

УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
ЖУРНАЛ



*Хромогранин А и хромогранин В
у больных нейроэндокринными
опухольями*

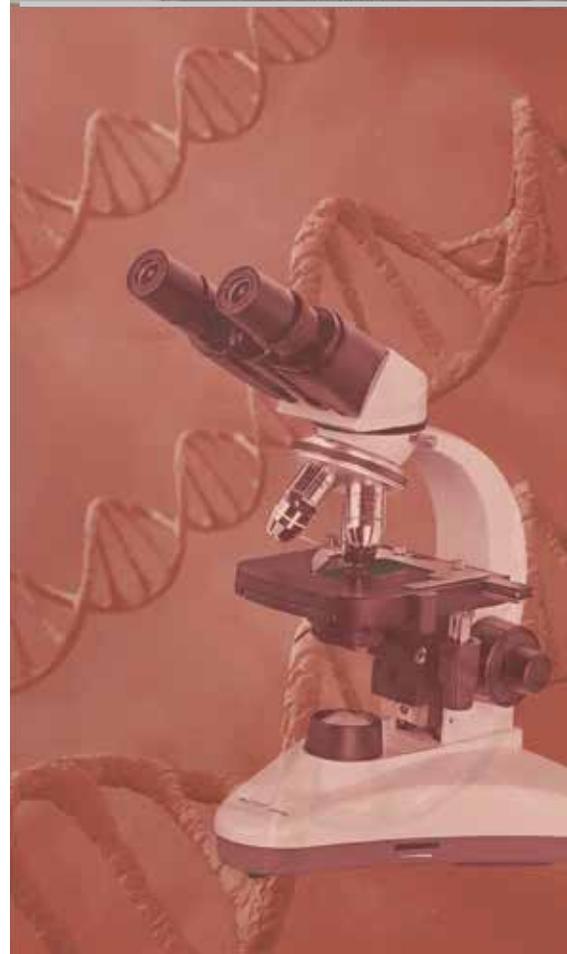
*Маркеры вируса Эпштейна–Барр
у больных раком носоглотки*

*Роль мутаций в гене NF1
в спорадическом канцерогенезе*

*Циркулирующие предиктивные
маркеры ответа на ингибиторы
контрольных точек иммунитета*

*Глиобластома: молекулярно-
генетический портрет
и стратегии лечения*

ТОМ 8 № 3
2021



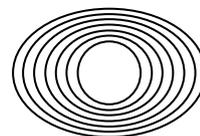
Журнал «Успехи молекулярной онкологии» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук. Журнал включен в Научную электронную 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
3'21

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 Р.В. Журавлева
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. № 3. 1–76.
Сдано в печать: 00.04.2021.
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2021.
Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 93562.
Отпечатано в типографии
«Мэйл Текнолоджи». 105082,
Москва, Переведеновский пер., 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)

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

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

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

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

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

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

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

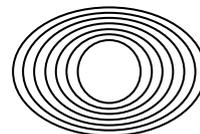
The journal is included in the Scientific Electronic Library and the Russian Science Citation Index (RSCI) and has an impact factor; it is registered in the CrossRef, its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

 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

3 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 R.V. Zhuravleva
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. ΦС77-57560
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. 3. 1–76.

Submitted: 00.04.2021.

© 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 University of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia)

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

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

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)

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Н.В. Любимова, Ю.С. Тимофеев, А.В. Лебедева, Н.Е. Кушлинский*
Сравнительное исследование хромогранина А и хромогранина В у больных с нейроэндокринными опухолями желудка и поджелудочной железы 8
- К.В. Смирнова, Н.Б. Сенюта, И.В. Ботезату, А.В. Игнатова, Т.Е. Душенькина, А.А. Золотарев, А.В. Лихтенштейн, В.Э. Гурцевич*
Маркеры вируса Эпштейна–Барр в оценке клинического состояния российских больных раком носоглотки 14

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

- Р.Н. Мустафин*
Роль мутаций в гене *NF1* в спорадическом канцерогенезе 25
- А.А. Мусаелян, А.Л. Акопов, С.В. Лапин, В.Д. Назаров, Д.И. Филиппов, В.Л. Эмануэль, С.В. Орлов*
Циркулирующие предиктивные маркеры ответа на ингибиторы контрольных точек иммунитета при немелкоклеточном раке легкого 34
- В.В. Тихонова, Ю.П. Финашутина, Л.А. Кесаева*
Рецептор эстрогенов ER α и киназа LYN: участие в механизмах канцерогенеза и использование в качестве мишеней в таргетной терапии при онкологических заболеваниях 44
- Г.П. Генс, В.Д. Санникович, В.А. Милейко, А.А. Лебедева*
Глиобластома: молекулярно-генетический портрет и современные терапевтические стратегии лекарственного лечения 60

EXPERIMENTAL REPORTS

- N.V. Lyubimova, Yu.S. Timofeev, A.V. Lebedeva., N.E. Kushlinskii*
Comparative assay of chromogranin A and chromogranin B in patients with pancreatic and gastric neuroendocrine tumors 8
- K.V. Smirnova, N.B. Senuta, I.V. Botezatu, A.V. Ignatova, T.E. Dushenkina, A.A. Zolotarev, A.V. Lichtenstein, V.E. Gurtsevich*
Markers of Epstein–Barr virus in clinical assessment of Russian patients with nasopharyngeal cancer 14

REVIEWS

- R.N. Mustafin*
The role of mutations in *NFI* gene in sporadic carcinogenesis 25
- A.A. Musaelyan, A.L. Akopov, S.V. Lapin, V.D. Nazarov, D.I. Phillipov, V.L. Emanuel, S.V. Orlov*
Circulating predictive markers of immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer 34
- V.V. Tikhonova, Y.P. Finashutina, L.A. Kesaeva*
LYN kinase and estrogen receptor ER α : involvement in carcinogenesis and potential therapeutic target for tumors 44
- G.P. Guens, V.D. Sanikovich, V.A. Mileyko, A.A. Lebedeva*
Glioblastoma: a molecular genetic portrait and modern therapeutic strategies for drug treatment 60

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-8-13



Сравнительное исследование хромогранина А и хромогранина В у больных с нейроэндокринными опухолями желудка и поджелудочной железы

Н. В. Любимова, Ю. С. Тимофеев, А. В. Лебедева, Н. Е. Кушлинский

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

Контакты: Нина Васильевна Любимова biochimia@yandex.ru

Введение. Иммуноферментный анализ биохимических маркеров является одним из важнейших методов диагностики нейроэндокринных опухолей (НЭО). Общепризнанным маркером данной патологии служит хромогранин А (ХгА), а комплементарным – хромогранин В (ХгВ).

Цель исследования – изучить ХгВ в качестве дополнительного к ХгА биохимического маркера в сыворотке крови больных с НЭО желудка и поджелудочной железы.

Материалы и методы. Были обследованы 79 пациентов с НЭО желудка ($n = 14$) и поджелудочной железы ($n = 65$), а также 42 практически здоровых человека, которые вошли в контрольную группу. Хромогранин А и хромографин В определяли методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем Human Chromogranin B (USCN, Китай) и Chromogranin A NEOLISA (Eurodiagnostica, Швеция).

Результаты. Уровни ХгВ в группе НЭО желудка и поджелудочной железы были значимо выше, чем в контрольной группе. Концентрация ХгВ не зависела от степени распространенности процесса и биологической активности новообразования. ROC-анализ показал, что в общей группе НЭО относительно группы контроля значение площади под кривой (AUC) для ХгВ составило 0,869, а для ХгА – 0,82. По результатам статистического анализа в общей группе больных НЭО при изолированном использовании ХгА и ХгВ имели сопоставимую диагностическую чувствительность, которая повышалась при их совместном применении до 82,5 %. В группе больных НЭО с низким уровнем ХгА (<100 нг/мл) в 53,6 % случаев наблюдалась концентрация ХгВ выше порогового уровня (>15,7 нг/мл).

Заключение. Комплексное применение ХгВ и ХгА при НЭО поджелудочной железы и желудка способно повысить диагностическую эффективность биохимической диагностики. Полученные данные подтверждают значение ХгВ в качестве комплементарного биомаркера НЭО.

Ключевые слова: хромогранин А, хромогранин В, биохимический маркер, нейроэндокринная опухоль, диагностика

Для цитирования: Любимова Н. В., Тимофеев Ю. С., Лебедева А. В., Кушлинский Н. Е. Сравнительное исследование хромогранина А и хромогранина В у больных с нейроэндокринными опухолями желудка и поджелудочной железы. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(3):8–13. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-8-13.

Comparative assay of chromogranin A and chromogranin B in patients with pancreatic and gastric neuroendocrine tumors

N. V. Lyubimova, Yu. S. Timofeev, A. V. Lebedeva., N. E. Kushlinskii

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

Contacts: Nina Vasilyevna Lyubimova biochimia@yandex.ru

Introduction. Immunoenzyme assay of biochemical markers is one of the most important methods for examination of patients with neuroendocrine tumors (NETs). Along with the generally accepted NET marker chromogranin A (CgA), another member of the granin family, chromogranin B (CgB), can serve as a complementary marker.

Objectives. Analysis of CgB as an additional to CgA biochemical marker in the blood serum of patients with gastric and pancreatic neuroendocrine tumors.

Materials and methods. We examined 79 patients with gastric ($n = 14$) and pancreatic ($n = 65$) NETS, and 42 particularly healthy people, who were included in the control group. CgB and CgA were determined with ELISA method using the Human Chromogranin B (USCN, China) and Chromogranin A NEOLISA (Eurodiagnostica, Sweden) test systems.

Results. CgB levels in gastric and pancreatic NETs were significantly higher than in control group. CgB concentrations were independent of tumor spread and its biological activity. ROC analysis in common group of NETs relative to control group showed AUC for CgB = 0.869 and for CgA AUC = 0.82. According to results in common group of NET patients when used isolated, CgA and CgB have comparable diagnostic sensitivity, which increases in complex use to 82.5 %. In the group of NET patients with low levels of CgA (<100 ng/ml), an increase in CgB concentration above the cut-off level (>15.7 ng/ml) was observed in 53.6 % of cases.

Conclusion. The combination of CgB and CgA in gastric and pancreatic NETs could increase the diagnostic efficacy of biochemical diagnostics. The received data confirms the significance of CgB as a complementary biomarker of NETs.

Key words: chromogranin A, chromogranin B, biochemical marker, neuroendocrine tumors, diagnosis

For citation: Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S., Lebedeva A.V., Kushlinskii N.E. Comparative assay of chromogranin A and chromogranin B in patients with pancreatic and gastric neuroendocrine tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(3):8–13. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-8-13.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование уровней циркулирующих маркеров при нейроэндокринных опухолях (НЭО) является одним из важных методов неинвазивной диагностики. Это обусловлено тем, что для данных новообразований характерна специфическая секреторная активность, ассоциированная с гиперпродукцией целого ряда пептидов, гормонов и биогенных аминов, многие из которых формируют определенную клиническую симптоматику [1–4]. Однако в большинстве случаев специфические симптомы при НЭО появляются не сразу, а спустя несколько лет после возникновения первичной опухоли. При этом на момент верификации диагноза пациент зачастую имеет распространенную форму заболевания с метастатическим поражением печени [4].

В настоящее время выделяют 2 основные группы биохимических маркеров НЭО: универсальные, не связанные с определенной симптоматикой, и специфические, ассоциированные с тем или иным гиперфункциональным синдромом [1–6]. Среди универсальных биомаркеров наибольшее значение имеет хромогранин А (ХГА) — белок семейства гранинов, который в настоящее время считается основным маркером НЭО [7–11]. Несмотря на то, что ХГА играет большую роль в биохимической диагностике НЭО различных локализаций, он имеет такие ограничения, как недостаточная чувствительность при локализованных формах заболевания, включая НЭО поджелудочной железы, а также зависимость концентрации в сыворотке крови от наличия сопутствующих заболеваний и получаемых препаратов [2, 4, 5, 12]. Таким образом, необходим поиск дополнительных биохимических маркеров, которые смогут выявить нейроэндокринную природу опухолевого процесса у больных с нормальной секрецией ХГА. Кандидатом на роль такого комплементарного маркера может стать другой член семейства гранинов — хромогранин В (ХГВ), который в отличие от ХГА недостаточно изучен [13–16]. Данная работа является продолжением нашего предыдущего

исследования [17], в котором мы впервые начали изучать секрецию хромогранина В при НЭО поджелудочной железы. Исследование сывороточных концентраций белков семейства гранинов ХГА и ХГВ при нейроэндокринных неоплазиях различного типа позволит проанализировать потенциальную возможность их комплексного применения.

Цель исследования — изучить ХГВ в качестве дополнительного к ХГА биохимического маркера в сыворотке крови больных НЭО желудка и поджелудочной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мы обследовали 79 пациентов с НЭО желудка ($n = 14$) и поджелудочной железы ($n = 65$) в возрасте от 18 до 80 лет (медиана — 60,5 года), среди которых было больше женщин ($n = 60$). По результатам клинического и инструментального обследований у 46 (58,2 %) больных выявлены метастазы в печени и у 24 (30,4 %) подтвержден карциноидный синдром. Верификация диагноза проводилась по данным морфологического исследования материала, полученного в результате биопсии или последующего оперативного вмешательства. Все пациенты на момент обследования не получали специфического лечения.

В группу контроля вошли 42 практически здоровых человека (без онкологических заболеваний) в возрасте от 18 до 85 лет (медиана — 55,0 лет), из них — 28 женщин и 14 мужчин.

Анализ биохимических маркеров проводился в сыворотке крови пациентов с НЭО и практически здоровых людей, взятой натощак из кубитальной вены. Для определения ХГВ применялась стандартизованная иммуноферментная тест-система Human Chromogranin B (USCN, Китай). Анализ ХГА проводился с помощью набора Chromogranin A NEOLISA (Eurodiagnostica, Швеция). Иммуноферментный анализ сыворотки крови выполнялся в полуавтоматическом формате на анализаторе ВЕР 2000 (Siemens, Германия). Анализ данных проведен с помощью пакетов статистических

программ Statistica 10 (расчет достоверности различий по критерию Манна–Уитни, анализ корреляционных взаимосвязей по Спирмену) и SPSS (построение и анализ ROC-кривых).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На 1-м этапе мы проанализировали результаты определения ХгВ и ХгА в сыворотке крови больных НЭО и практически здоровых людей, вошедших в контрольную группу (табл. 1).

Медиана концентрации ХгВ в сыворотке крови в общей группе НЭО была статистически значимо выше, чем в контрольной группе, и превышала ее в 2 раза. Анализ показал, что у больных НЭО желудка и поджелудочной железы уровни ХгВ были значимо выше, чем у практически здоровых людей ($p = 0,0001$ и $p = 0,0000001$). При этом медианы в группах НЭО желудка и поджелудочной железы не различались ($p = 0,4$).

Сравнительный анализ уровней ХгВ при различных клинических вариантах НЭО показал отсутствие

зависимости этого маркера от степени распространенности процесса и биологической активности опухоли. Так, медианы уровней ХгВ как в группе НЭО с карциноидным синдромом, так и без него, были статистически значимо выше, чем в контрольной группе ($p = 0,000002$ и $p = 0,0000001$), в то же время уровни ХгВ в различных группах больных НЭО не различались ($p = 0,1$). Важным моментом, подтверждающим наше предыдущее исследование [17], является относительная независимость значений ХгВ от степени распространенности опухолевого процесса. Медианы концентраций ХгВ достоверно превышали данный показатель в контрольной группе как при НЭО с метастатическим поражением печени ($p = 0,0000001$), так и при локализованных формах заболевания ($p = 0,000011$), однако статистически значимых различий между уровнями этого маркера у пациентов с разной распространенностью процесса выявлено не было ($p = 0,17$).

Также мы проанализировали результаты определения уровня ХгА в исследуемых группах (см. табл. 1).

Таблица 1. Уровни хромогранина А и В в сыворотке крови пациентов с нейроэндокринными опухолями и в контрольной группе

Table 1. Chromogranin A u B levels in the blood serum of patients with neuroendocrine tumors and in the control group

Группа Group	Уровень хромогранина А (нг/мл) Chromogranin A level (ng/ml)			Уровень хромогранина В (нг/мл) Chromogranin B level (ng/ml)		
	Медиана (квартили) Median (quartiles)	Минимум – максимум Minimum – maximum	Отличие от группы контроля, p Difference from control group, p	Медиана (квартили) Median (quartiles)	Минимум – максимум Minimum – maximum	Отличие от группы контроля, p Difference from control group, p
Общая группа нейроэндокринных опухолей Common group of neuroendocrine tumors	193 (68,6–558)	16,5–39226	0,0000001	18,6 (14,3–26,3)	5,9–47,9	0,0000001
Нейроэндокринные опухоли желудка Gastric neuroendocrine tumors	237 (154–368)	89,7–1319	0,0000001	17,5 (12,7–22,9)	7,8–36,0	0,0001
Нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы Pancreatic neuroendocrine tumors	154 (59,5–559)	16,5–39226	0,0000001	19,4 (14,7–26,7)	5,9–47,9	0,0000001
Нейроэндокринные опухоли с карциноидным синдромом Neuroendocrine tumors with carcinoid syndrome	278 (125–1367)	29,7–36217	0,0000001	16,8 (12,6–23,1)	8,2–28,5	0,000002
Нейроэндокринные опухоли без признаков карциноидного синдрома Neuroendocrine tumors without carcinoid syndrome	177 (62,2–368)	16,5–39229	0,0000001	19,6 (15,6–27,6)	5,9–47,9	0,0000001
Нейроэндокринные опухоли с метастазами в печени neuroendocrine tumors with hepatic metastasis	259 (125–1107)	31,4–39226	0,0000001	20,8 (14,8–27,5)	6,2–47,9	0,0000001
Нейроэндокринные опухоли без метастазов в печени Neuroendocrine tumors without hepatic metastasis	100,8 (62,1–284)	16,5–930,4	0,000048	17,6 (12,8–21,5)	10,0–36,5	0,000011
Контрольная группа Control group	54,1 (45,5–68,4)	21,1–147	–	9,6 (7,4–13,7)	3,2–20,2	–

Медианы ХгА как в общей группе НЭО (193 нг/мл), так и в группе НЭО желудка (237 нг/мл) и поджелудочной железы (154 нг/мл) статистически значимо ($p < 0,0001$) превышали данный показатель в контрольной группе (54,1 нг/мл). Дополнительный анализ выявил зависимость уровня ХгА от степени распространенности процесса: медиана концентраций этого хромогранина в группе НЭО с метастазами в печени (259 нг/мл) была выше, чем в группе с локализованными формами данного заболевания (100,8 нг/мл), при этом различия носили статистически значимый характер ($p = 0,0054$).

