени клинической терапии РЩЖ [53].

В исследовании X. Li и соавт. была изучена экспрессия miRNA-193a-3p на материале 510 образцов РЩЖ и 59 фрагментов здоровой ткани ЩЖ [54, 55]. Результаты показали, что экспрессия miRNA-193a-3p в клетках РЩЖ была значительно ниже, чем в здоровых клетках ($p < 0,001$). Снижение miRNA-193a-3p также было достоверно связано с возрастом, полом и наличием метастазов ($p = 0,020; 0,044$ и $0,048$ соответственно). Биоинформационный анализ данных показал, что низкая экспрессия miRNA-193a-3p может увеличивать экспрессию циклина D1, который, в свою очередь, активирует пролиферацию и миграцию опухолевых клеток [55].

В исследовании X. Zou и соавт., в котором участвовали 100 пациентов с ПРЩЖ и 96 здоровых людей, были проанализированы уровни экспрессии miRNA-25-3p, -296-5p и -92a-3p. Данная диагностическая панель, состоящая из 3 микроРНК, была построена с помощью анализа логистической регрессии и показала стабильную способность дифференцировать пациентов с ПРЩЖ и пациентов с доброкачественным зобом с площадью под кривой до 0,969. Самостоятельное использование каждой микроРНК таких результатов не дало [56].

Таким образом, несмотря на то что существует много исследований использования микроРНК в диагностике различных форм РЩЖ, данное направление по-прежнему имеет огромный потенциал как для расширения фундаментальных знаний о процессах онкологической трансформации, так и для получения клинически значимых данных и повышения качества диагностики и лечения РЩЖ.

БЕЛКИ-ГИСТОНЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гистоны — это класс ядерных белков, осуществляющих упаковку нитей ДНК в ядре и участвующих в эпигенетической регуляции транскрипции, репарации и репликации. Концевые аминокислотные последовательности гистонов позволяют осуществлять их посттрансляционные модификации, такие как ацетилирование, метилирование, фосфорилирование и т. д. Подобные модификации инициируют связывание с различными белками (так называемыми считывателями), которые подавляют или активируют экспрессию генов путем индукции локального уплотнения или релаксации хроматина посредством перемещения нуклеосом. Основными механизмами модификации гистонов являются ацетилирование и метилирование.

Ацетилирование гистонов катализируется ацетилтрансферазами гистона (НАТ), а обратное действие осуществляется деацетилазами гистона (HDAC). Ацетилирование лизинов способствует транскрипционной активности. Добавление ацетильных групп нейтрализует положительный заряд лизинов и снижает их сродство к ДНК, что облегчает доступ к транскрипционному механизму.

Ферменты, участвующие в метилировании гистонов, представляют собой субстрат-специфические гистонметилтрансферазы (НМТ) и антагонистические гистоновые деметилазы (НДМ). Метилирование может происходить в остатках лизина и аргинина, которые включают от 1 до 3 метильных групп. Эффект этой модификации зависит от соответствующего остатка и степени метилирования. Посттрансляционная модификация гистонов играет критическую роль в онкогенезе.

Роль модификаций гистонов заключается в участии в различных метаболических процессах организма и опухолевых клетках ЩЖ. Например, N-лизинметилтрансфераза 5A (KMT5A) принимает участие в липидном обмене. Известно, что в опухолевых клетках повышен синтез липидов *de novo*, что способствует построению мембран новых клеток. Изменение метаболизма жирных кислот влияет на запасы энергии, лекарственную устойчивость, модулирует пролиферацию и выживание клеток и стимулирует внеклеточную среду [57]. T. Liao и соавт. провели исследование в Шанхайском онкологическом центре и изучили 50 образцов ПРЩЖ и 50 образцов нормальной ткани ЩЖ, взятых на расстоянии 1 см от края опухолевой ткани (полученных в 2012–2015 гг.). Анализ экспрессии KMT5A был проведен с помощью полимеразной цепной реакции, иммуногистохимического окрашивания и белкового вестерн-блоттинга. Было выявлено, что в клетках ПРЩЖ наблюдается повышенная экспрессия KMT5A, которая метилирует лизин-20 гистона H4 (H4K20). Ингибирование данной гистонметилтрансферазы ухудшает липидный обмен в опухолевых

клетках. Результаты исследования показали, что ингибирование KMT5A снижает уровень ключевого гена — модулятора метаболизма липидов, холестерина *SREBP* (sterol-regulatory element-binding factor) и его целевых генов (*SCD*, *FASN* и *ACC*), а также подавляет уровень генерации малондиальдегида и активных форм кислорода в клетках ПРЩЖ. Предположительно KMT5A может регулировать липидный обмен в данных опухолевых клетках [58].

Еще один важный модификатор гистонов — энхансер *zeste* гомолога 2 (*EZH2*). Он является каталитической субъединицей репрессивного комплекса поликомб 2 (*PRC2*), который метилирует лизин-27 гистона H3, чтобы способствовать подавлению транскрипции [59]. Более высокая экспрессия *EZH2* была связана с рецидивом ПРЩЖ [60]. С. Tsai и соавт. исследовали иммуногистохимическую экспрессию триметилированного лизина-27 гистона H3 (*H3K27me3*) и обнаружили, что более высокая экспрессия *EZH2* ведет к избыточному образованию *H3K27me3*. Это наблюдалось в 80 % (8/10) случаев лимфоцитарного тиреоидита, 63 % (80/127) случаев ПРЩЖ, 41 % (7/17) случаев ФРЩЖ и 73 % (8/11) случаев низкодифференцированного и анапластического РЩЖ. Также было обнаружено, что повышенная экспрессия *H3K27me3* увеличивает частоту экстрагистонного расширения, лимфоваскулярной инвазии и метастазирования в лимфатические узлы при дифференцированном РЩЖ и, следовательно, может служить прогностическим маркером течения заболевания и вероятности метастазирования [61].

Лизин-специфическая гистон-деметилаза 1A (*KDM1A*) также является модификатором гистонов и активно изучается в качестве маркера онкогенеза. *KDM1A* принадлежит к семейству гистон-деметилаз, зависимых от флавинадениндинуклеотида (*FAD*), и регулирует экспрессию генов при деметилировании моно- и диметилированных гистонов H3 (*H3K4me1/2* и *H3K9me1/2* соответственно). В исследовании W. Zhang и соавт., проводившемся в течение 3 лет на базе Первой дочерней больницы Китайского медицинского университета г. Шэньян (First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University), с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени были изучены 61 пара образцов ткани ПРЩЖ и прилегающей к ней здоровой ткани и 94 образца только ткани ПРЩЖ, полученных от 155 пациентов. В тканях ПРЩЖ была обнаружена сверхэкспрессия мРНК *KDM1A*. Согласно результатам данного исследования, положительная экспрессия *KDM1A* указывает на более высокую скорость метастазирования в лимфатические узлы. *KDM1A* влияет на распространение опухолевой ткани посредством *MMP-9* через подавление экспрессии *TIMP-1* путем деметилирования диметилированного по лизину-4 гистона H3 (*H3K4me2*) в области промотора *TIMP-1* [62]. В свою очередь, *MMP-9* также может активировать несколько скрытых проте-

иназ и ангиогенных факторов или рецепторов цитокинов, которые усиливают инвазию и метастазирование [63]. Следовательно, активация *MMP-9* за счет *KDM1A*-опосредованной репрессии *TIMP-1* способствует метастазированию папиллярных клеток РЩЖ и может служить прогностическим маркером.

Основные ферменты, участвующие в метилировании гистонов-мишеней, и потенциальные возможности их использования представлены в таблице.

Модификации гистонов в качестве диагностических и прогностических маркеров дифференцированного РЩЖ требуют дальнейшего изучения. Однако уже имеются исследования, направленные на поиск препаратов, влияющих на посттрансляционные модификации гистонов и которые можно использовать для лечения дифференцированного РЩЖ.

Так, в ходе исследования D. Russo и соавт. было выявлено, что препараты, ингибирующие активность *HDAC*, имеют противоопухолевую активность, в результате которой снижается рост опухолевых клеток и повышается способность поглощения радиоактивного йода раковыми клетками [64]. Известно, что мутация *BRAF V600E* при ПРЩЖ [65] вызывает нарушение экспрессии симпортера йодида натрия (*NIS*), который отвечает за поступление йодида натрия в тиреоциты и кодируется геном *SLC5A5* [66, 67]. В исследовании Z. Zhang и соавт. была выдвинута гипотеза, согласно которой данным механизмом является деацетилирование гистонов промотора *NIS*. С помощью метода иммунопреципитации хроматина ученые исследовали статус ацетилирования гистонов по остаткам лизина *H3K9/14*, *H3K18* и *H4K16* на промоторе *NIS* под влиянием гена *BRAF V600E*. В результате было обнаружено, что экспрессия мутировавшего *BRAF V600E* подавляет экспрессию *NIS* посредством деацетилирования гистонов его промотора, в то время как ингибитор деацетилазы N-гидрокси-N'-фенилоксидиамид, также известный как воринолат (*suberoylanilide hydroxamic acid*, *SAHA*), стимулирует экспрессию *NIS*. Сбой функционирования *NIS* приводит к нарушению поступления йода в тиреоциты и вызывает резистентность к радиойодтерапии, а применение *SAHA* увеличивает чувствительность к радиоактивному йоду и способствует повышению эффективности лечения [67, 68].

В настоящее время ведется поиск наиболее эффективных не только препаратов, но и их сочетаний [68, 69]. S. Kim и соавт. изучили клеточные линии РЩЖ, такие как *SNU-80* (анапластического РЩЖ) и *SNU-790* (ПРЩЖ) из Корейского банка клеточных линий, а также противоопухолевый эффект гидрокси-7-(2-нафтилтио) гептаномид (*HNHA*). По сравнению с другими ингибиторами *HDAC* *HNHA* в более низких дозах вызывал более сильную индукцию апоптоза посредством ингибирования регулятора апоптоза *Bcl-2* и модуляции сигнального пути контрольной точки *G₁/S* клеточного цикла, а также индуцировал каспаза-зависимый

Основные ферменты, участвующие в метилировании гистонов-мишеней, и потенциальные возможности их использования

The main enzymes involved in the methylation of target histones and their potential use

Фермент Enzyme	Гистон-мишень Histone is a target	Механизм онкогенеза ПРЩЖ Mechanism of oncogenesis PTC	Возможности использования Possible uses
КМТ5А	H4K20	Метилирование H4K20 приводит к усилению продукции липидов <i>de novo</i> и построению мембран в опухолевых клетках Methylation of H4K20 leads to an increase in the production of <i>de novo</i> lipids and the construction of a membrane in tumor cells	Использование ингибиторов гистонметилтрансферазы КМТ5А приводит к нарушению липидного обмена в опухолевых клетках. Следовательно, можно применять данный механизм для лечения рака щитовидной железы The use of histone methyltransferase KMT5A inhibitors leads to a violation of lipid metabolism in tumor cells. Therefore, it is possible to use this mechanism for the treatment of thyroid cancer
EZH2	H3K27me3	Повышение продукции EZH2 увеличивает количество метилированного H3K27me3, что приводит к экстраклеточному расширению, лимфоваскулярной инвазии и метастазированию в лимфатические узлы An increase in the production of EZH2 increases the amount of methylated H3K27me3, which leads to extrathyroid expansion, lymphovascular invasion and metastasis to the lymph nodes	Можно использовать в качестве прогностического маркера рецидивов и метастазирования It can be used as a prognostic marker of relapses and metastasis
KDM1A	H3K4me1/2 H3K9me1/2	KDM1A опосредованно активирует MMP-9, которая способствует активации протеиназы, ангиогенных факторов и рецепторов цитокинов, тем самым повышая вероятность инвазии и метастазирования KDM1A indirectly activates MMP-9, which promotes the activation of proteinase, angiogenic factors and cytokine receptors, thereby increasing the likelihood of invasion and metastasis	Путем ингибирования KDM1A можно предотвратить метастазирование By inhibiting KDM1A, metastasis can be prevented
Деацетилаза	H3K9/14 H3K16 H3K18	Подавляет работу NIS, вследствие чего нарушается поглощение йода и развивается резистентность к радиойодтерапии It suppresses the work of NIS, as a result of which the absorption of iodine is disrupted and resistance to radioiodine therapy develops	Ингибиторы можно использовать в лечении в целях повышения чувствительности к радиойодтерапии Inhibitors can be used in the treatment in order to increase sensitivity to radioiodine therapy

Примечание. ПРЩЖ – папиллярный рак щитовидной железы; КМТ5А – N-лизинметилтрансфераза 5А; H4K20 – лизин-20 гистона H4; EZH2 – энхансер zeste гомолога 2; H3K27me3 – триметилированный лизин-27 гистона H3; KDM1A – лизин-специфическая гистон-деметилаза 1А; H3K4me1/2 – ди- и монометилирование лизина-4 гистона H3; H3K9me1/2 – ди- и монометилирование лизина-9 гистона H3; H3K9/14 – лизин-9, 14 гистона H4; H3K16 – лизин-16 гистона H3; H3K18 – лизин-18 гистона H3; NIS – симпортер йодида натрия; MMP-9 – матриксная металлопротеиназа-9.

Note. PTC – papillary thyroid cancer; KMT5A – N-lysine methyltransferase 5A; H4K20 – histone H4 lysine 20; EZH2 – enhancer of zeste homolog 2; H3K27me3 – tri-methylation of lysine 27 on histone H3; KDM1A – lysine demethylase 1A; H3K4me1/2 – monomethylated and dimethylated of lysine-4 histone H3; H3K9me1/2 – monomethylated and dimethylated of lysine-9 histone H3; H3K9/14 – histone H3 lysine 9/14; H3K16 – histone H3 lysine 16; H3K18 – histone H3 lysine 18; NIS – sodium iodide symporter; MMP-9 – matrix metalloproteinase-9.

апоптоз, повышая уровень цитоплазматического кальция путем высвобождения ионов кальция из эндоплазматического ретикулума. Однако, в связи с тем что исследование было проведено на клеточных культурах, необходимо дальнейшее изучение безопасности применения данного препарата [68].

В ходе исследования Z. Zhang и соавт. было выявлено, что путь MAPK подавляет ацетилирование ги-

стонов в важных сайтах связывания транскрипционных факторов промоторов генов, метаболизирующих йод, что в конечном счете снижает экспрессию генов, отвечающих за метаболизм йода, при РЩЖ [67]. В 2019 г. Н. Fu и соавт. изучили одновременное ингибирование путей HDAC на клеточных линиях ПРЩЖ с использованием ингибиторов HDAC (панобиностат) и ингибиторов MAPK (дабрафениб и селуметиниб).

Результаты данного исследования показали, что обработка дабрафенибом приводит к значительному увеличению ацетилирования H3K9/14 и H4K16 по промотору NIS, тогда как селуметиниб увеличивает ацетилирование только H4K16 по промотору NIS. Панобиностат значительно увеличивает ацетилирование H3K9/14 и H4K16 по промотору NIS. Добавление дабрафениба/селуметиниба показало дальнейшее усиление ацетилирования гистонов в NIS промотора, чего не было выявлено при применении в культурах клеток одного панобиностата. Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что комбинированное использование данных препаратов усиливает повторную дифференцировку и чувствительность опухолевых клеток к радиойодтерапии по сравнению с применением только ингибиторов HDAC [69].

Несмотря на многочисленные исследования в области эпигенетики, поиск новых механизмов онкогенеза и способов лечения РЩЖ остается актуальным.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КАК МАРКЕР ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Одной из важнейших эпигенетических модификаций является метилирование ДНК, которое заключается в присоединении к 5-углеродному цитозину метильной группы, что ведет к образованию 5-метилцитозина (5МЦ). [70]. Этот процесс происходит в CpG-динуклеотидах — участках ДНК с последовательно расположенными цитозином и гуанином. В норме большая часть данных участков (60–80 % всей ДНК) находится в метилированном состоянии, и они равномерно распределены по всей ДНК. Данное явление называют глобальным метилированием ДНК. При этом встречаются отдельные небольшие области, в которых количество CpG-участков в несколько раз выше. Обычно данные области остаются неметилированными, но они несут в себе потенциал к образованию фрагментов локального гиперметилирования. Данные участки повышенной концентрации CpG-динуклеотидов получили название «CpG-островки» [70]. Гипер- и гипометилирование в этих областях может привести к восстановлению онкогенов за счет ингибирования или усиления экспрессии генов [65, 71]. Отсутствие или изменение уровня экспрессии специфичных для ЩЖ генов связаны с ростом и дедифференцировкой клеток этой железы, что приводит к различным ее заболеваниям [72], в том числе онкологическим. Раковые клетки могут проявлять как гипометилирование (чаще в недифференцированных опухолях, что обычно связано с глобальной нестабильностью генома), так и гиперметилирование (чаще наблюдается в дифференцированных опухолях), которое происходит из-за сниженной экспрессии генов — супрессоров опухолей [65, 70, 73]. Глобальное гипометилирование (снижение уровня 5-метилцитозина) было впервые обнаружено в опухолевых клетках.

В нормальных же клетках наблюдалось обычное метилирование [70].

Описанные явления легли в основу поиска биологических маркеров, гипо- и/или гиперметилирование которых влияет на процессы онкогенеза. Рассмотрим некоторые из этих маркеров.

RASSF1A. Белок семейства ассоциативных доменов RASSF1A регулирует функцию белка RAS и участвует в регуляции клеточного цикла и митотическом процессе [65]. Было обнаружено, что гиперметилирование промотора RASSF1A является ранним событием в развитии опухоли при ПРЩЖ (32 %) и ФРЩЖ (100 %) [65]. В отличие от ФРЩЖ, только небольшая часть ПРЩЖ имела aberrантное метилирование RASSF1A, что может иметь критически важное значение в онкогенезе ФРЩЖ, независимо от киназы BRAF/MAPK молекулярного пути MAPK [72].

PTEN. Этот ген представляет собой отрицательный модулятор пути PI3K/Akt, участвует в регуляции клеточного цикла, противодействуя росту клеток и быстрому делению, и конститутивно активируется в опухолях. Гиперметилированный *PTEN* был обнаружен в 50 % случаев ПРЩЖ и в 100 % случаев ФРЩЖ [72, 74].

RASAL1. Еще один недавно идентифицированный ген — супрессор опухолей, активатор белка Ras — *RASAL1*. Он обладает ГТФазной активностью и участвует в передаче сигналов RAS. Гиперметилированный *RASAL1* обнаружен почти в 27 % образцах ФРЩЖ [65].

Rap1GAP. Этот белок, активирующий ГТФазу, обнаружен в 72 % случаев ПРЩЖ и 38 % случаев ФРЩЖ. Было установлено, что его ингибирование связано с повышенным риском инвазии опухоли. В норме Rap1GAP снижает активность внутриклеточного сигнального белка Rap1. При нарушении экспрессии Rap1GAP происходит нарушение функционирования Rap1 и связанного с ним механизма клеточного сигнализации. Все это в итоге приводит к активации процессов онкогенеза клетки [74]. Данные иммуногистохимического исследования показали снижение экспрессии гена, кодирующего белок Rap1GAP в ПРЩЖ, что связано с развитием более агрессивных форм РЩЖ [72].

HOXB4, ADAMTS8. Эти гены связаны с другими генами, такими как *NIS*, *RAR-2* (рецептор ретинойдной кислоты) и *TIMP-3*. Было выявлено, что все они могут подавлять онкогенез. В связи с этим их дисрегуляция влияет на процессы клеточной пролиферации и метастазирования. Было обнаружено гиперметилирование промоторов генов *ADAMTS8* и *HOXB4* в 4 из 22 образцов ПРЩЖ (18 %) в обоих случаях и гиперметилирование промоторов генов *ZIC1* и *KISS1R* в 4 и 1 из 6 образцов РЩЖ соответственно (67 и 17 %). Это подтверждает, что гиперметилирование промоторных участков генов *ADAMTS8*, *HOXB4*, *ZIC1* и *KISS1R* нередко наблюдается в клетках РЩЖ [74].

RDH5. Данный фермент обратимо окисляет транс-ретинол до транс-ретинольдегида, который, в свою

очередь, с помощью ретиноид-активных альдегидных ферментов необратимо окисляется до ретиноевой кислоты (ALDH1A) [75]. Эта кислота участвует в дифференцировке клеток и играет большую роль в предотвращении роста опухолей [75]. В ПРЩЖ были обнаружены гипометилирование, гиперэкспрессия RDH5 и гипоекспрессия ALDH1A1, что свидетельствует о нарушении регуляции метаболизма ретиноевой кислоты [76].

KLK10. Этот ген кодирует белок, участвующий в деградации внеклеточного матрикса. V. Mancikova и соавт. наблюдали гипометилирование в данном гене, который тесно связан с *BRAF*-позитивными вариантами ПРЩЖ [76].

ZIC1, KISS1R. Эти гены часто обнаруживаются гиперметилированными или описываются как опухолевые супрессоры при злокачественных опухолях других локализаций, в частности головного мозга и молочной железы [74]. Была выявлена потенциальная роль гиперметилированного варианта гена *KISS1R* в развитии ФРЩЖ. Участки локального гиперметилирования, наблюдаемые в этом гене по сравнению с нормальной тканью и доброкачественными образованиями, предполагают его участие в прогрессировании опухоли. С. Savvidis и соавт. выяснили, что статистически значимое снижение экспрессии *KISS1R* способствует ускорению роста и увеличению размера опухоли ЩЖ [65, 77]. Кроме того, было выявлено, что *KISS1R* подавляет метастазирование ФРЩЖ [74].

p16INK4a, p14ARF. Эти гены участвуют в регуляторных процессах и генерируются ингибитором циклин-зависимой киназы 2A (CDKN2A) [78]. Для оценки их гиперметилирования E. Ishida и соавт. исследовали 39 образцов РЩЖ с помощью количественной метилирование-специфической полимеразной цепной реакции (qMSP). Они предположили, что гиперметилирование в *p16INK4a* может быть связано с ростом опухоли, а изменения в *p14ARF* способствуют индукции хронических воспалительных процессов [79].

RUNX3. Белок, кодируемый данным геном, принадлежит к семейству транскрипционных факторов и обладает функцией супрессора опухолей благодаря модуляции апоптоза и пролиферации клеток в солидных опухолях [65]. Связь между метилированием *RUNX3* и рецидивом ПРЩЖ позволяет использовать определение степени метилирования этого гена в клинической практике для диагностики ПРЩЖ [65].

Помимо рассмотренных выше, существуют также гены, изучение которых, несмотря на то что их метилирование мало изучено, очень перспективно. В частности, была выявлена повышенная степень метилирования следующих генов в клетках ПРЩЖ: *RAPb2* – метилирован на 22 %, *SLC5A8* – на 33,0 %, *DAPK* – на 34,0 %, *TIMP3* – на 53 %, *DKK3* – на 38,8 %, *DACT2* – на 64,6 %, *Mig-6* – на 79,0 %, *XAF1* – на 35,7 %. Аберрантное метилирование ДНК этих генов происходит во время канцерогенеза ЩЖ, что подтверждается

исследованиями супрессоров опухолей с использованием генного подхода [80]. Результаты других исследований показали, что гены *ADAMTS8*, *HOXB4*, *ZIC1*, *KISS1R*, *INSL4*, *DPPA2*, *TCL1B* и *NOTCH4* часто регулируются за счет их аберрантного метилирования в клетках ПРЩЖ и ФРЩЖ [78]. Кроме того, аберрантное метилирование генов *TIMP3*, *SLC5A8*, *DAPK* и *RAR2* связано с мутацией протоонкогена *BRAF* [74].

В исследовании S. Rodríguez-Rodero и соавт. были детально изучены уровни метилирования различных CpG-участков в здоровых образцах тканей ЩЖ и в образцах первичных опухолей РЩЖ [74]. В результате было обнаружено, что в образцах здоровой ткани 2946 CpG-участков были не метилированы, а 16901 участок оказался метилирован в разной степени. Анализ образцов РЩЖ выявил наличие 8613 CpG-участков (соответствующих 6904 генам) с измененным профилем метилирования по сравнению с аналогичными участками в нормальных тканях ЩЖ. Среди данных участков: 184 CpG-участка, соответствующих 155 генам, были гиперметилированы только при ПРЩЖ; 250 участков, соответствующих 210 генам, – только при ФРЩЖ; 309 участков, соответствующих 352 генам, – в большей степени при ПРЩЖ и реже при других формах РЩЖ; 408 участков, соответствующих 352 генам, – преимущественно при ФРЩЖ и реже при других формах РЩЖ. Таким образом, в результате было установлено, что измененный профиль метилирования ДНК в CpG-участках приводит к нарушению функционирования ряда онкогенов и в конечном счете – к развитию различных форм РЩЖ.

Помимо прочего, было установлено, что хромосомная транслокация, включающая слияние промоторной области гена *PAX8* и кодирующей области гена рецептора- γ , активируемого пролифератором пероксисом (*PPAR γ*), наблюдается в 35 % случаев ФРЩЖ [78]. Изменения в генах *RAS* и *PAX-PPAR γ* были выявлены в большинстве случаев ФРЩЖ [78]. Эти результаты доказывают роль метилирования в онкогенезе РЩЖ, а также наличие специфических генных маркеров, способных в перспективе упростить диагностику РЩЖ.

V. Mancikova и соавт. оценили профиль метилирования ДНК в высокодифференцированных опухолях ЩЖ [76]. Исследование включало в себя 83 образца опухоли и 8 образцов нормальных соседних тканей [76, 78]. Было обнаружено 460 гиперметилированных CpG-участков, соответствующих 416 генам, в образцах ФРЩЖ и 39 гиперметилированных CpG-участков, соответствующих 31 гену, в образцах ПРЩЖ. Кроме того было показано, что фолликулярные опухоли имеют более высокий уровень метилирования по сравнению с аденомами, что, вероятно, связано с прогрессивным накоплением участков гиперметилирования по мере развития онкологического процесса [78]. Интересно, что глобальный профиль метилирования ДНК зависит от гистологического подтипа РЩЖ. Так, у пациентов

с медуллярным РЩЖ наблюдались более высокие уровни метилирования по сравнению с пациентами с ПРЩЖ [78].

Таким образом, результаты исследований показывают важность дополнительного исследования метилирования ДНК. В перспективе можно надеяться на появление надежных и информативных биомаркеров, которые улучшат диагностику РЩЖ и позволят подобрать индивидуальную тактику лечения.

СОВРЕМЕННЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПАНЕЛИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Выявление определенных молекулярных маркеров и генных мутаций, характерных для злокачественных или доброкачественных опухолей ЩЖ, используется в клинической практике в качестве диагностического инструмента. В частности, Американская тиреологическая ассоциация в 2015 г. разработала несколько рекомендаций относительно молекулярного тестирования при неопределенных результатах ТАБ узлов ЩЖ [81].

В мировой клинической практике для молекулярного тестирования новообразований ЩЖ наиболее часто применяются следующие диагностические панели: Afirma GSC (Afirma Genomic Sequencing Classifier); Afirma XA (Xpression Atlas); ThyGeNEXT (Thyroid oncogene next generation sequencing panel) ThyraMIR (Thyroid miRNA classifier); ThyroSeq v3 (Thyroid Cancer Next-Generation Sequencing Panel).

Первым вариантом теста Afirma GSC (Veracyte, Inc., Калифорния, США) был созданный в 2012 г. классификатор экспрессии генов, основанный на технологии микрочипов Afirma GEC (Gene Expression Classifier). С его помощью проводили анализ относительного уровня экспрессии микроРНК 167 генов, характерных для РЩЖ, в цитологическом материале ТАБ с неопределенными результатами [82]. Эффективность теста Afirma GEC была установлена в ряде исследований [83]. Однако с июля 2017 г. для повышения точности диагностики в клинической практике стала использоваться модифицированная версия теста Afirma GEC — Afirma GSC, основанная на более современной технологии NGS (next generation sequencing — секвенатор нового поколения). Этот тест позволяет анализировать более 10 тыс. генов для определения уровня экспрессии, вариантов последовательностей и изменений количества копий генома [84]. В исследовании 164 образцов ТАБ Afirma GSC показал 100 % чувствительность (95 % ДИ 78–100), 93 % специфичность (95 % ДИ 87–96), 60 % прогностическую ценность положительного результата (95 % ДИ 39–79) и 100 % прогностическую ценность отрицательного результата (95 % ДИ 97–100) [85].

В дополнение к Afirma GSC в 2018 г. была создана диагностическая панель Afirma XA, в настоящее время включающая 593 гена [86]. Ее используют не для выявления РЩЖ, а для прогнозирования осложнений

и тяжести течения этого заболевания в каждом конкретном случае на основании изменений в определенных генах, что позволяет применять индивидуальный подход к лечению [87].

Диагностическая панель ThyGeNEXT (Interpace Diagnostics, PDI, Inc., Нью-Джерси, США) создана в 2018 г. и является улучшенным вариантом панели ThyGenX — платформы, основанной на NGS и идентифицировавшей более 100 изменений в 8 генах, ассоциированных со злокачественными новообразованиями ЩЖ. С помощью новой панели можно обнаружить изменения в 10 генах [88]. Так же, как и старая версия, ThyGeNEXT используется совместно с панелью ThyraMIR, с помощью которой можно проанализировать 10 определенных микроРНК [88, 89]. Новый комбинированный механизм исследования 197 образцов ТАБ показал 95 % чувствительность (95 % ДИ 86–99), 90 % специфичность (95 % ДИ 84–95), 75 % прогностическую ценность положительного результата (95 % ДИ 60–86) и 97 % прогностическую ценность отрицательного результата (95 % ДИ 91–99) [88].

ThyroSeq (University of Pittsburgh Medical Center Division of Molecular & Genomic Pathology MGP Laboratory, Питтсбург, США) — диагностическая панель, в основе которой также лежит NGS. С помощью 1-й версии этого теста исследовали 12 генов на наличие 284 точечных мутаций [90]. Впоследствии была представлена 2-я (расширенная) версия данной диагностической панели — ThyroSeq v2, позволяющая распознавать более 400 мутаций в 14 генах [91]. В 2018 г. стала использоваться 3-я версия панели — ThyroSeq v3, с помощью которой можно проанализировать 112 генов на предмет различных генетических изменений, включая точечные мутации, вставки или делеции, слияния генов, изменения числа копий и аномальную экспрессию генов. В исследовании 247 образцов ТАБ данный тест показал 94 % чувствительность (95 % ДИ 86–98), 82 % специфичность (95 % ДИ 75–87), 66 % прогностическую ценность положительного результата (95 % ДИ 56–75) и 97 % прогностическую ценность отрицательного результата (95 % ДИ 93–99) [92].