Для оценки диагностической эффективности ХгВ мы сравнили его с ХгА в общей группе. В нашей выборке положительная корреляционная зависимость уровней ХгА и ХгВ была статистически значимой ($p = 0,0025$), но имела слабо выраженную силу (коэффициент Спирмена = 0,33), что свидетельствует об относительной независимости данных маркеров и возможности их комплементарного использования. По результатам ROC-анализа в общей группе НЭО относительно группы контроля значение площади под кривой (AUC) для ХгВ составило 0,869, а для ХгА – 0,82 (см. рисунок).

При проведении ROC-анализа были получены пороговые значения сывороточных концентраций ХгВ и ХгА с использованием индекса Юдена (J_{\max}), которые применялись для последующей оценки диагностической эффективности этих маркеров по всем анализируемым в нашей работе группам. При пороговом уровне ХгВ 15,7 нг/мл ($J = 0,575$) и диагностической специфичности, полученной в группе контроля, 89,5 % диагностическая чувствительность этого маркера в общей группе НЭО составила 68,8 %. При пороговом уровне ХгА 100 нг/мл ($J = 0,616$) диагностическая специфичность данного маркера в группе контроля со-

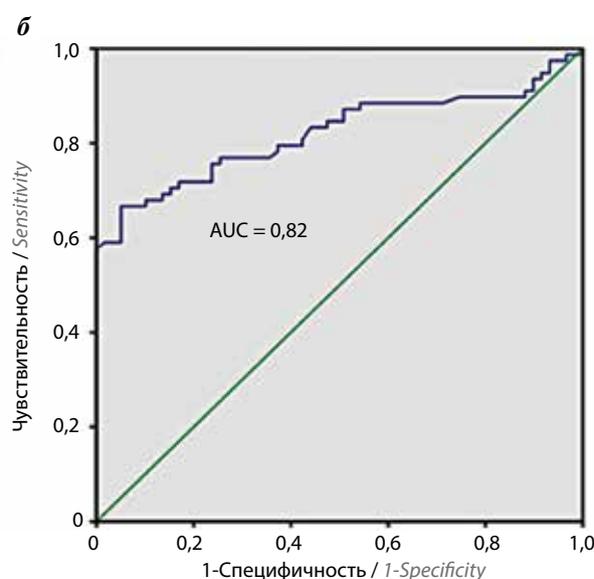
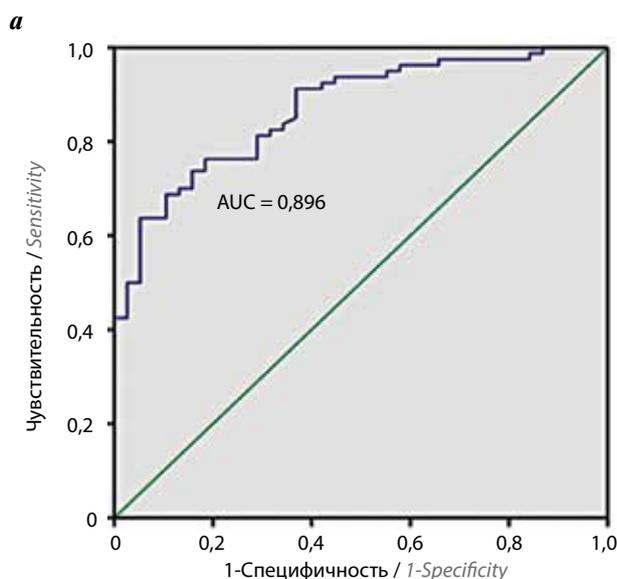
ставила 94,9 %, а диагностическая чувствительность в группе больных НЭО – 66,7 %. Результаты анализа диагностической чувствительности ХгВ и ХгА представлены в табл. 2.

Согласно данным таблицы, в общей группе НЭО при самостоятельном применении ХгА и ХгВ имеют сопоставимую диагностическую чувствительность. При совместном исследовании маркеров с учетом

Таблица 2. Диагностическая чувствительность хромогранина В и А при их изолированном и комплексном исследовании

Table 1. Diagnostic sensitivity of chromogranin B and A with isolated and a complex analysis

Группа Group	Диагностическая чувствительность, % Diagnostic sensitivity, %		
	Хромогранин А Chromogranin A	Хромогранин В Chromogranin B	Хромогранин А + хромогранин В Chromogranin A + chromogranin B
Общая группа нейроэндокринных опухолей Common group of neuroendocrine tumors	66,7	68,8	82,5
Нейроэндокринные опухоли желудка Gastric neuroendocrine tumors	92,9	64,3	100,0
Нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы Pancreatic neuroendocrine tumors	60,3	70,8	78,4



Результаты ROC-анализа диагностической эффективности ХгВ (а) и ХгА (б). ХгВ – хромогранин В; ХгА – хромогранин А
Results of the ROC analysis of the diagnostic efficacy of CgB (a) and CgA (b). CgB – Chromogranin B; CgA – Chromogranin A

полученных нами пороговых уровней частота превышения порога хотя бы одного из данных маркеров достигала 82,5 % в общей группе НЭО при диагностической специфичности, полученной в группе контроля, 80,9 %. Для группы НЭО желудка чувствительность ХгА была выше, чем чувствительность ХгВ. При этом у всех пациентов наблюдалось повышение уровней одного или обоих маркеров, что позволяло достигнуть практически 100-процентной чувствительности с использованием полученных ранее пороговых уровней. В то же время при НЭО поджелудочной железы диагностическая чувствительность ХгВ была выше, чем ХгА. При этом повышение концентрации хотя бы одного маркера было выявлено у 78,4 % больных НЭО поджелудочной железы. Дальнейшая оценка комплексного использования ХгА и ХгВ предполагает обследование большего количества пациентов с НЭО, что позволит провести детальный анализ данных.

Для дополнительной оценки комплементарности ХгВ к ХгА мы провели анализ частоты повышения сывороточной концентрации ХгВ в группе больных НЭО, имеющих низкие уровни ХгА (до 100 нг/мл), с помощью стандартного метода построения частотных таблиц (Frequency tables, Statistica 10). При этом в 53,6 % случаев наблюдалось повышение концентрации ХгВ относительно порогового уровня (15,7 нг/мл), что позволяет использовать его в качестве биомаркера НЭО в тех случаях, когда уровень ХгА находится в пределах референсного интервала.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам исследования, комплексное исследование ХгА и ХгВ является эффективным способом повышения точности диагностики НЭО. Хромогранин А имеет наибольшую диагностическую чувствительность при распространенных формах заболевания, сопровождающихся метастатическим поражением печени и других органов [2, 4, 6, 11]. В то же время чувствительность данного маркера значительно ниже при биологически неактивных панкреатических НЭО [2, 8, 9], что обуславливает необходимость поиска более эффективного комплекса универсальных маркеров для повышения точности биохимической диагностики этого типа неоплазий.

В мировой литературе приводятся данные о возможности комплексного применения ХгА и ХгВ при гастроэнтеропанкреатических НЭО [13–16]. Первые сравнительные исследования различных белков семейства гранинов в качестве биохимических маркеров были проведены М. Stritsberg и соавт. [14]. На основе радиоиммунного анализа авторы выявили повышение циркулирующих уровней не только ХгА, но в большинстве случаев и ХгВ. Позже исследователи

выявили, что диагностическая чувствительность ХгВ в общей группе НЭО не уступала ХгА, при этом уровень ХгВ не зависел от сопутствующей почечной патологии и приема ингибиторов протонной помпы [13].

Исследования в этом направлении были продолжены в 2017 г. японскими учеными М. Miki и соавт., которые для определения ХгВ больных НЭО поджелудочной железы использовали радиоиммунный метод [15]. Диагностическая чувствительность этого маркера при НЭО поджелудочной железы составила 73 % (при специфичности 77 %) и была сопоставима с полученными нами данными (70,8 %), однако в нашей работе специфичность ХгВ была выше (89,5 %). Авторы пришли к выводу, что ХгВ имеет большой потенциал как маркер панкреатических НЭО ранних стадий без метастазов в печени. Это согласуется с нашими данными о независимости уровня маркера от распространенности процесса. Данное исследование продолжает начатую нами в нашей стране работу по изучению перспектив использования ХгВ в диагностике НЭО [17]. Полученные нами результаты на большей выборке больных НЭО поджелудочной железы и дополнительно пациентов с НЭО желудка согласуются с полученными ранее данными о потенциальной эффективности ХгВ как биологического маркера, комплементарного к ХгА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексное применение ХгВ и ХгА при НЭО поджелудочной железы и желудка способно повысить диагностическую эффективность исследования этих маркеров. В соответствии с полученными нами данными уровень ХгВ не зависит от функциональной активности и распространенности новообразований, что позволяет использовать его для выявления нефункционирующих опухолей поджелудочной железы, при которых в 50 % случаев наблюдаются низкий уровень ХгА и отсутствие секреции специфических маркеров, таких как вазоактивный интестинальный пептид, соматостатин, глюкагон. Дополнительный анализ группы больных с низкими уровнями ХгА показал, что более чем у 50 % пациентов выявляется гиперсекреция ХгВ. Это расширяет возможности выявления нейроэндокринной природы процесса у значимой доли больных с нормальными уровнями ХгА.

Результаты нашего исследования подтверждают значимость использования ХгВ и ХгА в качестве биомаркеров в целях оптимизации точности биохимической диагностики НЭО. В то же время остаются неизученными значения ХгВ при других локализациях (легкие, толстая и тонкая кишка) и его перспективы как универсального маркера опухолей нейроэндокринной природы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Oberg K. Circulating biomarkers in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Endocr Relat Cancer* 2011;18(1):17–25. DOI: 10.1530/ERC-10-0280.
- Modlin I.M., Gustafsson B.I., Moss S.F. et al. Chromogranin A – biological function and clinical utility in neuroendocrine tumor disease. *Ann Surg Oncol* 2010;17(9):2427–43. DOI: 10.1245/s10434-010-1006-3.
- Aluri V., Dillon J.S. Biochemical testing in neuroendocrine tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2017;46(3):669–77. DOI: 10.1016/j.ecl.2017.04.004.
- Vinik A.I., Silva M.P., Woltering E.A. et al. Biochemical testing for neuroendocrine tumors. *Pancreas* 2009;38(8):876–89. DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181bc0e77.
- Pulvirenti A., Rao D., McIntyre C.A. et al. Limited role of Chromogranin A as clinical biomarker for pancreatic neuroendocrine tumors. *HPB (Oxford)* 2019;21(5):612–8. DOI: 10.1016/j.hpb.2018.09.016.
- Cheng Y., Sun Z., Bai C., Yan X. et al. Serum chromogranin A levels for the diagnosis and follow-up of well-differentiated non-functioning neuroendocrine tumors. *Tumour Biol* 2016;37(3):2863–9. DOI: 10.1007/s13277-015-4114-7.
- Jun E., Kim S.C., Song K.B. et al. Diagnostic value of chromogranin A in pancreatic neuroendocrine tumors depends on tumor size: A prospective observational study from a single institute. *Surgery* 2017;162(1):120–30. DOI: 10.1016/j.surg.2017.01.019.
- Cheng Y., Sun Z., Bai C. et al. Serum chromogranin A levels for the diagnosis and follow-up of well-differentiated non-functioning neuroendocrine tumors. *Tumour Biol* 2016;37(3):2863–9. DOI: 10.1007/s13277-015-4114-7.
- Ma Z.Y., Gong Y.F., Zhuang H.K. et al. Pancreatic neuroendocrine tumors: a review of serum biomarkers, staging, and management. *World J Gastroenterol* 2020;26(19):2305–22. DOI: 10.3748/wjg.v26.i19.2305.
- Любимова Н.В., Чурикова Т.К., Кушлинский Н.Е. Хромогранин А – биохимический маркер нейроэндокринных опухолей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2015;160(1):657–60. [Lyubimova N.V., Churikova T.K., Kushlinsky N.E. Chromogranin A is a biochemical marker of neuroendocrine tumors. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2015;160(1):657–60. (In Russ.)]. DOI: 10.1007/s10517-016-3254-0.
- Любимова Н.В., Томс М.Г., Чурикова Т.К., Харитиди Т.Ю. Клиническое значение хромогранина А при нейроэндокринных опухолях желудочно-кишечного тракта. *Альманах клинической медицины* 2015;41:35–9. [Lyubimova N.V., Toms M.G., Churikova T.K., Haritidi T.Y. Clinical significance of chromogranin A in neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract. *Al'manah klinicheskoy mediciny = Almanac of Clinical Medicine* 2015;41:35–9. (In Russ.)]. DOI: 10.18786/2072-0505-2015-41-35-39.
- Campana D., Nori F., Piscitelli L. et al. Chromogranin A: is it a useful marker of neuroendocrine tumors? *J Clin Oncol* 2007;25(15):1967–73. DOI: 10.1200/JCO.2006.10.1535.
- Stridsberg M., Eriksson B., Fellstrom B. et al. Measurement of chromogranin B can serve as a complement to chromogranin A. *Regulatory Peptides* 2007;193:80–3. DOI: 10.1016/j.regpep.2006.10.008.
- Stridsberg M., Oberg K., Li Q. et al. Measurement of chromogranin A, chromogranin B (secretogranin I), chromogranin C (secretogranin II) and pancreastatin in plasma and urine from patients with carcinoid tumours and endocrine pancreatic tumours. *Journal of endocrinology* 1995;144(1):49–59. DOI: 10.1677/joe.0.1440049.
- Miki M., Tetuhide I., Hijoka M. et al. Utility of chromogranin B as a biomarker in Japanese patients with pancreatic neuroendocrine tumors. *Jpn J Clin Oncol* 2017;47(6):520–8. DOI: 10.1093/jjco/hyx032.
- Bech P.R., Martin N.M., Ramachandran R., Bloom S.R. The biochemical utility of chromogranin A, chromogranin B and cocaine – and amphetamine-regulated transcript for neuroendocrine neoplasia. *Ann Clin Biochem* 2014;51(1):8–21. DOI: 10.1177/0004563213489670.
- Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С., Лебедева А.В., Кушлинский Н.Е. Хромогранин А и хромогранин В при нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы. *Медицинский алфавит* 2020;(8):26–8. [Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S., Lebedeva A.V., Kushlinsky N.E. Chromogranin A and chromogranin B in neuroendocrine tumors of the pancreas. *Medicinskij alfavit = Medical Alphabet* 2020;8:26–8. (In Russ.)]. DOI: 10.33667/2078-5631-2020-8-26-28.

Вклад авторов

Н.В. Любимова: разработка дизайна исследования, написание текста статьи;
 Ю.С. Тимофеев: проведение иммуноферментного анализа, статистический анализ, написание текста статьи;
 А.В. Лебедева: сбор и обработка биологического материала, написание текста рукописи;
 Н.Е. Кушлинский: разработка дизайна исследования, редактирование текста статьи.

Authors' contributions

N.V. Lyubimova: developed the study design, article writing;
 Yu.S. Timofeev: immunoenzyme assay performing, statistical analysis, article writing;
 A.V. Lebedeva: collecting and processing of biological materials, article writing;
 N.E. Kushlinsky: developed the study design, text editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Н.В. Любимова / N.V. Lyubimova: <https://orcid.org/0000-0003-0430-2754>
 Ю.С. Тимофеев / Yu.S. Timofeev: <https://orcid.org/0000-0001-9305-6713>
 А.В. Лебедева / A.V. Lebedeva: <https://orcid.org/0000-0001-5881-1795>
 Н.Е. Кушлинский / N.E. Kushlinsky: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

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

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

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.

Статья поступила: 09.06.2021. **Принята к публикации:** 07.09.2021.
Article submitted: 09.06.2021. **Accepted for publication:** 07.09.2021.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-14-24



Маркеры вируса Эпштейна–Барр в оценке клинического состояния российских больных раком носоглотки

К.В. Смирнова^{1,2}, Н.Б. Сенюта¹, И.В. Ботезату¹, А.В. Игнатова^{3,4}, Т.Е. Душенькина¹,
А.А. Золотарев³, А.В. Лихтенштейн¹, В.Э. Гурцевич¹

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

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1;

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1;

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

Контакты: Ксения Валерьевна Смирнова skv.lab@yandex.ru

Введение. В эндемичных и неэндемичных по раку носоглотки (РНГ) регионах мира в одинаковой степени широко распространено инфицирование населения вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ). Высокие показатели заболеваемости РНГ в эндемичных странах и низкие в неэндемичных предполагают наличие различных механизмов и условий возникновения опухоли и, возможно, различную клиническую значимость ВЭБ-ассоциированных маркеров для данного новообразования. Однако значимость этих маркеров для определения РНГ в неэндемичных регионах до сих пор остается малоизученной.

Цель исследования – определить клиническую значимость титров IgG/IgA-антител к капсидному антигену ВЭБ и концентраций ДНК этого вируса в плазме крови больных в качестве диагностических и мониторинговых маркеров РНГ в неэндемичном регионе России.

Материалы и методы. Титры ВЭБ-специфических антител определяли методом непрямой иммунофлуоресценции, а концентрацию вирусной ДНК в плазме измеряли с помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Объектами исследования стали больные РНГ ($n = 96$), а в группы контроля вошли доноры крови ($n = 171$) и пациенты с другими опухолями головы и шеи ($n = 33$).

Результаты. Титры IgG/IgA-антител к капсидному антигену ВЭБ, являясь важным диагностическим маркером рака носоглотки, не всегда коррелировали с клиническим состоянием больных. Гуморальный ответ на возникающие события часто запаздывал из-за инерции иммунной системы. Показатели же концентрации ДНК ВЭБ в плазме крови пациентов четко отражали динамику патологического процесса, снижались до фоновых значений в состоянии ремиссии и возрастали при прогрессировании заболевания. В отличие от эндемичных регионов корреляция между изучаемыми маркерами ВЭБ и клиническими проявлениями болезни, оцениваемыми в соответствии с классификацией TNM (Tumor, Nodus and Metastasis), нами не обнаружена.

Заключение. В неэндемичных странах, таких как Россия, серологические и молекулярные маркеры ВЭБ могут быть с успехом использованы для первичной диагностики РНГ. Однако для мониторинга заболевания лучше применять показатели концентрации циркулирующей ДНК ВЭБ, которые в отличие от значений титров IgG/IgA-антител к капсидному антигену ВЭБ более точно отражают клиническое состояние пациентов.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, рак носоглотки, титры IgG/IgA-антител к вирусному капсидному антигену, полимеразная цепная реакция в реальном времени, концентрация ДНК вируса Эпштейна–Барр в плазме крови

Для цитирования: Смирнова К.В., Сенюта Н.Б., Ботезату И.В. и др. Маркеры вируса Эпштейна–Барр в оценке клинического состояния российских больных раком носоглотки. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(3):14–24. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-14-24.

Markers of Epstein–Barr virus in clinical assessment of Russian patients with nasopharyngeal cancer

K. V. Smirnova^{1,2}, N. B. Senuta¹, I. V. Botetzatu¹, A. V. Ignatova^{3,4}, T. E. Dushenkina¹, A. A. Zolotarev³, A. V. Lichtenstein¹, V. E. Gurtsevich¹

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

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia

³Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 1/2 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russia;

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

Contacts: Ksenia Valeryevna Smirnova *skv.lab@yandex.ru*

Introduction. Epstein–Barr virus (EBV) is equally widespread in the endemic and non-endemic world regions for nasopharyngeal cancer (NPC). High incidence of NPC in endemic countries and low in non-endemic countries suggest there are different mechanisms and conditions for tumor occurrence and, possibly, different clinical significance of EBV-associated markers. However, significance of these markers for determining NPC in non-endemic regions is still poorly understood.

Objective – to determine clinical significance of titers of IgG/IgA antibodies to EBV capsid antigen and concentrations of the viral DNA in patients' blood plasma as diagnostic and monitoring markers for NPC in a non-endemic region of Russia.

Materials and methods. Titers of EB-specific antibodies were determined by indirect immunofluorescence, and concentration of the viral DNA in plasma was measured using a quantitative polymerase chain reaction in real time. Study group included patients with NPC ($n = 96$), and control group – blood donors ($n = 171$) and patients with other head and neck tumors ($n = 33$).

Results. Titers of IgG/IgA antibodies to EBV capsid antigen, being an important diagnostic marker of nasopharyngeal cancer, did not always correlate with patients' clinical condition. Humoral response to emerging events often delayed due to inertia of the immune system. Concentration of EBV DNA in patients' blood plasma clearly reflected the dynamics of the pathological process: it decreased to background values in remission and increased while the disease progressed. In contrast to endemic regions, we did not find any correlation between the studied EBV markers and clinical manifestations of the disease, evaluated in accordance with the TNM classification (Tumor, Nodus and Metastasis).

Conclusion. In non-endemic countries, such as Russia, serological and molecular markers of EBV can be successfully used for the primary diagnosis of NPC. However, for the disease monitoring, it is preferable to use the value of the concentrations of circulating EBV DNA, which, in contrast to the values of IgG/IgA antibody titers to VCA EBV, more accurately reflect the patient's clinical condition.

Key words: Epstein–Barr virus, nasopharyngeal cancer, IgG/IgA antibody titers to viral capsid antigen, polymerase chain reaction in real time, plasma Epstein–Barr virus DNA concentration in patients and healthy individuals

For citation: Smirnova K.V., Senuta N.B., Botezatu I.V. et al. Markers of Epstein–Barr virus in clinical assessment of Russian patients with nasopharyngeal cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(3): 14–24. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-14-24.

ВВЕДЕНИЕ

Вскоре после открытия в 1964 г. вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) иммунологическими исследованиями было показано, что рак носоглотки (РНГ) сопровождается высокими титрами анти-ВЭБ-антител. Однако возможность применения гуморального ответа на ВЭБ для диагностики, оценки эффективности терапии и прогноза у больных с данным заболеванием долгое время оставалась малоизученной [1]. Существенный прогресс в использовании серологических методов тестирования РНГ произошел в последующие годы. Он был основан на понимании уникальной биологической связи ВЭБ с этой опухолью [2]. Было обнаружено, что клиническое состояние больных РНГ наиболее полно характеризуют титры IgG- и IgA-антител к антигенам ВЭБ. Серологический ответ у больных РНГ был связан с опухолевой нагрузкой: размером новообразования [3, 4], региональным и отдаленным метастазированием [5, 6]. Однако в ряде работ было показано, что обнаруженные у пациентов с данной патологией высокие титры антител к ВЭБ не всегда отражают стадию заболевания, состояния ремиссии или рецидива [7, 8]. Например, при изучении 296 индонезийцев и китайцев с РНГ было обнаружено, что титры IgA-антител к вирусному капсидному антигену (ВКА) ВЭБ не коррелируют ни с размером опу-

холи, ни с вовлеченностью в процесс лимфатических узлов, ни со стадией метастазирования [9]. Более того, было высказано мнение, что серологический ответ неспецифичен для РНГ, поскольку повышенные титры IgA-антител встречаются также у пациентов с аутоиммунными заболеваниями и другими нарушениями иммунитета. Это обстоятельство позволило сделать вывод, что титры ВЭБ-специфических антител не могут выступать самостоятельным маркером РНГ, но являются весьма полезным дополнением к традиционным диагностическим методам исследования [10]. Действительно, в последние годы показано, что сывороточные IgA-антитела к ВКА ВЭБ в сочетании с показателями вирусной ДНК в плазме могут быть использованы в качестве диагностического и прогностического маркера РНГ [11].

После обнаружения ВЭБ в гистологических образцах РНГ [12] и выявления высоких титров ВЭБ-специфических антител в крови больных [13] Y.M. Lo и соавт. разработали и стали широко применять полимеразную цепную реакцию, позволяющую в реальном времени количественно определять концентрацию бесклеточной ДНК ВЭБ в сыворотке/плазме крови [14–16]. Высокие уровни циркулирующей ДНК этого вируса были первоначально выявлены у подавляющего большинства больных РНГ в эндемичных регионах [17].

В дальнейшем было показано, что маркером опухолевой нагрузки у пациентов с данным новообразованием является показатель концентрации вирусной ДНК в 1 мл плазмы, который может быть с успехом использован для диагностики РНГ, оценки эффективности проведенной терапии и прогноза [14, 15]. Действительно, многими исследованиями было подтверждено, что концентрация ДНК в плазме больных РНГ в значительной степени коррелирует с размерами опухоли, реакцией на химиолучевую терапию [18], рецидивом или ремиссией заболевания [19–21].

Тем не менее существуют единичные наблюдения, отрицающие указанную корреляцию. Так, S.J. Stevens и соавт. проанализировали результаты исследования 159 индонезийских больных РНГ и пришли к выводу, что показатели циркулирующей ДНК ВЭБ не зависят от серологических маркеров, а диагностическая ценность ее концентрации в плазме для первичного выявления данного заболевания является ограниченной [22]. J.M. Nicholls и соавт. сообщают, что случаи РНГ с ограниченным опухолевым поражением не могут быть выявлены ни одним из вирусных маркеров ВЭБ, даже в эндемичных регионах [23].

Таким образом, серологический и вирусный маркеры отражают разные биологические события, сопровождающие развитие РНГ. Исходя из этого, сравнение клинической ценности каждого из данных маркеров при различных проявлениях заболевания в эндемичных и неэндемичных регионах является важной задачей в связи с генетическими различиями популяций и, возможно, особенностями характера репликации разных штаммов вируса и иммунного ответа в каждой из этих популяций.

Цель нашего исследования — изучить маркеры ВЭБ, титры IgA- и IgG-антител к ВКА и концентрации вирусной ДНК в плазме у больных РНГ в неэндемичном регионе России при различных состояниях заболевания и определить клиническую значимость каждого из них. В контрольные группы вошли доноры крови и пациенты с опухолями головы и шеи, не ассоциированными с ВЭБ. Результаты проведенных исследований мы сравнивали с данными литературы по эндемичным регионам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клиническая информация и сбор образцов. Мы обследовали 96 больных РНГ, поступивших в Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России. Диагноз устанавливали по совокупности анамнестических данных и результатов эндоскопического и морфологического исследований. Стандартному морфологическому исследованию были подвергнуты образцы биопсийного материала из носоглотки и пораженных шейных лимфатических узлов [24]. Стандартные критерии были также использованы для определения стадии заболевания [25]. Материалом для серологического и молеку-

лярного исследований служила плазма крови больных. Мы изучили гистотипы РНГ, преимущественно ассоциированные с ВЭБ. Соотношение обследованных женщин и мужчин составило 1 : 2,8. Средний возраст больных — 48,4 года. У 18 пациентов было заболевание I–II стадии, у 62 пациентов — III–IV стадии. До лечения плазма была взята у 96 больных, а после лечения — у 44. В процессе терапии у 51 пациента констатировали ремиссию и у 20 пациентов — рецидив заболевания. В контрольные группы вошли 33 пациента с опухолями полости рта, не ассоциированными с ВЭБ (ОПР^{ВЭБ-}) (с раком слизистой оболочки языка, дна полости рта, щеки, нижней челюсти и неба), а также 171 здоровый донор.

Для получения плазмы применяли этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА). Образцы плазмы центрифугировали при 1800 g в течение 10 мин. Плазменный супернатант до использования хранили при температуре –20 °С. Данное исследование, в которое вошли больные и здоровые люди (по их согласию, в результате случайной выборки), было одобрено комитетом по биомедицинской этике Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России.

Серологический тест на антитела к вирусу Эпштейна–Барр. Титры IgG- и IgA-антител к ВКА ВЭБ в плазме крови больных и здоровых людей определяли методом непрямой иммунофлуоресценции, который считается «золотым стандартом» диагностики ВЭБ-позитивных патологий. Условия проведения теста и анализ полученных результатов были представлены нами ранее [26]. Титры антител были представлены в виде их среднегеометрических значений (СГЗ).

Количественное измерение вирусной ДНК. Число копий ДНК ВЭБ в образцах плазмы крови больных РНГ и ОПР^{ВЭБ-}, а также доноров крови определяли с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени, используя подходы, описанные V.E. Gurtsevitch и соавт. [27].

Статистический анализ. Содержание тотальной и вирусной ДНК в плазме крови лиц, входящих в состав разных групп, сравнивали посредством непараметрического критерия Манна–Уитни. Титры антител представляли в виде их среднегеометрических значений. Статистическую значимость различий частот изучаемых признаков оценивали с помощью критерия χ^2 , для малых выборок рассчитывали точный критерий Фишера. Линейная связь между двумя величинами оценивалась с помощью коэффициента корреляции Пирсона (r-Пирсона), а степень параллелизма между количественными рядами изучаемых признаков — с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (ρ-Спирмена). Все расчеты проводились с использованием статистических программ Statistica для Windows 6.0, SPSS и GraphPad Prism 8.4.3 (GraphPad Software, Сан-Диего, Калифорния, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как было указано выше, цель работы состояла в изучении у больных РНГ из неэндемичного региона (России) клинической значимости маркеров ВЭБ и определении возможных преимуществ и ограничений их использования. При проведении исследований предстояло выяснить, каковы диагностическая и прогностическая ценность каждого маркера, их корреляция с проявлениями болезни и друг с другом.

Прежде всего нас интересовало, существует ли корреляция между гуморальным ответом на вирус и вирусной нагрузкой в плазме. Анализ титров IgG- и IgA-антител к ВКА и соответствующих им чисел копий ДНК ВЭБ у 96 больных РНГ, осуществленный с помощью расчета г-Пирсона, показал, что искомая корреляция отсутствует ($p = 0,3655$). Согласно данным литературы, гуморальный и молекулярный маркеры ВЭБ зачастую по-разному и несинхронно реагируют на меняющееся состояние опухолевого процесса. Это связано с различной природой этих маркеров. Известно, что ДНК ВЭБ в плазме больных РНГ состоит из коротких фрагментов ДНК вируса (в основном <181 п. н.), которые выделяются клетками опухоли в результате их апоптоза и некроза [28]. Возникновение IgA-антител к ВКА является следствием иммунной реакции слизистой оболочки на репликацию ВЭБ.

Поиски взаимозависимости титров IgG-антител к вирусному капсидному антигену (ВКА) и раннему антигену (РА), с одной стороны, и IgA-антител и тех же антигенов, с другой, у вышеуказанных 96 больных РНГ были проанализированы с помощью р-Спирмена. Результаты проведенного расчета свидетельствуют о том, что каждый из перечисленных серологических маркеров реагирует в комплексе с остальными маркерами и что между ними существует высокая степень корреляции ($p < 0,0001$) (рис. 1). Таким образом, изучение у больных РНГ серологических (титров антител) и молекулярных (концентрации ДНК ВЭБ) маркеров ВЭБ показало отсутствие корреляции между ними и их самостоятельную значимость для оценки клинического состояния.

Маркеры вируса Эпштейна–Барр у больных раком носоглотки в ответ на терапию. Результаты изучения содержания у больных с первично установленным диагнозом «РНГ» ВЭБ-специфических антител и концентрации вирусной ДНК до и после терапии представлены в табл. 1. У 96 больных до лечения обнаружены высокие СГЗ титров IgG-антител к ВКА. У 44 из них после проведения терапии они существенно и статистически достоверно снизились (434 и 278 соответственно; $p < 0,05$). После лечения было выявлено также снижение СГЗ титров IgA-антител к ВКА (101 и 64 соответственно; $p < 0,05$). Медиана концентраций ДНК ВЭБ (рассчитываемая на число копий вирусной ДНК в 1 мл плазмы) у больных РНГ после терапии также значительно уменьшилась по сравнению с медианой до нее (1895 и 497 мл соответственно). Однако в связи с высокими значени-

ями циркулирующей ДНК ВЭБ у отдельных пациентов, не ответивших позитивно на проведенное лечение, различие между значениями медиан оказалось статистически недостоверным ($p > 0,05$). Согласно данным, представленным в таблице, группы больных ОПР^{ВЭБ}- и доноров крови, рассматриваемые в качестве контрольных, характеризовались крайне низкими показателями гуморального ответа на ВЭБ и фоновыми значениями вирусной ДНК. Различия между соответствующими показателями у представителей этих групп не были статистически значимыми.

Маркеры вируса Эпштейна–Барр у больных раком носоглотки в состояниях ремиссии и рецидива. Для того, чтобы определить информативность ВЭБ-маркеров при различных клинических состояниях, титры ВЭБ-специфических антител и показатели концентраций вирусной ДНК были исследованы у пациентов с РНГ в состояниях ремиссии и рецидива (табл. 2). Анализ показал, что титры IgG- и IgA-антител к ВКА ВЭБ у больных, находящихся в состоянии как ремиссии, так и рецидива, в равной степени высокие, а различие между их СГЗ статистически недостоверно (268 и 239 соответственно; $p > 0,05$). Медианы концентраций ДНК ВЭБ в 1 мл плазмы у этих пациентов в состоянии ремиссии (17 копий/мл) и при рецидиве (2008 копий/мл) характеризовались высоким уровнем статистически достоверного различия ($p < 0,0001$). Эти результаты продемонстрировали значительную клиническую информативность вирусной ДНК, ее способность отражать

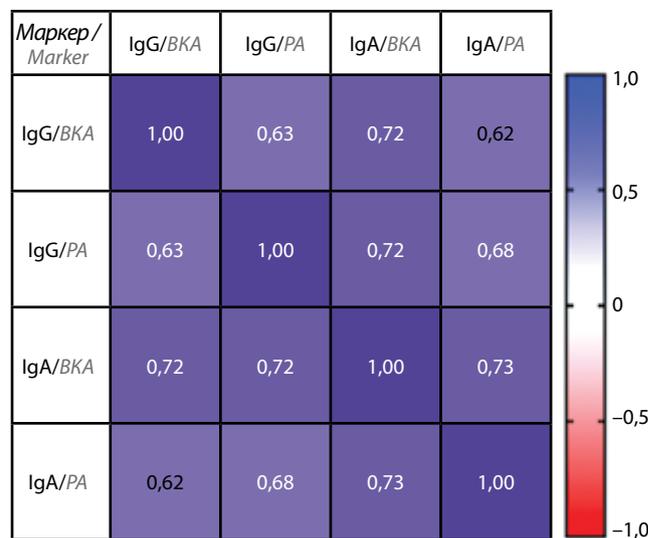


Рис. 1. Тепловая карта корреляционной матрицы. Значения IgG- и IgA-антител к вирусному капсидному антигену (ВКА) и раннему антигену (РА) вируса Эпштейна–Барр противопоставят друг другу для анализа их корреляции. Любое значение коэффициента ранговой корреляции Спирмена > 0 указывает на наличие корреляции. Ее степень повышается при приближении этого коэффициента к 1

Fig. 1. Heatmap of the correlation matrix. The IgG and IgA of antibody values to viral capsid antigen (VCA) and EA (early antigen) of Epstein–Barr virus are located opposed to each other to analyze their correlation. Any value of Spearman's rank correlation coefficient greater than zero indicates the presence of a correlation. The degree of correlation increases as this coefficient approaches 1

Таблица 1. Результаты изучения содержания специфических антител к вирусу Эпштейна–Барр у больных с первично установленным диагнозом «рак носоглотки», больных с опухолями головы и шеи, не ассоциированными с этим вирусом, и доноров крови

Table 1. The amount of specific antibodies to the Epstein–Barr virus in patients with nasopharyngeal cancer as primary diagnosis, as well as patients with head and neck tumors not associated with the virus, and blood donors

Показатель Parameter	Пациенты с раком носоглотки Patients with nasopharyngeal carcinoma		p	Пациенты с ОНР ^{EBV} – Patients with TOC ^{EBV} –	Доноры крови Blood donors	p
	До лечения Before treatment	После лечения After treatment				
Число наблюдений Number of observations	96	44	–	33	171	–
СГЗ IgG-антител к ВКА GMT IgG antibody titers to the VCA	434	287	<0,05	33	52	>0,05
СГЗ IgA-антител к ВКА GMT IgA antibody titers to the VCA	101	64	<0,05	2	1	>0,05
Медиана (межквартильный интервал) Median (interquartile range)	1895 (334–14992)	497 (22–13537)	>0,05	1 (1–39)	1 (1–1)	>0,05

Примечание. ОНР^{EBV}– – опухоли полости рта, не ассоциированные с вирусом Эпштейна–Барр; СГЗ – среднее геометрическое значение титров антител; ВКА – вирусный капсидный антиген.