В 2016 г. российские авторы разработали проект диагностической панели для определения 456 мутаций в 25 генах и детекции 23 геномных перестроек, ассоциированных с РЩЖ [93].

Имеются сведения о создании в Институте молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (Новосибирск) тест-систем, оценивающих уровень экспрессии микроРНК и онкогена *HMGA2*, а также мутации в гене *BRAF*, что позволяет различать доброкачественные и злокачественные опухоли ЩЖ, а также дифференцировать различные типы новообразований [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Широкая распространенность заболеваний ЩЖ, в частности дифференцированного РЩЖ, обуславливают

актуальность совершенствования методов диагностики. Кроме того, отсутствие патогномичных клинических симптомов при узловой патологии ЩЖ и трудности дооперационной малоинвазивной диагностики данного нарушения определяют значимость организации и проведения исследований молекулярных биомаркеров.

В настоящее время наиболее изучены генные и белковые биомаркеры. Исследователи все большее внимание уделяют определению роли эпигенетических механизмов: метилирования ДНК, молекул микроРНК и гистонов. Однако возможность использования большинства указанных молекулярных маркеров на сегодняшний день неоднозначна: требуются дальнейшие экспериментальные и клинические исследования для их прикладного использования в рутинной практике.

Большим потенциалом в качестве инструмента исследования обладают комплексные диагностические панели, позволяющие уже на этапе пункционной

биопсии выявить злокачественность процесса и спрогнозировать осложнения, тяжесть течения заболевания, вероятность метастазирования и рецидива в каждом конкретном случае. Однако относительно высокая стоимость подобных тест-систем ограничивает их использование в повседневной клинической практике.

Разработка и исследование новых диагностических панелей, особенно отечественного производства, позволят не только расширить фундаментальные знания о патогенезе РЩЖ, но и увеличить доступность более точных методов диагностики, позволяющих оценивать риски и прогноз в каждом конкретном случае. В совокупности с данными клинических, ультразвукового и цитологического исследований применение молекулярных панелей поможет принимать более обоснованные решения в отношении тактики ведения пациентов, что станет важным шагом в переходе к персонализированной медицине в повседневной клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Durante C., Grani G., Lamartina L. et al. The diagnosis and management of thyroid nodules: a review. *JAMA* 2018;319(9): 914–24. DOI: 10.1001/jama.2018.0898.
- Сердюкова О.С., Титов С.Е., Малахина Е.С., Рымар О.Д. МикроРНК – перспективные молекулярные маркеры обнаружения рака в узлах щитовидной железы. *Клиническая и экспериментальная тиреология* 2018;14(3):140–8. [Serdyukova O.S., Titov S.E., Malakhina E.S., Rymar O.D. MicroRNAs – promising molecular markers for detecting cancer in thyroid nodules. *Klinicheskaya i eksperimental'naya tireoidologiya = Clinical and experimental thyroidology* 2018;14(3):140–8. (In Russ.)]. DOI: 10.14341/ket977.
- Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer* 2013;13(3):184–99. DOI: 10.1038/nrc3431.
- Duan H., Liu X., Ren X. et al. Mutation profiles of follicular thyroid tumors by targeted sequencing. *Diagn Pathol* 2019;14(1):39. DOI: 10.1186/s13000-019-0817-1.
- Donati B., Ciarrocchi A. Telomerase and telomeres biology in thyroid cancer. *Int J Mol Sci* 2019;20(12):2887. DOI: 10.3390/ijms20122887.
- Liu R., Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2016;23(3):R143–55. DOI: 10.1530/erc-15-0533.
- Beysel S., Eyerci N., Pinarli F.A. et al. VDR gene foki polymorphism as a poor prognostic factor for papillary thyroid cancer. *Tumor Biol* 2018;40(11):101042831881176. DOI: 10.1177/1010428318811766.
- Yang L., Sun R., Wang Y. et al. Expression of ANGPTL2 and its impact on papillary thyroid cancer. *Cancer Cell Int* 2019;19:204. DOI: 10.1186/s12935-019-0908-9.
- Siołek M., Cybulski C., Gašior-Perczak D. et al. CHEK2 mutations and the Risk of Papillary Thyroid Cancer. *Int J Cancer* 2015;137(3):548–52. DOI: 10.1002/ijc.29426.
- Lu W., Xu Y., Xu J. et al. Identification of differential expressed LncRNAs in human thyroid cancer by a genome-wide analyses. *Cancer Med* 2018;7(8):3935–44. DOI: 10.1002/cam4.1627.
- Zhang J., Du Y., Zhang X. et al. Downregulation of BANCR promotes aggressiveness in papillary thyroid cancer via the MAPK and PI3K pathways. *J Cancer* 2018;9(7):1318–28. DOI: 10.7150/jca.20150.
- Zhao K., Yang H., Kang H., Wu A. Identification of key genes in thyroid cancer microenvironment. *Med Sci Monit* 2019;25:9602–08. DOI: 10.12659/msm.918519.
- Lin P., Guo Y., Shi L. et al. Development of a prognostic index based on an immunogenomic landscape analysis of papillary thyroid cancer. *Aging* 2019;11(2):480–500. DOI: 10.18632/aging.101754.
- Guan H., Guo Y., Liu L. et al. INAVA promotes aggressiveness of papillary thyroid cancer by upregulating MMP9 expression. *Cell Biosci* 2018;8:26. DOI: 10.1186/s13578-018-0224-4.
- Shi Y., Su C., Hu H. et al. Serum MMP-2 as a potential predictive marker for papillary thyroid carcinoma. *PLoS One* 2018;13(6):e0198896. DOI: 10.1371/journal.pone.0198896.
- Marečko I., Cvejić D., Šelemetjev S. et al. Enhanced activation of matrix metalloproteinase-9 correlates with the degree of papillary thyroid carcinoma infiltration. *Croat Med J* 2014;55(2):128–37. DOI: 10.3325/cmj.2014.55.128.
- Zhang W., Song B., Yang T. MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the peripheral blood of patients with differentiated thyroid carcinoma. *Cancer Manag Res* 2019;11:10675–81. DOI: 10.2147/cmar.s233776.
- Bumber B., Kavanagh M., Jakovcevic A. et al. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the development of cervical metastases in papillary thyroid cancer. *Clin Otolaryngol* 2019;45(1):55–62. DOI: 10.1111/coa.13466.
- Wang C., Tsai S. The non-canonical role of vascular endothelial growth factor-c axis in cancer progression. *Exp Biol Med* 2015;240(6):718–24. DOI: 10.1177/1535370215583802.
- Šelemetjev S., Đorić I., Paunović I. et al. Coexpressed high levels of VEGF-C and active MMP-9 are associated with lymphatic spreading and local invasiveness of papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2016;146(5):594–602. DOI: 10.1093/ajcp/aqw184.
- Jang J., Kim D., Park H. et al. Preoperative serum VEGF-C but not VEGF-A level is correlated with lateral neck metastasis in papillary thyroid

- carcinoma. *Head Neck* 2019;41(8):2602–09. DOI: 10.1002/hed.25729.
22. Jia Z., Wu X., Zhang Y. et al. The correlation between ultrasonographic features, BFGF, and the local invasiveness of thyroid papillary carcinoma. *Medicine* 2020;99(26):e20644. DOI: 10.1097/md.0000000000020644.
 23. Zhou C., Yang C., Chong D. E-cadherin expression is associated with susceptibility and clinicopathological characteristics of thyroid cancer. *Medicine* 2019;98(30):e16187. DOI: 10.1097/md.0000000000016187.
 24. Ali K., Awny S., Ibrahim D. et al. Role of P53, E-cadherin and BRAF as predictors of regional nodal recurrence for papillary thyroid cancer. *Ann Diagn Pathol* 2019;40:59–65. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2019.04.005.
 25. Zhu X., Bai Q., Lu Y. et al. Expression and function of CXCL12/CXCR4/CXCR7 in thyroid cancer. *Int J Oncol* 2016;48(6):2321–9. DOI: 10.3892/ijo.2016.3485.
 26. Werner T., Forster C., Dizdar L. et al. CXCR4/CXCR7/CXCL12-axis in follicular thyroid carcinoma. *J Cancer* 2018; 9(6):929–40. DOI: 10.7150/jca.23042.
 27. Cho H., Kim J., Oh Y. Diagnostic value of HBME-1, CK19, Galectin 3, and CD56 in the subtypes of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathol Int* 2018;68(11):605–13. DOI: 10.1111/pin.12729.
 28. Xin Y., Guan D., Meng K. et al. Diagnostic accuracy of CK-19, Galectin-3 and HBME-1 on papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol* 2017;10(8):8130–40.
 29. Erdogan-Durmus S., Ozcan D., Yarikaya E. et al. CD56, HBME-1 and cytokeratin 19 expressions in papillary thyroid carcinoma and nodular thyroid lesions. *J Res Med Sci* 2016;21(1):49. DOI: 10.4103/1735-1995.183986.
 30. Arcolia V., Journe F., Renaud F. et al. Combination of Galectin-3, CK19 and HBME-1 immunostaining improves the diagnosis of thyroid cancer. *Oncol Lett* 2017;14(4):4183–9. DOI: 10.3892/ol.2017.6719.
 31. Palo S., Biligi D.S. Differential diagnostic significance of HBME-1, CK19 and S100 in various thyroid lesions. *Malays J Pathol* 2017;39(1):55–67.
 32. Vlad M., Golu I., Dema A. et al. The absence of CD56 expression can differentiate papillary thyroid carcinoma from other thyroid lesions. *Ind J Pathol Microbiol* 2017;60(2):161. DOI: 10.4103/0377-4929.208378.
 33. Muthusamy S., Azhar Sha S., Abdullah Suhaimi S.N. et al. CD56 expression in benign and malignant thyroid lesions. *Malays J Pathol* 2018;40(2):111–9.
 34. Bartolazzi A., Sciacchitano S., D'Alessandria C. Galectin-3: the impact on the clinical management of patients with thyroid nodules and future perspectives. *Int J Mol Sci* 2018;19(2):445. DOI: 10.3390/ijms19020445.
 35. Li J., Vasilyeva E., Wiseman S. Beyond immunohistochemistry and immunocytochemistry: a current perspective on Galectin-3 and thyroid cancer. *Exp Rev Anticancer Ther* 2019;19(12):1017–27. DOI: 10.1080/14737140.2019.1693270.
 36. Gadelha M., Kasuki L., Dénes J. et al. MicroRNAs: suggested role in pituitary adenoma pathogenesis. *J Endocrinol Invest* 2013;36(10):889–95. DOI: 10.1007/bf03346759.
 37. Луценко А.С., Белая Ж.Е., Пржиялковская Е.Г. и др. МикроРНК и их значение в патогенезе СТГ-продуцирующих аденом гипофиза. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2017;72(4):290–8. [Lutsenko A.S., Belaya Z.E., Przhilyalkovskaya E.G. et al. MicroRNA: role in GH-secreting pituitary adenoma pathogenesis. *Vestnik Rossijskoj akademii mediczinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences* 2017;72(4):290–8. (In Russ.)]. DOI: 10.15690/vgramn856.
 38. Аушев В.Н. МикроРНК: малые молекулы с большим значением Клиническая онкогематология. *Фундаментальные исследования и клиническая практика* 2015;8(1):1–12. [Aushev V.N. MicroRNA: small molecules of great significance. *Klinicheskaya onkologematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika = Clinical oncohematology. Basic research and clinical practice* 2015;8(1):1–12. (In Russ.)].
 39. Wierinckx A., Roche M., Legras-Lachuer M. et al. MicroRNAs in pituitary tumors. *Mol Cell Endocrinol* 2017; 456:51–61. DOI: 10.1016/j.mce.2017.01.021. Available at: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720717300254?via%3Dihub>).
 40. Weber J., Baxter D., Zhang S. et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem* 2010;56(11):1733–41. DOI: 10.1373/clinchem.2010.147405.
 41. Celano M., Rosignolo F., Maggisano V. et al. MicroRNAs as biomarkers in thyroid carcinoma. *Int J Genomics* 2017;2017:6496570. DOI: 10.1155/2017/6496570.
 42. Yu S., Liu Y., Wang J. et al. Circulating microRNA profiles as potential biomarkers for diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(6):2084–92. DOI: 10.1210/jc.2011-3059.
 43. Lee J., Zhao J., Clifton-Bligh R. et al. MicroRNA-222 and MicroRNA-146B are tissue and circulating biomarkers of recurrent papillary thyroid cancer. *Cancer* 2013;119(24):4358–65. DOI: 10.1002/cncr.28254.
 44. Rosignolo F., Sponziello M., Giacomelli L. et al. identification of thyroid-associated serum microRNA profiles and their potential use in thyroid cancer follow-up. *J Endocr Soc* 2017; 1(1):3–13. DOI: 10.1210/js.2016-1032.
 45. Lee Y., Lim Y., Lee J. et al. Differential expression levels of plasma-derived Mir-146B and Mir-155 in papillary thyroid cancer. *Oral Oncol* 2015;51(1):77–83. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2014.10.006.
 46. Yoruker E., Terzioglu D., Teksoz S. et al. MicroRNA expression profiles in papillary thyroid carcinoma, benign thyroid nodules and healthy controls. *J Cancer* 2016;7(7): 803–9. DOI: 10.7150/jca.13898.
 47. Samsonov R., Burdakov V., Shtam T. et al. Plasma exosomal Mir-21 and Mir-181A differentiates follicular from papillary thyroid cancer. *Tumor Biol* 2016;37(9):12011–21. DOI: 10.1007/s13277-016-5065-3.
 48. Zhang Y., Zhong Q., Chen X. et al. Diagnostic value of MicroRNAs in discriminating malignant thyroid nodules from benign ones on fine-needle aspiration samples. *Tumour Biol* 2014;35(9):9343–53. DOI: 10.1007/s13277-014-2209-1.
 49. Paskaš S., Janković J., Živaljević V. et al. Malignant risk stratification of thyroid FNA Specimens with indeterminate cytology based on molecular testing. *Cancer Cytopathol* 2015;123(8):471–9. DOI: 10.1002/cncy.21554.
 50. Chou C., Yang K., Chou F. et al. Prognostic implications of MiR-146b expression and its functional role in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(2):E196–205. DOI: 10.1210/jc.2012-2666.
 51. Rosignolo F., Memeo L., Monzani F. et al. MicroRNA-based molecular classification of papillary thyroid carcinoma. *Int J Oncol* 2017;50(5):1767–77. DOI: 10.3892/ijo.2017.3960.
 52. Geraldo M., Kimura E. Integrated analysis of thyroid cancer public datasets reveals role of post-transcriptional regulation on tumor progression by targeting of immune system mediators. *PLoS One* 2015;10(11):e0141726. DOI: 10.1371/journal.pone.0141726.
 53. Zhang Z., Xiao Q., Li X. et al. MicroRNA-574-5p directly targets FOXN3 to mediate thyroid cancer progression via Wnt/ β -Catenin signaling pathway. *Pathol Res Pract* 2020;216(6):152939. DOI: 10.1016/j.prp.2020.152939.
 54. Chandran U., Medvedeva O., Barmada M. et al. TCGA expedition: a data acquisition and management system for TCGA data. *PLoS One* 2016;11(10):e0165395. DOI: 10.1371/journal.pone.0165395.
 55. Li X., Wen R., Wen D. et al. Downregulation of MiR-193a-3p via targeting Cyclin D1 in thyroid cancer. *Mol*

- Med Rep 2020;22(3):2199–218.
DOI: 10.3892/mmr.2020.11310.
56. Zou X., Gao F., Wang Z. et al. A three-MicroRNA panel in serum as novel biomarker for papillary thyroid carcinoma diagnosis. *Chin Med J* 2020;133(21):2543–51. DOI: 10.1097/cm9.0000000000001107.
 57. Santos C., Schulze A. Lipid metabolism in cancer. *FEBS J* 2012;279(15):2610–23. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08644.x.
 58. Liao T., Wang Y., Hu J. et al. Histone methyltransferase KMT5A gene modulates oncogenesis and lipid metabolism of papillary thyroid cancer *in vitro*. *Oncol Rep* 2018;39(5):2185–91. DOI: 10.3892/or.2018.6295.
 59. Yan K., Lin C., Liao T. et al. EZH2 in cancer progression and potential application in cancer therapy: a friend or foe? *Int J Mol Sci* 2017;18(6):1172. DOI: 10.3390/ijms18061172.
 60. Chien M., Yang P., Lee J. et al. Recurrence-associated genes in papillary thyroid cancer: An analysis of data from the Cancer Genome Atlas. *Surgery* 2017;161(6):1642–50. DOI: 10.1016/j.surg.2016.12.039.
 61. Tsai C., Chien M., Chang Y. et al. Overexpression of histone H3 lysine 27 trimethylation is associated with aggressiveness and dedifferentiation of thyroid cancer. *Endocr Pathol* 2019;30(4):305–11. DOI: 10.1007/s12022-019-09586-1.
 62. Zhang W., Sun W., Qin Y. et al. Knockdown of KDM1A suppresses tumour migration and invasion by epigenetically regulating the TIMP1/MMP9 pathway in papillary thyroid cancer. *J Cell Mol Med* 2019;23(8):4933–44. DOI: 10.1111/jcmm.14311.
 63. Aalinkeel R., Nair B., Reynolds J. et al. Overexpression of MMP-9 contributes to invasiveness of prostate cancer cell line LNCaP. *Immunol Invest* 2011;40(5):447–64. DOI: 10.3109/08820139.2011.557795.
 64. Russo D., Durante C., Bulotta S. et al. Targeting histone deacetylase in thyroid cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2012;17(2):179–93. DOI: 10.1517/14728222.2013.740013.
 65. Rodríguez-Rodero S., Delgado-Álvarez E., Díaz-Naya L. et al. Epigenetic modulators of thyroid cancer. *Endocrinol Diabetes Nutr* 2017;64(1):44–56. DOI: 10.1016/j.endien.2017.02.006.
 66. De Morais R., Sobrinho A., de Souza Silva C. et al. The role of the *NIS* (*SLC5A5*) gene in papillary thyroid cancer: a systematic review. *Int J Endocrinol* 2018;2018:1–11. DOI: 10.1155/2018/9128754.
 67. Zhang Z., Liu D., Murugan A. et al. Histone deacetylation of *NIS* promoter underlies BRAF V600E-promoted *NIS* silencing in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2013;21(2):161–73. DOI: 10.1530/erc-13-0399.
 68. Kim S., Park K., Jeon J. et al. Potential anti-cancer effect of N-hydroxy-7-(2-naphthylthio) heptanamide (HNHA), a novel histone deacetylase inhibitor, for the treatment of thyroid cancer. *BMC Cancer* 2015;15(1):1003. DOI: 10.1186/s12885-015-1982-6.
 69. Fu H., Cheng L., Jin Y. et al. MAPK inhibitors enhance HDAC inhibitor-induced redifferentiation in papillary thyroid cancer cells harboring BRAF^{V600E}: an *in vitro* study. *Mol Ther Oncolytics* 2019;12:235–45. DOI: 10.1016/j.omto.2019.01.007.
 70. Zafon C., Gil J., Pérez-González B. et al. DNA Methylation in Thyroid Cancer. *Endocr Relat Cancer* 2019;26(7):R415–39. DOI: 10.1530/erc-19-0093.
 71. Якушина В.Д., Лернер Л.В., Казубская Т.П. и др. Молекулярно-генетическая структура фолликулярно-клеточного рака щитовидной железы. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология* 2016;12(2):55–64. [Yakushina V.D., Lerner L.V., Kazubskaya T.P. et al. Molecular genetics of follicular cell thyroid carcinoma. *Klinicheskaya i eksperimental'naya tiroidologiya = Clinical and experimental thyroidology* 2016;12(2):55–64. (In Russ.)]. DOI: 10.14341/ket2016255-64.
 72. Faam B., Ghaffari M., Ghadiri A. et al. Epigenetic modifications in human thyroid cancer. *Biomed Rep* 2014;3(1):3–8. DOI: 10.3892/br.2014.375.
 73. Mitmaker E., Tabah R., How J. Thyroid nodule DNA methylation signatures: an important diagnostic annotation. *Clin Cancer Res* 2018;25(2):457–59. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-18-2820.
 74. Rodríguez-Rodero S., Fernández A., Fernández-Morera J. et al. DNA methylation signatures identify biologically distinct thyroid cancer subtypes. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(7):2811–21. DOI: 10.1210/jc.2012-3566.
 75. Beltrami C., dos Reis M., Barros-Filho M. et al. Integrated data analysis reveals potential drivers and pathways disrupted by DNA methylation in papillary thyroid carcinomas. *Clin Epigenetics* 2017;9:45. DOI: 10.1186/s13148-017-0346-2.
 76. Mancikova V., Buj R., Castelblanco E. et al. DNA methylation profiling of well-differentiated thyroid cancer uncovers markers of recurrence free survival. *Int J Cancer* 2014;135(3):598–610. DOI: 10.1002/ijc.28703.
 77. Savvidis C., Papaoiconomou E., Petraki C. et al. The role of KISS1/KISS1R system in tumor growth and invasion of differentiated thyroid cancer. *Anticancer Res* 2015;35:819–26.
 78. Zarkesh M., Zadeh-Vakili A., Azizi F. et al. Altered epigenetic mechanisms in thyroid cancer subtypes. *Mol Diagn Ther* 2017;22(1):41–56. DOI: 10.1007/s40291-017-0303-y.
 79. Ishida E., Nakamura M., Shimada K. et al. DNA hypermethylation status of multiple genes in papillary thyroid carcinomas. *Pathobiology* 2007;74(6):344–52. DOI: 10.1159/000110028.
 80. Zhu X., Cheng S. Epigenetic modifications: novel therapeutic approach for thyroid cancer. *Endocrinol Metab (Seoul)* 2017;32(3):326. DOI: 10.3803/enm.2017.32.3.326.
 81. Haugen B., Alexander E., Bible K. et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: The American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2016;26(1):1–133. DOI: 10.1089/thy.2015.0020.
 82. Alexander E., Kennedy G., Baloch Z. et al. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. *N Engl J Med* 2012;367(8):705–15. DOI: 10.1056/nejmoa1203208.
 83. Sahli Z., Smith P., Umbricht C. et al. Preoperative molecular markers in thyroid nodules. *Front Endocrinol* 2018;9:179. DOI: 10.3389/fendo.2018.00179.
 84. Ali S., Siperstein A., Sadow P. et al. Extending expressed RNA genomics from surgical decision making for cytologically indeterminate thyroid nodules to targeting therapies for metastatic thyroid cancer. *Cancer Cytopathol* 2019;127(6):362–9. DOI: 10.1002/cncy.22132.
 85. Endo M., Nabhan F., Porter K. et al. Afirma gene sequencing classifier compared with gene expression classifier in indeterminate thyroid nodules. *Thyroid* 2019;29(8):1115–24. DOI: 10.1089/thy.2018.0733.
 86. Krane J., Cibas E., Endo M. et al. The Afirma Xpression Atlas for thyroid nodules and thyroid cancer metastases: insights to inform clinical decision-making from a fine-needle aspiration sample. *Cancer Cytopathol* 2020;128(7):452–9. DOI: 10.1002/cncy.22300.
 87. Angell T., Wirth L., Cabanillas M. et al. Analytical and clinical validation of expressed variants and fusions from the whole transcriptome of thyroid FNA samples. *Front Endocrinol* 2019;(10):612. DOI: 10.3389/fendo.2019.00612.
 88. Lupo M., Wälts A., Sistrunk J. et al. Multiplatform molecular test performance in indeterminate thyroid nodules. *Diagn Cytopathol* 2020;48(12):1254–64. DOI: 10.1002/dc.24564.
 89. Zhang M., Lin O. Molecular testing of thyroid nodules: A Review of current available tests for fine-needle aspiration specimens. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140(12):1338–44. DOI: 10.5858/arpa.2016-0100-ra.
 90. Nikiforova M., Wald A., Roy S. et al. Targeted next-generation sequencing panel (ThyroSeq) for detection of mutations

- in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(11):E1852–60. DOI: 10.1210/jc.2013-2292.
91. Valderrabano P., Zota V., McIver B. et al. Molecular assays in cytopathology for thyroid cancer. *Cancer Control* 2015;22(2):152–7. DOI: 10.1177/107327481502200205.
92. Nikiforov Y., Baloch Z. Clinical validation of the ThyroSeq v3 genomic classifier in thyroid nodules with indeterminate FNA cytology. *Cancer Cytopathol* 2019;127(4): 225–30. DOI: 10.1002/cncy.22112.
93. Якушина В.Д., Зайцева М.А., Павлов А.Е. и др. Разработка таргетной панели для молекулярно-генетической диагностики рака щитовидной железы. *Медицинская генетика* 2016;15(9):44–8. [Yakushina V.D., Zaytseva M.A., Pavlov A.E. et al. Design of targeted gene panel for molecular diagnostics of thyroid cancer. *Medicinskaya genetika = Medical Genetics* 2016;15(9):44–8. (In Russ.)]. DOI: 10.1234/XXXX-XXXX-2016-9-44-48.

Вклад авторов

А.А. Михайлова, А.В. Шестаков: разработка концепции исследования, сбор и обработка данных, редактирование текста статьи;
 К.А. Чубакова, Е.В. Колоколова, В.Ю. Елисеев, М.Я. Костяева, Э.Г. Акперов, В.Е. Пилипенко: сбор и обработка данных, написание и редактирование текста статьи;
 Т.В. Саприна: разработка концепции исследования, анализ научной работы, редактирование статьи, руководство процессом написания статьи;
 М.Р. Мухамедов, Е.Л. Чойнзонов: анализ научной работы, критический пересмотр материала с внесением ценного интеллектуального содержания, редактирование статьи.

Authors' contribution

A.A. Mikhailova, A.V. Shestakov: developing the research design, obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, text editing;
 K.A. Chubakova, E.V. Kolokolova, V.Yu. Eliseev, M.Ya. Kostyaeva, E.G. Akperov, V.E. Pilipenko: obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, article writing, text editing;
 T.V. Saprina: developing the research design, analysis of scientific work, text editing, guiding the process of writing an article;
 M.R. Mukhammedov, E.L. Choinzonov: analysis of scientific work, critical revision of the material with the introduction of valuable intellectual content, text editing.

Авторы внесли равный вклад в создание статьи.

The authors made an equal contribution to the creation of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.В. Шестаков / A.V. Shestakov: <https://orcid.org/0000-0001-9648-8255>
 А.А. Михайлова / A.A. Mikhailova: <https://orcid.org/0000-0001-6066-3525>
 К.А. Чубакова / K.A. Chubakova: <https://orcid.org/0000-0001-9010-4142>
 Е.В. Колоколова / E.V. Kolokolova: <https://orcid.org/0000-0001-6328-5697>
 В.Ю. Елисеев / V.Yu. Eliseev: <https://orcid.org/0000-0002-8671-0307>
 М.Я. Костяева / M.Ya. Kostyaeva: <https://orcid.org/0000-0002-7011-0307>
 Э.Г. Акперов / E.G. Akperov: <https://orcid.org/0000-0001-9621-4713>
 В.Е. Пилипенко / V.E. Pilipenko: <https://orcid.org/0000-0003-3488-8979>
 Т.В. Саприна / T.V. Saprina: <https://orcid.org/0000-0001-9011-8720>
 М.Р. Мухамедов / M.R. Muhamedov: <https://orcid.org/0000-0001-6262-7202>
 Е.Л. Чойнзонов / E.L. Choinzonov: <https://orcid.org/0000-0002-3651-0665>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Financing. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 23.04.2021. Принята к публикации: 25.05.2021.

Article submitted: 23.04.2021. Accepted for publication: 25.05.2021.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-23-28



Прогностическая и предиктивная значимость остеопонтина при злокачественных новообразованиях

Е.Ю. Зубарева^{1,2}, М.А. Сеньчукова^{1,2}

¹ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер»; Россия, 460021 Оренбург, пр-т Гагарина, 11;

²ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»; Россия, 460000 Оренбург, ул. Советская, 6

Контакты: Евгения Юрьевна Зубарева tishkova_evgeniy@mail.ru

Остеопонтин – это белок внеклеточного матрикса, который продуцируется разными типами клеток и играет важную функциональную роль во многих биологических процессах. В данном обзоре рассматриваются основные функции остеопонтина, его роль в прогрессии и химиорезистентности злокачественных новообразований, регуляции эпителиально-мезенхимального перехода, ангиогенеза и иммунного ответа организма на опухоль. В статье обсуждаются известные в настоящий момент механизмы, при помощи которых остеопонтин оказывает влияние на выживаемость, подвижность и инвазию опухолевых клеток, чувствительность опухоли к лекарственному лечению, а также представлены перспективы комплексного изучения предиктивной значимости этого белка, маркеров гипоксии, ангиогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода и иммунологической толерантности.

Ключевые слова: остеопонтин, прогрессия злокачественных новообразований, инвазия, метастазирование, эпителиально-мезенхимальный переход, иммунологическая толерантность, гипоксия, ангиогенез, химиорезистентность

Для цитирования: Зубарева Е.Ю., Сеньчукова М.А. Прогностическая и предиктивная значимость остеопонтина при злокачественных новообразованиях. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):23–8. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-23-28.

Prognostic and predictive significance of osteopontin in malignant neoplasms

E. Yu. Zubareva^{1,2}, M. A. Senchukova^{1,2}

¹Orenburg Regional Clinical Oncological Dispensary; 11 Gagarin Avenue, Orenburg 460021, Russia;

²Orenburg State Medical University; 6 Sovetskaya St., 460000 Orenburg, Russia

Contacts: Evgenia Yuryevna Zubareva tishkova_evgeniy@mail.ru

Osteopontin is an extracellular matrix protein which is produced by different types of cells and plays an important functional role in many biological processes. This review discusses the main functions of osteopontin, its role in the progression and chemoresistance of malignant neoplasms, in the regulation of epithelial-mesenchymal transition, angiogenesis, and the body's immune response to the tumor. The article considers the currently known mechanisms by which osteopontin affects to the survival, mobility and invasion of tumor cells, to tumor sensitivity to drug treatment, as well as the prospects for an integrated study of the predictive significance of osteopontin, markers of hypoxia, angiogenesis, epithelial-mesenchymal transition, and immunological tolerance.