Note. TOC^{EBV}– – not Epstein–Barr virus associated tumors of oral cavity; GMT – geometrical mean titers; VCA – viral capsid antigen.

Таблица 2. Результаты исследования содержания антител к вирусу Эпштейна–Барр в плазме крови и показателей концентраций вирусной ДНК

Table 2. The amount of antibodies to the Epstein – Barr virus in the blood plasma and viral DNA concentration in patients with nasopharyngeal cancer in remission and recurrence

Клиническое состояние Clinical state	Число пациентов Number of patients	СГЗ IgG-антител к ВКА GMT IgG VCA	p	СГЗ IgA-антител к ВКА GMT IgA VCA	p	М (межквартильный интервал) M (interquartile range)	p
Ремиссия Remission	51	268	>0,05	70	>0,05	17 (1–432)	<0,0001
Рецидив Relapse	20	239		60		2008 (231–48006)	

СГЗ – среднее геометрическое значение; ВКА – вирусный капсидный антиген; М – медиана числа копий ДНК вируса Эпштейна–Барр в 1 мл плазмы.

Note. GMT – geometrical mean titers; VCA – viral capsid antigen; M – median of Epstein–Barr virus DNA number copies per 1 ml of plasma.

такие процессы, происходящие в организме больных РНГ, как ремиссия и рецидив, в то время как ВЭБ-специфические антитела такой способностью не обладали.

Динамика маркеров вируса Эпштейна–Барр у больных раком носоглотки. Индивидуальную реакцию изучаемых маркеров на различные проявления опухолевого процесса можно наблюдать на примере отдельных больных. На рис. 2 приведены данные 4 больных РНГ, находящихся в стадии ремиссии после лечения. Вирусную нагрузку в плазме и титры IgA-антител к ВКА, наиболее часто используемых в качестве серологического маркера РНГ в эндемичных регионах [4], сравнивали на разных этапах течения болезни. При первичном тестировании в 1-м и 4-м случаях в плазме пациентов выявлены высокие концентрации ДНК ВЭБ (10929 и 17680 копий/мл соответственно) и высокие титры IgA-антител к ВКА (1: 80 и 1: 320 соот-

ветственно) (см. рис. 2а, з). После курса лечения содержание вирусной ДНК в обоих случаях резко снизилось: в 1-м – до 0 копий/мл (см. рис. 2а), а во 2-м – до 444 копий/мл (см. рис. 2з). Титры же антител в 1-м наблюдении остались на прежнем уровне (1: 80), а во 2-м снизились лишь на одно разведение (1: 160). Последующие исследования показали, что в ответ на терапию число копий ДНК ВЭБ в плазме обоих больных сократилось практически до фоновых значений и сохранилось таким к концу 42-месячного наблюдения в 1-м случае и 68-месячного наблюдения во 2-м случае. Титры антител, сохранившиеся к указанным срокам наблюдения, в обоих случаях также существенно снизились – до 1: 20.

Аналогичную динамику вирусной нагрузки в плазме мы наблюдали и в 3-м случае, хотя первичное тестирование выявило не столь высокую, как в 1-м и 4-м случаях, концентрацию ДНК ВЭБ (542 копии/мл).

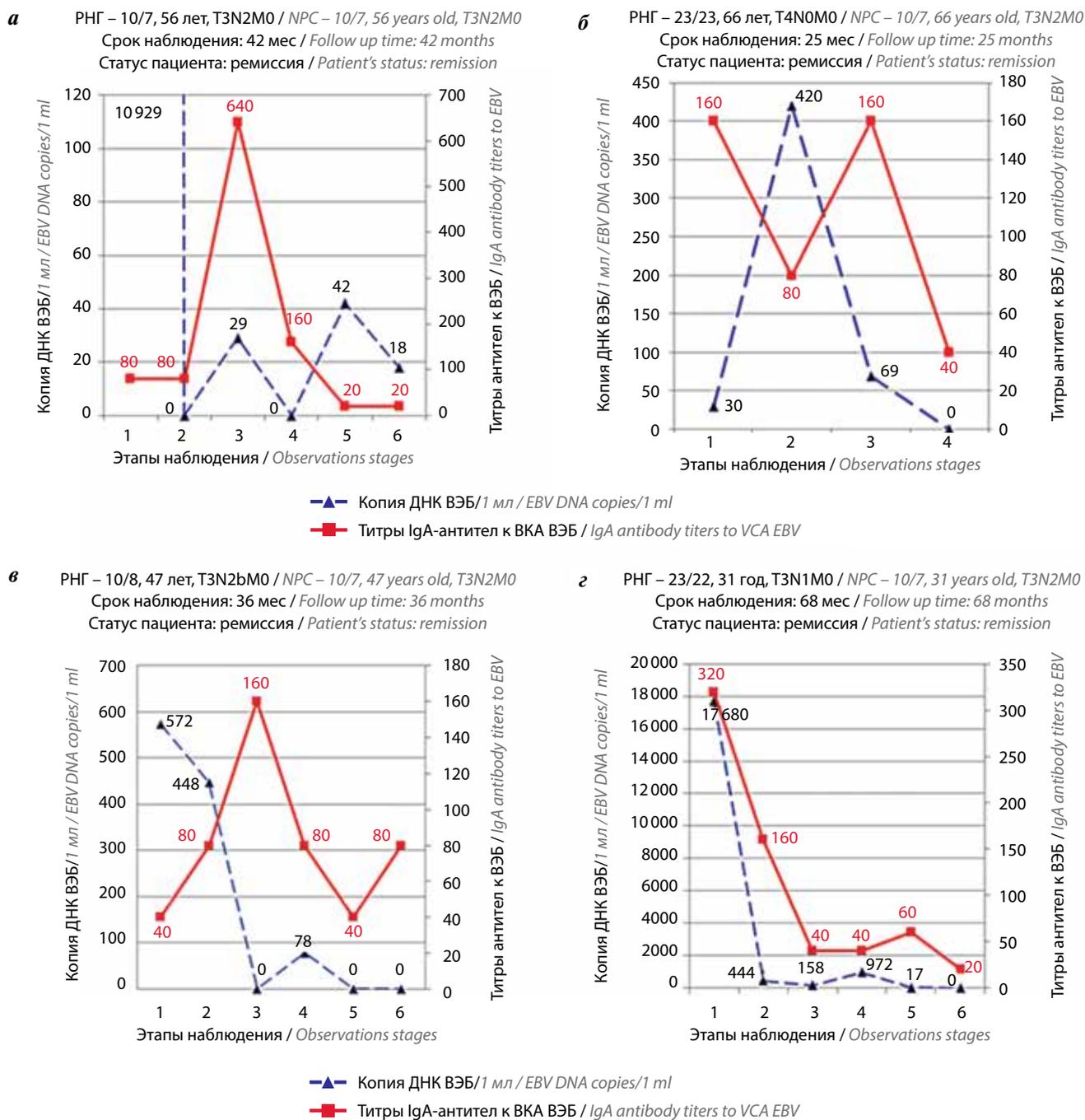


Рис. 2. Динамика изменения титров IgA-антител к вирусному капсидному антигену и концентраций ДНК вируса Эпштейна–Барр в плазме крови больных раком носоглотки с позитивным ответом на терапию (состояние ремиссии): а – 1-й случай; б – 2-й случай; в – 3-й случай; г – 4-й случай. ВЭБ – вирус Эпштейна–Барр; ВКА – вирусный капсидный антиген; РНГ – рак носоглотки
Fig. 2. Dynamics of IgA antibody titers viral capsid antigen and Epstein–Barr virus DNA concentrations in blood plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma with a positive response to therapy (state of remission): а – case 1; б – case 2; в – case 3; г – case 4. EBV – Epstein–Barr virus; VCA – viral capsid antigen; NPC – nasopharyngeal carcinoma

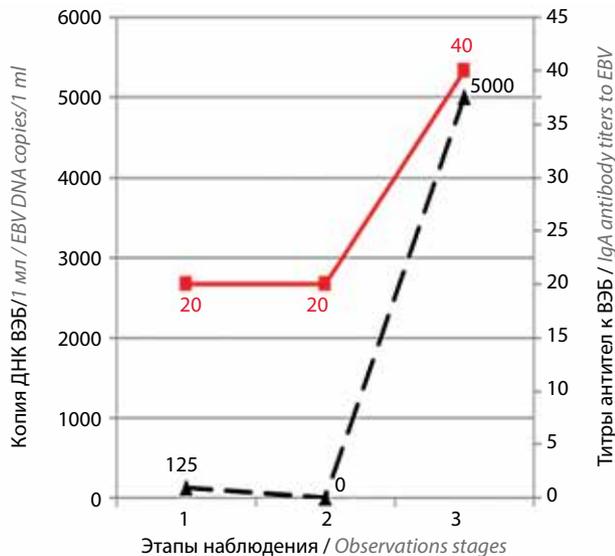
При этом IgA-антитела к ВКА антитела вели себя парадоксальным образом: относительно невысокие титры при исходном исследовании (1 : 40) при снижении концентрации вирусной ДНК после терапии нарастали и при нулевом ее значении достигли максимального показателя (1 : 160). Затем титры антител начали снижаться (1 : 80, 1 : 40), но к завершающему этапу наблюдения (36 мес) при нулевых значениях вирусной

ДНК вновь поднялись до 1 : 80. В отличие от других наблюдений во 2-м случае при первичном обследовании были выявлены низкая концентрация вирусной ДНК (30 копий/мл) и относительно высокие титры ВЭБ-специфических антител (1 : 160). Второй этап тестирования после курса терапии выявил увеличение числа копий вирусной ДНК (420 копий/мл) и некоторое снижение показателей титров антител (1 : 80). В даль-

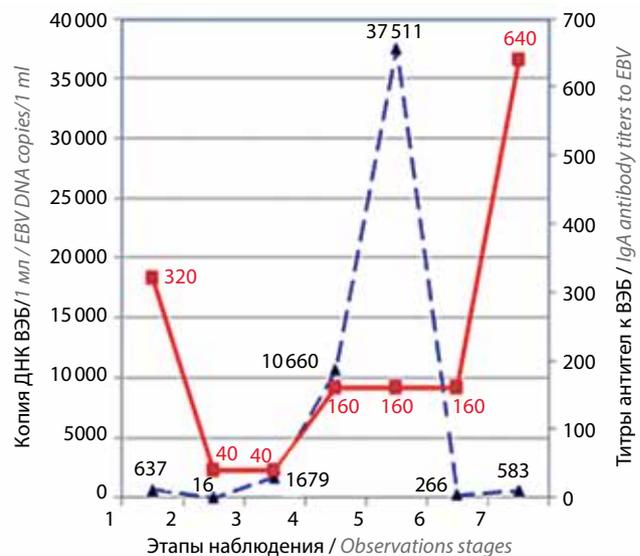
нейшем уменьшение вирусной нагрузки до нулевых значений сопровождалось подъемом титров антител (1 : 160) и их снижением до 1 : 40 к концу 25-месячно-

го наблюдения. Важно отметить, что гуморальный ответ на ВЭБ в каждом случае запаздывал по отношению к показателям вирусной нагрузки в плазме. При

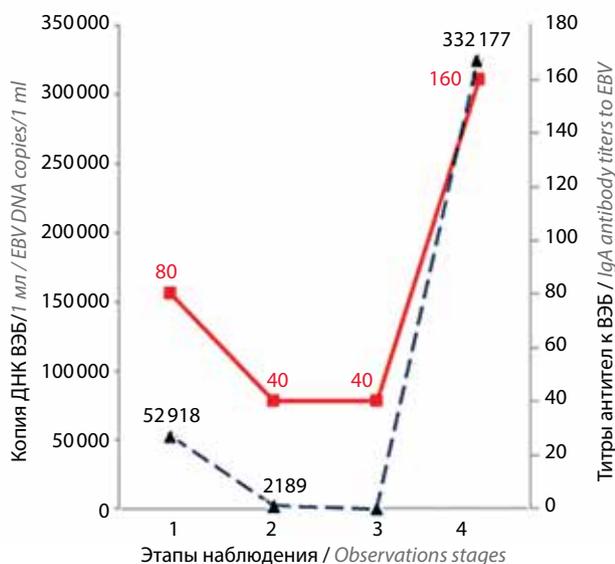
а РНГ – 10,3, 44 года, Т3N2bM0 / NPC – 10/7, 44 years old, T3N2bM0
Срок наблюдения: 41 мес / Follow up time: 41 months
Статус пациента: летальный исход / Patient's status: exitus letales



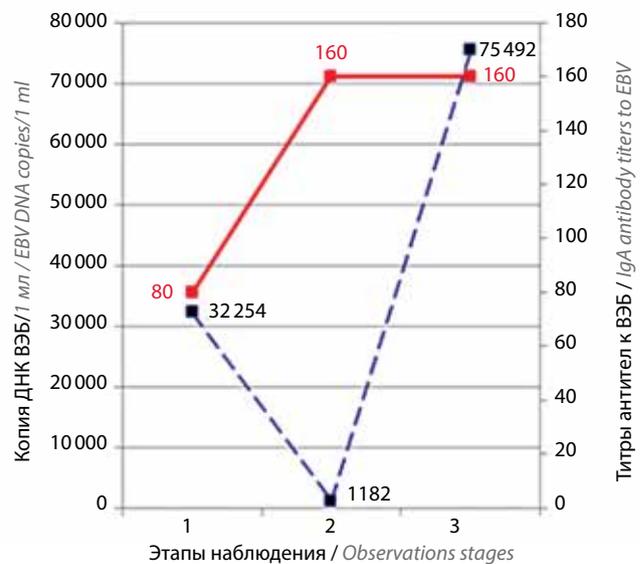
б РНГ – 1052, 55 лет, T2N2M0 / NPC – 10/7, 55 years old, T3N2M0
Срок наблюдения: 38 мес / Follow up time: 38 months
Статус пациента: рецидив / Patient's status: relapse



в РНГ – 10/5, 26 лет, T4N3M0 / NPC – 10/5, 26 years old, T4N3M0
Срок наблюдения: 25 мес / Follow up time: 25 months
Статус пациента: рецидив / Patient's status: relapse



г РНГ/NPC – 10.2, 44 года, Т3N2M0 / NPC – 10/7, 44 years old, T3N2M0
Срок наблюдения: 4 мес / Follow up time: 4 months
Статус пациента: летальный исход / Patient's status: exitus letales



—▲— Копия ДНК ВЭБ/1 мл / EBV DNA copies/1 ml
—■— Титры IgA-антител к ВКА ВЭБ / IgA antibody titers to VCA EBV

Рис. 3. Динамика титров IgA-антител к вирусному капсидному антигену и концентраций ДНК вируса Эпштейн–Барр в плазме крови больных раком носоглотки с негативным ответом на терапию (рецидив/летальный исход): а – 5-й случай; б – 6-й случай; в – 7-й случай; г – 8-й случай. ВЭБ – вирус Эпштейн–Барр; ВКА – вирусный капсидный антиген; РНГ – рак носоглотки

Fig. 3. Dynamics of IgA antibody titers viral capsid antigen and Epstein–Barr virus DNA concentrations in blood plasma patients with nasopharyngeal carcinoma with a positive effect on therapy (state of relapse/exitus letales): а – case 5; б – case 6; в – case 7; г – case 8. EBV – Epstein–Barr virus; VCA – viral capsid antigen; NPC – nasopharyngeal carcinoma

этом снижение титров антител происходило непоследовательно, чередуясь в ряде случаев с их резким увеличением (в 1–3-м случаях).

При неблагоприятном течении болезни, иногда заканчивающейся летальным исходом, нагрузка вирусной ДНК в плазме крови более точно, чем IgA-антитела к ВКА, отражала динамику опухолевого процесса (рис. 3). В 3 случаях (5-м, 6-м и 7-м) исходная концентрация циркулирующей ДНК ВЭБ после 1-го, а иногда 2-го этапа терапии существенно снижалась, порой до нулевых значений (5-й и 7-й случаи). Титры вирус-специфических антител при этом вели себя по-разному: оставались на прежнем уровне, иногда существенно снижались или нарастали (8-й случай). Число копий вирусной ДНК в стадии болезни, предшествующей летальному исходу, достигали больших значений: 5000, 322 177 и 75 492 (5-й, 7-й и 8-й случаи соответственно). При этом титры антител также достигали относительно высоких значений (1 : 40, 1 : 160 и 1 : 160 соответственно). В случае возникновения рецидива (6-й случай) невысокие концентрации вирусной ДНК в плазме, сначала снижающиеся в ответ на проведенную терапию даже до минимальных значений (377 и 16 копий/мл), стали активно увеличиваться (1678 и 10 660 копий/мл). Достигнув максимума (37 511 копий/мл) после нескольких курсов химиолучевой терапии, концентрация вирусной ДНК резко снизилась до 266 и 583 копий/мл, что отражает наступление этапа ремиссии. Титры IgA-антител, высокие при первичном обследовании больного (1 : 320), во время рецидива опухолевого процесса, не увеличились, а снизились до уровня 1 : 40 и затем поднялись до 1 : 160. Однако после терапии, в отличие от резкого падения концентрации циркулирующей ДНК в период наступившей ремиссии, титры антител

резко поднялись до значения 1 : 640, по-видимому, в ответ на выброс вирусных белков, большей частью разрушенных терапией опухолевых клеток.

Маркеры вируса Эпштейна–Барр при различных TNM-стадиях рака носоглотки. В отличие от большинства данных по эндемичным регионам [29, 30] поиски зависимости между показателями маркеров ВЭБ и степенью манифестации опухолевого процесса, оцениваемого по классификации TNM, у российских больных РНГ привели к неоднозначным, а порой парадоксальным результатам (табл. 3). Концентрация вирусной ДНК в плазме крови больных коррелировала лишь с размерами опухоли. Медиана числа копий ДНК ВЭБ в 1 мл плазмы у пациентов с заболеванием T3–T4 стадии была выше, чем у пациентов с РНГ T1–T2 стадией (4729 и 1764 соответственно), хотя различие оказалось статистически недостоверным. Иную картину наблюдали при сопоставлении показателей вирусной нагрузки в плазме с размерами поврежденных опухолевым процессом лимфатических узлов и его распространенностью (стадиями заболевания). У больных с заболеванием в стадиях N2–N3 и III–IV медианы числа копий ДНК ВЭБ в 1 мл плазмы были ниже, чем у больных с заболеванием в стадиях N0–N1 и I–II (различия статистически недостоверны). Обратная зависимость обнаружена и между серологическими ответами на ВЭБ и анализируемыми проявлениями опухолевого процесса: более тяжелое течение болезни сопровождалось более низкими значениями титров IgG- и IgA-антител к ВКА. Более того, их СГЗ у пациентов с РНГ T1–T2 стадии статистически достоверно отличались от таковых у больных с заболеванием T3–T4 стадии. Исключение составили лишь СГЗ титров IgA-антител к ВКА в группе больных с РНГ N2–N3 стадии,

Таблица 3. Зависимость между серологическими и молекулярными маркерами вируса Эпштейна–Барр у пациентов с раком носоглотки и степенью манифестации опухолевого процесса

Table 3. Table 3. Relationship between serological and molecular markers of Epstein–Barr virus in patients with nasopharyngeal carcinoma and degree of tumor manifestation

Стадия Stage	Случаи, n Cases, n	Копии ДНК вируса Эпштейна–Барр Epstein–Barr virus DNA copies	p	СГЗ IgG-антител к ВКА GMT IgG VCA	p	СГЗ IgA-антител к ВКА GMT IgA VCA	p
		M (межквартильный интервал) M (interquartile range)					
T1–T2	37	1764 (132–14 150)	>0,05	512	<0,05	125	<0,05
T3–T4	43	4729 (644–19 082)		236		64	
N0–N1	40	5944 (394–22 991)	>0,05	415	>0,05	94	>0,05
N2–N3	40	2575 (242–10 910)		387		111	
I–II	18	8099 (1445–36 102)	>0,05	471	>0,05	122	>0,05
III–IV	62	2575 (332–14 499)		400		103	

Примечание. СГЗ – среднее геометрическое значение; ВКА – вирусный капсидный антиген; M – медиана числа копий ДНК вируса Эпштейна–Барр в 1 мл плазмы.

Note. GMT – geometrical mean titers; VCA – viral capsid antigen; M – median of Epstein–Barr virus DNA number copies per 1 ml of plasma.

которые оказались более высокими, чем у больных с РНГ N0–N1 стадии (111 и 94 соответственно; $p > 0,05$). Наблюдаемый феномен, возможно, связан с особенностями иммунного статуса пациентов с более выраженными проявлениями заболевания или отражает специфику механизма ВЭБ-ассоциированного канцерогенеза РНГ в эндемичном регионе. Справедливость высказанных предположений может быть подтверждена только дополнительными исследованиями.

ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение клинической значимости маркеров ВЭБ для определения РНГ в эндемичных странах является важной задачей. При этом довольно сложно сформировать репрезентативную группу пациентов для исследования в связи с низкой заболеваемостью данным видом опухолей. Мы изучили маркеры ВЭБ при различных клинических состояниях РНГ у 96 российских больных. К сожалению, не всех пациентов удалось проследить в динамике, поскольку многие из них после постановки диагноза и позитивного ответа на проведенную терапию направлены в региональные онкологические клиники/диспансеры для продолжения лечения и часто были недостижимы.

Проведенные исследования показали, что для первичной диагностики РНГ, кроме общепринятых клинических методов диагностики, в качестве дополнительных целесообразно использовать серологический и молекулярный методы, базирующиеся на определении титров IgG/IgA-антител к ВКА и показателя концентрации вирусной ДНК в плазме. Наличие данной опухоли может подтверждаться повышенным значением, по крайней мере, одного из двух маркеров ВЭБ. Было обнаружено, что в отличие от серологических маркеров вирусная нагрузка в плазме крови отражает динамику опухолевого процесса, в то время как серологический ответ в связи с его инерционностью такой способностью не обладает.

Высокая информативность вирусной ДНК в качестве маркера РНГ была подтверждена при изучении больных, находящихся в состояниях ремиссии и рецидива. Медиана числа копий ДНК ВЭБ в плазме пациентов, позитивно отреагировавших на терапию и перешедших в состояние ремиссии, была существенно и статистически достоверно ниже таковой у больных, находящихся в состоянии рецидива. При этом титры ВЭБ-специфических антител у первых зачастую были высокими, а у вторых проявляли тенденцию к снижению. Несогласованность серологического ответа к ВЭБ у больных РНГ и проявлений опухолевого процесса можно обнаружить и в других исследованиях [22].

Неспособность ВЭБ-специфических антител в отличие от циркулирующей вирусной ДНК четко ре-

агировать на различные проявления РНГ была подтверждена рядом исследователей, причем прежде всего из эндемичных стран. Т.Т. Уйр и соавт. не обнаружили различий в уровнях гуморального ответа на ВЭБ у больных РНГ в состояниях ремиссии и рецидива [31]. Было высказано предположение, что наблюдаемый феномен связан с выявлением у пациентов с РНГ из эндемичных регионов высоких локальных уровней цитокинов, таких как интерлейкин 10 и других иммуномодулирующих цитокинов и факторов роста, способствующих нарушению регуляции иммунного ответа и его подавлению [32].

Как показали последние исследования, особенность формирования иммунного ответа у отдельных групп лиц или целых этносов может определяться уровнем циркулирующего в организме магния, контролируемого соответствующими генами. Имеются доказательства того, что у больных РНГ, у которых обнаружены варианты гена *NIPAL1*, уровень циркулирующего магния снижен как в семейных, так и в спорадических случаях РНГ. Кроме того, выявлено, что другой ген транспорта магния, *MAGT1*, отменяет его поток в NK- (natural killer cells) и CD8-T-клетки, что способствует неконтролируемой репликации ВЭБ [33, 34]. Согласно результатам исследований, указанные гены, регулирующие транспорт магния, могут быть важными детерминантами риска развития РНГ, поскольку определяют способность хозяина создавать эффективный иммунный ответ на ВЭБ, с которым тесно связано возникновение данной опухоли [35].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что серологические и молекулярные маркеры ВЭБ, титры ВЭБ-специфических антител и концентрация циркулирующей вирусной ДНК могут выступать эффективным дополнительным инструментом диагностики РНГ, определения у больных состояния ремиссии или рецидива и в эндемичных странах. Однако необходимо отметить, что указанные маркеры ВЭБ не могут заменить эндоскопию и компьютерную и магнитно-резонансную томографию носоглотки, которые являются «золотым стандартом» диагностики рецидива или метастазирования РНГ. В то же время частота визуализации носоглотки указанными методами в соответствии с определяемыми уровнями ДНК ВЭБ в плазме и титрами вирус-специфических антител может быть сокращена, а интервал времени между вышеупомянутыми исследованиями увеличен, что делает наблюдение за больными РНГ с помощью маркеров ВЭБ более простым и экономически эффективным. Такое использование данных маркеров будет способствовать улучшению и терапевтического эффекта, и прогноза заболевания.

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

- Klein G. The biology and serology of Epstein–Barr virus (EBV) infections. *Bull Cancer* 1976;63(3):399–410.
- Low W.K., Leong J.L., Goh Y.H. et al. Diagnostic value of Epstein–Barr viral serology in nasopharyngeal carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;123(4):505–7. DOI: 10.1067/mhn.2000.108201.
- Cao S.M., Liu Z., Jia W.H. et al. Fluctuations of Epstein–Barr virus serological antibodies and risk for nasopharyngeal carcinoma: a prospective screening study with a 20-year follow-up. *PLoS One* 2011;6(4):e19100. DOI: 10.1371/journal.pone.0019100.
- Chien Y.C., Chen J.Y., Liu M.Y. et al. Serologic markers of Epstein–Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma in Taiwanese men. *N Engl J Med* 2001;345(26):1877–82. DOI: 10.1056/NEJMoa011610.
- Ji M.F., Wang D.K., Yu Y.L. et al. Sustained elevation of Epstein–Barr virus antibody levels preceding clinical onset of nasopharyngeal carcinoma. *Br J Cancer* 2007;96(4):623–30. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603609.
- Zhao F.P., Liu X., Zhong Z.M. et al. Positivity of both plasma Epstein–Barr virus DNA and serum Epstein–Barr virus capsid specific immunoglobulin A is a better prognostic biomarker for nasopharyngeal carcinoma. *BBA Clin* 2014;2:88–93. DOI: 10.1016/j.bbacli.2014.10.003.
- Fan H., Nicholls J., Chua D. et al. Laboratory markers of tumor burden in nasopharyngeal carcinoma: a comparison of viral load and serologic tests for Epstein–Barr virus. *Int J Cancer* 2004;112(6):1036–41. DOI: 10.1002/ijc.20520.
- Tan G.W., Sivanesan V.M., Abd Rahman F.I. et al. A novel and non-invasive approach utilising nasal washings for the detection of nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 2019;145(8):2260–6. DOI: 10.1002/ijc.32173.
- Fachiroh J., Paramita D.K., Hariwiyanto B. et al. Single-assay combination of Epstein–Barr virus (EBV) EBNA1- and viral capsid antigen-p18-derived synthetic peptides for measuring anti-EBV immunoglobulin G (IgG) and IgA antibody levels in sera from nasopharyngeal carcinoma patients: options for field screening. *J Clin Microbiol* 2006;44(4):1459–67. DOI: 10.1128/JCM.44.4.1459-1467.2006.
- Wyatt D.E., Brooker D.S., Connolly J.H. et al. Prognostic value of Epstein–Barr virus serology in patients with nasopharyngeal carcinoma. *J Infect* 1993;26:171–5. DOI: 10.1016/0163-4453(93)92842-k.
- Liu W., Chen G., Gong X. et al. The diagnostic value of EBV-DNA and EBV-related antibodies detection for nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis. *Cancer Cell Int* 2021;21(1):164. DOI: 10.1186/s12935-021-01862-7.
- Fahraeus R., Fu H.L., Ernberg I. et al. Expression of Epstein–Barr virus-encoded proteins in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 1988;42(3):329–38. DOI: 10.1002/ijc.2910420305.
- Tsang R.K., Vlantis A.C., Ho R.W. et al. Sensitivity and specificity of Epstein–Barr virus IGA titer in the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma: a three-year institutional review. *Head Neck* 2004;26(9):598–602. DOI: 10.1002/hed.20022.
- Lo Y.M., Chan L.Y., Lo K.W. et al. Quantitative analysis of cell-free Epstein–Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res* 1999;59(6):1188–91.
- Lo Y.M., Chan A.T., Chan L.Y. et al. Molecular prognostication of nasopharyngeal carcinoma by quantitative analysis of circulating Epstein–Barr virus DNA. *Cancer Res* 2000;60(24):6878–81.
- Lo Y.M., Leung S.F., Chan L.Y. et al. Plasma cell-free Epstein–Barr virus DNA quantitation in patients with nasopharyngeal carcinoma. Correlation with clinical staging. *Ann N Y Acad Sci* 2000;906:99–101. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06597.x.
- Hong R.L., Lin C.Y., Ting L.L. et al. Comparison of clinical and molecular surveillance in patients with advanced nasopharyngeal carcinoma after primary therapy: the potential role of quantitative analysis of circulating Epstein–Barr virus DNA. *Cancer* 2004;100(7):1429–37. DOI: 10.1002/CNCR.20129.
- Hsu C.L., Chang K.P., Lin C.Y. et al. Plasma Epstein–Barr virus DNA concentration and clearance rate as novel prognostic factors for metastatic nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck* 2012;34(8):1064–70. DOI: 10.1002/hed.21890.
- Chan J.Y., Wong S.T. The role of plasma Epstein–Barr virus DNA in the management of recurrent nasopharyngeal carcinoma. *Laryngoscope* 2014;124(1):126–30. DOI: 10.1002/lary.24193.
- Ferrari D., Codeca C., Bertuzzi C. et al. Role of plasma EBV DNA levels in predicting recurrence of nasopharyngeal carcinoma in a Western population. *BMC Cancer* 2012;12:208. DOI: 10.1186/1471-2407-12-208.
- Leung S.F., Chan A.T., Zee B. et al. Pretherapy quantitative measurement of circulating Epstein–Barr virus DNA is predictive of posttherapy distant failure in patients with early-stage nasopharyngeal carcinoma of undifferentiated type. *Cancer* 2003;98(2):288–91. DOI: 10.1002/cncr.11496.
- Stevens S.J., Verkuijlen S.A., Hariwiyanto B. et al. Diagnostic value of measuring Epstein–Barr virus (EBV) DNA load and carcinoma-specific viral mRNA in relation to anti-EBV immunoglobulin A (IgA) and IgG antibody levels in blood of nasopharyngeal carcinoma patients from Indonesia. *J Clin Microbiol* 2005;43(7):3066–73. DOI: 10.1128/JCM.43.7.3066-3073.2005.
- Nicholls J.M., Lee V.H., Chan S.K. et al. Negative plasma Epstein–Barr virus DNA nasopharyngeal carcinoma in an endemic region and its influence on liquid biopsy screening programmes. *Br J Cancer* 2019;121(8):690–8. DOI: 10.1038/s41416-019-0575-6.
- Shanmugaratnam K. Histological typing of nasopharyngeal carcinoma. *IARC Sci Publ* 1978;20:3–12.
- Beahrs O.H. Clinical staging of cancer of the head and neck. *Surg Clin North Am* 1977;57(4):831–6. DOI: 10.1016/S0039-6109(16)41292-2.
- Gurtsevitch V., Ruiz R., Stepina V. et al. Epstein–Barr viral serology in nasopharyngeal carcinoma patients in the USSR and Cuba, and its value for differential diagnosis of the disease. *Int J Cancer* 1986;37(3):375–81. DOI: 10.1002/IJC.2910370308.
- Gurtsevitch V.E., Senyuta N.B., Ignatova A.V. et al. Epstein–Barr virus biomarkers for nasopharyngeal carcinoma in non-endemic regions. *J Gen Virol* 2017;98(8):2118–27. DOI: 10.1099/JGV.0.000889.
- Chan K.C., Chan A.T., Leung S.F. et al. Investigation into the origin and tumoral mass correlation of plasma Epstein–Barr virus DNA in nasopharyngeal carcinoma. *Clin Chem* 2005;51(11):2192–5. DOI: 10.1373/CLINCHEM.2005.054783.
- Leung S.F., Tam J.S., Chan A.T. et al. Improved accuracy of detection of nasopharyngeal carcinoma by combined application of circulating Epstein–Barr virus DNA and anti-Epstein–Barr viral capsid antigen IgA antibody. *Clin Chem* 2004;50(2):339–45. DOI: 10.1373/CLINCHEM.2003.022426.
- Liu Y., Huang Q., Liu W. et al. Establishment of VCA and EBNA1 IgA-based combination by enzyme-linked immunosorbent assay as preferred screening method for nasopharyngeal carcinoma: a two-stage design with a preliminary performance study and a mass screening in southern China. *Int J Cancer* 2012;131(2):406–16. DOI: 10.1002/ijc.26380.
- Yip T.T., Ngan R.K., Fong A.H. et al. Application of circulating plasma/serum EBV DNA in the clinical management of nasopharyngeal carcinoma. *Oral Oncol* 2014;50(6):527–38. DOI: 10.1016/J.ORALONCOLOGY.2013.12.011.

32. Tan E.L., Looi L.M., Sam C.K. Evaluation of plasma Epstein–Barr virus DNA load as a prognostic marker for nasopharyngeal carcinoma. Singapore Med J 2006;47(9):803–7.
33. Chaigne-Delalande B., Li F.Y., O'Connor G.M. et al. Mg²⁺ regulates cytotoxic functions of NK and CD8 T cells in chronic EBV infection through NKG2D. Science 2013; 341(6142):186–91. DOI: 10.1126/SCIENCE.1240094.
34. Li F.Y., Chaigne-Delalande B., Kanellopoulou C. et al. Second messenger role for Mg²⁺ revealed by human T-cell immunodeficiency. Nature 2011;475(7357):471–6. DOI: 10.1038/NATURE10246.
35. Yu G., Hsu W.L., Coghil A.E. et al. Whole-exome sequencing of nasopharyngeal carcinoma families reveals novel variants potentially involved in nasopharyngeal carcinoma. Sci Rep 2019;9(1):9916. DOI: 10.1038/S41598-019-46137-4.