Key words: osteopontin, progression of malignant neoplasms, invasion, metastasis, epithelial-mesenchymal transition, immunological tolerance, hypoxia, angiogenesis, chemoresistance

For citation: Zubareva E. Yu., Senchukova M. A. Prognostic and predictive significance of osteopontin in malignant neoplasms. *Uspekhii molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):23–8. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-23-28.

ВВЕДЕНИЕ

Остеопонтин (ОП) – это секретируемый белок внеклеточного матрикса, играющий важную функциональную роль во многих биологических процессах,

включая воспаление, клеточную адгезию, миграцию, дифференцировку, выживание клеток и апоптоз, а также регуляцию минерализации костного матрикса [1–3]. В стрессовых условиях ОП может регулировать

иммунную супрессию и ангиогенез [4]. Разнообразные биологические роли ОП частично обусловлены его способностью взаимодействовать с различными молекулами, включая рецепторы клеточной поверхности, такие как интегрин и кластер дифференцировки (CD44), внутриклеточные сигнальные молекулы, кальций и гепарин [5].

Впервые ОП был описан в 1979 г. D.R. Senger и соавт. [6]. Установлено, что этот белок может существовать в 2 формах: внутриклеточной и внеклеточной, или секретируемой. Остеопонтин продуцируется множеством типов клеток, включая остеокласты, остеобласты, эпителиальные клетки, перициты, фибробласты, гепатоциты, клетки хрусталика, канальцев, гладких мышц, иммунной системы, а также различные злокачественные клетки [3, 5, 7, 8]. Также ОП обнаруживается в различных тканях и жидкостях организма, включая кровь, мочу, желчь и молоко [4, 9].

Остеопонтин состоит из 314 аминокислотных остатков, что соответствует расчетной молекулярной массе 35 кДа. Описано несколько различных изоформ ОП, образующихся в результате альтернативного сплайсинга и ряда посттрансляционных модификаций, таких как фосфорилирование серина/треонина, гликозилирование, сульфатирование тирозина и протеолитическое расщепление. Из-за сплайсинга и посттрансляционных модификаций фактическая молекулярная масса ОП колеблется от 41 до 75 кДа [10]. Остеопонтин имеет несколько изоформ: ОП-а представляет собой полноразмерную изоформу, в ОП-б отсутствует экзон 5, а в ОП-с — экзон 4. Изоформы ОП часто имеют разные профили экспрессии и вызывают различные биологические эффекты. Так, M. Mirza и соавт. выяснили, что при раке молочной железы (РМЖ) ОП-с экспрессируется только опухолевыми клетками, в то время как экспрессия ОП-а и ОП-б обнаружена и в нормальных клетках молочной железы, и в опухолевых [11]. В то же время K. Zduniak и соавт. отметили, что ОП-а и ОП-б обнаруживаются исключительно в цитоплазме клеток РМЖ, а ОП-с находится преимущественно в их ядрах [12]. Различия в биологических эффектах изоформ ОП на примере рака желудка продемонстрировали X. Tang и соавт. Они показали, что ОП-б влияет на выживаемость опухолевых клеток, тогда как ОП-с стимулирует метастатическую активность за счет увеличения секреции MMP-2, IL-8 и uPA [13]. Кроме того, секретируемый и внутриклеточный ОП по-разному влияют на эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП). Так, R. Jia и соавт. в своем исследовании на клеточных линиях РМЖ показали, что секретируемый ОП запускает ЭМП в первичной опухоли, а внутриклеточный ОП индуцирует его в отдаленных метастазах [14].

Установлено, что ОП способствует прогрессированию злокачественных новообразований за счет активации процессов пролиферации, подвижности и инвазии опухолевых клеток. Повышение уровня ОП

в периферической крови, а также его повышенная экспрессия в опухоли были отмечены при мультиформной глиобластоме, гепатоцеллюлярной карциноме, колоректальном раке, РМЖ, раке легких, мочевого пузыря, меланоме, плоскоклеточном раке головы и шеи, остром миелоидном лейкозе и связаны с худшим прогнозом заболевания [8, 15–17]. Полагают, что ОП способствует прогрессии злокачественных новообразований за счет поддержания стволового фенотипа опухолевых клеток, активации ЭМП, ангиогенеза, ингибирования апоптоза, модулирования микроокружения опухоли и вмешательства в работу иммунной системы [5, 8]. Этот белок также может способствовать выживанию клеток, негативно регулируя апоптоз в ответ на стрессовые условия, включая воздействие противоопухолевых агентов [18].

ОСТЕОПОНТИН И ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД

Остеопонтин считается ключевым регулятором ЭМП 2-го и 3-го типов (1-й тип относится к эмбриогенезу, 2-й — к заживлению ран, а 3-й — к образованию метастазов) [19]. Этот белок участвует в регуляции механизмов ЭМП за счет активации различных сигнальных путей, таких как Twist/Bmi-1, PI3K/Akt, NF-κB/ZEB, MAPK, а также каскада интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ -Akt/Erk-FOXM1 [20–23]. В клеточных линиях РМЖ сверхэкспрессия ОП за счет активации пути ОП/ Twist/Bmi-1 приводит к увеличению экспрессии нескольких факторов транскрипции, связанных с ЭМП, включая Twist, Snail и Slug. Остеопонтин-обусловленная активация Twist вызывает усиление миграции клеток, повышение инвазии и снижение межклеточной адгезии [24]. Интересно, что при РМЖ повышение уровня ОП и активация Twist обусловлены увеличением экспрессии костного морфогенетического белка — фактора роста, связанного в том числе с формированием костной и хрящевой ткани. Было показано, что в инфильтрирующей карциноме с микрокальцинатами наблюдается повышенная экспрессия костного морфогенетического белка и ОП, вследствие чего опухолевые клетки приобретают мезенхимальные характеристики и фенотип, подобный остеобластам [25, 26].

Остеопонтин также может влиять на экспрессию Snail, который является ключевым фактором транскрипции, способствующим ЭМП [27]. Snail (подобно Twist) подавляет экспрессию E-кадгерина и других эпителиальных факторов, включая Claudins, Occludins и Muc1, что приводит к увеличению подвижности и миграции опухолевых клеток [24, 28]. В индукции экспрессии Snail1 и Snail2 участвуют многочисленные сигнальные пути, включая TGF-β, интегрин-связанную киназу (ILK), фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K), MAPK/ERK, киназу гликогенсинтазы 3β (GSK-3β), белок — ингибитор киназы Raf (RKIP), NF-κβ и Tat-взаимодействующий белок (TIP30) [29]. Сигналы окружающей среды (гипоксия и стресс) также являются

индукторами Snail1 и Snail2. Отмечено, что блокада экспрессии ОП приводит к снижению экспрессии Snail на модели как РМЖ, так и гепатоцеллюлярной карциномы [22, 30].

Остеопонтин также может регулировать ЭМП посредством активации блокады протеосомной деградации NIF-1 α , что приводит к накоплению этого фактора и активации целого ряда кислород-чувствительных генов, участвующих в регуляции ангиогенеза, ЭМП, иммунологической толерантности и поддержании стволовости опухолевых клеток [9, 17, 23, 27]. В экспериментальных моделях *in vivo* сверхэкспрессия ОП вызывает повышение уровня NIF-1 α в опухоли, увеличение инвазивных свойств и метастазирование опухолевых клеток [31, 32].

В ряде исследований было продемонстрировано, что ОП может изменять микроокружение опухоли, способствовать тому, что стромальные фибробласты, опухолевые клетки и мезенхимальные стволовые клетки приобретают фенотип фибробластов, ассоциированных с опухолью, которые секретируют в микроокружении опухоли множество факторов, поддерживающих ее инвазивность и способность к метастазированию [33]. Одним из таких факторов является TGF- β , который может индуцировать ЭМП во многих опухолях, а также приводит к образованию популяций раковых стволовых клеток [34–36]. Таким образом, ОП через активацию TGF- β , секретируемого фибробластами, ассоциированными с опухолью, способен влиять на ЭМП и образование раковых стволовых клеток.

ОСТЕОПОНТИН И ИММУННЫЙ ОТВЕТ

В физиологических условиях ОП регулирует иммунный ответ хозяина против инфекции посредством усиления поляризации Т-хелперов 1 и 17 [37]. Кроме того, показано, что ОП стимулирует выработку интерлейкина-6 и интерлейкина-12, подавляет экспрессию интерлейкина-10 в моноцитах, снижает экспрессию интерлейкина-27 в дендритных клетках и действует как хемоаттрактантный цитокин для рекрутирования макрофагов и нейтрофилов [37, 38]. Также ОП инициирует экспрессию матриксных металлопротеиназ (MMP-2 и MMP-9), которые за счет деградации матрикса способствуют миграции опухолевых и эндотелиальных клеток, а также ремоделированию тканей [39]. Остеопонтин посредством активации факторов транскрипции AP-1 и NF- κ B регулирует выработку иммунными клетками медиаторов воспаления [9]. При патологических условиях ОП участвует в аутоиммунных воспалительных заболеваниях, включая красную волчанку, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, сахарный диабет 1-го типа и синдром Шегрена [37, 38].

Хотя иммунорегуляторные функции ОП были доказаны на различных моделях воспалительных и аутоиммунных заболеваний, участие этого белка в прогрессии опухоли и механизмы, лежащие в основе его

действия в опухоли, все еще изучены не полностью [38]. Новые экспериментальные данные показывают, что ОП функционирует в микроокружении опухоли, регулируя работу макрофагов и Т-клеток [40, 41]. Иммуносупрессивное действие ОП на макрофаги включает поляризацию M2, хемоаттракцию раковых клеток и повышенную экспрессию циклооксигеназы-2. Остеопонтин также подавляет активность CD8+ Т-клеток в опухолевой среде [40]. Более того, он регулирует экспрессию PD-L1 в макрофагах, способствуя развитию иммунологической толерантности при злокачественных новообразованиях [8]. Снижение экспрессии внутриклеточного ОП в клетках естественных киллеров нарушает их размножение и усиливает апоптоз, что приводит к нарушению иммунного ответа на опухолевые клетки и вирусную инфекцию [42].

ОСТЕОПОНТИН И ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

В настоящее время активно исследуется роль ОП в развитии химиорезистентности опухолей. Доклинические данные свидетельствуют о том, что этот белок участвует в ее индукции. Для обоснования связи между ОП и химиорезистентностью были предложены 2 теории.

Первая связана с аутофагией – катаболическим процессом, при котором органеллы разрушаются лизосомами, когда клетки подвергаются клеточному стрессу [5, 43]. Согласно данным литературы, активация аутофагии может способствовать химиорезистентности опухоли [43–46]. Недавние исследования продемонстрировали, что ОП-индуцированная аутофагия посредством активации пути ОП/NF- κ B способствует химиорезистентности к гемцитабину в опухолевых клетках при раке поджелудочной железы [47, 48]. При подавлении экспрессии ОП с помощью лентивирусной трансфекции цитотоксическое действие гемцитабина на клетки рака поджелудочной железы усиливалось [47]. В ряде исследований показано, что резистентность клеток гепатоцеллюлярной карциномы к эпирубицину и цисплатину была вызвана тем, что ОП стимулировал аутофагию и выживание опухолевых клеток путем связывания с его рецепторным интегрином $\alpha\beta$ 3, тем самым поддерживая фенотип, подобный стволовым опухолевым клеткам [44–50].

Остеопонтин может оказывать антиапоптотическое действие [51–55], что приводит к возникновению химиорезистентности за счет активации p38 MAPK [51], сигнального пути PI3K/Akt [52], связывания с интегрином $\alpha\beta$ 3, индукции экспрессии β -катенина зависимым от АКТ (семейства протеинкиназ B) и киназы гликогенсинтазы-3 β образом [53], снижения активности p53 [54], а также индукции экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 и блокады каспазы-3 и каспазы-9 [55]. Этот механизм формирования химиорезистентности был продемонстрирован на культуре клеток РМЖ [51, 54], рака легких [55] и других клеточных культурах злокачественных новообразований [5].

Подавление экспрессии ОП в клеточных линиях РМЖ с помощью siRNA (малых интерферирующих РНК) приводит к повышению чувствительности опухолевых клеток к доксорубину за счет активации апоптоза [52].

Кроме того, J. Insua-Rodríguez и соавт. в своем исследовании обнаружили, что ОП может индуцировать химиорезистентность РМЖ к паклитакселу, повышая активность JNK (с-Jun N-концевые киназы). Так, JNK-ингибирование и нарушение экспрессии ОП сенсibiliзируют экспериментальные опухоли молочной железы и метастазы к химиотерапии [56].

В ряде клинических исследований также была продемонстрирована связь между повышенной экспрессией ОП и химиорезистентностью различных опухолей. Так, у пациентов с колоректальным раком отмечена устойчивость к лечению оксалиплатином при гиперэкспрессии ОП в опухоли [57] и к химиотерапии по схеме FOLFIRI + бевацизумаб при высоком уровне этого белка в плазме [58]. К. Ding и соавт. получили аналогичные данные для пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, раком легкого и простаты [49, 59].

Большинство клинических исследований, в ходе которых определялся уровень ОП в сыворотке крови и опухоли, касались РМЖ. Так, М.А. Elbaiony и соавт. показали, что высокий уровень ОП в сыворотке крови до начала лечения ($p = 0,05$) и наличие мутации гена ОП ($p = 0,04$) достоверно коррелировали с плохим ответом опухоли на химиотерапию при метастатическом РМЖ [60]. Подобные данные приводят Р.Н. Anborgh и соавт. [61] и С. Нао [62]. Авторы отметили, что при местно-распространенном РМЖ у пациенток с высоким исходным уровнем ОП в плазме крови достоверно реже наблюдался полный патологический ответ опу-

холи на неоадьювантную полихимиотерапию. Кроме того, в этих работах, а также в 2 метаанализах результатов исследований было отмечено, что пациентки с высоким исходным уровнем ОП в крови имели значительно более низкую выживаемость [61–63]. Однако при раннем гормонально-чувствительном РМЖ уровень ОП в крови, как и уровень его экспрессии в опухоли, не коррелировали с общей и безрецидивной выживаемостью [64, 65]. М. Gu и соавт. в ходе исследования обнаружили, что экспрессия ОП в опухоли не была связана со степенью ответа на неоадьювантную полихимиотерапию у пациенток с местно-распространенным РМЖ. Однако сочетание экспрессии этого белка с экспрессией маркеров васкулогенной мимикрии достоверно коррелировало с достижением полного патологического ответа на неоадьювантную полихимиотерапию ($p < 0,001$) [66]. В то же время К. Zduniak и соавт. в своем исследовании показали, что экспрессия ОП-а в опухоли связана с благоприятным ответом на тамоксифен, но с плохим ответом на химиотерапию в режиме CMF. По данным Р.Н. Anborgh и соавт., трижды негативный РМЖ с гиперэкспрессией ОП в опухоли более чувствителен к ингибитору EGFR эрлотинибу [67, 68].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно данным литературы, OPN влияет на многие аспекты прогрессирования рака, включая приобретение лекарственной устойчивости. Однако механизмы развития лекарственной устойчивости и роли OPN в ее развитии исследованы недостаточно. Полагаем, что необходимо комплексное изучение предиктивной значимости этого белка и его корреляций с маркерами гипоксии, ангиогенеза, ЭМП и иммунологической толерантности.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Denhardt D.T., Guo X. Osteopontin: a protein with diverse functions. *FASEB J* 1993;7(15):1475–82.
- Березин А.Е., Панасенко Т.А., Коретская Е.Ю. Osteopontin как новый биологический маркер сердечно-сосудистого ремоделирования. *Украинский кардиологический журнал* 2010;4:98–102. [Berezin A.E., Panasenko T.A., Koretskaya E.Yu. Osteopontin as a new biological marker of cardiovascular remodeling. *Ukrainskij kardiologicheskij zhurnal = Ukrainian Journal of Cardiology* 2010;4:98–102. (In Russ.)].
- Шибанова И.А., Хрячкова О.Н. Использование биомаркеров фосфорно-кальциевого обмена для диагностики и риск-стратификации больных ишемической болезнью сердца. *Русский медицинский журнал* 2017;20:1409–14. [Shibanova I.A., Khryachkova O.N. The use of biomarkers of phosphorus-calcium metabolism for the diagnosis and risk stratification of patients with coronary heart disease. *Russkij medicinskij zhurnal = Russian Medical Journal* 2017;20:1409–14. (In Russ.)].
- Wai P.Y., Kuo P.C. The role of osteopontin in tumor metastasis. *J Surg Res* 2004;121(2):228–41. DOI: 10.1016/j.jss.2004.03.028.
- Gimba E., Brum M., Moraes G.N. Full-length osteopontin and its splice variants as modulators of chemoresistance and radioresistance (Review). *Int J Oncol* 2019 Feb;54(2):420–30. DOI: 10.3892/ijo.2018.4656.
- Senger D.R., Wirth D.F., Hynes R.O. Transformed mammalian cells secrete specific proteins and phosphoproteins. *Cell* 1979;16:885–93. DOI: 10.1016/0092-8674(79)90103-X.
- Каюкова Е.В., Белокриницкая Т.Е., Шолохов Л.Ф., Терешков П.П. Уровень некоторых гематологических воспалительных маркеров у больных раком шейки матки в зависимости от морфологических особенностей первичной опухоли. *Успехи молекулярной онкологии* 2019;6(3):49–56. [Kayukova E.V., Belokrinitskaya T.E., Volokhov L.F., Tereshkov P.P. The level of some hematological inflammatory markers in patients with cervical cancer, depending on the morphological features of the primary tumor. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(3):49–56. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-3-49-56.

8. Moorman H.R., Poschel D., Klement J.D. et al. Osteopontin: a key regulator of tumor progression and immunomodulation. *Cancers (Basel)* 2020;12(11):3379. DOI: 10.3390/cancers12113379.
9. Castello L.M., Raineri D., Salmi L. et al. Osteopontin at the crossroads of inflammation and tumor progression. *Mediators Inflamm* 2017;2017:4049098. DOI: 10.1155/2017/4049098.
10. Zhou Y., Yao Y., Sheng L. et al. Osteopontin as a candidate of therapeutic application for the acute brain injury. *J Cell Mol Med* 2020;24(16):8918–29. DOI: 10.1111/jcmm.15641.
11. Mirza M., Shaughnessy E., Hurley J.K. et al. Osteopontin-c is a selective marker of breast cancer. *Int J Cancer* 2008;122(4):889–97. DOI: 10.1002/ijc.23204.
12. Zduniak K., Ziolkowski P., Ahlin C. et al. Nuclear osteopontin-c is a prognostic breast cancer marker. *Br J Cancer* 2015;112(4):729–38. DOI: 10.1038/bjc.2014.664.
13. Tang X., Li J., Yu B. et al. Osteopontin splice variants differentially exert clinicopathological features and biological functions in gastric cancer. *Int J Biol Sci* 2013;9(1):55–66. DOI: 10.7150/ijbs.5280.
14. Jia R., Liang Y., Chen R. et al. Osteopontin facilitates tumor metastasis by regulating epithelial-mesenchymal plasticity. *Cell Death Dis* 2016;7(12):e2564. DOI: 10.1038/cddis.2016.422.
15. Irby R.B., McCarthy S.M., Yeatman T.J. Osteopontin regulates multiple functions contributing to human colon cancer development and progression. *Clin Exp Metastasis* 2004;21(6):515–23. DOI: 10.1007/s10585-004-2873-4.
16. Hedley B.D., Welch D.R., Allan A.L. et al. Downregulation of osteopontin contributes to metastasis suppression by breast cancer metastasis suppressor 1. *Int J Cancer* 2008;123(3):526–34. DOI: 10.1002/ijc.23542.
17. Bandopadhyay M., Bulbule A., Butti R. et al. Osteopontin as a therapeutic target for cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2014;18(8):883–95. DOI: 10.1517/14728222.2014.925447.
18. Mohammadi S., Ghaffari S.H., Shaiegan M. et al. Acquired expression of osteopontin selectively promotes enrichment of leukemia stem cells through AKT/mTOR/PTEN/ β -catenin pathways in AML cells. *Life Sci* 2016;152:190–8. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.04.003.
19. Kalluri R., Weinberg R.A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009;119(6):1420–8. DOI: 10.1172/JCI139104.
20. Cao J., Li J., Sun L. et al. Hypoxia-driven paracrine osteopontin/integrin α v β 3 signaling promotes pancreatic cancer cell epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell-like properties by modulating forkhead box protein M1. *Mol Oncol* 2019;13(2):228–45. DOI: 10.1002/1878-0261.12399.
21. Li N.Y., Weber C.E., Mi Z. et al. Osteopontin up-regulates critical epithelial-mesenchymal transition transcription factors to induce an aggressive breast cancer phenotype. *J Am Coll Surg* 2013;217(1):17–26. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.02.025.
22. Li N.Y., Weber C.E., Wai P.Y. et al. An MAPK-dependent pathway induces epithelial-mesenchymal transition via Twist activation in human breast cancer cell lines. *Surgery* 2013;154(2):404–10. DOI: 10.1016/j.surg.2013.05.012.
23. Dong Q., Zhu X.-C., Dai C. et al. Osteopontin regulated epithelial-mesenchymal transition via PI3K/AKT signaling pathway in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2013;73:2695. Available at: https://cancerres.aacrjournals.org/content/73/8_Supplement/2695.short.
24. Ng L., Wan T.M.-H., Lam C.S.-Ch. et al. Post-operative plasma osteopontin predicts distant metastasis in human colorectal cancer. *PLoS One* 2015;10(5):e0126219. DOI: 10.1371/journal.pone.0126219.
25. Scimeca M., Giannini E., Antonacci C. et al. Microcalcifications in breast cancer: An active phenomenon mediated by epithelial cells with mesenchymal characteristics. *BMC Cancer* 2014;14:286. DOI: 10.1186/1471-2407-14-286.
26. Rizwan A., Paidi S.K., Zheng C. et al. Mapping the genetic basis of breast microcalcifications and their role in metastasis. *Sci Rep* 2018;8(1):11067. DOI: 10.1038/s41598-018-29330-9.
27. Kothari A.N., Arffa M.L., Chang V. et al. Osteopontin-A master regulator of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Med* 2016 Mar 23;5(4):39. DOI: 10.3390/jcm5040039.
28. Gnemmi V., Bouillez A., Gaudelot K. et al. MUC1 drives epithelial-mesenchymal transition in renal carcinoma through Wnt/ β -catenin pathway and interaction with SNAIL promoter. *Cancer Lett* 2014;346(2):225–36. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.12.029.
29. Zhu M., Yin F., Fan X. et al. Decreased TIP30 promotes Snail-mediated epithelial-mesenchymal transition and tumor-initiating properties in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2015;34(11):1420–31. DOI: 10.1038/onc.2014.73.
30. Bhattacharya S.D., Mi Z., Kim V.M. et al. Osteopontin regulates epithelial mesenchymal transition-associated growth of hepatocellular cancer in a mouse xenograft model. *Ann Surg* 2012;255(2):319–25. DOI: 10.1097/SLA.0b013e31823e3a1c.
31. Song G., Cai Q., Mao Y. et al. Osteopontin promotes ovarian cancer progression and cell survival and increases HIF-1 α expression through the PI3-K/Akt pathway. *Cancer Sci* 2008;99(10):1901–7. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00911.x.
32. Song G., Ouyang G., Mao Y. et al. Osteopontin promotes gastric cancer metastasis by augmenting cell survival and invasion through Akt-mediated HIF-1 α up-regulation and MMP9 activation. *J Cell Mol Med* 2009;13(8B):1706–18. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00540.x.
33. Kothari A.N., Mi Z., Zapf M., Kuo P.C. Novel clinical therapeutics targeting the epithelial to mesenchymal transition. *Clin Transl Med* 2014;3:14–35. DOI: 10.1186/s40169-014-0035-0.
34. Nakano M., Ariyama H., Tamura S. et al. Plasticity of CD44 colorectal cancer stem cells depends on TGF- β -induced epithelial mesenchymal transition (EMT): evidences from ex vivo culture system. *Cancer Res* 2015;75. Available at: https://cancerres.aacrjournals.org/content/75/15_Supplement/1520.short.
35. Pore M.M., Buikema L., Hiltermann T., Kruyt F. TGF beta-mediated epithelial to mesenchymal transition in non small cell lung cancer: Effects on stemness, invasiveness and chemotherapy sensitivity. *Cancer Res* 2012;72:2402. DOI: 10.1158/1538-7445.AM2012-2402.
36. Yu Y., Xiao C., Tan L. et al. Cancer-associated fibroblasts induce epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells through paracrine TGF- β signalling. *Br J Cancer* 2014;110(3):724–32. DOI: 10.1038/bjc.2013.768.
37. Clemente N., Raineri D., Cappellano G. et al. Osteopontin bridging innate and adaptive immunity in autoimmune diseases. *J Immunol Res* 2016;2016:7675437. DOI: 10.1155/2016/7675437.
38. Shurin M.R. Osteopontin controls immunosuppression in the tumor microenvironment. *J Clin Invest* 2018;128(12):5209–12. DOI: 10.1172/JCI124918.
39. Weber G.F., Zawaideh S., Hikita S. et al. Phosphorylation-dependent interaction of osteopontin with its receptors regulates macrophage migration and activation. *J Leukoc Biol* 2002;72(4):752–61. DOI: 10.1189/jlb.72.4.752.
40. Klement J.D., Paschall A.V., Redd P.S. et al. An osteopontin/CD44 immune checkpoint controls CD8+ T cell activation and tumor immune evasion. *J Clin Invest* 2018;128(12):5549–60. DOI: 10.1172/JCI123360.
41. Wei J., Marisetty A., Schrand B. et al. Osteopontin mediates glioblastoma-associated macrophage infiltration and is a potential therapeutic target. *J Clin Invest* 2019;129(1):137–49. DOI: 10.1172/JCI121266.
42. Fan X., He C., Jing W. et al. Intracellular osteopontin inhibits toll-like receptor signaling and impedes liver carcinogenesis. *Cancer Res* 2015;75(1):86–97. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0615.
43. Silva V.R., Neves S.P., Santos L.S. et al. Challenges and therapeutic opportunities of autophagy in cancer therapy. *Cancers*

- (Basel) 2020;12(11):3461.
DOI: 10.3390/cancers12113461.
44. Liu G., Fan X., Tang M. et al. Osteopontin induces autophagy to promote chemo-resistance in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett* 2016;383(2):171–82. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.09.033.
 45. Lei Y., Zhang D., Yu J. et al. Targeting autophagy in cancer stem cells as an anti-cancer therapy. *Cancer Lett* 2017;393:33–9. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.02.012.
 46. Zhang H., Lu B. The roles of ceRNAs-mediated autophagy in cancer chemo-resistance and metastasis. *Cancers (Basel)* 2020;12(10):2926. DOI: 10.3390/cancers12102926.
 47. Yang M.C., Wang H.C., Hou Y.C. et al. Blockade of autophagy reduces pancreatic cancer stem cell activity and potentiates the tumoricidal effect of gemcitabine. *Mol Cancer* 2015;14:179. DOI: 10.1186/s12943-015-0449-3.
 48. Panah Z., Nikbakht M., Sajjadi S.M. et al. Anti-apoptotic effects of osteopontin via the up-regulation of AKT/mTOR/ β -catenin loop in acute myeloid leukemia cells. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2017;11(2):148–57.
 49. Ding K., Fan L., Chen S. et al. Overexpression of osteopontin promotes resistance to cisplatin treatment in HCC. *Oncol Rep* 2015;34(6):3297–303. DOI: 10.3892/or.2015.4306.
 50. Liu X., Fan D. The epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells: functional and mechanistic links. *Curr Pharm Des* 2015;21(10):1279–91. DOI: 10.2174/138161282166614121115611.
 51. Pang H., Cai L., Yang Y. et al. Knockdown of osteopontin chemosensitizes MDA-MB-231 cells to cyclophosphamide by enhancing apoptosis through activating p38 MAPK pathway. *Cancer Biother Radio* 2011;26(2):165–73. DOI: 10.1089/cbr.2010.0838.
 52. Yang L., Wei L., Zhao W. et al. Down-regulation of osteopontin expression by RNA interference affects cell proliferation and chemotherapy sensitivity of breast cancer MDA-MB-231 cells. *Mol Med Rep* 2012;5(2):373–6. DOI: 10.3892/mm.2011.679.
 53. Yi H., Zeng D., Shen Z. et al. Integrin α 5 β 3 enhances β -catenin signaling in acute myeloid leukemia harboring Fms-like tyrosine kinase-3 internal tandem duplication mutations: implications for microenvironment influence on sorafenib sensitivity. *Oncotarget* 2016;7(26):40387–97. DOI: 10.18632/oncotarget.9617.
 54. Han B., Huang J., Han Y. et al. The microRNA miR-181c enhances chemosensitivity and reduces chemo-resistance in breast cancer cells via down-regulating osteopontin. *Int J Biol Macromol* 2019;125:544–56. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.075.
 55. Gu T., Ohashi R., Cui R. et al. Osteopontin is involved in the development of acquired chemo-resistance of cisplatin in small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009;66(2):176–83. DOI: 10.1016/j.lungcan.2009.02.004.
 56. Insua-Rodriguez J., Pein M., Hongu T. et al. Stress signaling in breast cancer cells induces matrix components that promote chemoresistant metastasis. *EMBO Mol Med* 2018;10(10):e9003. DOI: 10.15252/emmm.201809003.
 57. Ng L., Wan T., Chow A. et al. Osteopontin overexpression induced tumor progression and chemoresistance to oxaliplatin through induction of stem-like properties in human colorectal cancer. *Stem Cells Int* 2015;2015:247892. DOI: 10.1155/2015/247892.
 58. Pectasides D., Papaxoinis G., Kalogerak T. et al. XELIRI-bevacizumab versus FOLFIRI-bevacizumab as first-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer: a hellenic cooperative oncology group phase III trial with collateral biomarker analysis. *BMC Cancer* 2012;12:271. DOI: 10.1186/1471-2407-12-271.
 59. Thoms J.W., Dal Pra A., Anborgh P.H. et al. Plasma osteopontin as a biomarker of prostate cancer aggression: relationship to risk category and treatment response. *Br J Cancer* 2012;107(5):840–6. DOI: 10.1038/bjc.2012.345.
 60. Elbaiony M.A., Akl T., Elhelaly R. et al. Osteopontin level and promoter polymorphism in patients with metastatic breast cancer. *Curr Oncol* 2020;27(5):e444–e450. DOI: 10.3747/co.27.6449.
 61. Anborgh P.H., Caria L.Br., Chambers A.F. et al. Role of plasma osteopontin as a biomarker in locally advanced breast cancer. *Am J Transl Res* 2015;7(4):723–32.
 62. Hao C., Cui Y., Owen S. et al. Human osteopontin: Potential clinical applications in cancer (Review). *Int J Mol Med* 2017;39(6):1327–37. DOI: 10.3892/ijmm.2017.2964.
 63. Xu Y.-Y., Zhang Y.-Y., Lu W.-F. et al. Prognostic value of osteopontin expression in breast cancer: a meta-analysis. *Mol Clin Oncol* 2015;3(2):357–62. DOI: 10.3892/mco.2014.480.
 64. Bramwell V.H., Tuck A.B., Chapman J.-A.W. et al. Assessment of osteopontin in early breast cancer: correlative study in a randomised clinical trial. *Breast Cancer Res* 2014;16(1):R8. DOI: 10.1186/bcr3600.
 65. Karlikova M., Topolcan O., Narsanska A. et al. Circulating growth and angiogenic factors and lymph node status in early-stage breast cancer – a pilot study. *Anticancer Res* 2016;36(8):4209–14.
 66. Gu M., Zheng X. Osteopontin and vasculogenic mimicry formation are associated with response to neoadjuvant chemotherapy in advanced breast cancer. *Onco Targets Ther* 2017;10:4121–7. DOI: 10.2147/OTT.S12941.
 67. Zduniak K., Agrawal A., Agrawal S. et al. Osteopontin splice variants are differential predictors of breast cancer treatment responses. *BMC Cancer* 2016;16:441. DOI: 10.1186/s12885-016-2484-x.
 68. Anborgh P.H., Lee D.J., Stam P.F. et al. Role of osteopontin as a predictive biomarker for anti-EGFR therapy in triple-negative breast cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2018;22(8):727–34. DOI: 10.1080/14728222.2018.1502272.