Вклад авторов

К.В. Смирнова: идея и дизайн исследования, анализ полученных результатов, редактирование рукописи;
 Н.Б. Сенюта: сбор и систематизация клинических данных, анализ реакции иммунофлуоресценции;
 И.В. Ботезату: определение концентрации ДНК ВЭБ в образцах плазмы крови больных РНГ и контрольных лиц методом ПЦР в реальном времени;
 А.В. Игнатова, А.А. Золотарев: информация о больных РНГ и их клиническое сопровождение;
 Т.Е. Душенькина: постановка реакции иммунофлуоресценции;
 А.В. Лихтенштейн: анализ корреляции концентрацией ДНК ВЭБ в плазме с клиническим состоянием больных РНГ; оформление рисунков;
 В.Э. Гурцевич: организация исследования, оформление таблиц, написание рукописи.

Authors' contributions

K.V. Smirnova: idea and design of the study, analysis of the results obtained, editing the manuscript;
 N.B. Senuta: collection and systematization of clinical data, analysis of the reaction of immunofluorescence;
 I.V. Botezatu: determination of EBV DNA concentration in blood plasma samples from NPC patients and control persons by real-time PCR;
 A.V. Ignatova, A.A. Zolotarev: information about NPC patients and their clinical follow-up;
 T.E. Dushenkina: test of immunofluorescence;
 A.V. Lichtenstein: analysis of the correlation between plasma EBV DNA concentration and clinical state of NPC patients; decoration of drawings;
 V.E. Gurtsevitch: organization of the research, drawing up tables, writing a manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

К.В. Смирнова / K.V. Smirnova: <https://orcid.org/0000-0001-6209-977X>
 Н.Б. Сенюта / N.B. Senuta: <https://orcid.org/0000-0001-8915-8274>
 И.В. Ботезату / I.V. Botezatu: <https://orcid.org/0000-0002-0297-4963>
 Т.Е. Душенькина / T.E. Dushenkina: <https://orcid.org/0000-0001-8279-514X>
 А.В. Лихтенштейн / A.V. Lichtenstein: <https://orcid.org/0000-0002-0190-5069>
 В.Э. Гурцевич / V.E. Gurtsevitch: <https://orcid.org/0000-0003-1840-4364>

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

Финансирование. Исследование выполнено в рамках экспериментального государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации при координации ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» Минздрава России.

Financing. Research is conducted under the auspices of the experimental governmental assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation and coordinated by the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Ministry of Health of the Russia.

Информированное согласие. Все участники исследования подписали информированное согласие.
Informed consent. All participants in the study had written informed consent.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33



Роль мутаций в гене *NF1* в спорадическом канцерогенезе

Р.Н. Мустафин

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»; Россия, 450008 Уфа, ул. Ленина, 3

Контакты: Рустам Наилевич Мустафин ruji79@mail.ru

В обзорной статье представлены данные о роли соматической инактивации гена нейрофибромина *NF1* в развитии спорадических злокачественных неоплазм. Рассмотрена взаимосвязь особенностей опухолевого синдрома при нейрофиброматозе 1-го типа и специфических типов спорадических новообразований, при которых наиболее часто обнаруживают мутации в гене *NF1*. Описаны примеры химиорезистентности меланомы, нейробластомы, рака яичника, молочной железы и легких, обусловленной мутациями в этом гене (при условии отсутствия мутаций известных протоонкогенов). Для преодоления устойчивости к химиотерапии данных новообразований предложено использовать ингибиторы митоген-активируемой протеинкиназы, эффективность которых доказана при лечении плексиформных нейрофибром. Представлены данные о взаимосвязи *NF1* и микроРНК, которые могут быть применены в таргетной терапии нейрофиброматоза 1-го типа и спорадических неоплазм с мутациями данного гена. Рассмотрены перспективы генной терапии данных заболеваний.

Ключевые слова: ген *NF1*, злокачественные новообразования, микроРНК, нейрофибрин, таргетная терапия, химиорезистентность

Для цитирования: Мустафин Р.Н. Роль мутаций в гене *NF1* в спорадическом канцерогенезе. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(3):25–33. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.

The role of mutations in *NF1* gene in sporadic carcinogenesis

R.N. Mustafin

Bashkir State Medical University, 3 Lenin St., Ufa 450008, Russia

Contacts: Rustam Nailevich Mustafin ruji79@mail.ru

The review article presents data on somatic inactivation of *NF1* gene as a cause of sporadic malignant neoplasms. The relationship between the features of specific tumors in neurofibromatosis type 1 and specific types of sporadic neoplasms, in which mutations in *NF1* gene are found, are presented. Evidence for the role of somatic mutations in *NF1* gene in the development of chemoresistance in melanoma, neuroblastoma, ovarian and breast cancer, and lung cancer is described (only if there are no mutations of known protooncogenes). To overcome the resistance of these neoplasms, inhibitors of mitogen-activated protein kinase have been proposed, the effectiveness of which has been proven in the treatment of plexiform neurofibromas. The review presents evidence of the relationship between *NF1* and microRNA, which can be used for targeted therapy of both neurofibromatosis type 1 and sporadic neoplasms with mutations of this gene. Prospects for gene therapy of these diseases are considered.

Key words: *NF1* gene, malignant neoplasms, microRNA, neurofibromin, targeted therapy, chemoresistance

For citation: Mustafin R.N. The role of mutations in *NF1* gene in sporadic carcinogenesis. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2021;8(2):25–33. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.

ВВЕДЕНИЕ

Ген *NF1* кодирует нейрофибрин, Ras-специфический ГТФаз-активирующий белок, который катализирует инактивацию Ras путем гидролиза ГТФ (гуанозинтрифосфата) в ГДФ (гуанозиндифосфат). Поэтому потеря функции нейрофибромина вследст-

вие мутаций в гене *NF1* является функциональным эквивалентом активации гена *RAS*. Герминативные гетерозиготные мутации в *NF1* вызывают развитие нейрофиброматоза 1-го типа (НФ1) [1], который встречается с частотой 1 случай на 3000 человек. Этот ген располагается на 17q11.2 и характеризуется высо-

кой мутабельностью, в связи с чем в 50 % случаев НФ1 являются спорадическими [2]. Инактивация *NF1* стимулирует каскад RAF (proto-oncogene serine/threonine-protein kinase)/MEK (mitogen-activated protein kinase)/ERK (extracellular signal-regulated kinase), что ведет к развитию множества доброкачественных опухолей и повышает риск возникновения злокачественных новообразований (ЗНО) [3]. Нейрофиброматоз 1-го типа характеризуется аутосомно-доминантным типом наследования, полной пенетрантностью и варьирующей экспрессивностью. Чертами данного заболевания являются пятна цвета кофе с молоком (café au lait macules – CALM), веснушки на коже и нейрофибромы (доброкачественные опухоли оболочек периферических нервов). Помимо кожных проявлений, при НФ1 часто встречаются глиомы зрительных нервов, узелки Лиша, сколиоз, псевдоартроз, когнитивный дефицит, опухоли центральной нервной системы [4].

У 99 % взрослых с НФ1 обнаруживаются кожные нейрофибромы [5] и CALM, у 90 % – веснушчатость [6]. Пятна цвета кофе с молоком являются опухолеподобными образованиями, развивающимися вследствие инактивации 2-го аллеля *NF1* в меланоцитах. Последние, как и клетки Шванна, происходят от общих предшественников нервного гребня [7]. У 70 % больных НФ1 наблюдаются гамартомы радужной оболочки глаза (узелки Лиша), у 15–20 % – глиомы зрительных нервов [8], у 10 % – опухоли ствола головного мозга [9]. У 50 % пациентов развиваются плексиформные нейрофибромы, которые характеризуются инфильтративным ростом и склонностью к озлокачествлению [5]. У 81 % больных НФ1 выявляются проблемы с поведением (в 40 % случаев они соответствуют критериям диагностики синдрома дефицита внимания и гиперактивности) [6], у 30–65 % – нарушения интеллекта (среднее значение коэффициента интеллекта = 85) [8].

Нейрофибромы при НФ1 отличаются сложным механизмом развития. Для данных опухолей характерно аномальное иммунное микроокружение мастоцитов, Т-лимфоцитов и макрофагов со взаимным потенцированием пролиферации опухолевых и иммунных клеток [10]. *NF1*^{-/-} клетки Шванна вырабатывают SCF (stem cell factor), который рекрутирует *NF1*^{+/-} мастоциты в опухолевое микроокружение. Данные мастоциты характеризуются высокой чувствительностью к SCF [11]. Клетки Шванна при НФ1 экспрессируют также протоонкоген с-KIT (рецепторная тирозинкиназа), способствующий дегрануляции тучных клеток вследствие активации путей фосфоинозитид-3-киназы (PIK3) [12]. В свою очередь, активированные мастоциты стимулируют фибробласты для выработки повышенного количества коллагена и TGF-β (transforming growth factor β), что вызывает рост опухоли. Тучные клетки при НФ1 секретируют фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и матриксные металлопротеиназы (MMP), активизируя ангиогенез нейрофибром. Вследствие стимуляции Ras активируются Т-лимфоциты,

вырабатывающие воспалительные цитокины, которые способствуют секреции хемокинового лиганда CCL15 клетками микроглии и макрофагами [10]. То есть Т-клетки не обеспечивают адекватный противоопухолевый иммунный ответ, а провоцируют рост опухолей. Данная особенность может быть связана с нарушением работы иммунных клеток вследствие мутации в гене *NF1*, о чем свидетельствует высокий риск развития миелолейкоза у больных НФ1. При этом *NF1*^{-/-} миелоциты становятся гиперчувствительными к GM-CSF (colony stimulating factor) [13].

Для больных НФ1 характерен высокий риск развития специфических типов ЗНО, имеющих худший прогноз по сравнению со спорадическими ЗНО, возникающими у пациентов без НФ1. Это свидетельствует о роли мутаций в *NF1* в иницировании более агрессивного и химиорезистентного канцерогенеза, что необходимо учитывать при лечении пациентов с данным заболеванием. Для НФ1 наиболее специфичны злокачественные опухоли оболочек периферических нервов (malignant peripheral nerve sheath tumors, MPNST), риск развития которых у больных до 30 лет составляет от 8,5 %, до 50 лет – 12,3 % и до 85 лет – 15,8 %. Кроме того, при НФ1 наблюдается высокий риск возникновения гастроинтестинальных стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта (gastrointestinal stromal tumours, GIST), злокачественной фиброзной гистиоцитомы, рабдомиосаркомы и рака головного мозга [5]. Показатель RR (rate ratios) при НФ1 для опухолей костей составляет 19,6, рака щитовидной железы – 4,9, печени – 3,8, пищевода и Неходжкинской лимфомы – 3,3, желудка – 2,8, толстой кишки – 2,0 [14].

Исследование особенностей патогенеза НФ1 может стать основой для разработки перспективных способов лечения спорадических ЗНО, в развитии которых участвуют мутации в *NF1*. Это связано с тем, что данные опухоли отличаются химиорезистентностью к препаратам, эффективным при терапии опухолей, в которых не обнаруживаются мутации в *NF1* [15–20]. Логично рассмотреть взаимосвязь специфических клинических проявлений НФ1 и роли соматических мутаций в развитии спорадических ЗНО (рис. 1).

МУТАЦИИ В ГЕНЕ *NF1* В СПОРАДИЧЕСКИХ НЕОПЛАЗМАХ

Поскольку одной из основных особенностей НФ1 являются CALM [6], представляющие собой опухолеподобные образования [7], можно предположить, что мутации в гене *NF1* выступают драйверными событиями в развитии некоторых меланом. Действительно, самым ранним событием, которое наблюдается при развитии спорадической десмопластической меланомы, является гомозиготная мутация в гене *NF1* [21]. Она обнаруживается в 93 % случаев данного ЗНО и в 20 % случаев недесмопластической меланомы [22]. В масштабном исследовании 213 образцов

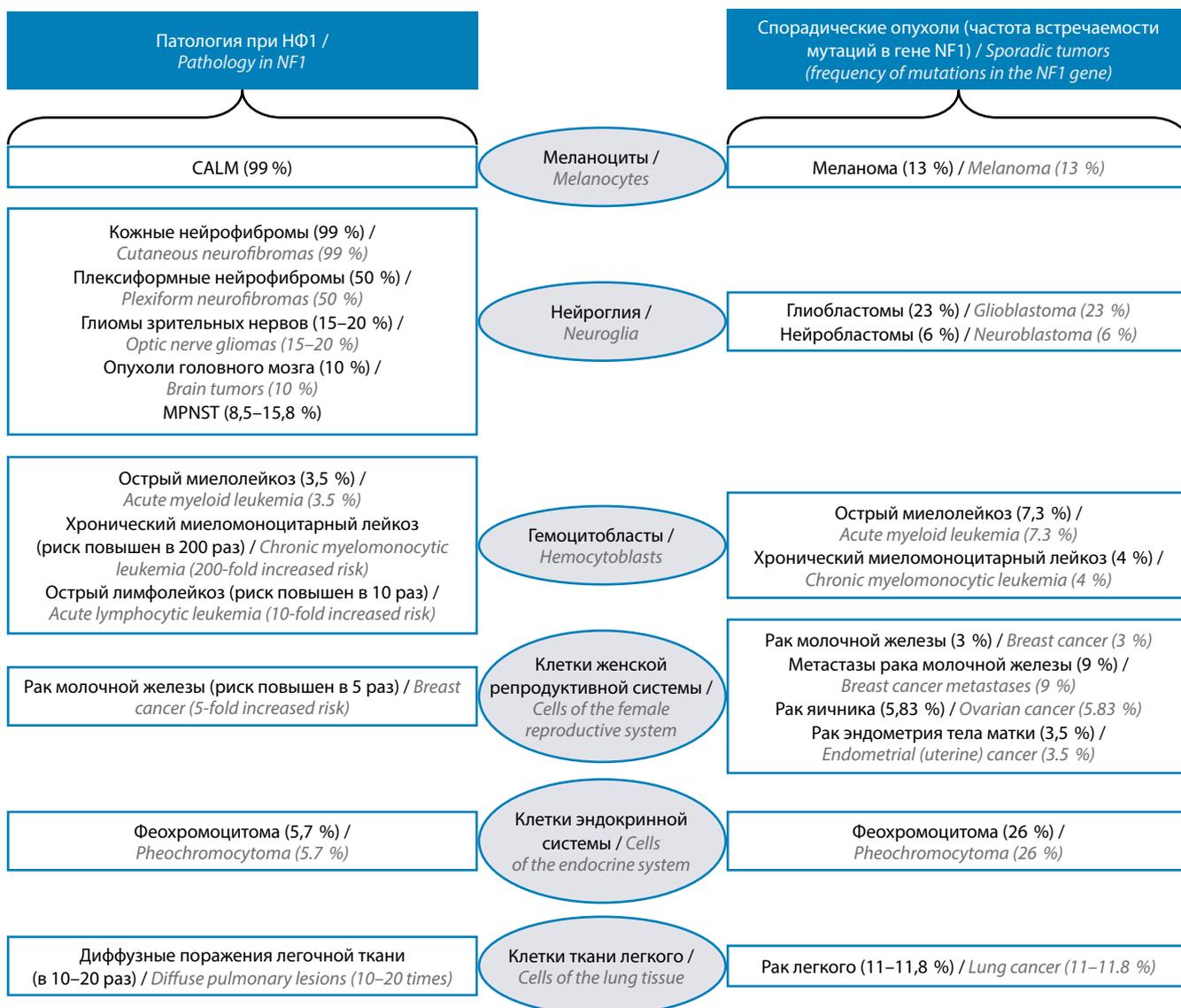


Рис. 1. Сравнительная характеристика клинических проявлений нейрофиброматоза 1-го типа и спорадических опухолей с наличием соматических мутаций в гене NF1. НФ1 – нейрофиброматоз 1-го типа; MPNST – malignant peripheral nerve sheath tumors (злокачественные опухоли оболочек периферических нервов); CALM – café au lait macules (пятна цвета кофе с молоком)

Fig. 1. Comparison of clinical manifestations of Neurofibromatosis type 1 and sporadic tumors with somatic mutations in the NF1 gene. NF1 – neurofibromatosis type 1; MPNST – malignant peripheral nerve sheath tumors; CALM – café au lait macules (coffee-au-lait spots)

меланом мутации *NF1* выявлены в 13 % данных опухолей [23].

Генетический анализ 3281 опухоли 12 типов показал, что мутации в *NF1* в целом обнаруживаются в 4,4 % случаев. Хотя новообразования легкого не служат специфическим проявлением НФ1, часто при раке легкого выявляются мутации в *NF1* (11,8 %) [24]. В ходе исследования тканей аденокарциномы легкого у 230 человек в 11 % образцов обнаружены мутации в этом гене, которые были драйверными событиями в канцерогенезе онкоген-негативных опухолей. Следует отметить, что мутация в *NF1* признается драйверной в том случае, когда в исследуемом новообразовании не обнаруживаются мутации известных протоонкогенов [25]. Поражение тканей легкого наблюдается у 10–20 % взрослых больных НФ1 в виде двусторон-

них базальных ретикуляций, апикальных булл и кист, что свидетельствует о роли этого гена в развитии данного органа [26].

Для НФ1 характерны нейрофибромы и глиомы. Соответственно, дефицит нейрофибромина может способствовать развитию спорадических нейробластом. Мутации в *NF1* определяют в 23 % глиобластом, 6 % нейробластом [15] и 11 % мультиформных глиобластом [24]. Поскольку в патогенезе нейрофибром большую роль играют патологические реакции клеток иммунной системы [10–13], у больных НФ1 риск развития хронического миеломоноцитарного лейкоза выше в 200 раз, а острого лимфолейкоза – в 10 раз по сравнению с общей популяцией [27]. Соматические мутации в *NF1* могут способствовать возникновению спорадических гемобластозов. Делеции *NF1* обнаруживаются

в 5,1 % всех миелопролиферативных неоплазм, в том числе в 7,3 % случаев острого миелолейкоза, в 4 % — хронического миеломоноцитарного лейкоза и в 1,2 % — миелодиспластических синдромов [1]. У 9 % всех больных с хроническим миеломоноцитарным лейкозом обнаруживают НФ1 [27]. В ходе исследования, в котором участвовали 488 пациентов с острым миелолейкозом, у 3,5 % больных выявлены делеции в *NF1* размером 0,3 мегабазы [28]. Можно предположить, что часть обнаруженных мутаций в этом гене в описанных спорадических ЗНО являются драйверными, если не изменены известные протоонкогены [25].