Вклад авторов

Е.Ю. Зубарева: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных;
М.А. Сеньчукова: написание текста рукописи.

Authors' contribution

E.Yu. Zubareva: reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data;
M.A. Senchukova: article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.Ю. Зубарева / E.Yu. Zubareva: <https://orcid.org/0000-0001-7025-0206>
М.А. Сеньчукова / M.A. Senchukova: <https://orcid.org/0000-0001-8371-740X>

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

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

Статья поступила: 09.03.2021. **Принята к публикации:** 03.06.2021.
Article submitted: 09.03.2021. **Accepted for publication:** 03.06.2021.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-29-39



Роль оксида азота и эндотелиальной NO-синтазы в канцерогенезе

В.П. Дерягина¹, Н.И. Рыжова¹, Л.А. Савлучинская¹, К.И. Кирсанов^{1,2}

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

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

Контакты: Валентина Петровна Дерягина derygina@inbox.ru

Введение. Оксид азота (NO), продуцируемый NO-синтазами (NOS), участвует в регуляции гомеостаза целого ряда жизненно важных систем организма. В то же время NO и NOS вовлечены в связанные с канцерогенезом процессы, такие как мутагенез, регуляция пролиферации, апоптоза, ангиогенеза, и могут оказывать на опухоль разнонаправленное действие.

Цель исследования – проанализировать и обобщить данные литературы, касающиеся роли NO и эндотелиальной NOS (eNOS) в инициации и прогрессии опухолей, а также в ингибировании опухолевого роста.

Материалы и методы. При подготовке обзора были использованы публикации информационных баз биомедицинской литературы: SciVerse Scopus (538), PubMed (1327), Web of Science (905), Российский индекс научного цитирования (125).

Результаты. Изучены молекулярные механизмы действия NO и его производных на инициацию и прогрессию канцерогенеза. Проанализированы многочисленные факторы и условия, регулирующие активность eNOS в норме и при опухолевом росте. Рассмотрены кальций- и аргинин-зависимые пути регуляции активности фермента, а также возможности его регуляции антиканцерогенными полифенолами. Проведен анализ молекулярных сигнальных путей, посредством которых реализуются проопухолевые эффекты NO и eNOS, стимулирующие ангиогенез и лимфангиогенез.

Заключение. Оксид азота, продуцируемый гиперактивированной eNOS, способствует прогрессии опухолей, усиливает действие проангиогенных факторов, стимулирует ангиогенез, лимфангиогенез и метастазирование. Селективное ингибирование повышенной активности eNOS может стать перспективным терапевтическим подходом, направленным на торможение роста опухоли и ее метастазирования.

Ключевые слова: оксид азота, эндотелиальная синтаза оксида азота, канцерогенез, ангиогенез, лимфангиогенез, опухоли

Для цитирования: Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Савлучинская Л.А., Кирсанов К.И. Роль оксида азота и эндотелиальной NO-синтазы в канцерогенезе. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):29–39. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-29-39.

Role of nitric oxide and endothelial NO synthase in carcinogenesis

V.P. Deryagina¹, N.I. Rizhova¹, L.A. Savluchinskaya¹, K.I. Kirsanov^{1,2}

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

Contacts: Valentina Petrovna Deryagina derygina@inbox.ru

Introduction. Nitric oxide (NO) produced by NO synthases (NOS) is involved in the regulation of vital physiological functions. At the same time, NO and NOS are involved in events associated with the tumor process: mutagenesis, proliferation, apoptosis, angiogenesis, etc., exerting a multidirectional effect on the tumor.

Objectives – analyze and summarize literature data concerning the role of NO and endothelial NOS (eNOS) in the initiation and progression of tumors, as well as in the inhibition of tumor growth.

Materials and methods. In preparing the review, publications of information bases of biomedical literature were used: SciVerse Scopus (538), PubMed (1327), Web of Science (905), Russian Science Citation Index (125).

Results. The molecular mechanisms of the action of NO and its derivatives on the initiation and progression of carcinogenesis have been explored. Numerous factors and conditions regulating the activity of eNOS in health and tumor growth

have been analyzed. The molecular signaling pathways through which the pro-tumor effects of NO and eNOS, stimulating angiogenesis, lymphangiogenesis, are realized, including through the mobilization of stem cells, are considered.

Conclusion. Nitric oxide produced by activated eNOS promotes tumor progression by increasing the proliferation of tumor cells, enhancing the action of pro-angiogenic factors, stimulating angiogenesis, lymphangiogenesis, and metastasis. Selective inhibition of increased eNOS activity may be a promising therapeutic approach aimed at reducing metastasis and tumor growth.

Key words: nitric oxide, endothelial nitric oxide synthase carcinogenesis, angiogenesis, lymphangiogenesis, tumors

For citation: Deryagina V.P., Rizhova N.I., Savluchinskaya L.A., Kirsanov K.I. Role of nitric oxide and endothelial NO synthase in carcinogenesis. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):29–39. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-29-39.

ВВЕДЕНИЕ

Оксид азота (NO), генерируемый эндотелиальной NO-синтазой (eNOS), участвует в регуляции гомеостаза сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной, мочеполовой и других систем. В то же время NO и NOS вовлечены в инициацию и прогрессию опухолей и оказывают на клетки разнонаправленное действие. Повышение экспрессии eNOS часто регистрируют как в опухолевых, так и в стромальных клетках при злокачественных новообразованиях молочной железы, мочевого пузыря, толстой кишки, центральной нервной системы и др. [1–4]. В зависимости от концентрации NO, продолжительности экспозиции клеток к NO и особенностей микроокружения эффекты NO и его активных производных могут различаться и как способствовать, так и препятствовать канцерогенезу [2]. К настоящему моменту опубликовано достаточно большое количество работ, посвященных изучению влияния NO и eNOS на ангиогенез, лимфангиогенез и в целом на канцерогенез, а также на выявление молекулярных механизмов действия NO и факторов, регулирующих активность eNOS. Представленный обзор посвящен анализу, систематизации и обобщению этих данных.

СИНТЕЗ ОКСИДА АЗОТА И ЕГО ДЕПОНИРОВАНИЕ

Оксид азота, синтезируемый эндогенно, является эндотелиальным фактором релаксации и обнаруживается практически во всех тканях организма. Синтез NO у млекопитающих осуществляется NOS: нейрональной, индуцибельной (iNOS), eNOS и митохондриальной, которая идентифицируется как α -изоформа нейрональной NOS. Субстратом для всех изоформ NOS являются L-аргинин и молекулы кислорода, а в качестве косубстрата выступает NADPH (никотинамидадениндинуклеотидфосфат).

Кофакторами всех изоформ фермента служат: FAD (флавинадениндинуклеотид), FMN (флавиномононуклеотид) и BH₄ (тетрагидробиоптерин) (рис. 1). Синтез NO происходит в 2 этапа: сначала NOS гидроксимирует L-аргинин до N^ω-гидрокси-L-аргинина, а затем окисляет N^ω-гидрокси-L-аргинин до L-цитруллина и NO. Хотя все изоформы NOS катализируют образование NO, каждая из них имеет особенности как в ло-

кализации, скорости катализа и механизмах регуляции, так и в биологическом значении для организма. Активность конститутивной формы eNOS зависит от концентрации Ca²⁺ в цитоплазме, наличия кофакторов и регулируется фосфорилированием фермента [5, 6]. При недостатке кофактора фермента BH₄, изменении соотношения тетрагидробиоптерин (BH₄)/дигидробиоптерин (BH₂) или гипоксии eNOS продуцирует активные формы кислорода (супероксид-анион, пероксид водорода, пероксинитрит). Показано, что в клетках некоторых опухолей продуктами осуществляемых eNOS реакций преимущественно являются супероксид-анион и пероксинитрит [7]. Активность eNOS регулируется NO по механизму отрицательной обратной связи: NO обратимо ингибирует активность фермента за счет связывания с железом гема [8].

Формирование депо NO – это важная часть адаптивных реакций. Основными формами депонирования и транспорта NO являются S-нитрозотиолы и динитрозильные комплексы железа [9–11]. S-нитрозотиолы способны переносить NO между клетками и с SH-группами белков. Передача сигналов NO в основном осуществляется с помощью S-нитрозилирования тиольной группы цистеина более чем 3000 белков. Денитрозилирование катализируется ферментами GSNOR (S-нитрозоглутатионредуктазой) и Txh (тиоредоксином), которые защищают клетки и ткани млекопитающих от нитрозативного стресса [12]. Нарушение регуляции S-нитрозилирования наблюдается при развитии ряда патологий, включая рак [13].

ОКСИД АЗОТА В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Оксид азота, помимо радикальной формы (NO[•], далее NO), может существовать в виде ионов нитрозония (NO⁺) или нитроксила (NO⁻), что зависит от условий микроокружения. Это объясняет, почему биологический ответ клеток на действие экзогенного NO в большой степени зависит от гистотипа клеток, внутриклеточной локализации NOS, концентрации NO и продолжительности экспозиции клеток к его действию. Концентрация NO в нормальных тканях может варьировать от наномолярных до микромолярных значений. В частности, она повышается при воспалении [2, 16, 17]. В низких концентрациях NO проявляет антиоксидантные свойства, взаимодействуя с активными

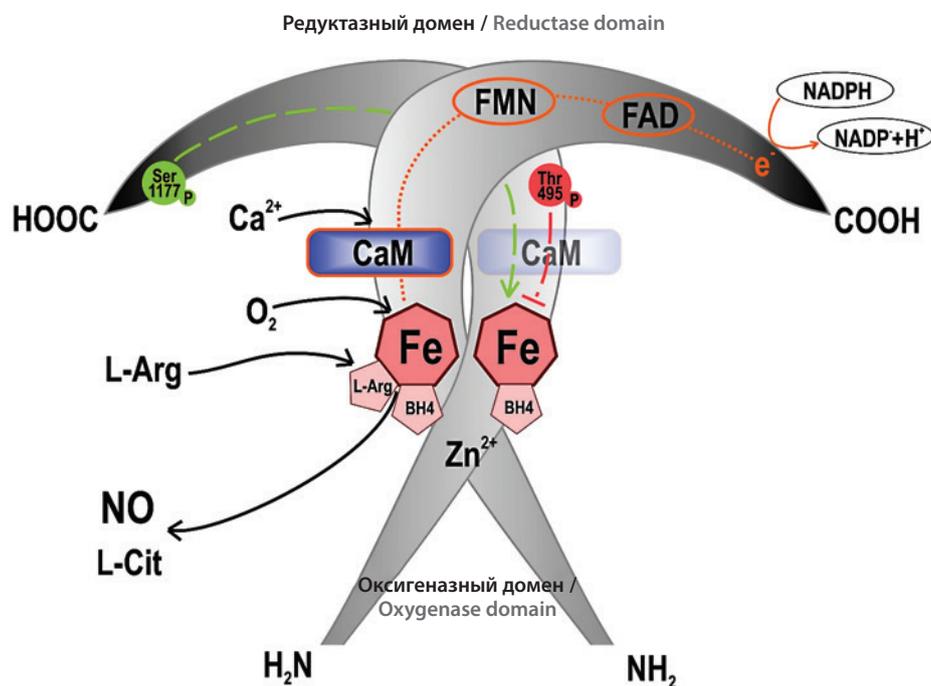


Рис. 1. Структурная организация и функционирование эндотелиальной синтазы оксида азота, которая состоит из N-концевого оксигеназного домена, содержащего сайты связывания для тетрагидробиоптерина (BH4), Zn^{2+} , гема и L-аргинина, а также C-концевого редуктазного домена, содержащего сайты связывания для восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADPH), флавинадениндинуклеотида (FAD) и флавинмононуклеотида (FMN). Оксигеназный и редуктазный домены разделены линкерной областью, в которой находится регуляторный домен связывания кальмодулина (CaM). Гомодимерный комплекс эндотелиальной синтазы оксида азота синтезирует оксид азота из L-аргинина и O_2 посредством NADPH-зависимого потока электронов от C-концевого домена к оксигеназному домену. Одним из способов регуляции фермента является фосфорилирование/дефосфорилирование остатков аминокислот фермента. Фосфорилирование по Ser1177 приводит к активации фермента, а по Thr495 – к его ингибированию

Fig. 1. Structural organization and the functioning of endothelial nitric oxide synthase, which consists of an N-terminal oxygenase domain containing binding sites for tetrahydrobiopterin (BH4), Zn^{2+} , heme, and L-arginine; as well as a C-terminal reductase domain containing binding sites for reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH), flavin adenine dinucleotide (FAD) and flavin mononucleotide (FMN). The oxygenase and reductase domains are separated by a linker region, which contains the calmodulin binding domain (CaM). The homodimeric eNOS complex synthesizes NO from L-arginine and O_2 via NADPH-dependent electron flux from the C-terminal domain to the oxygenase domain. Phosphorylation at Ser1177 activates eNOS, while phosphorylation at Thr495 leads to its inhibition

формами кислорода и нивелируя их токсическое действие [16]. В низких физиологических концентрациях оксид NO подавляет запуск апоптоза, вызывая гиперэкспрессию антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-X_L и ингибирование каспаз [17, 18]. Высокие концентрации NO, продуцируемые иммунными или опухолевыми клетками, приводят к образованию активных производных NO (N_2O_3 , $ONNO^-$, NO_2 , NO_2^- и др.), которые вызывают повреждение ДНК, непосредственно взаимодействуя с макромолекулой. Кроме того, активные производные NO могут инактивировать белки репарации ДНК и служить источником генотоксичных нитрозамин (R1R2N-NO) [19, 20]. Оксид азота и его производные способны снижать активность ДНК-лигазы, что может приводить к увеличению числа одностранных разрывов в ДНК [21].

Оксид азота, генерируемый макрофагами, клетками Купфера, натуральными киллерами и эндотелиальными клетками, оказывает цитостатическое и цитотоксическое действие на многие типы опухолевых клеток [22]. Цитотоксическое действие NO связывают также с его способностью подавлять активность FeS (железосерных белков), участвующих в переносе

электронов и протонов в дыхательной цепи митохондрий [23]. Продолжительная гиперпродукция NO действует как проапоптотический модулятор, активируя протеазы семейства каспаз через высвобождение митохондриального цитохрома С в цитоплазму, повышение экспрессии p53, p38MAPK и снижение экспрессии белков семейства Bcl-2 [24]. При увеличении концентрации NO происходит стабилизация опухолевого супрессора p53 посредством фосфорилирования остатков серина/треонина, а также его накопления в клетке, что приводит к остановке клеточного цикла и инициации апоптоза [25].

В недавних исследованиях было продемонстрировано, что NO может играть роль эпигенетического регулятора экспрессии генов. Оксид азота способен напрямую ингибировать каталитическую активность JmjC-домена гистоновых деметилаз путем связывания с негемовым железом кофактора. Также было установлено, что в ответ на действие NO в значительной степени меняется профиль экспрессии miRNAs (малых некодирующих молекул РНК) [18].

Оксид азота также участвует в регуляции проканцерогенных сигнальных путей. Так, при повышении

концентрации NO (свыше 300 нМ) в клетках активируются рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), тирозинкиназы Src, G-белки Ras, протоонкоген с-Мус, серин/треониновая протеинкиназа (Akt), β -катенин и фактор транскрипции Ets-1 [26, 27]. Приобретение способности клеток трижды негативного рака молочной железы с повышенной экспрессией iNOS к инвазии связывают с NO-зависимой активацией киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ERK) [28]. На клеточных культурах меланомы, а также на моделях ксенотрансплантатов у животных было продемонстрировано, что NO способствует активации сигнального пути mTOR посредством S-нитрозилирования ряда белков-регуляторов, в частности супрессора опухолевого роста TSC2 [29]. В клетках ряда линий опухолей толстой кишки NO вызывает активацию онкогенного пути Wnt/ β -catenin через негативную регуляцию активности DKK1 (эндогенного ингибитора Wnt) [30]. В клетках плоскоклеточной карциномы ротовой полости была показана стабилизация HIF-1 α (фактора, индуцируемого гипоксией) продуктами свободнорадикальных реакций между NO и O₂ или O₂⁻ [31].

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ СИНТАЗА ОКСИДА АЗОТА

Эндотелиальная NO-синтаза представляет собой нерастворимый фермент с молекулярной массой около 135 кДа. N-концевая последовательность eNOS подвергается миристоиллированию и пальмитоиллированию, что определяет ее субклеточную локализацию и косвенно – активность. Эндотелиальная NO-синтаза взаимодействует с мембраной эндотелиальных клеток в кавеолах, где сосредоточено большое количество регуляторных молекул, связанных с ионными каналами и рецепторами G-белков, факторов роста и др. Ацилирование N-терминальных остатков глицина в молекулах фермента облегчает взаимодействие eNOS со структурным каркасным белком кавеол кавеолин-1 и приводит к торможению активности фермента в отсутствие стимулирующих воздействий. Мутация сайта N-миристоиллирования превращает eNOS из мембранного белка в менее активную цитозольную форму [32–34]. Эндотелиальная NO-синтаза в основном экспрессируется в венозных, артериальных, лимфатических эндотелиальных клетках, миоцитах, тромбоцитах, нейронах, а также в эпителиальных и стромальных опухолях. Оксид азота, генерируемый eNOS эндотелия, диффундирует в гладкомышечные клетки, где активирует растворимую гуанилатциклазу (sGC). Она активирует серин-треониновые протеинкиназы (PKGs), зависимые от cGMP (циклического гуанозинмонофосфата), что приводит к понижению уровня Ca²⁺ (рис. 2). Данные протеинкиназы фосфорилируют белки, играющие большую роль в регуляции подвижности клеток, формировании клеточных контактов, а также влияющие на пролиферацию и дифференцировку клеток [7, 35, 36]. Уровень внутриклеточного

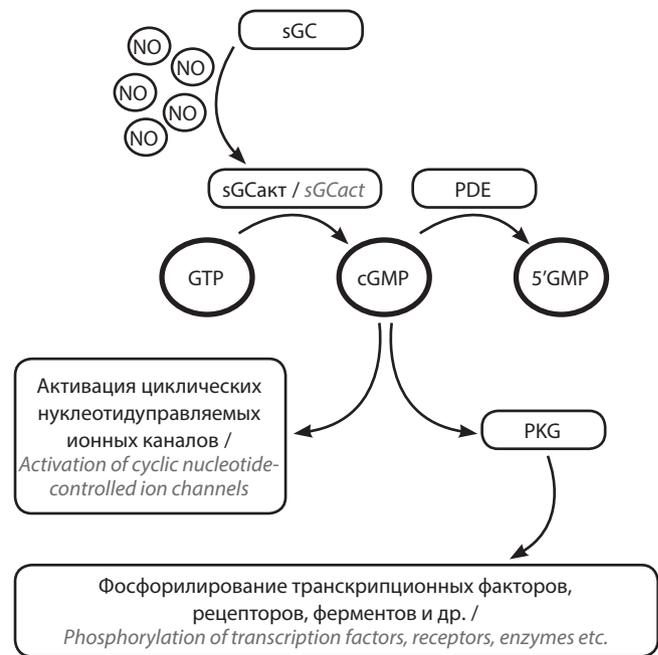


Рис. 2. Сигнальный путь NO/sGC/cGMP/PKG. NO – оксид азота; sGC – растворимая гуанилатциклаза; sGCакт – активированная форма растворимой гуанилатциклазы; GTP – гуанозинтрифосфат; cGMP – циклический гуанозинмонофосфат; 5'GMP – 5'-гуанозинмонофосфат; PDE – фосфодиэстераза; PKG – cGMP-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа G)

Fig. 2. NO/sGC/cGMP/PKG signaling pathway. NO – nitric oxide; sGC – soluble guanylyl cyclase; sGCact – the activated form of soluble guanylyl cyclase; GTP – guanosine triphosphate; cGMP – cyclic guanosine monophosphate; 5'GMP – 5'-guanosine monophosphate; PDE – phosphodiesterase; PKG – cGMP-dependent protein kinase (protein kinase G)

кальция является критической детерминантой активности eNOS, так как для максимальной каталитической функции eNOS и транспорта электронов от редуктазного к оксигеназному домену необходимо связывание кальмодулина с ферментом [35, 37]. Посттрансляционная регуляция eNOS происходит за счет фосфорилирования и дефосфорилирования остатков аминокислот. Ключевую роль в регуляции активности eNOS играет серин редуктазного домена (Ser1177) и треонин (Thr495), расположенный в CaM-связывающем домене (см. рис. 1) [6]. При фосфорилировании eNOS по Ser1177 увеличивается внутренняя скорость переноса электронов к оксигеназному домену eNOS. Такая модификация фермента происходит при изменении скорости кровотока, появлении напряжения сдвига, а также при действии брадикинина, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), инсулин-подобных факторов роста, тиреоидных гормонов, ацетилхолина, эстрадиола, сфингозин-1-фосфата и др. В зависимости от первичного стимула фосфорилирование Ser1177 может осуществляться протеинкиназами Akt, AMPK и PKA. Фосфорилирование по сайту Thr495 протеинкиназой С снижает активность фермента. Другие сайты фосфорилирования eNOS человека включают Ser635, Ser617, Ser114, Ser633, Tyr81 и Tyr657. Фосфорилирование этих остатков, по всей видимости, также

играет большую роль в регуляции ферментативной активности eNOS. В настоящее время этот вопрос активно исследуется. S-нитрозилирование является дополнительным способом посттрансляционной регуляции активности eNOS в эндотелиальных клетках. Оксид азота, продуцируемый ферментом eNOS, нитрозилирует цистеиновые остатки в самом ферменте eNOS. S-нитрозилирование eNOS приводит к ингибированию фермента, а денитрозилирование – к увеличению его активности [38].

Еще одним фактором, определяющим активность синтеза NO, является уровень аргинина [39]. При канцерогенезе его повышение в опухолевых клетках может происходить вследствие увеличения эндогенного синтеза аргинина. Было показано, что гиперэкспрессия ASL (аргининосукцинатлиазы), ответственной за образование L-аргинина, в опухолевых клетках ассоциирована с плохим прогнозом у пациентов с раком молочной железы и толстой кишки. При этом подавление экспрессии ASL с помощью shRNA (коротких РНК, образующих шпильки) или снижение продукции NO ингибитором NOS в опухолевых клетках толстой кишки, молочной железы и гепатоцеллюлярной карциномы человека ингибируют их пролиферацию [40, 41]. Также известно, что опухолевые клетки могут использовать аргинин, секретируемый нормальными клетками других органов, для синтеза NO. Это было показано при совместном культивировании клеток рака яичников и O-ASC (мезенхимальных стволовых клеток) сальника (представляет собой метастатическую нишу при раке яичников) [42].

Еще одним существенным фактором, влияющим на уровни активности eNOS и синтеза NO, является наличие полиморфизмов в гене *eNOS*. Известно более 100 полиморфных вариантов этого гена. Наиболее изучены следующие варианты: 1) T786C в промоторе; 2) варибельное число tandemных повторов (VNTR) в 4-м интроне (варианты аллелей – а и b); 3) G894T в 7-м экзоне [43, 44]. В исследованиях, направленных на определение эффективности терапии бевацизумабом в комбинации со стандартной химиотерапией больных метастатическим колоректальным раком, было показано, что наличие полиморфизмов VNTR или G894T ассоциировано с лучшим прогнозом [45]. Пятилетняя выживаемость у пациентов с немелкоклеточным раком легких при наличии хотя бы 1 аллеля а VNTR в 4-м интроне была значимо выше, чем у пациентов с аллелем b в гомозиготном состоянии [46].

В ходе исследования по выявлению ассоциации наличия специфических полиморфизмов в гене *eNOS* с риском возникновения злокачественного новообразования была обнаружена значимая корреляция между наличием аллелей а/б VNTR в 4-м интроне и частотой возникновения рака простаты; наличием полиморфизма T786C и частотой возникновения рака простаты, мочевого пузыря и молочной железы, а также

между наличием G894T и частотой возникновения рака молочной железы [47].

Следует отметить, что различные компоненты питания также могут влиять на экспрессию и активность eNOS. Полифенолы оказывают комплексное воздействие на синтез и биодоступность NO. В частности, повышение экспрессии eNOS было продемонстрировано при воздействии ряда антиканцерогенных полифенолов (ресвератрола, кверцетина, галлата эпигаллокатехина) на культивируемые клетки эндотелия [48]. В то же время растительные полифенолы – флавоноиды – могут ингибировать PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназа)/Akt-зависимую активацию eNOS. Предотвращая сверхэкспрессию ферментов, генерирующих активные формы кислорода, эти вещества увеличивают биодоступность NO. Окончательный эффект флавоноидов зависит от их структуры и концентрации, исследуемого типа клеток и других факторов [49].

ОКСИД АЗОТА И АНГИОГЕНЕЗ

Ослабление контактов между эндотелиальными клетками, вызванное ангиогенными факторами, и разрушение базальной мембраны способствуют миграции эндотелиальных клеток и формированию новых сосудов. Оксид азота влияет на ангиогенез прямым и опосредованным образом. Экспозиция клеток к NO может приводить к ускорению пролиферации и миграции эндотелиальных клеток за счет активации растворимой гуанилатциклазы и нитрования специфических таргетных белков, но также оказывать и противоположные эффекты [50–51].

В исследованиях конца 80-х годов прошлого века было показано, что взаимодействие NO с растворимой гуанилатциклазой приводит к быстрому накоплению cGMP в клетке и активации сигнального пути NO-sGC-cGMP-PKG (см. рис. 2). Позже было установлено, что cGMP способен стимулировать фосфорилирование тирозина в FAK (киназе фокальной адгезии), киназе Src и ERK1/2. В эндотелиальных клетках аорты кролика NO и cGMP увеличивают активность сигнального каскада p21Ras-Raf-1-MEK-ERK1/2, что опосредуется NO-стимулированным фосфорилированием тирозина цитозольных белков [53]. Обработка эндотелиальных клеток млекопитающих донорами NO приводит к увеличению скорости миграции и пролиферации этих клеток при активации PI3K/Akt. Аденовирусная доставка cDNA (комплементарной ДНК) eNOS человека в ишемизированные мышцы задних конечностей крыс вызывает увеличение плотности капилляров и проницаемости сосудов через cGMP-зависимую активацию PI3K [54]. Оксид азота и его активные метаболиты участвуют в регуляции синтеза и активации прометастатических и проангиогенных матриксных металлопротеиназ (MMPs), вовлеченных в деградацию базальной мембраны кровеносных сосудов. Так, NO влияет на баланс между MMPs и их

ингибиторами – TIMP (тканевыми ингибиторами MMPs). Нитрование и олигомеризация TIMP-4, индуцированные пероксинитритом, ослабляют его ингибирующую активность в отношении MMP-2, что усиливает инвазию опухолевых клеток и миграцию эндотелиальных клеток [55]. Оксид азота может опосредовать функцию таких ангиогенных факторов, как VEGF, сфингозин-1-фосфат, ангиопоэтин I (Ang1), эстрогены, инсулин, основной фактор роста фибробластов (bFGF) и др. [56–58]. Для функционирования Ang1, участвующего в дифференцировке и созревании сосудов, необходим NO, синтезируемый eNOS, активация которой опосредована PI3K/Akt (рис. 3). При моделировании канцерогенеза на мышах при нокауте eNOS стимулированный Ang1- и VEGF-ангиогенез значительно подавлен по сравнению с ангиогенезом у мышей дикого типа. Рецептор сфингозин-1-фосфата (S1PR1) высокоэкспрессирован на эндотелиальных клетках и участвует в регулировании их дифференцировки. Взаимодействие лизофосфолипидов с рецепторами S1P приводит к активации eNOS. Активация агонистами обоих подтипов рецептора S1P (S1P1 и S1P3) приводит к фосфорилированию Akt с последующей активацией eNOS посредством фосфорилирования по Ser1177 и дефосфорилирования по Thr495 [59]. Под действием эндостатина происходит ингибирование активности eNOS в эндотелиальных клетках за счет дефосфорилирования Ser1177 протеинфосфатазой 2A, что вызывает антиангиогенный эффект. При этом добавление доноров NO отменяет оказанное эндостатином ингибирование миграции эндотелиальных клеток [60]. Секретируемый тромбоцитами гликопротеин TSP1 (тромбоспондин-1) ингибирует передачу сигналов NO, предотвращая синтез cGMP и его накопление. Такое противодействие передаче сигналов NO приводит к резкому сужению кровеносных сосудов и ускорению агрегации тромбоцитов [61]. Эндотелиальная NO-синтаза может также выступать в роли медиатора при передаче сигнала от стимуляторов эндотелиального роста, таких как VEGF и PGE₂ (простагландин E₂). Действие PGE₂ вызывает увеличение уровня фосфорилирования Akt, eNOS (по Ser1177). Помимо этого, активность eNOS и продукция NO усиливаются за счет активации cAMP-зависимой PKA (протеинкиназы A) и PI3K [62]. Также было показано, что ингибирование активности eNOS уменьшает сверхпроницаемость сосудов опухоли [33, 63].