Помимо регуляции Ras, нейрофибромин служит корепрессором транскрипции эстрогенового рецептора- α (ESR1) за счет наличия в белке лейцин/изолейцинового домена, функционально независимого от GAP-активности. В экспериментах данный домен (LBD, ligand-binding domain) способствует коиммунопреципитации с эстрогеновыми рецепторами [20]. Соответственно, мутации в гене *NF1* способствуют развитию опухолей женской репродуктивной системы. Для пациенток с НФ1 характерен высокий риск возникновения рака молочной железы (РМЖ), особенно у женщин младше 40 лет. Это свидетельствует о роли мутаций в *NF1* в развитии данного типа ЗНО [5]. В целом для женщин с НФ1 младше 50 лет риск возникновения РМЖ в 5 раз выше, чем в общей популяции [29]. Мутации в *NF1* обнаруживают в 3 % образцов спорадического РМЖ [30] и 9 % образцов его метастазов в головной мозг. Мутации в этом гене занимают 4-е место (после мутаций в генах *TP53*, *ERBB2* и *RAD21*) [31].

Мутации в *NF1* обнаруживают в 3,5 % случаев рака эндометрия тела матки [24], в 5,83 % [32] образцов рака яичника (22 % серозного рака яичника) [33]. При исследовании 124 образцов эпителиального рака яичника в 93 из них было выявлено значительное снижение уровней матричной РНК (мРНК) *NF1* и нейрофибромина. При этом выявлена отрицательная корреляция экспрессии *NF1* с 5-летней выживаемостью больных и метастазами в лимфатические узлы [34]. Риск развития феохромоцитомы при НФ1 составляет до 5,7 % (в 22 % случаев заболевание протекает без симптомов) [5]. В то же время мутации в гене *NF1* выявляются в 26 % образцов спорадической феохромоцитомы [35].

РОЛЬ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *NF1* В РАЗВИТИИ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕЙ

В фармакотерапии НФ1 наиболее перспективным считается патогенетическое лечение, направленное на подавление активности системы RAF/MEK/ERK. Из препаратов, прошедших клинические испытания и показавших эффективность в отношении плексиформных нейрофибром в ходе ряда исследований [36–39], наиболее результативным оказался ингибитор MEK селуметиниб. Полученные данные могут быть использованы для планирования комплексного лечения спорадических ЗНО, устойчивость к фармакоте-

рапии которых обусловлена мутациями в гене *NF1* (при отсутствии мутаций в протоонкогенах в ткани опухоли [25]). Сложность патогенеза НФ1 обуславливает особенности развития спорадических ЗНО, резистентных к химиотерапии вследствие соматических мутаций в *NF1*. Хотя ингибиторы MEK, воздействующие на систему RAF/MEK/ERK, показали свою эффективность в лечении опухолей при НФ1 [36–39], мутации в *NF1* вызывают резистентность к ингибитору RAF вемурафенибу при лечении меланомы [40–41].

Несмотря на эффективность ретиноевой кислоты при лечении нейробластомы (восстанавливает дифференцировку клеток), часть опухолей оказалась устойчивой к терапии вопреки отсутствию мутаций в генах — компонентах сигналинга данной кислоты. Обнаружено, что именно мутации в *NF1* способствуют резистентности к данному препарату вследствие подавления белка цинкового пальца ZNF423 при активации сигналинга RAS/MEK. ZNF423 является ключевым транскрипционным коактиватором рецепторов ретиноевой кислоты. Нейробластомы с мутациями в генах *NF1* и *ZNF423* характеризуются выраженной агрессивностью и крайне неблагоприятным прогнозом [15]. При исследовании тканей химиорезистентного серозного рака яичника у 92 пациентов выявлена инактивация гена *NF1* (наряду с инактивацией RB1, RAD51B, PTEN), которая способствовала устойчивости опухоли к применяемым препаратам платины [17]. При изучении 336 ESR1+ образцов РМЖ мутации в *NF1* были обнаружены главным образом в устойчивых к гормональной терапии инвазивных лобулярных карциномах с метастазами [18]. Роль дефицита нейрофибромина в развитии химиорезистентности РМЖ доказана при исследовании 210 образцов опухолей. Мутации в *NF1* обнаружены в 8,1 % случаев данного заболевания, в основном в образцах прогрессирующего метастазирующего РМЖ. Данные мутации вызывают устойчивость ESR1+ раковых клеток к ингибиторам ароматазы [42]. Следует отметить, что не все обнаруживаемые мутации *NF1* являются драйверами для развития химиорезистентности в рассмотренных ЗНО. Необходимым условием этого является сохранение нормальной структуры и экспрессии протоонкогенов [25].

При плоскоклеточном раке легкого резистентность к дазатинибу (оральному ингибитору тирозинкиназы) развивается не только в случае наличия мутаций в гене рецептора тирозинкиназы *DDR2*, но и обходным путем при мутациях в гене *NF1* [16], которые вызывают также устойчивость рака легкого к ингибиторам рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) эрлотинибу и гефитинибу [43]. Роль мутаций в *NF1* в развитии химиорезистентности была доказана в ходе экспериментов. На линиях клеток колоректального рака показано, что мутации в этом гене вызывают резистентность к терапии ингибиторами EGFR [19]. Экспериментальные исследования

позволили также выявить механизмы развития устойчивости раковых клеток к ингибиторам ароматазы. Поскольку нейрофибромин служит также корепрессором транскрипции *ESR1*, мутации в *NF1* вызывают гиперчувствительность к эстрадиолу, что снижает эффективность терапии РМЖ тамоксифеном. Более того, мутации *NF1* чаще обнаруживаются в метастазирующих неоплазмах, что говорит о вероятной роли данных мутаций в опухолевой прогрессии [20].

РОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С *NF1* МИКРОРНК В РАЗВИТИИ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕЙ

Помимо мутаций в *NF1* в спорадических ЗНО происходят изменения эпигенетического контроля этого гена вследствие повышенной экспрессии микроРНК, вызывающих сайленсинг мРНК гена *NF1*. К таким микроРНК (miRNA) относятся miR-128, -137, -103, которые комплементарно связываются с 3'-UTR (3'-untranslated region) мРНК *NF1* и снижают уровни нейрофибромина [44]. В 69 % линий клеток меланомы наблюдается повышенный уровень miR-514a, которая специфически подавляет экспрессию *NF1* и повышает выживаемость клеток [45]. Для рака желудка характерна повышенная экспрессия miR-107, которая ингибирует мРНК гена *NF1* за счет связывания со специфическими последовательностями нуклеотидов внутри 3'-UTR. Уровни miR-107 коррелируют с размерами и глубиной инвазии опухоли [46]. Фибробласты плоскоклеточного рака легкого экспрессируют miR-369, которая оказывает целевое воздействие на мРНК гена *NF1*, стимулируя развитие опухоли, миграцию и инвазию раковых клеток [47].

Имеются данные о роли микроРНК, влияющих на *NF1*, в развитии химиорезистентности опухолей. Так, устойчивость немелкоклеточного рака легкого к ингибиторам EGFR, может быть обусловлена повышенной экспрессией miR-641. Данная микроРНК специфически взаимодействует с мРНК гена *NF1* и снижает уровни нейрофибромина [48]. Неэффективность цисплатина при немелкоклеточном раке легкого аналогичным образом связана с гиперпродукцией miR-103a-3p, ингибирующей *NF1* [49]. В глиомах, резистентных к темозоломиду, определяются высокие концентрации miR-27a-3p, также взаимодействующей с *NF1* [50]. По данным ПЦР (полимеразной цепной реакции) в реальном времени и вестерн-блоттинга подавление экспрессии *NF1* происходит в 30,8 % случаев острого миелолейкоза. Частой причиной этого служит повышение уровня miR-370, которая ингибирует синтез нейрофибромина [51]. Сам ген *NF1* оказался вовлечен в регуляцию транскрипции некоторых микроРНК. При его нокдауне усиливается экспрессия антиапоптотического белка *MCL1* (myeloid cell leukemia 1), что обусловлено ролью промотора *NF1* в управлении транскрипцией онкосупрессорной miR-142-5p. Ее мишенью является 3'-UTR гена *MCL1*. При коло-

ректальном раке, плоскоклеточном раке легкого и раке печени уровень miR-142-5p снижается. MiR-142-5p также ингибирует пролиферацию клеток немелкоклеточного рака легкого за счет целевого воздействия на ген *PIK3CA* (кодирует субъединицу PIK3) [52].

Данные о микроРНК, влияющих на уровни нейрофибромина, могут быть использованы в лечении спорадических ЗНО и опухолей при НФ1. Так, в клетках MPNST ингибирование miR-10b вызывает снижение их пролиферации, миграции и инвазии, что связано с ее целевым воздействием на мРНК гена *NF1* [53]. При НФ1 в кожных нейрофибромах и клеточных линиях MPNST определяется повышение уровней miR-27a-3p и miR-27b-3p, которые способствуют пролиферации, миграции и инвазивной способности опухолевых клеток. Обе микроРНК непосредственно воздействуют на мРНК гена *NF1* [54]. Для лечения ЗНО (в возникновении которых доказана драйверная роль мутаций *NF1*) могут быть использованы онкосупрессорные микроРНК, влияющие на экспрессию нейрофибромина опосредованно, через другие молекулы. В частности, miR-612, уровень которой в опухолевых клетках при НФ1 значительно снижен, регулирует активность *NF1* посредством целевого воздействия на *FAIM2* (Fas apoptotic inhibitory molecule 2) [55]. Более того, в качестве мишени для таргетной терапии НФ1 можно применять микроРНК, стимулированные усиленным сигналингом MAPK (mitogen-activated protein kinase) вследствие инактивации *NF1*. К таким микроРНК относится miR-155, усиленно экспрессируемая в плексиформных нейрофибромах. Подавление транскрипции miR-155 с помощью специфических наночастиц подавляет рост нейрофибром. Данный подход предполагается применять при лечении НФ1 [56]. Таким образом, в терапии химиорезистентных опухолей, обусловленных мутациями *NF1*, могут быть использованы онкосупрессорные микроРНК, опосредованно стимулирующие выработку нейрофибромина, а также антисмысловые молекулы с целевым воздействием на микроРНК, как подавляющие экспрессию *NF1*, так и участвующие в онкогенном сигналинге системы RAF/MEK/ERK (рис. 2).

ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕНИЯ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНЫХ ОПУХОЛЕЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *NF1*

Определение мутаций в *NF1* в химиорезистентных ЗНО может стать основой для разработки эффективных способов их лечения. Важным условием этого является отсутствие мутаций в известных протоонкогенах в данных опухолях, что свидетельствует о драйверной роли дефицита нейрофибромина, на регуляторные пути которого планируется воздействие. Так, показано, что сочетание ингибитора RAF 2-го типа с аллостерическим ингибитором MEK способствует преодолению приобретенной устойчивости к терапии ЗНО с мутациями в *NF1*. Наибольшего успеха можно добиться при использовании метода активации

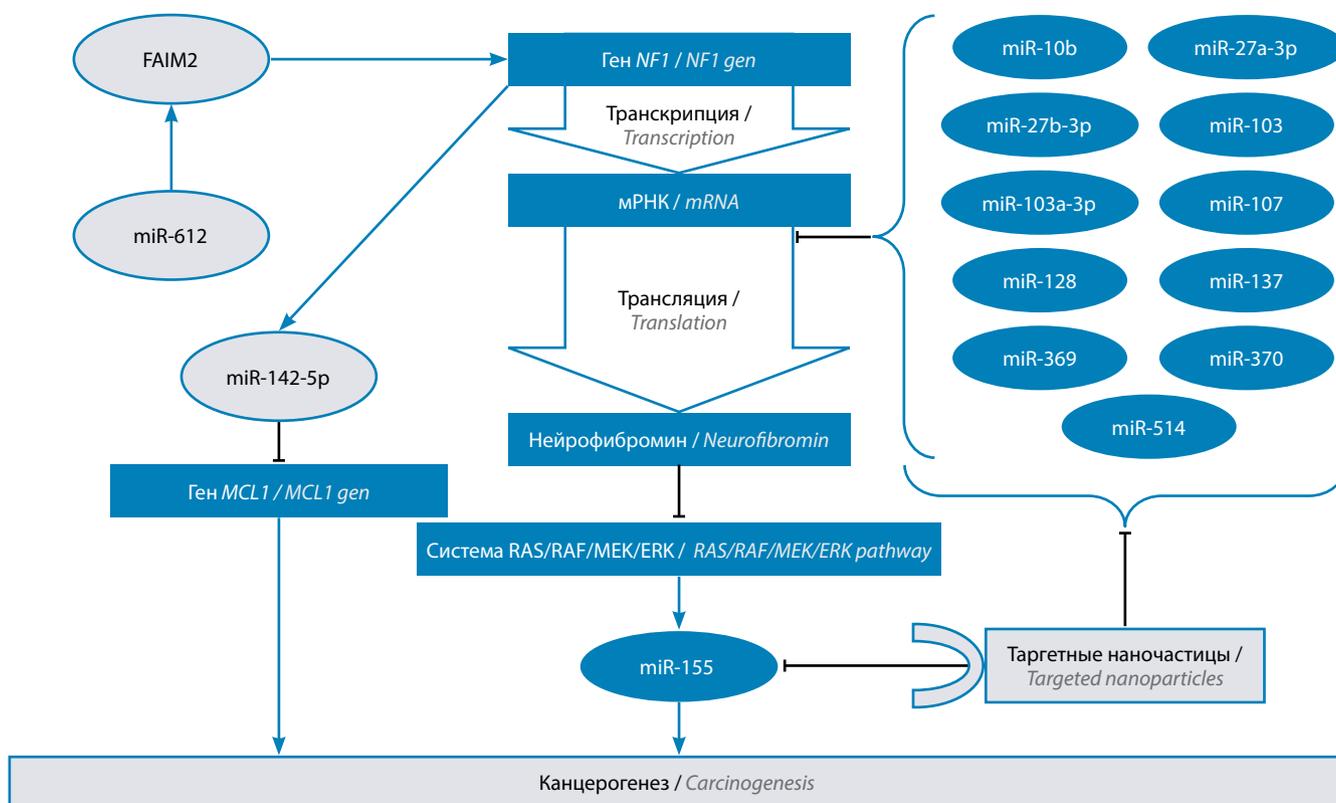


Рис. 2. Взаимосвязь гена *NF1* с микроРНК, а также пути воздействия на них с целью таргетной терапии опухолей. *FAIM2* – *Fas apoptotic inhibitory molecule 2*; *RAF* – *proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*; *MEK* – *mitogen-activated protein kinase kinase*; *ERK* – *extracellular signal-regulated kinase*; *мРНК* – *матричная РНК*; *miR* – *микроРНК*

Fig. 2. Relationship of the *NF1* gene with microRNAs, ways to influence them for targeted tumors' therapy. *FAIM2* – *Fas apoptotic inhibitory molecule 2*; *RAF* – *proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*; *MEK* – *mitogen-activated protein kinase kinase*; *ERK* – *extracellular signal-regulated kinase*; *mRNA* – *messenger RNA*; *miR* – *microRNA*

противоопухолевого ответа CD8⁺ Т-клеток с помощью анти-PD-L1 (лиганда рецептора запрограммированной клеточной гибели 1) [57], который был предложен для лечения нейрофибром при НФ1 [58]. В ходе эксперимента на линиях клеток колоректального рака устойчивость к ингибиторам EGFR преодолевалась с помощью совместного применения ингибиторов EGFR и ингибитора MEK селуметиниба [19]. Чувствительность нейробластомы к ретиноевой кислоте также восстанавливалась при использовании ингибиторов MEK [15]. ESR1⁺ клетки РМЖ с дефицитом нейрофибромина изначально сохраняют восприимчивость к селективным деструкторам ESR1 (SERD). Однако активация Ras вызывает устойчивость к SERD, которую можно преодолеть при введении ингибитора MEK вместе с SERD. Соответственно, комбинация ингибиторов SERD/MEK способствует регрессу опухоли. Поскольку около 80 % всех типов РМЖ являются ESR1-позитивными, в современной онкологии актуально выявление мутаций в *NF1* как фактора резистентности к гормональной терапии [20]. В ходе эксперимента устойчивость рака легкого к эрлотинибу и гефитинибу устранялась за счет блокирования MEK [43]. Это свидетельствует о перспективности применения ингибиторов MEK, таких

как селуметиниб, которые используются в клинической практике [36–39] для данных ЗНО.

Помимо классических ингибиторов MEK в опухолях с мутациями в *NF1* перспективно применение и других препаратов в соответствии с механизмами взаимодействия нейрофибромина. Так, мутации в этом гене способствуют ангиогенезу ЗНО и их прогрессированию за счет активации зависимых от mTOR-путей HIF-1 α (фактора, индуцируемого гипоксией 1- α) и VEGF в опухолевых клетках Шванна [59]. Поэтому при высокозлокачественных глиомах, обусловленных мутациями в *NF1*, показана эффективность ингибитора VEGF бевацизумаба [60]. Поскольку большую роль в накоплении коллагена в нейрофибромах играет вызванный мутацией в этом гене пониженный синтез MMP, предполагается восстановление уровней этих металлопротеиназ с помощью блокаторов лизосом хлорохина и гидроксихлорохина с целью подавления роста опухолей [4]. У женщин с РМЖ, устойчивым к эндокринной терапии вследствие мутации в *NF1* в исходной опухолевой ДНК, была показана эффективность фулвестранта в комплексной терапии с палбоциклибом [42]. Меланома, в которой имеется дефицит нейрофибромина, резистентная к ингибиторам RAF, оказалась чувствительной к необратимому ингибитору RAF

AZ628 и ингибитору ERK [41], а также к комбинации ингибиторов MEK и mTOR [40].