В регуляцию роста новых сосудов в опухолях наряду с NO вовлечены эндогенные индукторы и ингибиторы ангиогенеза, секретируемые опухолевыми клетками, опухолеассоциированными макрофагами, а также белками внеклеточного матрикса. Переход к ангиогенному фенотипу зависит от баланса положительных и отрицательных ангиогенных факторов, выделяемых опухолью и клетками микроокружения [64]. К индукторам ангиогенеза относят VEGF-A, -B, -C, -D и -E, PDGF-A, -B, -C и -D (тромбоцитарный

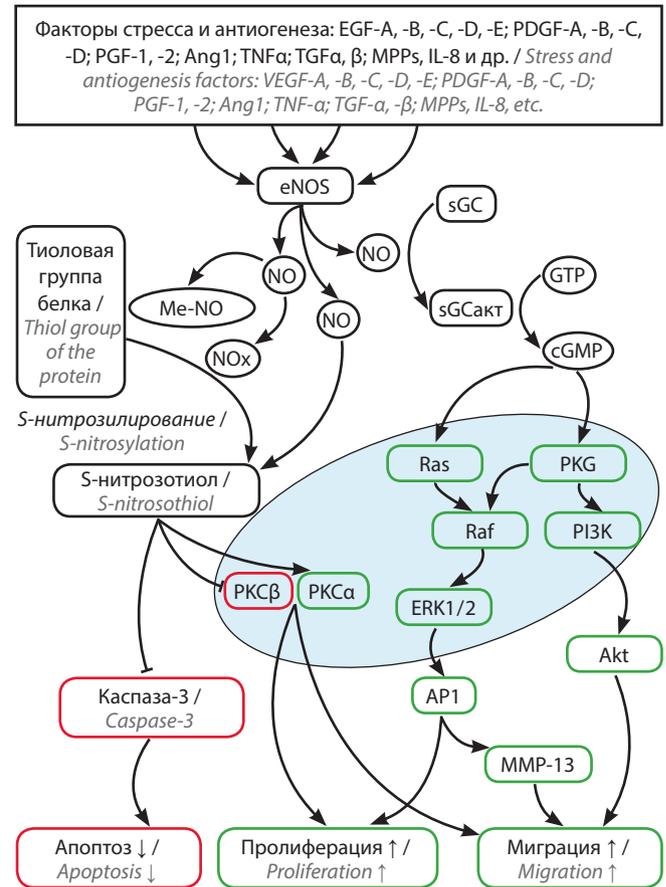


Рис. 3. Сигнальный путь eNOS в ангиогенезе. NO – оксид азота; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; NOx – окислы азота; Me-NO – NO-комплексы металлов; sGC – растворимая гуанилатциклаза; sGCact – активированная форма растворимой гуанилатциклазы; cGMP – циклический гуанозинмонофосфат; PKG – протеинкиназа G; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; Akt – серин/треониновая протеинкиназа; Ras – семейство генов, кодирующих малые G-белки; Raf – серин/треониновая протеинкиназа семейства митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК); ERK1/2 – регулируемая внеклеточными сигналами протеинкиназа PKCα – протеинкиназа C, α; PKCβ – протеинкиназа C, β; AP1 – активирующий протеин-1, фактор транскрипции; MMP-13 – матриксная металлопротеиназа 13; GTP – гуанозинтрифосфат

Fig. 3. Signaling pathway of eNOS in angiogenesis. NO – nitric oxide; eNOS – endothelial NO synthase; NOx – nitrogen oxides; Me-NO – NO-metal complexes; sGC – soluble guanylyl cyclase; sGCact – activated form of soluble guanylyl cyclase; cGMP – cyclic guanosine monophosphate; PKG – protein kinase G; PI3K – phosphatidylinositol-3 kinase; Akt – serine/threonine protein kinase; Ras – a family of genes encoding small G-proteins; Raf – serine/threonine protein kinase of the mitogen-activated protein kinase family (MAPK); ERK1/2 – extracellular signal-regulated kinase; PKCα – protein kinase C, α; PKCβ – protein kinase C, β; AP1 – activator protein-1, transcription factor; MMP-13 – matrix metalloproteinase 13; GTP – guanosine triphosphate

фактор роста), FGF-1 и -2 (фактор роста фибробластов), PIGF (плацентарный фактор роста), Ang1, TNFα (фактор некроза опухоли α), TGFα и β (трансформирующий фактор роста α и β), MMPs, IL-8 (интерлейкин 8) и PA (активатор плазминогена) [59] (см. рис. 2). При связывании VEGF-A с VEGFR-2 в эндотелиальных клетках увеличивается экспрессия eNOS и iNOS [65]. Дополнительным механизмом активации eNOS

с помощью VEGF является стимулирование выброса кальция и рекрутирования Hsp90 (белка теплового шока 90) [66]. Было показано, что способность VEGF ускорять ангиогенез наблюдается у мышей как с $iNOS^{+/+}$, так и с $iNOS^{-/-}$, но не с $eNOS^{-/-}$, что доказывает ведущую роль eNOS в реализации VEGF-индуцированного ангиогенеза [45]. На модели меланомы B16 продемонстрировано, что NO способствует формированию, созреванию и росту кровеносных сосудов в опухолях у мышей. При этом средняя концентрация NO в ткани как низкометастазирующей меланомы B16F1, так и высокометастазирующей меланомы B16F10 выше, чем в прилегающей ткани, но при этом уровень NO положительно коррелирует с ангиогенной активностью и метастатическим потенциалом опухоли [67].

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В ОПОСРЕДОВАННОМ EPCs АНГИОГЕНЕЗЕ

Предшественники эндотелиальных клеток (EPCs) представляют собой подтип стволовых клеток с высоким пролиферативным потенциалом, которые могут дифференцироваться в зрелые эндотелиальные клетки, способствуя восстановлению сосудистого эндотелия, неоваскуляризации в ишемизированных и опухолевых тканях. При действии VEGF, G-CSF, bFGF, Epo, HIF-1, эритропоэтина и других факторов происходит высвобождение EPCs из ниш стволовых клеток костного мозга. В основе механизма мобилизации прогенитор-

ных клеток лежит увеличение синтеза NO и eNOS в строме костного мозга за счет гиперактивации сигнального пути PI3K/Akt [43]. При действии NO увеличивается активность MMP-9, что приводит к ослаблению связи между EPCs и клетками стромы и миграции EPCs в периферическую кровь, откуда они попадают в ткань опухоли и затем принимают участие в восстановлении поврежденных участков и образовании новых сосудов [44, 68, 69].

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В РЕГУЛЯЦИИ ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА

В процессе развития опухолей лимфатическая система претерпевает структурную и функциональную перестройку. К лимфангиогенным факторам относят VEGF-C и -D, которые активируют рецептор VEGFR-3 лимфатического эндотелия [70–72]. Опухоли с гиперэкспрессией VEGF-C характеризуются гиперплазией, повышенной плотностью лимфатических сосудов, увеличенной скоростью движения интерстициальной жидкости, что при канцерогенезе способствует лимфогенному метастазированию опухоли. Была выявлена положительная корреляция между экспрессией/активностью NOS и частотой лимфогенного метастазирования при злокачественных опухолях головы и шеи, щитовидной, молочной желез, желудка и желчного пузыря [72] (рис. 4). Установлено, что VEGF-C способен активировать сигнальные каскады PI3K/Akt

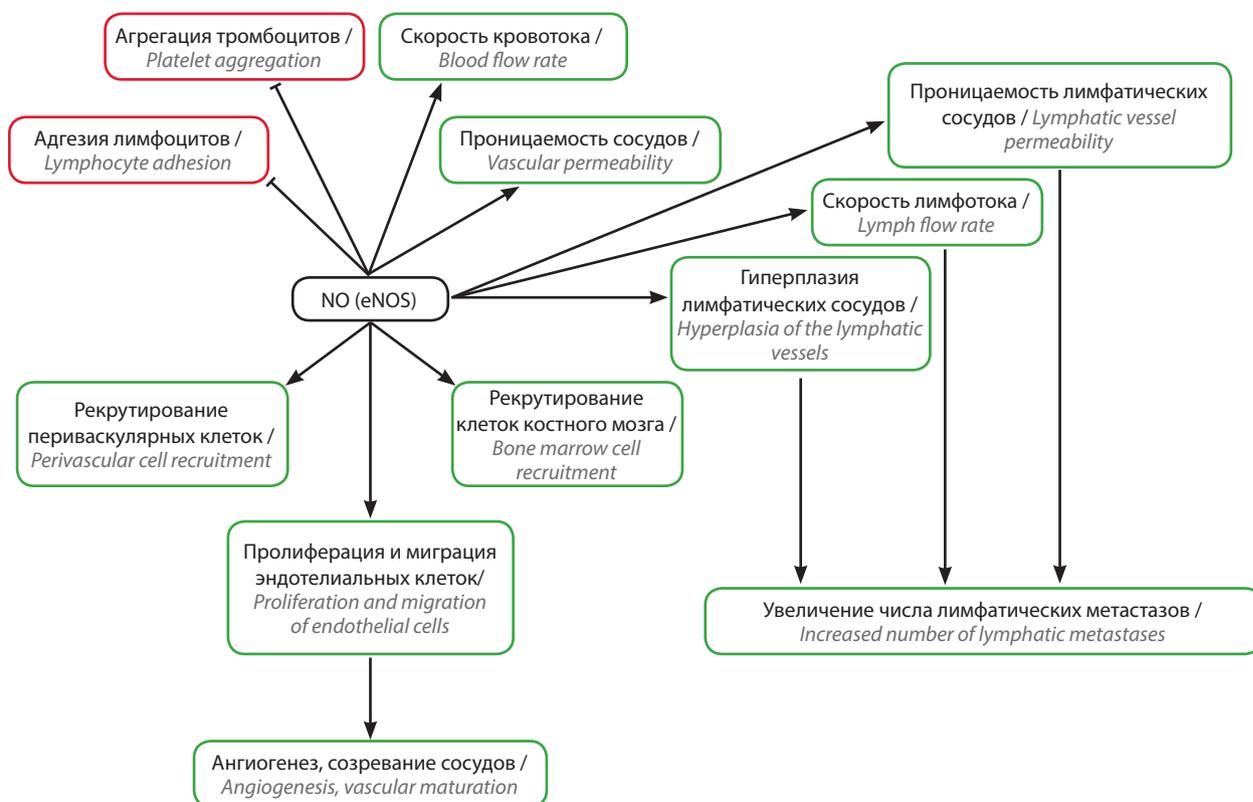


Рис. 4. Участие продуцируемого эндотелиальной NO-синтазой оксида азота (NO) в ангиогенезе и лимфангиогенезе при прогрессии опухолей
Fig. 4. Participation of nitric oxide (NO) produced by endothelial NO synthase in angiogenesis and lymphangiogenesis during tumor progression

и MEK/ERK в LEC (лимфатических эндотелиальных клетках). В свою очередь, активация PI3K/Akt приводит к фосфорилированию ряда мишеней, в том числе eNOS (по Ser1177), а увеличение уровня NO стимулирует пролиферацию LEC. Ингибирование активности PI3K в таких опухолях значительно замедляет образование тубулярных структур и миграцию LEC [73]. При уменьшении образования NO с помощью ингибитора NOS отмечали снижение экспрессии VEGF-C в опухолевых клетках MDA-MB-231. У мышей с подавленной экспрессией фермента (eNOS^{-/-}) наблюдается менее активный лимфангиогенез, уменьшается количество метастазов. В образцах некоторых опухолей человека образование NO и нитротирозина коррелирует с экспрессией VEGF-C/VEGF-D и уровнем метастазирования в лимфатические узлы [4, 10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в зависимости от концентрации и условий микроокружения NO может оказывать как про-, так и антиканцерогенное действие. К настоящему моменту накоплено большое количество данных, свидетельствующих о том, что повышение концентрации NO вследствие гиперактивации eNOS приводит к повышению проницаемости сосудов, усилению активности проангиогенных факторов, мобилизации предшественников эндотелиоцитов из костного мозга и усилению VEGF-C/VEGF-D-индуцированного лимфангиогенеза. Проканцерогенные эффекты eNOS реализуются посредством сигнального каскада

NO-sGC-cGMP-PKGs или реакций нитрозирования/денитрозирования многочисленных функциональных белков, в том числе онкобелков. Регуляция активности eNOS осуществляется на транскрипционном, посттранскрипционном, трансляционном, посттрансляционном и метаболическом уровнях. В связи с этим при анализе статуса eNOS в эндотелии сосудов опухолей наряду с уровнем экспрессии фермента необходимо учитывать также его функциональную активность и количество синтезированного им NO.

При повышенной активности eNOS в эндотелии сосудов опухолей представляется перспективным селективное ингибирование активности фермента. Однако для практической оценки такой стратегии необходимы более глубокие и детальные доклинические исследования. При снижении активности фермента нельзя не учитывать критически важную роль eNOS в поддержании гомеостаза сердечно-сосудистой и других систем. В связи с этим представляется целесообразным провести сравнительную оценку селективных ингибиторов eNOS и отработать режимы таргетирования фермента, позволяющие избежать его системного ингибирования. На основе анализа данных литературы и с учетом положительной взаимосвязи активности VEGF и активности eNOS наиболее перспективным терапевтическим подходом, направленным на снижение ангиогенеза, метастазирования и опухолевого роста, на данный момент представляется ингибирование активности eNOS в сочетании с ингибированием VEGF.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Wang L., Shi G.G., Yao J.C. et al. Expression of endothelial nitric oxide synthase correlates with the angiogenic phenotype of and predicts poor prognosis in human gastric cancer. *Gastric Cancer* 2005;8(1):18–28. DOI: 10.1007/s10120-004-0310-7.
- Choudhari S.K., Chaudhary M., Bagde S. et al. Nitric oxide and cancer: a review. *World J Surg Oncol* 2013;11:118. DOI: 10.1186/1477-7819-11-118.
- Somasundaram V., Basudhar D., Bharadwaj G. et al. Molecular mechanisms of nitric oxide in cancer progression, signal transduction, and metabolism. *Antioxid Redox Signal* 2019;30:1124–43. DOI: 10.1089/ars.2018.7527.
- Nakamura Y., Yasuoka H., Tsujimoto M. et al. Nitric oxide in breast cancer: induction of vascular endothelial growth factor-C and correlation with metastasis and poor prognosis. *Clin Cancer Res* 2006;12(4):1201–7. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1269.
- Randriamboavonjy V., Fleming I. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in platelets: how is it regulated and what is it doing there? *Pharmacol Rep* 2005;57 Suppl:59–65.
- Forstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* 2012;33(7):829–37, 837a–837d. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr304.
- Rabender C.S., Alam A., Sundaresan G. et al. The role of nitric oxide synthase uncoupling in tumor progression. *Mol Cancer Res* 2015;13(6):1034–43. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-15-0057-T.
- Ravichandran L.V., Johns R.A., Rengasamy A. Direct and reversible inhibition of endothelial nitric oxide synthase by nitric oxide. *Am J Physiol* 1995;268(6 Pt 2):H2216–23. DOI: 10.1152/ajpheart.1995.268.6.H2216.
- Furuta S. Basal S-nitrosylation is the guardian of tissue homeostasis. *Trends Cancer* 2017;3(11):744–8. DOI: 10.1016/j.trecan.2017.09.003.
- Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Савлущинская Л.А. и др. Особенности экспрессии NO-синтазы (iNOS и eNOS) в зависимости от скорости роста аденокарциномы Эрлиха у мышей. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина* 2018;29(1–2):40–4. [Deryagina V.P., Ryzhova N.I., Savluchinskaya L.A. et al. Features of expression of NO-synthases (iNOS and eNOS) depending on the growth rate of Ehrlich's adenocarcinoma in mice. *Vestnik RONC im. N.N. Blokhina = Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS* 2018;29(1–2):40–4. (In Russ.)].
- Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами: физикохимия, биология, медицина. М.; Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2015. 220 с. [Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands: physical chemistry, biology, medicine. М.; Izhevsk: Institut kompyuternykh issledovaniy, 2015. 220 p. (In Russ.)].

12. Benhar M., Forrester M.T., Stamler J.S. Protein denitrosylation: enzymatic mechanisms and cellular functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009;10(10):721–32. DOI: 10.1038/nrm2764.
13. Wei W., Li B., Hanes M.A. et al. S-nitrosylation from GSNOR deficiency impairs DNA repair and promotes hepatocarcinogenesis. *Sci Transl Med* 2010;2(19):19ra13. DOI: 10.1126/scitranslmed.3000328.
14. Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S. et al. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. *Free Radic Biol Med* 2008;4(1):18–31. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020.
15. Sahni S., Hickok J.R., Thomas D.D. Nitric oxide reduces oxidative stress in cancer cells by forming dinitrosyliron complexes. *Nitric Oxide* 2018;76:37–44. DOI: 10.1016/j.niox.2018.03.003.
16. Thomas D.D. Breathing new life into nitric oxide signaling: A brief overview of the interplay between oxygen and nitric oxide. *Redox Biol* 2015;5:225–33. DOI: 10.1016/j.redox.2015.05.002.
17. Iyer A.K., Azad N., Wang L., Rojanasakul Y. Role of S-nitrosylation in apoptosis resistance and carcinogenesis. *Nitric Oxide* 2008;19(2):146–51. DOI: 10.1016/J.niox.2008.04.019.
18. Mintz J., Vedenko A., Rosete O. et al. Current Advances of Nitric Oxide in Cancer and Anticancer Therapeutics. *Vaccines(Basel)* 2021;9(2):94. DOI: 10.3390/vaccines9020094.
19. Wink D.A., Vodovotz Y., Laval J. et al. The multifaceted roles of nitric oxide in cancer. *Carcinogenesis* 1998;19(5):711–21. DOI: 10.1093/carcin/19.5.711.
20. Jones L.E. Jr, Ying L., Hofseth A.B. et al. Differential effects of reactive nitrogen species on DNA base excision repair initiated by the alkyladenine DNA glycosylase. *Carcinogenesis* 2009;30(12):2123–9. DOI: 10.1093/carcin/bgp256.
21. Graziewicz M., Wink D.A., Laval F. Nitric oxide inhibits DNA ligase activity: potential mechanisms for NO-mediated DNA damage. *Carcinogenesis* 1996;17(11):2501–5. DOI: 10.1093/carcin/17.11.2501.
22. Xiao L., Eneroth P.H., Qureshi G.A. Nitric oxide synthase pathway may mediate human natural killer cell cytotoxicity. *Scand J Immunol* 1995;42(5):505–11. DOI: 10.1111/j.1365-3083.1995.tb03687.x.
23. Bastian N.R., Yim C.Y., Hibbs J.B., Samlowski W.E. Induction of iron-derived EPR signals in murine cancers by nitric oxide. Evidence for multiple intracellular targets. *J Biol Chem* 1994;269(7):5127–31.
24. Hara M.R., Snyder S.H. Nitric oxide-GAPDH-Siah: a novel cell death cascade. *Cell Mol Neurobiol* 2006;26(4–6):527–38. DOI: 10.1007/s10571-006-9011-6.
25. Li C.Q., Pang B., Kiziltepe T. et al. Threshold effects of nitric oxide-induced toxicity and cellular responses in wild-type and p53-null human lymphoblastoid cells. *Chem Res Toxicol* 2006;19(3):399–406. DOI: 10.1021/tx050283e.
26. Marshall H.E., Foster M.W. S-nitrosylation of Ras in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2012;14(6):113. DOI: 10.1186/bcr3331.
27. Lim K.H., Ancrile B.B., Kashatus D.F., Counter C.M. Tumour maintenance is mediated by eNOS. *Nature* 2008;452(7187):646–9. DOI: 10.1038/nature06778.
28. Garrido P., Shalaby A., Walsh E.M. et al. Impact of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression on triple negative breast cancer outcome and activation of EGFR and ERK signaling pathways. *Oncotarget* 2017;8(46):80568–88. DOI: 10.18632/oncotarget.19631.
29. Lopez-Rivera E., Jayaraman P., Parikh F. et al. Inducible nitric oxide synthase drives mTOR pathway activation and proliferation of human melanoma by reversible nitrosylation of TSC2. *Cancer Res* 2014;74(4):1067–78. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0588.
30. Du Q., Zhang X., Liu Q. et al. Nitric oxide production upregulates Wnt/beta-catenin signaling by inhibiting Dickkopf-1. *Cancer Res* 2013;73(21):6526–37. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1620.
31. Quintero M., Brennan P.A., Thomas G.J., Moncada S. Nitric oxide is a factor in the stabilization of hypoxia-inducible factor-1alpha in cancer: role of free radical formation. *Cancer Res* 2006;66(2):770–4. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0333.
32. Dimmeler S., Fleming I., Fisslthaler B. et al. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999;399(6736):601–5. DOI: 10.1038/21224.
33. Ju H., Zou R., Venema V.J., Venema R.C. Direct interaction of endothelial nitric-oxide synthase and caveolin-1 inhibits synthase activity. *J Biol Chem* 1997;272(30):18522–5. DOI: 10.1074/jbc.272.30.18522.
34. Sakoda T., Hirata K., Kuroda R. et al. Myristoylation of endothelial cell nitric oxide synthase is important for extracellular release of nitric oxide. *Mol Cell Biochem* 1995;152(2):143–8. DOI: 10.1007/BF01076076.
35. Rafikov R., Fonseca F.V., Kumar S. et al. eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the post-translational control of endothelial nitric oxide synthase activity. *J Endocrinol* 2011;210(3):271–84. DOI: 10.1530/JOE-11-0083.
36. Северина И.С. Оксид азота. Потенцирование NO-зависимой активации растворимой гуанилатциклазы – (пато)физиологическое и фармакотерапевтическое значение. *Биомедицинская химия* 2007;53(4):385–99. [Severina I.S. Nitric oxide. Potentiation of NO-dependent activation of soluble guanylate cyclase – (patho)physiological and pharmacotherapeutic significance. *Biomedicinskaya himiya = Biomedical Chemistry* 2007;53(4):385–99. (In Russ.)].
37. Hemmens B., Mayer B. Enzymology of nitric oxide synthases. *Methods Mol Biol* 1998;100:1–32. DOI: 10.1385/1-59259-749-1:1.
38. Erwin P.A., Lin A.J., Golan D.E., Michel T. Receptor-regulated dynamic S-nitrosylation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2005;280(20):19888–94. DOI: 10.1074/Jbc.M413058200.
39. Keshet R., Erez A. Arginine and the metabolic regulation of nitric oxide synthesis in cancer. *Dis Model Mech* 2018;11(8):dmm033332. DOI: 10.1242/dmm.033332.
40. Huang H.L., Chen W.C., Hsu H.P. et al. Argininosuccinate lyase is a potential therapeutic target in breast cancer. *Oncol Rep* 2015;34(6):3131–9. DOI: 10.3892/or.2015.4280.
41. Huang H.L., Chen W.C., Hsu H.P. et al. Silencing of argininosuccinate lyase inhibits colorectal cancer formation. *Oncol Rep* 2017;37(1):163–70. DOI: 10.3892/or.2016.5221.
42. Rizi S.B., Caneba C., Nowicka A. et al. Nitric oxide mediates metabolic coupling of omentum-derived adipose stroma to ovarian and endometrial cancer cells. *Cancer Res* 2015;75(2):456–71. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1337.
43. Zhao X., Liu H.Q., Li J., Liu X.L. Endothelial progenitor cells promote tumor growth and progression by enhancing new vessel formation. *Oncol Lett* 2016;12(2):793–9. DOI: 10.3892/ol.2016.4733.
44. Heissig B., Hattori K., Dias S. et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002;109(5):625–37. DOI: 10.1016/s0092-8674(O2)00754-7.
45. Fukumura D., Gohongi T., Kadambi A. et al. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(5):2604–9. DOI: 10.1073/pnas.041359198.
46. Fujita S., Masago K., Hatachi Y. et al. Genetic polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene correlate with overall survival in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with platinum-based doublet chemotherapy. *BMC Med Genet* 2010;11:167. DOI: 10.1186/1471-23-50-11-167.

47. Oliveira-Paula G.H., Lacchini R., Tanus-Santos J.E. Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms. *Gene* 2016; 575(2 Pt 3):584–99. DOI: 10.1016/j.gene.2015.09.061.
48. Xia N., Forstermann U., Li H. Resveratrol and endothelial nitric oxide. *Molecules* 2014;19(10):16102–21. DOI: 10.3390/molecules1910-16102.
49. Duarte J., Francisco V., Perez-Vizcaino F. Modulation of nitric oxide by flavonoids. *Food Funct* 2014;5(8):1653–68. DOI: 10.1039/c4fo00144c.
50. Fukumura D., Kashiwagi S., Jain R.K. The role of nitric oxide in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2006;6(7):521–34. DOI: 10.1038/nrc1910.
51. Hanahan D., Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996;86(3):353–64. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80108-7.
52. Ziche M., Morbidelli L. Molecular regulation of tumour angiogenesis by nitric oxide. *Eur Cytokine Netw* 2009;20(4):164–70. DOI: 10.1684/ecn.2009.0169.
53. Oliveira C.J., Schindler F., Ventura A.M. et al. Nitric oxide and cGMP activate the Ras-MAP kinase pathway-stimulating protein tyrosine phosphorylation in rabbit aortic endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 2003;35(4):381–96. DOI: 10.1016/s0891-5849(03)00311-3.
54. Kawasaki K., Smith Jr R.S., Hsieh C.M. et al. Activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase Akt pathway mediates nitric oxide-induced endothelial cell migration and angiogenesis. *Mol Cell Biol* 2003;23(16):5726–37. DOI: 10.1128/mcb.23.16.5726-5737.2003.
55. Donnini S., Monti M., Roncone R. et al. Peroxynitrite inactivates human-tissue inhibitor of metalloproteinase-4. *FEBS Lett* 2008;582(7):1135–40. DOI: 10.1016/j.febslet.2008.02.080.
56. Dudzinski D.M., Michel T. Life history of eNOS: partners and pathways. *Cardiovasc Res* 2007;75(2):247–60. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.03.23.
57. Babaei S., Teichert-Kuliszewska K., Monge J.C. et al. Role of nitric oxide in the angiogenic response in vitro to basic fibroblast growth factor. *Circ Res* 1998;82(9):1007–15. DOI: 10.1161/01.res.82.9.1007.
58. Babaei S., Teichert-Kuliszewska K., Zhang Q. et al. Angiogenic actions of angiopoietin-1 require endothelium-derived nitric oxide. *Am J Pathol* 2003;162(6):1927–36.
59. Tolle M., Klockl L., Wiedon A. et al. Regulation of endothelial nitric oxide synthase activation in endothelial cells by S1P1 and S1P3. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;476(4):627–4. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.06.009.
60. Urbich C., Reissner A., Chavakis E. et al. Dephosphorylation of endothelial nitric oxide synthase contributes to the anti-angiogenic effects of endostatin. *FASEB J* 2002;16(7):706–8. DOI: 10.1096/fj.01-0637fje.
61. Isenberg J.S., Frazier W.A., Roberts D. Thrombospondin-1: a physiological regulator of nitric oxide signaling. *Cell Mol Life Sci* 2008;65(5):728–2. DOI: 10.1007/S00018-007-7488-x.
62. Namkoong S., Lee S.J., Kim C.K. et al. Prostaglandin E2 stimulates angiogenesis by activating the nitric oxide/cGMP pathway in human umbilical vein endothelial cells. *Exp Mol Med* 2005;37(6):588–600. DOI: 10.1038/emmm.2005.72.
63. Brouet A., DeWever J., Martinive P. et al. Antitumor effects of in vivo caveolin gene delivery are associated with the inhibition of the proangiogenic and vasodilatory effects of nitric oxide. *FASEB J* 2005;19(6):602–4. DOI: 10.1096/fj.04-2682fje.
64. Alsharabasy A.M., Glynn S.A., Pandit A. The role of extracellular matrix in tumour angiogenesis: the throne has NOx servants. *Biochem Soc Trans* 2020;48(6):2539–55. DOI: 10.1042/BST20200208.
65. Kroll J., Waltenberger J. VEGF-A induces expression of eNOS and iNOS in endothelial cells via VEGF receptor-2(KDR). *Biochem Biophys Res Commun* 1998;252(3):743–6. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9719.
66. Duda D.G., Fukumura D., Jain R.K. Role of eNOS in neovascularization: NO for endothelial progenitor cells. *Trends Mol Med* 2004;10(4):143–5. DOI: 10.1016/j.molmed.2004.02.001.
67. Kashiwagi S., Izumi Y., Gohongi T. et al. NO mediates mural cell recruitment and vessel morphogenesis in murine melanomas and tissue-engineered blood vessels. *J Clin Invest* 2005;115(7):1816–27. DOI: 10.1172/JCI24015.
68. Aicher A., Heeschen C., Mildner-Rihm C. et al. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. *Nat Med* 2003;9(11):1370–76. DOI: 10.1038/nm948.
69. De la Puente P., Muz B., Azab F., Azab A.K. Cell trafficking of endothelial progenitor cells in tumor progression. *Clin Cancer Res* 2013;19(13):3360–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0462.
70. Lahdenranta J., Hagendoorn J., Padera T.P. et al. Endothelial nitric oxide synthase mediates lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res* 2009;69(7):2801–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4051.
71. Padera T.P., Meijer E.F., Munn L.L. The Lymphatic System in Disease Processes and Cancer Progression. *Annu Rev Biomed Eng* 2016;18:125–58. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-112315-031200.
72. Hoshida T., Isaka N., Hagendoorn J. et al. Imaging steps of lymphatic metastasis reveals that vascular endothelial growth factor-C increases metastasis by increasing delivery of cancer cells to lymph nodes: therapeutic implications. *Cancer Res* 2006;66(16):8065–75. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1392.
73. Coso S., Zeng Y., Opeskin K., Williams E.D. Vascular endothelial growth factor receptor-3 directly interacts with phosphatidylinositol 3-kinase to regulate lymphangiogenesis. *PLoS One* 2012;7(6):e39558. DOI: 10.1371/journal.pone.0039558.

Вклад авторов

В.П. Дерягина: рассмотрение и анализ публикаций по теме обзора, получение и анализ экспериментальных данных, написание текста статьи;

К.И. Кирсанов: обзор, анализ и обобщение данных литературы, написание текста статьи;

Н.И. Рыжова, Л.А. Савлучинская: сбор, анализ и обобщение данных литературы.

Authors' contributions

V.P. Deryagina: consideration and analysis of articles on the subject of the review, experimental data acquisition and analysis, article writing;

K.I. Kirsanov: review, analysis and synthesis of literature data, article writing;

N.I. Rizhova, L.A. Savluchinskaya: collection, analysis and synthesis of literature data.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.П. Дерягина / V.P. Deryagina: <https://orcid.org/0000-0002-3204-3481>;

Н.И. Рыжова / N.I. Rizhova: <https://orcid.org/0000-0002-4224-6303>;

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

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 17-15-01526).

Financing. The research was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 17-15-01526).

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-40-46



Прогностическая значимость экспрессии CD204 и IDO1 в опухолях пищевода

О.В. Ковалева, М.А. Рашидова, Д.В. Самойлова, П.А. Подлесная, В.В. Мочальникова, А.Н. Грачев

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

Контакты: Ольга Владимировна Ковалева ovkovaleva@gmail.com

Введение. Рак пищевода находится на 6-м месте по показателям смертности среди злокачественных новообразований. Для понимания молекулярных механизмов его прогрессии необходимо изучать не только непосредственно опухолевые клетки, но и клетки микроокружения опухоли. В данной работе мы исследовали макрофаги, ассоциированные с опухолью, и их различные фенотипы, используя мембранный белок, индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназа (indoleamine 2,3-dioxygenase-1, IDO1) в качестве маркера макрофагов 1-го типа и сквенджер-рецептор макрофагов (CD204) в качестве маркера макрофагов 2-го типа.

Цель работы – исследование экспрессии IDO1 и CD204 в опухолях плоскоклеточного рака пищевода и оценка ее прогностической значимости.

Материалы и методы. В исследование были включены образцы опухолей, полученные от 48 больных плоскоклеточным раком пищевода. С помощью иммуногистохимического исследования проведена оценка экспрессии CD204 и IDO1. Анализ выживаемости осуществляли путем построения кривых дожития по методу Каплана–Майера. Сравнение достоверности различий проводили при помощи логарифмического рангового критерия. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Экспрессия CD204 была обнаружена в макрофагах стромы в 100 % исследуемых образцов и не обнаружена в опухолевых клетках. Было выявлено, что при раке пищевода IDO1 экспрессируется как в стромальных клетках (92 % образцов), так и в опухолевых (44 % образцов). Для CD204 в стромальных и IDO1 в опухолевых клетках не наблюдалось ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками больных. Для IDO1 в строме опухоли выявлена ассоциация со стадией заболевания ($p = 0,0450$) и наличием регионарных метастазов ($p = 0,0279$). Анализ показателей выживаемости продемонстрировал, что CD204+ является маркером благоприятного прогноза рака пищевода (отношение рисков 0,455, $p = 0,0419$).

Заключение. В проведенном исследовании было показано, что экспрессия IDO1 в строме опухоли ассоциирована с более благоприятными клинико-морфологическими характеристиками пациентов. Также выявлено, что повышенное содержание в строме опухоли CD204+ макрофагов служит показателем хорошего прогноза для больных раком пищевода.

Ключевые слова: макрофаг, рак пищевода, воспаление, прогноз

Для цитирования: Ковалева О.В., Рашидова М.А., Самойлова Д.В. и др. Прогностическая значимость экспрессии CD204 и IDO1 в опухолях пищевода. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):40–6. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-40-46.

Prognostic significance of CD204 and IDO1 expression in esophageal tumors

O. V. Kovaleva, M. A. Rashidova, V. V. Mochalnikova, D. V. Samoilova, P. A. Podlesnaya, A. N. Gratchev

N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Contacts: Olga Vladimirovna Kovaleva ovkovaleva@gmail.com

Introduction. Cancer of the esophagus ranks sixth in mortality among malignant neoplastic diseases. To understand the molecular mechanisms of its progression, it is necessary to study not only tumor cells directly, but also cells of the microenvironment. In this work, we studied tumor-associated macrophages and their different phenotypes using membrane protein, indoleamine 2,3-dioxygenase-1 (IDO1) as a marker for type 1 macrophages and macrophage scavenger receptor (CD204) as a marker for type 2 macrophages.

The objective of this work was to study the expression of IDO1 and CD204 in tumors of squamous cell carcinoma of the esophagus and to assess its prognostic value.

Materials and methods. The study included tumor samples obtained from 48 patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. The expression of CD204 and IDO1 was assessed by immunohistochemistry. Survival analysis

was carried out by constructing survival curves using the Kaplan–Meier method. Comparison of the significance of differences was performed using the logarithmic rank test. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. We analyzed the expression of CD204 and IDO1 in esophageal squamous cell carcinoma tumors. Expression of CD204 was detected in stromal macrophages in 100 % of cases and was not detected in tumor cells. We have shown that in esophageal cancer, IDO1 is expressed in both stromal and tumor cells. In tumor cells, the expression of IDO1 was found in 44 % of the samples, in stromal cells, IDO1 was expressed in 92 % of cases. No association with clinical and morphological characteristics was observed for CD204 in stromal cells and IDO1 in tumor cells. For IDO1 expressed in stromal cells, an association with the stage of the disease ($p = 0.0450$) and the presence of regional metastases ($p = 0.0279$) was observed. Survival analysis showed that CD204 is a marker of a favorable prognosis for esophageal cancer (hazard ratio 0.455, $p = 0.0419$).

Conclusion. This study has shown that the expression of IDO1 in the tumor stroma is associated with more favorable clinical characteristics. It has also been shown that an increased content of CD204+ macrophages is a marker of a good prognosis for esophageal cancer.

Key words: macrophage, esophageal cancer, inflammation, prognosis

For citation: Kovaleva O.V., Rashidova M.A., Mochalnikova V.V. et al. Prognostic significance of CD204 and IDO1 expression in esophageal tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):40–6. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-40-46.

ВВЕДЕНИЕ

Рак пищевода находится на 6-м месте по смертности среди злокачественных новообразований. Около 70 % больных умирают в течение года после постановки диагноза, поскольку в большинстве случаев заболевание выявляется уже на поздних стадиях. Существуют 2 основных подтипа рака пищевода: плоскоклеточная карцинома пищевода и аденокарцинома пищевода. Каждый из них имеет свои факторы риска и патологические особенности. На долю плоскоклеточной карциномы пищевода приходится до 90 % случаев рака пищевода во всем мире. Несмотря на последние достижения в диагностике и терапии злокачественных новообразований, прогноз при данном заболевании остается неблагоприятным.

Для понимания молекулярных механизмов развития рака пищевода необходимо обращать внимание не только непосредственно на опухолевые клетки, но и на клетки микроокружения опухоли. Ускользание опухоли от иммунологического надзора имеет решающее значение для ее прогрессии. Опухолевые клетки могут подавлять иммунный ответ за счет привлечения различных популяций иммунокомпетентных клеток. Более глубокое понимание механизма взаимодействия опухолевых клеток со своим микроокружением может открыть новое направление развития терапевтических и диагностических стратегий. В данной работе особое внимание уделено такой клеточной популяции, как макрофаги, ассоциированные с опухолью. В исследовании в качестве маркера макрофага 1-го типа был использован индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназа (indoleamine 2,3-dioxygenase-1, IDO1), а в качестве маркера макрофага 2-го типа – мембранный белок, сквенджер-рецептор макрофагов (CD204).

Индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназа – это фермент, участвующий в метаболизме триптофана с образованием *N*-формилкинуренина. Гиперэкспрессия IDO1 вызывает дефицит триптофана в опухоли, что

приводит к супрессии Т-эффекторных клеток, привлечению регуляторных Т-клеток и, как следствие, к подавлению противоопухолевого иммунного ответа. Экспрессия IDO1 обнаруживается и в нормальных тканях (например в плаценте, легких, тонком и толстом кишечнике, селезенке, печени, почках, желудке и мозге) и участвует в антимикробном и противоопухолевом ответе, регуляции иммунного ответа и антиоксидантной защите. Кроме того, под действием интерферона гамма (IFN γ) IDO1 может оказаться в эпителиальных клетках, фибробластах, клетках эндотелия и гладких мышц, а также в опухолевых клетках [1–3].

Накоплено большое количество данных, свидетельствующих о наличии корреляции экспрессии IDO1 с прогнозом заболевания. Так, было показано, что экспрессия IDO1 является маркером плохого прогноза для рака молочной железы [4], шейки матки [5], эндометрия [6], мочевого пузыря [7], мультиформной глиобластомы [8] и меланомы [9]. На примере новообразований легкого было показано, что IDO1 больше обнаруживается в опухолевых клетках, чем в стро-ме [10].

CD204 является трансмембранным рецептором, который относится к семейству сквенджер-рецепторов класса А типа 1 и участвует в метаболизме липидов, атерогенезе, подавлении провоспалительного ответа, опосредованного Toll-подобным рецептором 4 [11]. Известно, что CD204+ макрофаги ассоциированы с агрессивным поведением опухолей для многих нозологий и зачастую коррелируют с плохим прогнозом [12, 13]. Однако M. Rakaee и соавт. показали, что большое содержание CD204+ и CD68+ макрофагов может являться независимым благоприятным прогностическим фактором при немелкоклеточном раке легкого [14].

Цель данной работы – исследование экспрессии IDO1 и CD204 в опухолях плоскоклеточного рака пищевода (ППР) и их прогностической значимости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 48 больных ПРП (36 мужчин и 12 женщин), проходивших обследование и лечение в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России. Средний возраст пациентов составил 61 год (43–79 лет). Все процедуры, выполненные в ходе исследования с участием людей, соответствуют стандартам этического комитета организации, Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого пациента получено информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Клинический диагноз у всех больных подтвержден данными морфологического исследования опухоли (согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (ВОЗ, 2019)). Выборка включала 10 образцов высокодифференцированного, 28 образцов умеренно дифференцированного и 10 образцов низкодифференцированного рака пищевода. К моменту хирургического вмешательства у 23 пациентов были регионарные метастазы. Сбор данных о выживаемости проводился до декабря 2019 г. Медиана выживаемости составила 40 мес (от 2 до 152 мес) от момента операции до последнего контакта с пациентами. Данные о выживаемости собраны для 37 пациентов, из которых 23 (62,0 %) умерли, а 14 (38,0 %) были живы в период наблюдения. Детальная характеристика исследуемой выборки больных ПРП представлена в табл. 1.

Иммуногистохимическое исследование выполнено по стандартной методике на срезах опухолевой ткани. Для демаскировки антигена использовали Tris-EDTA буфер pH 9.0 («ПраймБиоМед», Москва). Первичные антитела к CD204 (HPA000272; Sigma, США; разведение 1: 2000) и IDO1 (clone D5J4E; Cell Signaling Technology, США; разведение 1: 200) инкубировали в течение 60 мин. Мы использовали универсальную двухкомпонентную систему детекции PrimeVision, козы антитела к IgG мыши/кролика, пероксидазе хрена (HRP) («ПраймБиоМед», Москва) согласно инструкции производителя.

Результаты анализа общей экспрессии CD204 и IDO1 в строме опухоли выражали в баллах исходя из количества антигенпозитивных клеток в поле зрения при увеличении $\times 400$ (0 – < 1 %; 1 – < 10 %; 2–11 – 50 %; 3 – > 50 %). Для дальнейшей оценки результатов образцы были объединены в группы: с низкой экспрессией (0–1 балл) и с высокой экспрессией (2–3 балла) для IDO1 в строме и с низкой экспрессией (1–2 балла) и с высокой экспрессией (3 балла) для CD204. Для анализа прогностической значимости экспрессии IDO1 в опухолевых клетках образцы также были разделены на группы: с ее наличием или с ее отсутствием.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием GraphPad Prizm v. 9.

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики больных плоскоклеточным раком пищевода

Table 1. Clinical and morphological characteristics of patients with esophageal squamous cell carcinoma

Показатель Parameter	Число пациентов, абс. (%) Number of patients, abs. (%)
Возраст, лет: Age, years:	
<60	26 (54)
>60	22 (46)
Пол: Gender:	
мужской male	36 (75)
женский female	12 (25)
Стадия: Stage:	
I–II	25 (52)
III–IV	23 (48)
Наличие регионарных метастазов Nodal status	
N–	25 (52)
N+	23 (48)
Дифференцировка: Differentiation:	
G1/2	38 (79)
G3	10 (21)

При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Анализ показателей выживаемости проводили путем построения кривых дожития по методу Каплана–Майера. Сравнение достоверности различий выполняли при помощи логарифмического рангового критерия. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Экспрессия CD204 и IDO1 в опухолях пищевода.

Мы провели анализ экспрессии CD204 и IDO1 в опухолях ПРП. Экспрессия CD204 обнаруживалась в макрофагах стромы в 100 % исследованных образцов. В опухолевых клетках она не наблюдалась. Также мы показали, что при раке пищевода IDO1 экспрессируется как в стромальных клетках, так и в опухолевых. В опухолевых клетках экспрессия IDO1 обнаруживалась в 44 % образцов (21 случай из 48). В стромальных клетках IDO1 экспрессировался в подавляющем большинстве случаев (в 44 из 48). Далее мы провели анализ ассоциации экспрессии исследуемых маркеров с клинико-морфологическими характеристиками пациентов. Полученные данные представлены на рис. 1.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что для экспрессии CD204 в строме опухоли и IDO1 в опухолевых клетках не наблюдается ассоциации

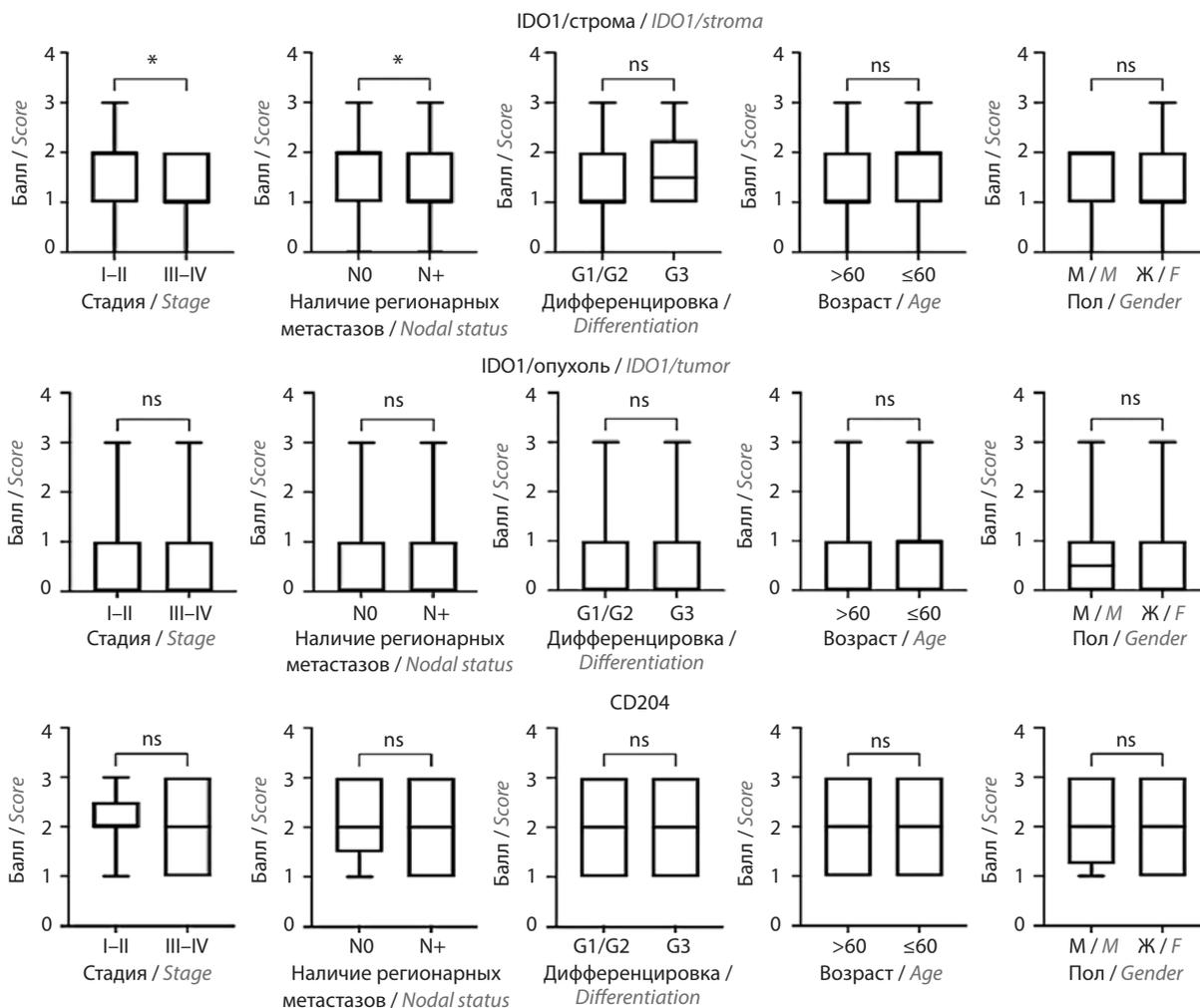


Рис. 1. Анализ ассоциации экспрессии CD204 и IDO1 с клинико-морфологическими характеристиками пациентов. *Статистически значимо
 Fig. 1. Analysis of the association of CD204 and IDO1 expression with clinical and morphological characteristics of patients . *Statistically significant

с клинико-морфологическими характеристиками пациентов, а для экспрессии IDO1 в строме опухоли выявлена ассоциация со стадией заболевания ($p = 0,0450$) и наличием регионарных метастазов ($p = 0,0279$). На более ранних стадиях и при отсутствии метастазов в лимфатических узлах обнаружено более высокое содержание IDO1+ макрофагов в опухолевой строме.

Прогностическая значимость CD204 и IDO1. Для определения прогностической значимости экспрессии CD204 и IDO1 для пациентов с ПРП мы проанализировали показатели выживаемости путем построения кривых дожития по методу Каплана–Майера и сравнения достоверности различий при помощи логарифмического рангового критерия. Результаты представлены в табл. 2.

Мы показали, что повышенное содержание CD204+ макрофагов в опухоли достоверно ассоциировано с лучшей выживаемостью пациентов. Экспрессия IDO1 и CD204 в образцах плоскоклеточного рака пищевода и прогностическая значимость этих маркеров представлены на рис. 2.

Согласно данным, представленным на рис. 2, CD204 является благоприятным прогностическим

Таблица 2. Статистический анализ прогностической значимости CD204 и IDO1 для пациентов с плоскоклеточным раком пищевода
 Table 2. Statistical analysis of the prognostic significance of CD204 and IDO1 in patients with esophageal squamous cell carcinoma

Показатель Parameter	Однофакторный анализ Univariate analysis		
	Отноше- ние рисков Hazard ratio	95 % доверитель- ный интервал 95 % confidence interval	p
IDO1/строма (высокий/низкий) IDO1/stroma (high/low)	0,7344	(0,3350– 1,610)	0,4341
IDO1/опухоль (высокий/низкий) IDO1/tumor (high/low)	0,5824	(0,2659– 1,276)	0,1755
CD204/строма (высокий/низкий) CD204/stroma (high/low)	0,455	(0,2072– 0,9989)	0,0419*

*Статистически значимо.
 *Statistically significant.

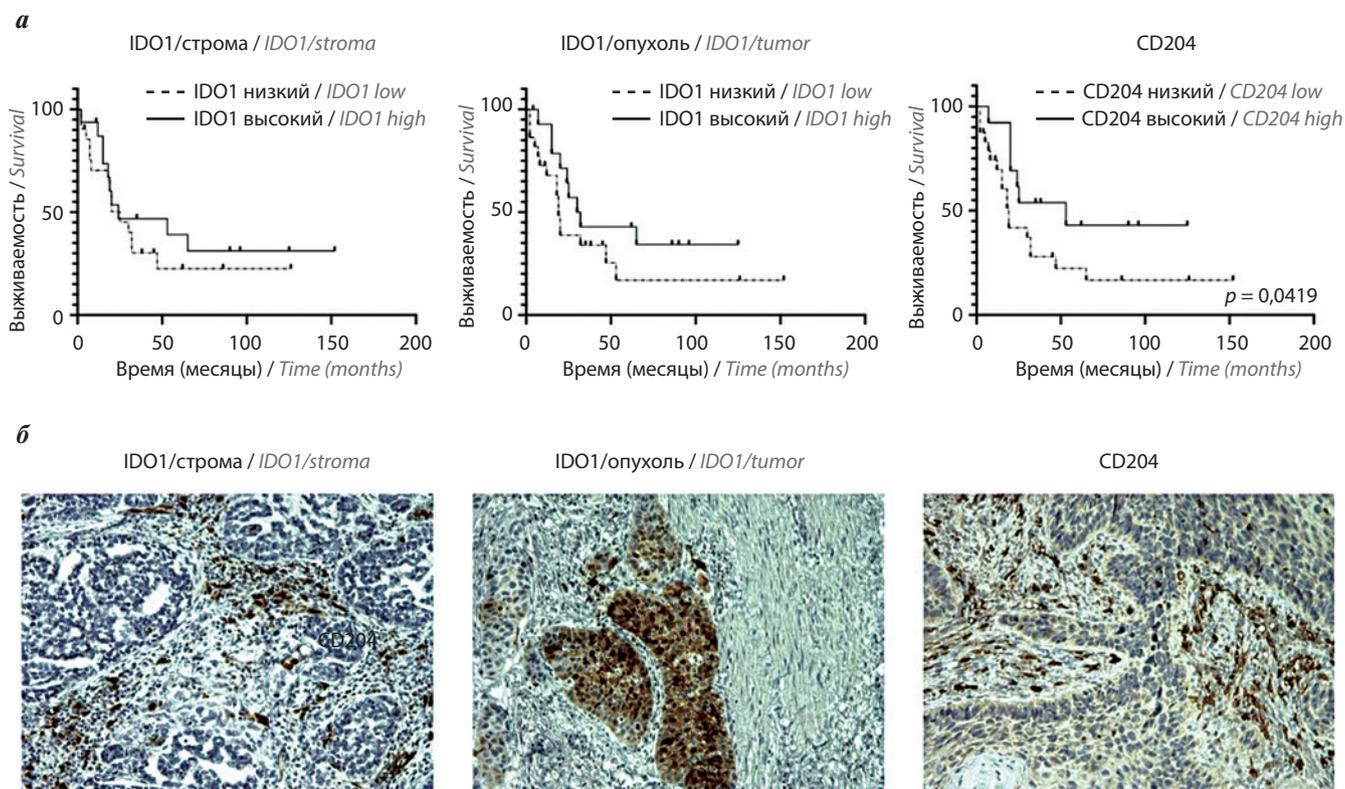


Рис. 2. Экспрессия IDO1 и CD204 в образцах плоскоклеточного рака пищевода: а – прогностическая значимость IDO1 и CD204 при плоскоклеточном раке пищевода; б – пример иммуногистохимического окрашивания антителами к IDO1 и CD204

Fig. 2. Expression of IDO1 and CD204 in esophageal squamous cell carcinoma of the esophagus; б – an example of immunohistochemical staining with anti-IDO1 and anti-CD204 antibodies

маркером рака пищевода, экспрессия IDO1 в строме прогностической значимости не имеет, а экспрессия IDO1 в опухолевых клетках свидетельствует о тенденции к благоприятному прогнозу.

ОБСУЖДЕНИЕ

Корреляция повышенного количества макрофагов, ассоциированных с опухолью с неблагоприятным прогнозом, показана для многих типов солидных новообразований [15, 16]. Однако для опухолей органов желудочно-кишечного тракта четкая корреляция с плохим прогнозом отсутствует, а зачастую (как в случае колоректального рака) наблюдается и обратная корреляция. Для рака пищевода прогностическая роль количества и фенотипа макрофагов, ассоциированных с опухолью, остается противоречивой. Ранее мы показали, что в случае данной нозологии высокое содержание CD163+ макрофагов служит маркером хорошего прогноза, в то время как количество CD206+ макрофагов не является прогностически значимым показателем [17]. Этот факт представляет интерес, поскольку как CD163, так и CD206 являются маркерами макрофагов 2-го типа. Именно поэтому изучение дополнительных маркеров макрофагов, ассоциированных с опухолью, и их прогностической значимости очень актуально, особенно в отношении новообразований пищевода. В ходе исследования мы проанализировали

содержание CD204+ и IDO1+ клеток в образцах ПРП. На 1-м этапе работы изучена ассоциация количества CD204+ клеток с клинико-морфологическими характеристиками (стадией заболевания, дифференцировкой опухоли, наличием регионарных метастазов и др.) пациентов. Было выявлено отсутствие данных ассоциаций. Однако анализ прогностической значимости CD204+ макрофагов показал, что их количество коррелирует с благоприятным прогнозом ПРП (отношение рисков 0,455, $p = 0,0419$). Данное отличие этого вида новообразований от опухолей других локализаций может быть результатом наличия в органах желудочно-кишечного тракта в целом и в пищеводе в частности резидентных бактерий, обеспечивающих активацию макрофагов 1-го типа, для которых характерно наличие цитотоксической активности.

К маркерам макрофагов 1-го типа относится IDO1 – фермент, основной функцией которого является деградация триптофана с образованием *N*-формилкинуренина, а далее – целого ряда продуктов, оказывающих существенное влияние на функционирование иммунной системы. Активированный фермент IDO1, производимый опухолевыми клетками, снижает уровень триптофана в микроокружении опухоли, что оказывает внутриопухолевое иммуносупрессорное действие. Основными иммуносупрессорными механизмами влияния IDO1 на опухоль являются снижение ее

инфильтрации цитотоксическими Т-клетками и повышение количества регуляторных Т-клеток [18]. Индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназа также способствует поляризации макрофагов в макрофаги 1-го типа. Они секретируют медиаторы воспаления, такие как фактор некроза опухоли (TNF α) и индуцибельная синтаза оксида азота (iNOS). Эти провоспалительные факторы образуют воспалительное микроокружение, способствуют трансформации неполяризованных макрофагов в макрофаги 1-го типа, тем самым образуя защитный провоспалительный механизм с положительной обратной связью. Таким образом, роль IDO1 в опухоли достаточно противоречива, что подтверждается его неоднозначным прогностическим значением [19, 20]. В нашем исследовании не была показана статистически значимая прогностическая роль экспрессии IDO1 в опухолевых клетках, наблюдалась лишь тенденция к благоприятному прогнозу ($p = 0,120$). Однако в ходе анализа экспрессии IDO1 в стромальных клетках были выявлены статистически значимые ассоциации с клинико-морфологическими характе-

ристиками больных. Известно, что IDO1 в строме экспрессируется в основном макрофагами [21]. Мы показали, что на более ранних стадиях заболевания и при отсутствии метастазов в лимфатических узлах наблюдалось более высокое содержание IDO1+ макрофагов в опухолевой строме. Эти результаты свидетельствуют о том, что на ранних стадиях развития опухоли ее уход из-под иммунного надзора достигнут не полностью, в ней наблюдаются активные провоспалительные макрофаги, количество которых снижается при прогрессировании заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе исследования была оценена прогностическая значимость маркеров макрофагов CD204 и IDO1 в образцах ППП. Мы показали, что CD204 является маркером хорошего прогноза данной патологии, что свидетельствует о неоднозначной прогностической роли макрофагов, ассоциированных с опухолью, в новообразованиях желудочно-кишечного тракта.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Grohmann U., Fallarino F., Puccetti P. Tolerance, DCs and tryptophan: much ado about IDO. *Trends Immunol* 2003;24(5):242–8. DOI: 10.1016/s1471-4906(03)00072-3.
- King N.J., Thomas S.R. Molecules in focus: indoleamine 2,3-dioxygenase. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(12):2167–72. DOI: 10.1016/j.biocel.2007.01.004.
- Takikawa O. Biochemical and medical aspects of the indoleamine 2,3-dioxygenase-initiated L-tryptophan metabolism. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;338(1):12–9. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.09.032.
- Chen J.Y., Li C.F., Kuo C.C. et al. Cancer/stroma interplay via cyclooxygenase-2 and indoleamine 2,3-dioxygenase promotes breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 2014;16(4):410. DOI: 10.1186/s13058-014-0410-1.
- Heeren A.M., van Dijk I., Berry D. et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase expression pattern in the tumor microenvironment predicts clinical outcome in early stage cervical cancer. *Front Immunol* 2018;9:1598. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01598.
- Ino K., Yamamoto E., Shibata K. et al. Inverse correlation between tumoral indoleamine 2,3-dioxygenase expression and tumor-infiltrating lymphocytes in endometrial cancer: its association with disease progression and survival. *Clin Cancer Res* 2008;14(8):2310–7. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4144.
- Inaba T., Ino K., Kajiyama H. et al. Role of the immunosuppressive enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase in the progression of ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2009;115(2):185–92. DOI: 10.1016/j.ygyno.2009.07.015.
- Wainwright D.A., Balyasnikova I.V., Chang A.L. et al. IDO expression in brain tumors increases the recruitment of regulatory T cells and negatively impacts survival. *Clin Cancer Res* 2012;18(22):6110–21. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2130.
- Chevolet I., Speeckaert R., Schreuer M. et al. Characterization of the *in vivo* immune network of IDO, tryptophan metabolism, PD-L1, and CTLA-4 in circulating immune cells in melanoma. *Oncoimmunology* 2015;4(3):e982382. DOI: 10.4161/2162402X.2014.982382.
- Schalper K.A., Carvajal-Hausdorf D., McLaughlin J. et al. Differential expression and significance of PD-L1, IDO-1, and B7-H4 in human lung cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(2):370–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0150.
- Ohnishi K., Komohara Y., Fujiwara Y. et al. Suppression of TLR4-mediated inflammatory response by macrophage class A scavenger receptor (CD204). *Biochem Biophys Res Commun* 2011;411(3):516–22. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.06.161.
- Sun Y., Xu S. Tumor-associated CD204-positive macrophage is a prognostic marker in clinical stage I lung adenocarcinoma. *Biomed Res Int* 2018;2018:8459193. DOI: 10.1155/2018/8459193.
- Qiu X., Chen D., Liu Y. et al. Relationship between stromal cells and tumor spread through air spaces in lung adenocarcinoma. *Thorac Cancer* 2019;10(2):256–67. DOI: 10.1111/1759-7714.12945.
- Rakae M., Busund L.R., Jamaly S. et al. Prognostic value of macrophage phenotypes in resectable non-small cell lung cancer assessed by multiplex immunohistochemistry. *Neoplasia* 2019;21(3):282–93. DOI: 10.1016/j.neo.2019.01.005.
- Lu C.F., Huang C.S., Tjiu J.W. et al. Infiltrating macrophage count: a significant predictor for the progression and prognosis of oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *Head Neck* 2010;32(1):18–25. DOI: 10.1002/hed.21138.
- Helm O., Held-Feindt J., Grage-Griebenow E. et al. Tumor-associated macrophages exhibit pro- and anti-inflammatory properties by which they impact on pancreatic tumorigenesis. *Int J Cancer* 2014;135(4):843–61. DOI: 10.1002/ijc.28736.
- Kovaleva O.V., Rashidova M.A., Samoilova D.V. et al. Immunosuppressive phenotype of esophagus tumors stroma. *Anal Cell Pathol (Amst)*

- 2020;2020:5424780.
DOI: 10.1155/2020/5424780.
18. Wu H., Gong J., Liu Y. Indoleamine 2,3-dioxygenase regulation of immune response (Review). *Mol Med Rep* 2018;17(4):4867–73.
DOI: 10.3892/mmr.2018.8537.
19. Astigiano S., Morandi B., Costa R. et al. Eosinophil granulocytes account for indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated immune escape in human non-small cell lung cancer. *Neoplasia* 2005;7(4):390–6.
DOI: 10.1593/neo.04658.
20. Zhang M.L., Kem M., Mooradian M.J. et al. Differential expression of PD-L1 and IDO1 in association with the immune microenvironment in resected lung adenocarcinomas. *Mod Pathol* 2019;32(4):511–23.
DOI: 10.1038/s41379-018-0160-1.
21. Zhao Q., Kuang D.M., Wu Y. et al. Activated CD69+ T cells foster immune privilege by regulating IDO expression in tumor-associated macrophages. *J Immunol* 2012;188(3):1117–24.
DOI: 10.4049/jimmunol.1100164.

Вклад авторов

О.В. Ковалева: анализ данных литературы, статистическая обработка данных, написание текста статьи;
М.А. Рашидова, Д.В. Самойлова, П.А. Подлесная: получение экспериментальных данных;
В.В. Мочальникова: подбор материала для исследования, получение экспериментальных данных;
А.Н. Грачев: формирование концепции исследования, написание текста статьи.

Authors' contribution

O.V. Kovaleva: analysis of literature data, statistical data processing, article writing;
M.A. Rashidova, D.V. Samoilova, P.A. Podlesnaya: obtaining experimental data;
V.V. Mochalnikova: selection of material for research, obtaining experimental data;
A.N. Gratchev: developing the research design; article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.В. Ковалева / O.V. Kovaleva: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>
М.А. Рашидова / M.A. Rashidova: <https://orcid.org/0000-0002-3267-4232>
Д.В. Самойлова / D.V. Samoilova: <https://orcid.org/0000-0001-5639-0835>
П.А. Подлесная / P.A. Podlesnaya: <https://orcid.org/0000-0003-2312-5546>
В.В. Мочальникова / V.V. Mochalnikova: <https://orcid.org/0000-0001-5275-7134>
А.Н. Грачев / A.N. Gratchev: <https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>

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

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-29-09069).
Financing. The study was performed with the support of Russian Foundation for Basic Research (grant No. 18-29-09069).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Compliance with patient rights and principles of bioethics. All patients gave written informed consent to participate in the study.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-47-51



Генетические факторы прогноза неoadъювантной химиолучевой терапии при раке прямой кишки

В.А. Григоренко, Е.П. Куликов, С.А. Мерцалов, Ю.Д. Каминский, А.А. Никифоров, А.И. Судаков

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

Контакты: Владимир Андреевич Григоренко moroka1695@yandex.ru

Введение. В последнее время отмечается тенденция к росту заболеваемости раком прямой кишки и снижению среднего возраста пациентов с данной патологией. Это вызывает необходимость персонализации лечения больных.

Цель исследования – оценить ассоциацию полиморфных вариантов некоторых генов с результатами неoadъювантной химиолучевой терапии рака прямой кишки.

Материалы и методы. Произведена оценка полиморфных вариантов генов *MTHFR*, *XPD*, *XRCC1*, *XRCC1*, *P53*, *VEGF*, *EGFR*, *TNF*, *CHEK2* и *MMP1* у 76 пациентов с раком прямой кишки, прошедших предоперационную химиолучевую терапию с последующим хирургическим лечением. Генотипирование выполнялось методом выделения ДНК из лейкоцитов венозной крови с последующим проведением полимеразной цепной реакции с электрофоретической схемой детекции результатов.

Результаты. При проведении статистического анализа ассоциации полиморфных вариантов исследуемых генов с лечебным патоморфозом была отмечена значимость гена *MMP1-1607* (1G >2G) ($p = 0,033$). Также была выявлена ассоциация совместного носительства полиморфных вариантов генов *TNF* (G/A) и *MMP1* (2G/2G с лечебным патоморфозом III–IV степени) ($p = 0,007$).

Заключение. Носительство рецессивного аллеля гена *MMP1* может служить предиктором благоприятного прогноза предоперационной химиолучевой терапии у пациентов с раком прямой кишки.

Ключевые слова: рак прямой кишки, полиморфизм генов, колоректальный рак, неoadъювантная химиолучевая терапия

Для цитирования: Григоренко В.А., Куликов Е.П., Мерцалов С.А. и др. Генетические факторы прогноза неoadъювантной химиолучевой терапии при раке прямой кишки. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):47–51. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-47-51.

Genetic prognostic factors for neoadjuvant chemoradiotherapy for colorectal cancer

V.A. Grigorenko, E.P. Kulikov, S.A. Mertsalov, Yu.D. Kaminsky, A.A. Nikiforov, A.I. Sudakov

I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ministry of Health of Russia; 9 Vysokovoltnaya St., 390026 Ryazan, Russia

Contacts: Vladimir Andreevich Grigorenko moroka1695@yandex.ru

Introduction. There has been a recent trend toward a gradual increase in the incidence of rectal cancer and a decrease in the average age of patients. These changes interpret the need to personalize treatment in each case.

Objective – to evaluate the association of polymorphic variants of some genes with the results of neoadjuvant chemoradiotherapy of rectal cancer.

Materials and methods. We analyzed polymorphic variants of *MTHFR*, *XPD*, *XRCC1*, *XRCC1*, *P53*, *VEGF*, *EGFR*, *TNF*, *CHEK2* and *MMP1* genes in 76 patients with rectal cancer who underwent preoperative chemoradiation therapy followed by surgical treatment. Genotyping was performed by DNA isolation from venous blood leukocytes of the subjects followed by polymerase chain reaction with electrophoretic detection of the result.

Results. Statistical analysis of the association of polymorphic variants of the studied genes with the treatment pathomorphosis revealed significance in relation to the *MMP1-1607* gene (1G >2G) ($p = 0.033$). There was also an association of co-carrying polymorphic variants of *TNF* (G/A) + *MMP1* (2G/2G) genes with grade III–IV therapeutic pathomorphosis ($p = 0.007$).

Conclusion. Carriage of recessive allele of *MMP1* gene can be a predictor of favorable prognosis of preoperative chemoradiotherapy in patients with rectal cancer.

Key words: rectal cancer, gene polymorphism, colorectal cancer, neoadjuvant chemoradiotherapy

For citation: Grigorenko V.A., Kulikov E.P., Mertsalov S.A. et al. Genetic prognostic factors for neoadjuvant chemotherapy for colorectal cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):47–51. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-47-51.

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак является одной из самых распространенных злокачественных опухолей в мире. Сегодня в понятие «колоректальный рак» входят опухоли ободочной и прямой кишки [1, 2].

С каждым годом в Российской Федерации регистрируется свыше 75 тыс. новых случаев колоректального рака, большинство из них приходится на рак прямой кишки (РПК). В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями населения нашей страны он занимает 5-е место среди мужчин и 4-е – среди женщин.

По данным А.Д. Каприна и соавт., в последнее десятилетие наблюдается тенденция к постепенному росту заболеваемости РПК, что связано с модификацией факторов риска, изменением образа жизни современного человека. В последнее время отмечается уменьшение среднего возраста заболевших, что подчеркивает социальную значимость данной проблемы [3].

К настоящему моменту разработан определенный стандарт лечения РПК, предполагающий применение неoadъювантной химиолучевой терапии (ХЛТ) у пациентов с местно-распространенным РПК стадий T_{любое} N12M0 (рак ниже- и среднеампулярного отделов прямой кишки), T24N0M0 (рак нижеампулярного отдела прямой кишки), T3c4N0M0 (рак среднеампулярного отдела прямой кишки), T_{любое} N2M0, T4bN02M0 (рак верхнеампулярного отдела прямой кишки) с последующим хирургическим лечением и адъювантной химиотерапией в зависимости от результатов предоперационной ХЛТ [4–7].

В настоящее время проводятся исследования, посвященные выявлению взаимосвязи колоректального рака с генетическими особенностями пациентов [8, 9]. Однако факторы и методы, которые позволили бы спрогнозировать ответ опухоли на предоперационное лечение еще до его начала, до сих пор четко не определены. D. Dayde и соавт. предложили использовать ряд биомаркеров, позволяющих персонализировано подходить к лечению пациентов с РПК. В свою очередь, авторы обозначили значимость исследования однонуклеотидных полиморфизмов [10].

Цель исследования – оценка ассоциации полиморфных вариантов некоторых генов с результатами неoadъювантной ХЛТ РПК.

Были поставлены следующие задачи:

- оценить полиморфные варианты генов *MTHFR* (Ala222Val), *XPB* (Lis751Gln), *XRCC1* (Arg194Trp), *XRCC1* (Arg399Gln), *P53* (Pro47Ser), *VEGF* (C654G), *EGFR* (A2073T), *TNF* (G308A), *CHEK2* (Ile157Thr) и *MMP1-1607* (1G >2G) у пациентов с РПК, полу-

чивших комбинированное лечение (неoadъювантную ХЛТ и хирургическое лечение);

- выявить ассоциацию полиморфных вариантов генов *MTHFR* (Ala222Val), *XPB* (Lis751Gln), *XRCC1* (Arg194Trp), *XRCC1* (Arg399Gln), *P53* (Pro47Ser), *VEGF* (C654G), *EGFR* (A2073T), *TNF* (G308A), *CHEK2* (Ile157Thr) и *MMP1-1607* (1G >2G) с лечебным патоморфозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова Минздрава России и Областного клинического онкологического диспансера Рязанской области.

Проводилось генотипирование, направленное на определение полиморфных вариантов следующих генов: *MTHFR* (Ala222Val), *XPB* (Lis751Gln), *XRCC1* (Arg194Trp), *XRCC1* (Arg399Gln), *P53* (Pro47Ser), *VEGF* (C654G), *EGFR* (A2073T), *TNF* (G308A), *CHEK2* (Ile157Thr), *MMP1-1607* (1G >2G).

Определение генотипа выполнялось на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова Минздрава России методом выделения ДНК из лейкоцитов венозной крови обследуемых с последующим проведением полимеразной цепной реакции с электрофоретической схемой детекции результата (тест-система «SNP-экспресс», НПФ «Литех», Россия).

Критериями включения в исследование служили: локализация опухоли в прямой кишке; верифицированный диагноз «рак прямой кишки»; полноценная предоперационная ХЛТ (курс дистанционной конформной лучевой терапии в комбинации с химиотерапией фторпиримидинами; лучевая терапия (разовая очаговая доз – 1,8–2 Гр; суммарная очаговая доза (СОД) – 44 Гр на зоны регионарного метастазирования; СОД на первичную опухоль – 50–54 Гр)); хирургическое лечение после неoadъювантного этапа в сроки от 6 до 12 нед; оценка лечебного патоморфоза в операционном материале по Г.А. Лавниковой.

Критерии исключения из исследования: локализация опухоли в других отделах толстого кишечника; неполноценная предоперационная ХЛТ; нарушение сроков хирургического лечения; невозможность оценки лечебного патоморфоза в послеоперационном материале; проведение химиотерапии на неoadъювантном этапе перед или после ХЛТ.

Проведена оценка полиморфизма генов у 76 больных РПК. В дальнейшем в соответствии с представленными критериями было отобрано 44 пациента:

из них 20 (45,5 %) женщин и 24 (54,5 %) мужчины. Средний возраст больных в исследуемых группах составил 59 лет.

Диагноз верифицирован у 100 % пациентов. Гистологически все опухоли были представлены аденокарциномами, преимущественно умеренной дифференцировки (G2, 70,5 %).

Распределение пациентов по стадиям в соответствии с классификацией Tumor, Nodus and Metastasis 8-го пересмотра: у 8 пациентов – I стадия, у 14 – II стадия, у 17 – III стадия и у 5 – IV стадия.

Хирургическое пособие оказывалось в объеме передней резекции, низкой передней резекции и брюшно-промежностной экстирпации прямой кишки с частичной или тотальной мезоректумэктомией.

Пациенты были разделены на 2 группы: со слабым ответом на ХЛТ (лечебный патоморфоз I–II степени) – 24 больных и с выраженным эффектом (лечебный патоморфоз III–IV степени) – 20 больных.

Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью программы Excel 2010 (MS, США), а также онлайн-калькуляторов (<https://medstatistic.ru/calculators.html>). Описание и сравнение различий качественных признаков в независимых группах проводились с использованием критерия χ^2 Пирсона. При анализе статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По гендерному и возрастному признакам различий в исследуемых группах ($p > 0,05$) выявлено не было.

В ходе статистического анализа ассоциации наличия полиморфных вариантов исследуемых генов с уровнем лечебного патоморфоза была получена значимость в отношении гена *MMP1-1607* (1G > 2G) (табл. 1).

Таблица 1. Ассоциация между наличием полиморфных вариантов гена *MMP1* и степенью лечебного патоморфоза ($n = 44$)

Table 1. Association between the presence of polymorphic variants of the *MMP1* gene and the degree of therapeutic pathomorphosis ($n = 44$)

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	χ^2
1G/1G	3	0	$p = 0,033$
1G/2G	15	8	
2G/2G	6	12	

В отношении других генов аналогичной ассоциации получено не было ($p > 0,05$) (табл. 2–5).

В ходе дальнейшего анализа была выявлена ассоциация совместного носительства полиморфных вариантов генов *TNF* (G/A) и *MMP1* (2G/2G) со степенью лечебного патоморфоза III–IV степени (табл. 6).

Таблица 2. Ассоциация между наличием полиморфных вариантов генов *XPD*, *XRCC1* и степенью лечебного патоморфоза ($n = 44$)

Table 2. Association between the presence of polymorphic variants of *XPD*, *XRCC1* genes and the degree of therapeutic pathomorphosis ($n = 44$)

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	χ^2
<i>XPD</i> (Lis751Gln)			
Lis/Lis	3	8	$p > 0,05$
Lis/Gln	11	6	
Gln/Gln	10	6	
<i>XRCC1</i> (Arg194Trp)			
Arg/Arg	19	12	$p > 0,05$
Arg/Trp	5	8	
Trp/Trp	0	0	
<i>XRCC1</i> (Arg399Gln)			
Arg/Arg	7	2	$p > 0,05$
Arg/Gln	17	17	
Gln/Gln	0	1	

Таблица 3. Ассоциация между наличием полиморфных вариантов генов *CHEK2*, *MTHFR* и степенью лечебного патоморфоза ($n = 44$)

Table 3. Association between the presence of polymorphic variants of *CHEK2*, *MTHFR* genes and the degree of therapeutic pathomorphosis ($n = 44$)

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	χ^2
<i>CHEK2</i> (Ile157Thr)			
Ile/Ile	19	15	$p > 0,05$
Ile/Thr	4	5	
Thr/Thr	1	0	
<i>MTHFR</i> (Ala222Val)			
Ala/Ala	8	8	$p > 0,05$
Ala/Val	14	10	
Val/Val	2	2	

ОБСУЖДЕНИЕ

Носительство минорного аллеля гена *MMP1* совместно с гетерозиготным аллелем гена *TNF*, по-видимому, связано с лучшим эффектом предоперационной ХЛТ. Вероятно, это вызвано индуцирующим влиянием цитокина TNF α на матриксные металлопротеиназы, кодируемые геном *MMP1*, которые дестабилизируют

Таблица 4. Ассоциация между наличием полиморфных вариантов генов *VEGF*, *EGFR* и степенью лечебного патоморфоза ($n = 44$)

Table 4. Association between the presence of polymorphic variants of *VEGF*, *EGFR* genes and the degree of therapeutic pathomorphosis ($n = 44$)

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	χ^2
<i>VEGF</i> (C654G)			
C/C	3	8	$p > 0,05$
C/G	15	8	
G/G	6	4	
<i>EGFR</i> (A2073T)			
A/A	3	1	$p > 0,05$
A/T	12	11	
T/T	9	7	

Таблица 5. Ассоциация между наличием полиморфных вариантов генов *P53*, *TNF* и степенью лечебного патоморфоза ($n = 44$)

Table 5. Association between the presence of polymorphic variants of *P53*, *TNF* genes and the degree of therapeutic pathomorphosis ($n = 44$)

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	χ^2
<i>TNF</i> (G308A)			
G/G	12	5	$p > 0,05$
G/A	12	15	
A/A	0	0	
<i>P53</i> (Pro47Ser)			
Pro/Pro	19	16	$p > 0,05$
Pro/Ser	5	4	
Ser/Ser	0	0	

межклеточный матрикс и способствуют более глубокому и обширному распространению повреждающего воздействия ионизирующего излучения в совокупности с применением радиомодификатора. Это, в свою оче-

Таблица 6. Ассоциация между одновременным наличием полиморфных вариантов генов *TNF* (G/A) и *MMP1* (2G/2G) и эффективностью химиолучевой терапии

Table 6. Association between simultaneous presence of *TNF* (G/A) and *MMP1* (2G/2G) polymorphic gene variants and efficacy of chemoradiotherapy

Генотип Genotype	Патоморфоз I–II степени Degree of pathomorphosis I–II	Патоморфоз III–IV степени Degree of pathomorphosis III–IV	χ^2
<i>TNF</i> (G/A) + <i>MMP1</i> (2G/2G)	3	10	$p = 0,007$
Другие варианты Other options	21	10	

редь, проявляется в виде обширного некроза опухолевых клеток, о котором свидетельствует лечебный патоморфоз III–IV степени по Г.А. Лавниковой. Несмотря на отсутствие статистической значимости, у пациентов с доминантным гомозиготным аллелем гена *CHEK2* наблюдается тенденция к увеличению степени лечебного патоморфоза после ХЛТ по сравнению с пациентами, несущими полиморфный вариант гена. Это может быть связано с небольшой выборкой больных.

Поиск новых и углубленное изучение уже описанных биомаркеров позволит увеличить эффективность неoadъювантной ХЛТ у пациентов с РПК и персонализировать лечение данного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружены статистически значимая ассоциация носительства рецессивного полиморфного варианта гена *MMP1-1607* (1G > 2G), а также его носительство в совокупности с гетерозиготным аллелем гена *TNF* (G308A) с лучшим ответом на предоперационное лечение. Это позволяет использовать выявление полиморфных вариантов этих генов для персонализации лечения больных РПК.

По результатам исследования был получен патент № 2732336 «Способ прогнозирования эффективности неoadъювантной ХЛТ при аденокарциноме прямой кишки».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М., 2019. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant tumors of Russia in 2018 (morbidity and mortality). Moscow, 2019. 250 p. (In Russ.).]
- American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts & Figures 2017–2019. Atlanta, Ga: American Cancer Society, 2017.
- Федоров В.Э., Поделякин К.А. Эпидемиологические аспекты колоректального рака. Медицинский альманах 2017;4(49):145–8. [Fedorov V.E., Podelyakin K.A. Epidemiological aspects of colorectal cancer. Medicinskij

- al'manah = Medical almanac 2017;4(49):145–8. (In Russ.).
- Babaei M., Jansen L., Balavarca Y. et al. Neoadjuvant therapy in rectal cancer patients with clinical stage II to III across European countries: Variations and Outcomes. *Clin Colorectal Cancer* 2018;17(1):e129–e142. DOI: 10.1016/j.clcc.2017.09.002.
 - Abraha I., Aristei C., Palumbo I. et al. Preoperative radiotherapy and curative surgery for the management of localised rectal carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev* 2018;10(10):CD002102. DOI: 10.1002/14651858.CD002102.pub3.
 - Petrelli F., Coiru A., Lonati V. et al. A systematic review and meta-analysis of adjuvant chemotherapy after neoadjuvant treatment and surgery for rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2015;30(4):447–57. DOI: 10.1007/s00384-014-2082-9.
 - Breugom A.J., van Gijn W., Muller E.W. et al. Adjuvant chemotherapy for rectal cancer patients treated with preoperative (chemo)radiotherapy and total mesorectal excision: a Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG) randomized phase III trial. *Ann Oncol* 2015;26(4):696–701. DOI: 10.1093/annonc/mdu560.
 - Куликов Е.П., Мерцалов С.А., Никифоров А.А. и др. Полиморфизм гена *XPD* при колоректальном раке. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)* 2019;7(3):340–8. [Kulikov E.P., Mertsalov S.A., Nikiforov A.A. et al. Polymorphism of *XPD* gene in colorectal cancer. *Nauka molodyh (Eruditio Juvenium) = Science of the young (Eruditio Juvenium)* 2019;7(3):340–8. (In Russ.)]. DOI: 10.23888/HMJ201973340-348.
 - Куликов Е.П., Судаков А.И., Никифоров А.А. и др. Значение полиморфизма генов в развитии колоректального рака. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова* 2020;28(2):127–34. [Kulikov E.P., Sudakov A.I., Nikiforov A.A. et al. Significance of gene polymorphism in development of colorectal cancer. *Rossiiskij mediko-biologicheskij vestnik im. akademika I.P. Pavlova = I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald* 2020;28(2):127–34. (In Russ.)]. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2020282127-134.
 - Daye D., Tanaka I., Jain R. et al. Predictive and prognostic molecular biomarkers for response to neoadjuvant chemoradiation in rectal cancer. *Int J Mol Sci* 2017;18(3):573. DOI: 10.3390/ijms18030573.

Вклад авторов

В.А. Григоренко: работа с пациентами, сбор лабораторного материала, работа с первичным материалом, проведение статистического анализа, анализ литературы, оформление работы, формулировка выводов;
 Е.П. Куликов: постановка целей и задач, работа с пациентами, работа с первичным материалом, проведение статистического анализа, анализ литературы, формулировка выводов, научное редактирование;
 С.А. Мерцалов: работа с пациентами, работа с первичным материалом, сбор лабораторного материала, проведение статистического анализа, формулировка выводов;
 Ю.Д. Каминский: работа с пациентами, работа с первичным материалом, проведение статистического анализа, формулировка выводов;
 А.И. Судаков: работа с пациентами, работа с первичным материалом, сбор лабораторного материала, проведение статистического анализа;
 А.А. Никифоров: сбор лабораторного материала, работа с первичным материалом, проведение лабораторных исследований.

Authors' contribution

V.A. Grigorenko: work with patients, collection of laboratory material, work with primary material, statistical analysis, literature analysis, design of the work, formulation of conclusions;
 E.P. Kulikov: setting goals and objectives, working with patients, working with primary material, conducting statistical analysis, analyzing the literature, drawing conclusions;
 S.A. Mertsalov: working with patients, working with primary material, collecting laboratory material, conducting statistical analysis, drawing conclusions;
 Yu.D. Kaminsky: working with patients, working with primary material, conducting statistical analysis, drawing conclusions;
 A.I. Sudakov: working with patients, working with primary material, collecting laboratory material, conducting statistical analysis;
 A.A. Nikiforov: collecting laboratory material, working with primary material, conducting laboratory research.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.А. Григоренко / V.A. Grigorenko: <https://orcid.org/0000-0002-4664-5723>
 Е.П. Куликов / E.P. Kulikov: <https://orcid.org/0000-0003-4926-6646>
 С.А. Мерцалов / S.A. Mertsalov: <https://orcid.org/0000-0002-8804-3034>
 Ю.Д. Каминский / Yu.D. Kaminsky: <https://orcid.org/0000-0001-8785-3687>
 А.И. Судаков / A.I. Sudakov: <https://orcid.org/0000-0002-6791-9797>
 А.А. Никифоров / A.A. Nikiforov: <https://orcid.org/0000-0002-7364-7687>

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

Финансирование. Исследование проведено при поддержке ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.
Financing. The study was performed with the support of I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ministry of Health of Russia.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова Минздрава России (протокол № 5 от 06.11.2015). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Compliance with patient rights and principles of bioethics. The study protocol was approved by the local ethics committee of I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ministry of Health of Russia (protocol No 5 of 06.11.2015). All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 21.04.2021. **Принята к публикации:** 10.06.2021.
Article submitted: 21.04.2021. **Accepted for publication:** 10.06.2021.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-52-59



Клинико-морфологический портрет опухолей с микросателлитной нестабильностью

А.А. Мусаелян^{1,2}, В.Д. Назаров¹, А.С. Будникова¹, С.В. Лапин¹, С.Л. Воробьев³, В.Л. Эмануэль¹, А.А. Захаренко¹, С.В. Орлов^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии»; Россия, 354376 Краснодарский край, Сочи, Адлерский р-н, с. Веселое, ул. Мира, 177;

³ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики»; Россия, 192283 Санкт-Петербург, ул. Олеко Дундича, 8, корп. 2

Контакты: Арам Ашотович Мусаелян a.musaelyan8@gmail.com

Введение. Микросателлиты представляют собой короткие tandemные повторы нуклеотидов, изменение длины которых играет ключевую роль в патогенезе различных злокачественных новообразований. Такое изменение называется микросателлитной нестабильностью. Она обусловлена aberrациями в генах системы исправления ошибок репликации. Опухоли с микросателлитной нестабильностью – это особый подтип злокачественных новообразований, характеризующийся высокой чувствительностью к ингибиторам контрольных точек иммунитета.

Цель исследования – определение характерных клинико-морфологических паттернов опухолей различных локализаций с микросателлитной нестабильностью.

Материалы и методы. В исследование включены 512 пациентов со злокачественными новообразованиями различных локализаций. У 359 из них был колоректальный рак, у 57 – рак тела матки, у 57 – рак желудка. Определение статуса микросателлитной нестабильности проводилось на основе метода полимеразной цепной реакции с использованием 5 мононуклеотидных маркеров: BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, NR-27.

Результаты. Показатели распространенности микросателлитной нестабильности при колоректальном раке, раке тела матки и желудка составили 6,4; 22,8 и 1,75 % соответственно. Для пациентов с колоректальным раком с микросателлитной нестабильностью характерны более молодой возраст ($p = 0,023$), правосторонняя локализация опухоли ($p < 0,0001$), наличие первично-множественных опухолей ($p = 0,0299$), муцинозного компонента ($p < 0,0001$), лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль ($p < 0,0001$), Крон-подобная реакция ($p = 0,0006$), а также низкая степень дифференцировки ($p = 0,0025$). У больных раком тела матки с микросателлитной нестабильностью были обнаружены эндометриоидная аденокарцинома ($p = 0,047$), лимфоциты, инфильтрующие опухоль ($p = 0,0022$) и крибриформный тип строения опухолей ($p = 0,0011$).

Заключение. Общим паттерном для колоректального рака и рака тела матки является наличие лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль. Клинико-морфологические особенности новообразований данных локализаций позволяют выявить пациентов с опухолями с микросателлитной нестабильностью и провести в дальнейшем иммунотерапию.

Ключевые слова: микросателлитная нестабильность, колоректальный рак, рак тела матки, рак желудка, иммунотерапия

Для цитирования: Мусаелян А.А., Назаров В.Д., Будникова А.С. и др. Клинико-морфологический портрет опухолей с микросателлитной нестабильностью. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):52–9. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-52-59.

Clinical and morphological portrait of tumors with microsatellite instability

A.A. Musaelyan^{1,2}, V.D. Nazarov¹, A.S. Budnikova¹, S.V. Lapin¹, S.L. Vorobyev³, V.L. Emanuel¹, A.A. Zakharenko¹, S.V. Orlov^{1,2}

¹I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University; 6–8 L'va Tolstogo St., Saint Petersburg 197022, Russia;

²Research Institute of Medical Primatology; 177 Mira St., Veseloe village, Sochi, Adler District, Krasnodar Territory 354376, Russia;

³National Center of Clinical Morphological Diagnostics; Bld. 2, 8 Oleko Dundicha St., Saint Petersburg 2192283, Russia

Contacts: Aram Ashotovich Musaelyan a.musaelyan8@gmail.com

Background. Microsatellites are short tandem nucleotide repeats, the change in length of which plays a key roles in the pathogenesis of various malignant neoplasms. This change is called microsatellite instability. It is caused by aberrations

in the genes of DNA mismatch repair system. Tumors with microsatellite instability are a special subtype regardless of location and are characterized by high sensitivity to immune checkpoint inhibitors.

Objective – determination of characteristic clinical and morphological patterns of tumors of various localizations with microsatellite instability.

Materials and methods. The study included 512 patients with malignant tumors of different localizations. Of these, 359 patients were diagnosed with colorectal cancer, 57 with uterine body cancer, and 57 with stomach cancer. Determination of the status of microsatellite instability was performed by a PCR-based method using 5 mononucleotide markers: BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, NR-27.

Results. The prevalence of microsatellite instability in colorectal cancer, uterine neoplasm and gastric cancer was 6.4; 22.8 and 1.75 %, respectively. Patients with MSI-positive colorectal cancer are characterized by younger age ($p = 0.023$), right-sided localization of the tumor ($p < 0.0001$), presence of multiple primary tumors ($p = 0.0299$), poorly differentiation ($p = 0.0025$), mucinous component ($p < 0.0001$), tumor-infiltrating lymphocytes ($p < 0.0001$) and Crohn-like reaction ($p = 0.0006$). Patients with uterine neoplasms with microsatellite instability are characterized by the presence of endometrial adenocarcinoma ($p = 0.047$), as well as the presence of tumor-infiltrating lymphocytes ($p = 0.0022$) and cribriform growth ($p = 0.0011$).

Conclusion. A common pattern for colorectal cancer and uterine neoplasms is the presence of tumor-infiltrating lymphocytes. Certain clinical and morphological features of tumors of these localizations will more accurately identify candidates for microsatellite instability status determination for further immunotherapy.

Key words: microsatellite instability, colorectal cancer, uterine neoplasms, gastric cancer, immunotherapy

For citation: Musaelyan A.A., Nazarov V.D., Budnikova A.S. et al. Clinical and morphological portrait of tumors with microsatellite instability. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):52–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-52-59.

ВВЕДЕНИЕ

Микросателлиты представляют собой короткие tandemные повторы, которые состоят из последовательности 1–6 нуклеотидов [1]. Данные последовательности распространены по всему геному и расположены чаще всего в его нетранскрибируемых и нетранслируемых участках. Ввиду нестабильности структуры микросателлитов их последовательность подвержена изменениям за счет ошибочного спаривания со скользящей цепью, которое обуславливает увеличение длины tandemных повторов в процессе репликации [2].

В нормальных тканях за распознавание и восстановление изменений в повторяющихся последовательностях ДНК, возникающих в процессе репликации, отвечает система исправления ошибок репликации (mismatch repair system, MMR) [3]. Белки этой системы представлены продуктами 7 генов: *MLH1*, *MLH3*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *PMS1* и *PMS2* [4]. При появлении герминативных мутаций в этих генах развивается синдром Линча, характеризующийся повышенным риском возникновения злокачественных образований различных локализаций. Однако чаще всего мутации в данных генах возникают при злокачественном перерождении тканей и являются соматическими. В результате происходит инактивация белков MMR [5]. Также она осуществляется путем эпигенетических изменений (гиперметилирование гена *MLH1* при спорадическом колоректальном раке) или путем РНК-интерференции за счет микроРНК [5].

Таким образом, опухоли, несущие дефектную систему MMR, характеризуются изменением длины микросателлитов. Это явление называется микросателлитной нестабильностью (МСН). Данный феномен чаще встречается при колоректальном раке и раке

тела матки, однако в ходе недавних исследований было показано, что МСН наблюдается при большинстве типов злокачественных новообразований [6].

Микросателлитная нестабильность играет ключевую роль в патогенезе опухолей, несущих дефектную систему MMR. Данное явление, возникающее в регуляторной области генов-супрессоров, таких как *TGFRB2*, *BAX* и *IGF2R*, приводит к их инактивации и, как следствие, к нарушению функции ключевых внутриклеточных сигнальных путей [7]. Появление МСН в регуляторной области генов представляет собой мутацию сдвига рамки считывания. Это приводит к появлению неоантигенов, известных также как пептиды сдвига рамки считывания [1]. Данные молекулы презентуются на поверхности опухолевых клеток с помощью человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) и представляют собой истинные опухолеспецифичные антигены. Презентация антигена обуславливает распознавание и уничтожение опухолевых клеток за счет иммунного ответа, связанного с цитотоксическими Т-лимфоцитами [2].

Исходя из иммуноопосредованной роли МСН-позитивных опухолей, ряд исследователей показали, что применение ингибиторов контрольных точек иммунитета, в частности анти-PD-1-антител, у пациентов с метастатическим новообразованием, имеющим фенотип МСН, демонстрирует высокие показатели частоты объективного ответа при различных локализациях опухоли [8]. В 2017 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) одобрило применение анти-PD1-ингибитора пембролизумаба для лечения больных с метастатическим поражением с МСН вне зависимости от локализации злокачественного новообразования. Несмотря на введение

данного маркера в практические рекомендации, существует необходимость поиска ключевых паттернов опухолей с МСН для более точного выявления пациентов с данным типом новообразований. Это обусловлено тем, что МСН-позитивные опухоли немногочисленны, и в основном заболевание имеет спорадический характер [9].

Цель исследования – определение характерных клинико-морфологических особенностей опухолей различных локализаций с фенотипом МСН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 512 пациентов с верифицированными злокачественными новообразованиями различной локализации. Все образцы представлены блоками тканей, фиксированными 10 % забуференным формалином, дегидратированными в изопропиловом спирте и залитыми в парафин. В их числе 359 образцов колоректального рака, 57 – рака тела матки, 57 – рака желудка, 12 – рака поджелудочной железы, 9 – рака шейки матки, 7 – рака пищевода, 6 – рака яичников, 5 – опухолей не выявленной первичной локализации. Клинико-эпидемиологические данные больных, включенных в исследование, представлены в табл. 1. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на сбор биологического материала, клинических данных и проведение молекулярно-генетического исследования.

Экстракция ДНК. С целью увеличения количества опухолевых клеток в исследуемом материале предварительно перед выделением ДНК проводилась макро-диссекция образцов. Экстракция ДНК из парафиновых блоков осуществлялась с помощью набора для очистки геномной ДНК QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Далее определялась концентрация ДНК и оценивалось наличие контаминации в элюированной ДНК с помощью соотношения A260/A280 с использованием спектрофотометра BioDrop UV/VIS (SERVA, Германия).

Микросателлитная нестабильность. Микросателлитная нестабильность определялась с помощью панели, содержащей 5 поли-А-моноклеотидных повторов, таких как BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 и NR-27. Данная панель включена в рекомендации по тестированию образцов на наличие феномена МСН Европейского общества медицинской онкологии (European Society for Medical Oncology, ESMO) [10]. Преимуществами данной панели являются высокая чувствительность и специфичность вне зависимости от локализации опухоли, а также возможность тестирования без использования парного контрольного образца ДНК, полученного из неизменной ткани или лейкоцитов периферической крови исследуемого пациента, ввиду низкой полиморфности размера данных маркеров.

Выбор последовательности праймеров для каждого моноклеотидного маркера и создание условий

Таблица 1. Клинико-морфологические данные пациентов, включенных в исследование

Table 1. Clinical and morphological data of patients included in the study

Показатель Parameter	Значение Value
Колоректальный рак (n = 359) Colorectal cancer (n = 359)	
Возраст: Age:	
медиана (ИКР) median (IQR)	64 (57–70)
до 60 лет, n (%) under 60 y. o., n (%)	124 (34,5)
60 лет и старше, n (%) 60 y. o and older, n (%)	235 (65,5)
Локализация опухоли, n (%): Tumor localization, n (%):	
правосторонняя right-sided	69 (19,2)
левосторонняя left-sided	290 (80,8)
Стадия, n (%): Stage, n (%):	
I	56 (15,6)
II	118 (32,9)
III	79 (22,0)
IV	106 (29,5)
Рак тела матки (n = 57) Uterine body cancer (n = 57)	
Возраст: Age:	
медиана (ИКР) median (IQR)	59 (55–68)
до 60 лет, n (%) under 60 y. o., n (%)	27 (47,4)
60 лет и старше, n (%) 60 y. o. and older, n (%)	30 (52,6)
Стадия по FIGO, n (%): FIGO stage, n (%):	
I	23 (40,3)
II	14 (24,6)
III	12 (21,1)
IV	8 (14,0)
Вовлеченность лимфатических узлов (категория N), n (%): Lymph node involvement (category N), n (%):	
pN0	49 (86,0)
pN+	8 (14,0)
Рак желудка (n = 57) Stomach cancer (n = 57)	
Возраст: Age:	
медиана (ИКР) median (IQR)	60 (51–66)
до 60 лет, n (%) under 60 y. o., n (%)	40 (70,2)
60 лет и старше, n (%) 60 y. o and older, n (%)	17 (29,8)

Окончание табл. 1
End of table 1

Показатель Parameter	Значение Value
Локализация опухоли, <i>n</i> (%): Tumor localization, <i>n</i> (%):	
проксимальная proximal	29 (35,1)
дистальная distal	9 (49,1)
неуточненная unspecified	28 (15,8)
Стадия, <i>n</i> (%): Stage, <i>n</i> (%):	
I	1 (1,8)
II	15 (26,3)
III	12 (21,1)
IV	29 (50,9)
Злокачественные новообразования других локализаций (<i>n</i> = 39) Malignant neoplasms of other localizations (<i>n</i> = 39)	
Локализация, <i>n</i> (%): Localization, <i>n</i> (%):	
поджелудочная железа pancreas	12 (30,8)
шейка матки cervix	9 (23,1)
пищевод esophagus	7 (17,9)
яичники ovaries	6 (15,4)
опухоли не выявленной первичной локализации cancer of unknown primary	5 (12,8)
Гистология, <i>n</i> (%): Histology, <i>n</i> (%):	
протоковая аденокарцинома ductal adenocarcinoma	12 (30,8)
аденокарцинома, без дополнительного уточнения adenocarcinoma, without further clarification	4 (10,3)
серозная цистаденокарцинома serous cystadenocarcinoma	6 (15,4)
плоскоклеточная карцинома squamous cell carcinoma	17 (43,5)
Наличие отдаленных метастазов, <i>n</i> (%): Presence of distant metastases, <i>n</i> (%):	
да yes	30 (76,9)
нет no	9 (23,1)

Примечание. ИКР – интерквартильный размах; FIGO – Международная федерация гинекологии и акушерства (International Federation of Gynecology and Obstetrics).
Note. IQR – Interquartile range; FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics.

проведения мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществлялись в соответствии с работой А. Goel и соавт. [11]. Однако для увеличения чувствительности мультиплексной ПЦР мононуклео-

тидные маркеры были разделены на 2 реакции: ВАТ (ВАТ-25, ВАТ-26) и NR (NR-21, NR-24, NR-27). Для ПЦР применялись реактивы из набора Encyclo Plus PCR kit («Евроген», Россия). Продукт, полученный в ходе ПЦР, был разделен и идентифицирован с помощью капиллярного электрофореза с использованием генетического анализатора ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США). Полученные данные проанализированы с использованием программного обеспечения GeneMarker® (SoftGenetics, США). Микросателлитный маркер считался нестабильным, если его размер отличался от контрольного образца более чем на 2 нуклеотида. Микросателлитная нестабильность в образцах опухоли определялась при наличии 2 нестабильных маркеров из 5 исследуемых мононуклеотидных повторов. В соответствии с рекомендациями ESMO, разделение МСН на уровни (низкий, высокий) не проводилось [10]. Геном опухоли, имеющий менее 2 нестабильных маркеров, был охарактеризован как микросателлитная стабильность (МСС).

Статистический анализ. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы GraphPad Prism (версия 8.2.1, GraphPad Software Inc., США). Для сравнения качественных признаков был использован точный тест Фишера. Статистическая значимость различий между группами по количественным признакам проводилось с помощью U-критерия Манна–Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Колоректальный рак. Распространенность МСН при колоректальном раке составила 6,4 % ($n = 23$). На рис. 1 представлены примеры фрагментного анализа образцов колоректального рака с МСС и МСН.

У пациентов с правосторонней локализацией опухоли МСН обнаруживалась чаще, чем у пациентов с левосторонней локализацией новообразования: 17,4 % (12/69) против 3,8 % (11/290) случаев соответственно ($p < 0,0001$) (табл. 2). Средний возраст пациентов с МСН и МСС составил 59 и 64 года соответственно ($p = 0,023$). Также у больных колоректальным раком наличие МСН статистически значимо ассоциировано с первично-множественным характером опухолевого роста ($p = 0,0299$). Характерной особенностью опухолей, несущих МСН, является наличие муцинозного компонента ($p < 0,0001$). Распространенность МСН в опухолях с данным морфологическим паттерном составила 19,6 % (11/56). Образцы с МСН чаще представляли собой низкодифференцированные карциномы: G3 – 12,1 % (14/116) против G1 – 2–3,7 % (9/243) ($p = 0,0025$). Также отличительной особенностью опухолей с МСН является наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и Крон-подобной реакции ($p < 0,0001$ и $p = 0,0006$ соответственно). Статистически значимых различий между статусом МСН и полом, стадией заболевания, локализацией метастазов,

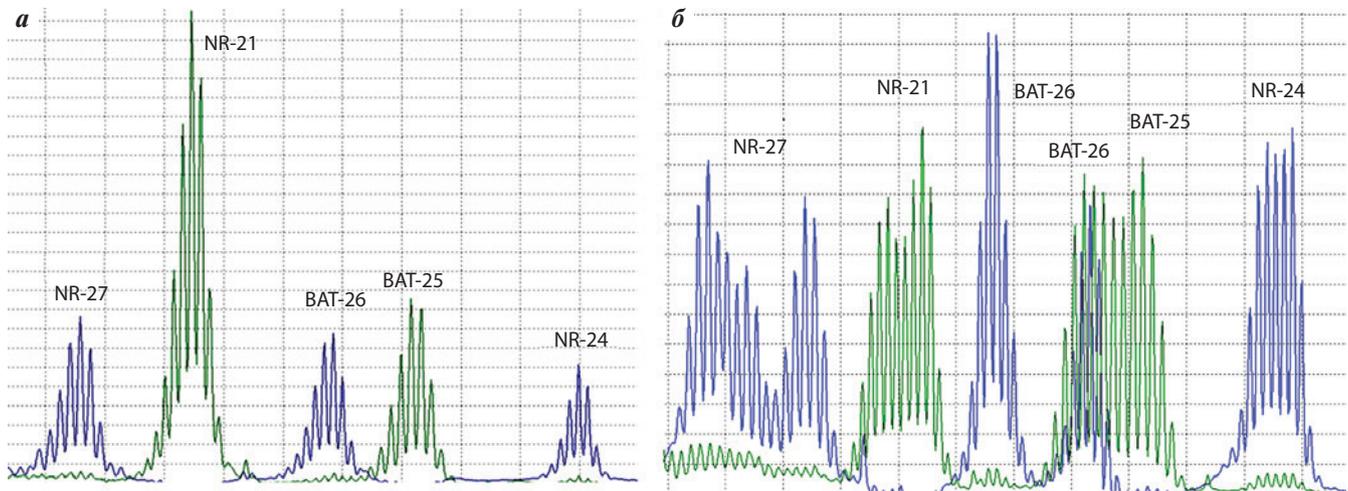


Рис. 1. Пример электрофореграммы пациентов с микросателлитной стабильностью (а) и с микросателлитной нестабильностью (б). На электрофореграмме больного с микросателлитной нестабильностью все исследуемые мононуклеотидные маркеры нестабильны
Fig. 1. An example of an electrophoregram of a patients with microsatellite stability (a) and microsatellite instability (b). On electrophoregram of the patient with microsatellite instability, all studied mononucleotide markers are unstable

поражением лимфатических узлов (категория N), наличием лимфоваскулярной и периневральной инвазий выявлено не было.

Рак тела матки. Распространенность МСН при раке тела матки составила 22,8 % ($n = 13$) (табл. 3). Микросателлитная нестабильность достоверно чаще отмечалась при эндометриоидной аденокарциноме ($p = 0,047$). Распространенность МСН при данном гистологическом типе составила 30 % (12/40). В свою очередь, она была также обнаружена у 1 пациента с серозной карциномой (12,5 %; 1/8). Характерной особенностью опухолей тела матки с МСН является наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов ($p = 0,0022$). Также МСН ассоциирована с крибриформным паттерном роста опухоли ($p = 0,0011$). Статистически значимой связи между статусом МСН и возрастом, наличием первично-множественной опухоли, лимфоваскулярной и периневральной инвазий, стадией по классификации Международной федерации гинекологии и акушерства, размером опухоли, степенью ее дифференцировки, локализацией метастазов, поражением лимфатических узлов не продемонстрировано.

Рак желудка. Распространенность МСН при раке желудка составила 1,75 % ($n = 1$), а при дистальной локализации рака желудка – 12,5 % (1/8). Микросателлитная нестабильность была обнаружена у женщины 85 лет (возраст на момент верификации диагноза) со злокачественной опухолью привратника T3N1M1 (IV стадия) с метастазом в правое легкое (гистологически низкодифференцированная аденокарцинома). МСН-позитивный случай характеризовался наличием опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов. В свою очередь, в МСН-отрицательных опухолях данная патоморфологическая особенность наблюдалась в 1,8 % (1/56) случаев.

В образцах рака поджелудочной железы ($n = 12$), шейки матки ($n = 9$), пищевода ($n = 7$), яичников ($n = 6$),

опухоли не выявленной первичной локализации ($n = 5$) МСН не обнаружена.

ОБСУЖДЕНИЕ

Злокачественные новообразования, имеющие статус МСН, представляют собой особый подтип опухолей вне зависимости от локализации процесса. Эти опухоли обладают высоким потенциалом чувствительности к проводимой терапии анти-PD1-антителами. Определение статуса МСН при новообразованиях различной локализации позволит идентифицировать пациентов, у которых иммунотерапия окажется наиболее эффективной, и избежать ее применения у больных без ответа на данное лечение. Ввиду того, что большинство опухолей с МСН имеют спорадический характер, отбор пациентов согласно критериям Amsterdam II и Bethesda при синдроме Линча для определения статуса МСН является недостаточным [12]. Таким образом, существует необходимость поиска клинко-морфологических паттернов опухолей с МСН для каждой локализации.

Распространенность МСН при колоректальном раке составила 6,4 %. По данным ряда зарубежных авторов, общая распространенность МСН оказалась выше и составила около 15 % [7]. Такое различие обусловлено преобладанием в нашем исследовании пациентов с левосторонней локализацией опухоли, при которой отмечается довольно низкая распространенность МСН [13]. Это нашло отражение и в результатах исследования. Так, частота встречаемости МСН у пациентов с правосторонней локализацией опухоли составила 17,4 %. Клиническими особенностями колоректального рака с МСН также являются более молодой возраст пациента на момент постановки диагноза и наличие первично-множественных опухолей. Это, вероятно, обусловлено преобладанием случаев синдрома Линча среди пациентов с положительным

Таблица 2. Сравнение основных клинико-морфологических данных пациентов с колоректальным раком в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности

Table 2. Comparison of main clinical and morphological data of patients with colorectal cancer depending on the status of microsatellite instability

Показатель Parameter	МСН, абс. (%) (n = 23) MSI, abs. (%) (n = 23)	МСС, абс. (%) (n = 336) MSS, abs. (%) (n = 336)	p
Локализация опухоли: Tumor localization:			
правосторонняя right-sided	12 (52,2)	57 (17,0)	<0,0001
левосторонняя left-sided	11 (47,8)	279 (83,0)	
Наличие первично-множественных опухолей: The presence of primary multiple tumors:			
да yes	2 (8,7)	6 (1,8)	0,0299
нет no	21 (91,3)	330 (98,2)	
Степень дифференцировки: Grade:			
G ₁₋₂	9 (39,1)	234 (69,6)	0,0025
G ₃	14 (60,8)	102 (30,4)	
Наличие муцинозного компонента: Presence of a mucinous component:			
да yes	11 (47,8)	45 (13,4)	<0,0001
нет no	12 (52,2)	291 (86,7)	
Наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов: Presence of tumor-infiltrating lymphocytes:			
да yes	12 (52,2)	17 (5,1)	<0,0001
нет no	11 (47,8)	319 (94,9)	
Крон-подобная реакция: Crohn's-like reaction:			
да yes	4 (17,4)	10 (3,0)	0,0006
нет no	19 (82,6)	326 (97,0)	

Примечание. МСН – микросателлитная нестабильность; МСС – микросателлитная стабильность.

Note. MSI – microsatellite instability; MSS – microsatellite stability.

статусом МСН [14]. Было показано, что характерными морфологическими особенностями опухолей с МСН являются наличие низкой степени дифференцировки

Таблица 3. Клинико-морфологические характеристики пациентов с раком тела матки в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности

Table 3. Clinical and morphological characteristics of patients with uterine neoplasm depending on the status of microsatellite instability

Показатель Parameter	МСН, абс. (%) (n = 13) MSI, abs. (%) (n = 13)	МСС, абс. (%) (n = 44) MSS, abs. (%) (n = 44)	p
Гистология: Histology:			
эндометриоидная аденокарцинома endometrioid adenocarcinoma	12 (92,3)	28 (63,6)	0,047
неэндометриоидная аденокарцинома non-endometrioid adenocarcinoma	1 (7,7)	16 (36,4)	
Наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов: Presence of tumor-infiltrating lymphocytes:			
да yes	10 (76,9)	13 (29,6)	0,0022
нет no	3 (23,1)	31 (70,4)	
Наличие крибриформного паттерна: Presence of cribriform pattern:			
да yes	5 (38,5)	2 (4,5)	0,0011
нет no	8 (61,5)	42 (95,5)	

Примечание. МСН – микросателлитная нестабильность; МСС – микросателлитная стабильность.

Note. MSI – microsatellite instability; MSS – microsatellite stability.

($p = 0,0025$), муцинозного компонента ($p < 0,0001$), опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов ($p < 0,0001$) и Крон-подобной реакции ($p = 0,0006$). Схожие результаты были показаны в работе Д.В. Пашкова и соавт. [15].

Распространенность МСН при раке тела матки составила 22,8 %, что аналогично данным ряда зарубежных исследований: от 20 до 30 % [16]. Опухоли с МСН представляют собой эндометриоидную аденокарциному с наличием опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и крибриформным структурным паттерном. В нескольких зарубежных исследованиях была показана взаимосвязь статуса МСН с глубиной инвазии опухоли в миометрий и степенью ее дифференцировки [17]. Однако в ряде других работ не было обнаружено ассоциаций между статусом МСН и этими морфологическими характеристиками [18].

Также МСН была обнаружена при раке желудка. Распространенность альтерации составила 1,75 %.

По данным литературы, частота встречаемости МСН при данной нозологии варьирует и составляет от 5,6 до 22 % в зависимости от популяции [19, 20]. Более низкие показатели распространенности этого феномена, возможно, обусловлены популяционными особенностями, преобладанием в выборке молодых пациентов с диффузным типом опухоли, а также проксимальной и неуточненной локализацией новообразования.

При других злокачественных новообразованиях МСН не обнаружена ввиду небольшого объема выборки опухолей каждой локализации. Так, согласно исследованию R. Vonneville и соавт., распространенность МСН в опухолях, включенных в наше исследование в группу злокачественных новообразований других

локализаций, варьирует и составляет от 1,2 % при раке поджелудочной железы до 2,6 % при плоскоклеточном раке шейки матки [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Распространенность МСН при колоректальном раке, раке тела матки и желудка составила 6,4; 22,8 и 1,75 % соответственно. Общей морфологической особенностью для колоректального рака и рака тела матки является наличие опухоли-инфильтрирующих лимфоцитов. Определенные клинико-морфологические паттерны опухолей данных локализаций позволят более точно выявлять кандидатов на определение статуса МСН для дальнейшего проведения иммунотерапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Yang G., Zheng R.-Y., Jin Z.-S. Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019;145(12):2891–9. DOI: 10.1007/s00432-019-03053-4.
- Li K., Luo H., Huang L. et al. Microsatellite instability: a review of what the oncologist should know. *Cancer Cell Int* 2020;20:16. DOI: 10.1186/s12935-019-1091-8.
- Greenson J.K., Huang S.C., Herron C. et al. Pathologic predictors of microsatellite instability in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009;33(1):126–33. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31817ec2b1.
- De'angelis G.L., Bottarelli L., Azzoni C. et al. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Biomed* 2018;89(9-S):91–101. DOI: 10.23750/abm.v89i9-S.7960.
- Cortes-Ciriano I., Lee S., Park W.Y. et al. A molecular portrait of microsatellite instability across multiple cancers. *Nat Commun* 2017;8:15180. DOI: 10.1038/ncomms15180.
- Vanderwalde A., Spetzler D., Xiao N. et al. Microsatellite instability status determined by next-generation sequencing and compared with PD-L1 and tumor mutational burden in 11,348 patients. *Cancer Med* 2018;7(3):746–56. DOI: 10.1002/cam4.1372.
- Nojadeh J.N., Sharif S.B., Sakhinia E. Microsatellite instability in colorectal cancer. *EXCLI J* 2018;17:159–68. DOI: 10.17179/excli2017-948.
- Puccini A., Battaglin F., Iaia M.L. et al. Overcoming resistance to anti-PD1 and anti-PD-L1 treatment in gastrointestinal malignancies. *J Immunother Cancer* 2020;8(1):e000404. DOI: 10.1136/jitc-2019-000404.
- Bonneville R., Krook M.A., Kautto E.A. et al. Landscape of Microsatellite Instability Across 39 Cancer Types. *JCO Precis Oncol* 2017;2017:PO.17.00073. DOI: 10.1200/PO.17.00073.
- Luchini C., Bibeau F., Ligtenberg M.J.L. et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol* 2019;30(80):1232–43. DOI: 10.1093/annonc/mdz116.
- Goel A., Nagasaka T., Hamelin R., Boland C.R. An optimized pentaplex PCR for detecting DNA mismatch repair-deficient colorectal cancers. *PLoS One* 2010;5(2):e9393. DOI: 10.1371/journal.pone.0009393.
- Yamamoto H., Watanabe Y., Maehata T. et al. Microsatellite instability in cancer: a novel landscape for diagnostic and therapeutic approach. *Arch Toxicol* 2020;94(10):3349–57. DOI: 10.1007/s00204-020-02833-z.
- Samstein R.M., Chan T.A. Dissecting microsatellite instability in colorectal cancer: One size does not fit all. *Genome Med* 2017;9(1):45. DOI: 10.1186/s13073-017-0438-9.
- Vogt A., Schmid S., Heinimann K. et al. Multiple primary tumours: Challenges and approaches, a review. *ESMO Open* 2017;2(2):e000172. DOI: 10.1136/esmoopen-2017-000172.
- Пашков Д.В., Венина А.Р., Иванцов А.О. и др. Рак толстой кишки с микросателлитной нестабильностью у пожилых больных: роль иммунодефицита и клинические особенности. *Сибирский онкологический журнал* 2020;19(1):31–9. [Pashkov D.V., Venina A.R., Ivantsov A.O. et al. Microsatellite-unstable colorectal cancer in elderly patients: clinical features and the role of immunodeficiency. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal = Siberian journal of oncology* 2020;19(1):31–9. (In Russ.)]. DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-1-31-39.
- Kunitomi H., Banno K., Yanokura M. et al. New use of microsatellite instability analysis in endometrial cancer (Review). *Oncol Lett* 2017;14(3):3297–301. DOI: 10.3892/ol.2017.6640.
- Hashmi A.A., Mudassir G., Hashmi R.N. et al. Microsatellite instability in endometrial carcinoma by immunohistochemistry, association with clinical and histopathologic parameters. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2019;20(9):2601–6. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.9.2601.
- Kanopiene D., Vidugiriene J., Valuckas K.P. et al. Endometrial cancer and microsatellite instability status. *Open Med (Warsaw, Poland)* 2014;10:70–6. DOI: 10.1515/med-2015-0005.
- Kim J.Y., Shin N.R., Kim A. et al. Microsatellite instability status in gastric cancer: A reappraisal of its clinical significance and relationship with mucin phenotypes. *Korean J Pathol* 2013;47(1):28–35. DOI: 10.4132/KoreanJPathol.2013.47.1.28.
- Ratti M., Lampis A., Hahne J.C. et al. Microsatellite instability in gastric cancer: molecular bases, clinical perspectives, and new treatment approaches. *Cell Mol Life Sci* 2018;75(22):4151–62. DOI: 10.1007/s00018-018-2906-9.

Вклад авторов

А.А. Мусаелян: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, оформление иллюстративного материала, статистический анализ, написание текста статьи, выполнение исследования микросателлитной нестабильности;
В.Д. Назаров: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста статьи;
А.С. Будникова: обзор публикаций по теме статьи, сбор данных, анализ полученных данных, написание текста статьи;
С.В. Лапин, С.Л. Воробьев: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, научное редактирование статьи;
В.Л. Эмануэль, А.А. Захаренко: анализ полученных данных, научное редактирование статьи;
С.В. Орлов: идея и разработка дизайна, научное редактирование статьи, руководство исследованием.

Authors' contributions:

A.A. Musaelyan: developing the research design, reviewed relevant literature, design of illustrative material, analysis of the obtained data, statistical analysis, article writing, performing a microsatellite instability study;
V.D. Nazarov: developing the research design, reviewed relevant literature, analysis of the obtained data, article writing;
A.S. Budnikova: reviewed relevant literature, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing;
S.V. Lapin, S.L. Vorobyev: developing the research design, analysis of the obtained data, scientific editing of the article;
V.L. Emanuel, A.A. Zakharenko: analysis of the obtained data, scientific editing of the article;
S.V. Orlov: idea and development the research design, scientific editing of the article, research leadership.

ORCID авторов / ORCID of authors:

А.А. Мусаелян / A.A. Musaelyan: <https://orcid.org/0000-0002-7570-2256>
В.Д. Назаров / V.D. Nazarov: <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>
А.С. Будникова / A.S. Budnikova: <https://orcid.org/0000-0003-3957-3335>
С.В. Лапин / S.V. Lapin: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>
А.А. Захаренко / A.A. Zakharenko: <https://orcid.org/0000-0002-8514-5377>
С.В. Орлов / S.V. Orlov: <https://orcid.org/0000-0001-6080-8042>

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.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. All patients gave written informed consent to participate in the study.

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. **Бланк сопроводительного письма** (заполненный, подписанный всеми авторами, с подписью руководителя и круглой печатью учреждения) отсканировать и загрузить как дополнительный файл при подаче рукописи в редакцию (в формате *.pdf или *.jpg). Файл назвать «... (фамилия, инициалы) первого автора. Сопроводительное письмо». Для каждой указанной в рукописи организации необходимо представить отдельное сопроводительное письмо.

Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

2. Оформление данных о статье и авторах

Первая страница должна содержать:

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

Последняя страница должна содержать:

- Сведения об авторе, ответственном за связь с редакцией:
 - фамилия, имя, отчество полностью,
 - занимаемая должность,
 - ученая степень, ученое звание,
 - персональный международный идентификатор ORCID (подробнее: <http://orcid.org/>),
 - персональный идентификатор в РИНЦ (подробнее: http://elibrary.ru/projects/science_index/author_tutorial.asp),
 - контактный телефон,
 - 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»),
- одобрение протокола исследования комитетом по биоэтике (с указанием номера и даты протокола),

- информированное согласие пациентов (для статей с авторскими исследованиями и описаниями клинических случаев),
- при наличии финансирования исследования – указать его источник (грант и т.д.),
- благодарности (раздел не является обязательным).

7. Иллюстративный материал

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

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

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

Все **рисунки** должны быть пронумерованы и снабжены 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.