Для лечения опухолей, химиорезистентных вследствие мутаций в *NF1*, перспективна также генная терапия, направленная на восстановление нормального уровня и активности нейрофибромина. Введение полноразмерного нормального гена *NF1* с использованием рекомбинантного аденоассоциированного вируса (гAAV) затруднительно вследствие больших размеров комплементарной ДНК этого гена (8500 п. н.). Поэтому предполагается использовать усеченные варианты *NF1*, сохраняющие функциональные домены [61]. На линиях клеток Шванна и MPNST человека продемонстрирована эффективность восстановления Ras-ГТФазной активности за счет экспрессии GRD с использованием гAAV. Это привело к выраженному подавлению путей RAS/RAF/MEK [3]. В эксперименте на линии клеток нейрофибромы трансфекция изолированных доменов GRD, CSRD, LRD, CTD белка нейрофибромина частично восстанавливала нормальную дифференцировку и функцию клеток [62]. Планируется внедрение данных методов в клиническую практику.

Для использования более простых способов восстановления функции гена *NF1* большое значение имеет молекулярно-генетическое исследование больных. Так, при нонсенс-мутациях возможно подавление терминации трансляции преждевременных стоп-кодонов (РТС – premature termination codons) в рамке считывания. Для этого проводят псевдоуридилирование РТС, ингибирование нонсенс-опосредованного распада мРНК и осуществляют воздействие супрессорными тРНК (транспортными РНК). Наиболее приемлемо использование аминокликозидов, которые подавляют считывание преждевременных стоп-кодонов за счет воздействия на центр декодирования рибосом. Сходными свойствами обладают негамидин (связывается с малой субъединицей рибосомы), спирамицин, джозамицин, тилозин и РТС124 (аталурен) [63]. Противоопухолевым действием обладают также антибиотики из группы тетрациклинов за счет подавления синтеза белка в митохондриях опухолей. На линии клеток MPNST, в которых имелся дефицит нейрофибромина, доксициклин в сочетании с фотодина-

мическим воздействием, вызванным 5-аминолевулиновой кислотой, оказывал выраженный цитотоксический эффект [64]. При глубоких интронных мутациях в гене *NF1*, вызывающих инсерции латентных экзонов в мРНК, экспериментальные исследования на линиях фибробластов и лимфоцитов показали эффективность антисмысловых олигомеров (АМО – antisense morpholino oligomers) при восстановлении нормального сплайсинга. АМО специфически подавляют новые 5'-сайты сплайсинга, необходимые для включения латентных экзонов [65]. Выявление мутаций в *NF1* имеет также большое значение для планирования лучевой терапии ЗНО, поскольку инактивация данного гена способствует развитию индуцированных радиацией вторичных опухолей [66].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование особенностей патогенеза НФ1 может стать основой для разработки путей терапии химиорезистентных спорадических злокачественных новообразований, обусловленных мутациями в гене *NF1* (при отсутствии изменений в протоонкогенах). В настоящее время в лечении опухолевого синдрома при НФ1 эффективность показали ингибиторы MEK, совместное применение которых позволяет также преодолевать химиорезистентность спорадических злокачественных неоплазм, обусловленных соматическими мутациями в гене *NF1*. Дефицит нейрофибромина в опухолях может быть вызван также эпигенетическим подавлением экспрессии *NF1* вследствие повышения уровня специфических микроРНК. Поэтому перспективным направлением в лечении таких новообразований может стать таргетная терапия, нацеленная на микроРНК. Планируется также внедрение в практику генной терапии для восстановления уровней нейрофибромина в тканях новообразований. Для данного подхода большое значение имеет выявление типа мутации в гене *NF1*. В разработке терапии ЗНО наиболее перспективно исследование всех известных протоонкогенов и онкосупрессоров с целью определения драйверной роли специфических молекул в каждом конкретном случае, что является основой современной персонализированной медицины.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Haferlach C., Grossmann V., Kohlmann A. et al. Deletion of the tumor-suppressor gene *NF1* occur in 5 % of myeloid malignancies and is accompanied by a mutation in the remaining allele in half of the cases. *Leukemia* 2012;26(4):834–9. DOI: 10.1038/leu.2011.296.
2. Gutmann D.H., Ferner R.E., Lister-nick R.H. et al. Neurofibromatosis type 1. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17004. DOI: 10.1038/nrdp.2017.4.
3. Bai R.Y., Esposito D., Tam A.J. et al. Feasibility of using NF1-GRD and AAV for gene replacement therapy in NF1-associated tumors. *Gene Ther* 2019;26(6): 277–86. DOI: 10.1038/s41434-019-0080-9.
4. Tsuji G., Takai-Yumine A., Kato T., Furue M. Metalloproteinase 1 downregulation in neurofibromatosis 1: therapeutic potential of antimalarial hydroxychloroquine and chloroquine. *Cell Death Dis* 2021;12(6):513. DOI: 10.1038/s41419-021-03802-9.
5. Stewart D.R., Korf B.R., Nathanson K.L. et al. Care of adults with neurofibromatosis type 1: a clinical practice resource of the American College of Medical

- Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2018;20(7):671–82. DOI: 10.1038/gim.2018.28.
6. Ly K.L., Blakeley J.O. The diagnosis and management of neurofibromatosis type 1. *Med Clin North Am* 2019;103:1035–54. DOI: 10.1016/j.mcna.2019.07.004.
 7. Sung H., Hyland P.L., Pemov A. et al. Genome-wide association study of café-au-lait macule number in neurofibromatosis type 1. *Mol Genet Genomic Med* 2020;8(10):e1400. DOI: 10.1002/mgg3.1400.
 8. Anderson J.L., Gutmann D.H. Neurofibromatosis type 1. *Handb Clin Neurol* 2015;132:75–86. DOI: 10.1016/B978-0-444-62702-5.00004-4.
 9. Costa A.D.A., Gutmann D.H. Brain tumors in neurofibromatosis type 1. *Neurooncol Adv* 2019;1(1):vdz040. DOI: 10.1093/noonajnl/vdz040.
 10. Wei C.J., Gu S.C., Ren J.Y. et al. The impact of host immune cells on the development of neurofibromatosis type 1: the abnormal immune system provides an immune microenvironment for tumorigenesis. *Neurooncol Adv* 2019;1(1):vdz037. DOI: 10.1093/noonajnl/vdz037.
 11. Yang F.C., Ingram D.A., Chen S. et al. Neurofibromin-deficient Schwann cells secrete a potent migratory stimulus for Nfl+/- mast cells. *J Clin Invest* 2003;112(12):1851–61. DOI: 10.1172/JCI19195.
 12. Chen S., Burgin S., McDaniel A. et al. Nfl-/- Schwann cell-conditioned medium modulates mast cell degranulation by c-Kit-mediated hyperactivation of phosphatidylinositol 3-kinase. *Am J Pathol* 2010;177(6):3125–32. DOI: 10.2353/ajpath.2010.100369.
 13. Karmakar S., Reilly K.M. The role of the immune system in neurofibromatosis type 1-associated nervous system tumors. *CNS Oncol* 2017;6(1):45–60. DOI: 10.2217/cns-2016-0024.
 14. Seminog O.O., Goldacre M.J. Risk of benign tumours of nervous system, and of malignant neoplasms, in people with neurofibromatosis: population-based record-linkage study. *Br J Cancer* 2013;108(1):193–8. DOI: 10.1038/bjc.2012.535.
 15. Holzel M., Huang S., Kostel J. et al. NF1 is a tumor suppressor in neuroblastoma that determines retinoic acid response and disease outcome. *Cell* 2010;142(2): 218–29. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.004.
 16. Beauchamp E.M., Woods B.A., Dulak A.M. et al. Acquired resistance to dasatinib in lung cancer cell lines conferred by DDR2 gatekeeper mutation and NF1 loss. *Mol Cancer Ther* 2014;13(2):475–82. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0817.
 17. Patch A.M., Christie E.L., Etemadmoghadam D. et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature* 2015;521(7553): 489–94. DOI: 10.1038/nature14410.
 18. Sokol E.S., Feng Y.X., Jin D.X. et al. Loss of function of NF1 is a mechanism of acquired resistance to endocrine therapy in lobular breast cancer. *Ann Oncol* 2019;30(1):115–23. DOI: 10.1093/annonc/mdy497.
 19. Georgiou A., Stewart A., Cunningham D. et al. Inactivation of NF1 promotes resistance to EGFR inhibition in KRAS/NRAS/BRAFV600-wild-type colorectal cancer. *Mol Cancer Res* 2020;18(6):835–46. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-19-1201.
 20. Zheng Z.Y., Anurag M., Lei J.T. et al. Neurofibromin is an estrogen receptor- α transcriptional co-repressor in breast cancer. *Cancer Cell* 2020;37(3):387–402.e.7. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.02.003.
 21. Shain A.H., Garrido M., Botton T. et al. Exome sequencing of desmoplastic melanoma identifies recurrent NFKBIE promoter mutations and diverse activating mutations in the MAPK pathway. *Nat Genet* 2015;47(10):1194–9. DOI: 10.1038/ng.3382.
 22. Wiesner T., Kiuru M., Scott S.N. et al. NF1 mutations are common in desmoplastic melanoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39(10):1357–62. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000451.
 23. Krauthammer M., Kong Y., Bacchicocchi A. et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations in NF1 and RAS-opathy genes in sun-exposed melanomas. *Nat Genet* 2015;47(9):996–1002. DOI: 10.1038/ng.3361.
 24. Kandath C., McLellan M.D., Vandin F. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature* 2013;502(7471):333–9. DOI: 10.1038/nature12634.
 25. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature* 2014;511(7511): 543–50. DOI: 10.1038/nature13385.
 26. Alves Junior S.F., Zanetti G., de Melo A.S. et al. Neurofibromatosis type 1: state-of-the-art review with emphasis on pulmonary involvement. *Respir Med* 2019;149:9–15. DOI: 10.1016/j.rmed.2019.01.002.
 27. Stiller C.A., Chessells J.M., Fitchett M. Neurofibromatosis and childhood leukaemia/lymphoma: a population-based UKCCSG study. *Br J Cancer* 1994;70(5): 969–72. DOI: 10.1038/bjc.1994.431.
 28. Boudry-Labis E., Roche-Lestienne C., Nibourel O. et al. Neurofibromatosis-1 gene deletions and mutations in *de novo* adult acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2013;88(4):306–11. DOI: 10.1002/ajh.23403.
 29. Suarez-Kelly L.P., Yu L., Kline D. et al. Increased breast cancer risk in women with neurofibromatosis type 1: a meta-analysis and systematic review of the literature. *Hered Cancer Clin Pract* 2019;17:12. DOI: 10.1186/s13053-019-0110-z.
 30. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2012;490:61–70. DOI: 10.1038/nature11412.
 31. Huang R.S., Haberberger J., McGregor K. et al. Clinicopathologic and genomic landscape of breast carcinoma brain metastases. Available at: <https://theoncologist.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/onco.13855>. DOI: 10.1002/onco.13855.
 32. Kanchi K.L., Johnson K.J., Lu C. et al. Integrated analysis of germline and somatic variants in ovarian cancer. *Nat Commun* 2014;5:3156. DOI: 10.1038/ncomms4156.
 33. Sangha N., Wu R., Kuick R. et al. Neurofibromin 1 (NF1) defects are common in human ovarian serous carcinomas and co-occur with TP53 mutations. *Neoplasia* 2008;10(12):1362–72. DOI: 10.1593/neo.08784.
 34. Qiao G., Jia X., Zhang Y., Chen B. Neurofibromin 1 expression is negatively correlated with malignancy and prognosis of epithelial ovarian cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2019;12(5):1702–12.
 35. Welander J., Larsson C., Backdahl M. et al. Integrative genomics reveals frequent somatic NF1 mutations in sporadic pheochromocytomas. *Hum Mol Genet* 2012;21:5406–16. DOI: 10.1093/hmg/dd5402.
 36. Dombi E., Baldwin A., Marcus L. et al. Activity of selumetinib in neurofibromatosis type 1-related plexiform neurofibromas. *N Engl J Med* 2016;375(26):2550–60. DOI: 10.1056/NEJMoa1605943.
 37. Baldo F., Grasso A.G., Wiel L.C. et al. Selumetinib in the treatment of symptomatic intractable plexiform neurofibromas in neurofibromatosis type 1: a prospective case series with emphasis on side effects. *Paediatr Drugs* 2020;22(4):417–23. DOI: 10.1007/s40272-020-00399-y.
 38. Gross A.M., Wolters P.L., Dombi E. et al. Selumetinib in children with inoperable plexiform neurofibromas. *N Engl J Med* 2020;382(15):1430–42. DOI: 10.1056/NEJMoa1912735.
 39. Santo V.E., Passos J., Nzwalo H. et al. Selumetinib for plexiform neurofibromas in neurofibromatosis type 1: a single-institution experience. *J Neurooncol* 2020;147(2):459–63. DOI: 10.1007/s11060-020-03443-6.
 40. Maertens O., Johnson B., Hollstein P. et al. Elucidating distinct roles for NF1 in melanomagenesis. *Cancer Discov* 2013;3(3):338–49. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0313.

41. Whittaker S.R., Theurillat J.P., Allen E.V. et al. A genome-scale RNA interference screen implicates NF1 loss in resistance to RAF inhibition. *Cancer Discov* 2013;3(3):350–62. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0470.
42. Pearson A., Proszek P., Pascual J. et al. Inactivating *NF1* Mutations are enriched in advanced breast cancer and contribute to endocrine therapy resistance. *Clin Cancer Res* 2020;26(3):608–22. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-4044.
43. De Bruin E.C., Cowell C., Warne P.H. et al. Reduced NF1 expression confers resistance to EGFR inhibition in lung cancer. *Cancer Discov* 2014;4(5):606–19. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0741.
44. Paschou M., Doxakis E. Neurofibromin 1 is a miRNA target in neurons. *PLoS One* 2012;7(10):346773. DOI: 10.1371/journal.pone.0046773.
45. Stark M.S., Bonazzi V.F., Boyle G.M. et al. MiR-514a regulates the tumour suppressor NF1 and modulates BRAFi sensitivity in melanoma. *Oncotarget* 2015;6(19):17753–63. DOI: 10.18632/oncotarget.3924.
46. Wang S., Ma G., Zhu H. et al. MiR-107 regulates tumor progression by targeting NF1 in gastric cancer. *Sci Rep* 2016;6:36531. DOI: 10.1038/srep36531.
47. Guo L., Li B., Yang J. et al. Fibroblast-derived exosomal microRNA-369 potentiates migration and invasion of lung squamous cell carcinoma cells via NF1-mediated MAPK signaling pathway. *Int J Mol Med* 2020;46(2):595–608. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4614.
48. Chen J., Cui J., Guo X. et al. Increased expression of miR-641 contributes to erlotinib resistance in non-small-cell lung cancer cells by targeting NF1. *Cancer Med* 2018;7(4):1394–1403. DOI: 10.1002/cam4.1326.
49. Zhu H., Yang J., Yang S. MicroRNA-103a-3p potentiates chemoresistance to cisplatin in non-small cell lung carcinoma by targeting neurofibromatosis 1. *Exp Ther Med* 2020;19(3):1797–805. DOI: 10.3892/etm.2020.8418.
50. Li S., Li W., Chen G. et al. MiRNA-27a-3p induces temozolomide resistance in gliomas by inhibiting NF1 level. *Am J Transl Res* 2020;12(8):4749–56.
51. Garcia-Orti L., Crostobal I., Cirauqui C. et al. Integration of SNP and mRNA arrays with microRNA profiling reveals that MiR-370 is upregulated and targets NF1 in acute myeloid leukemia. *PLoS One* 2012;7(10):e47717. DOI: 10.1371/journal.pone.0047717.
52. Su J., Ruan S., Dai S. et al. NF1 regulates apoptosis in ovarian cancer cells by targeting MCL1 via miR-142-5p. *Pharmacogenomics* 2019;20(3):155–65. DOI: 10.2217/pgs-2018-0161.
53. Chai G., Liu N., Ma J. et al. MicroRNA-10b regulates tumorigenesis in neurofibromatosis type 1. *Cancer Sci* 2010;101(9):1997–2004. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01616.x.
54. Lu H., Liu P., Pang Q. MiR-27a-3p/miR-27b-3p promotes neurofibromatosis type 1 via targeting of NF1. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12031-020-01779-2>. DOI: 10.1007/s12031-020-01779-2.
55. Wang M., Wang Z., Zhu X. et al. NFKB1-miR-612-FAIM2 pathway regulates tumorigenesis in neurofibromatosis type 1. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2019;55(7):491–500. DOI: 10.1007/s11626-019-00370-3.
56. Na Y., Hall A., Choi K. et al. MicroRNA-155 contributes to plexiform neurofibroma growth downstream of MEK. *Oncogene* 2021;40:951–63. DOI: 10.1038/s41388-020-01581-9.
57. Hong A., Piva M., Liu S. et al. Durable suppression of acquired MEK inhibitor resistance in cancer by sequestering MEK from ERK and promoting antitumor T-cell immunity. *Cancer Discov* 2021;11(3):714–35. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0873.
58. Wang S., Liechty B., Patel S. et al. Programmed death ligand 1 expression and tumor infiltrating lymphocytes in neurofibromatosis type 1 and 2 associated tumors. *J Neurooncol* 2018;138(1):183–90. DOI: 10.1007/s11060-018-2788-6.
59. Kawachi Y., Maruyama H., Kshitsuka Y. et al. NF1 gene silencing induces upregulation of vascular endothelial growth factor expression in both Schwann and non-Schwann cells. *Exp Dermatol* 2013;22(4):262–5. DOI: 10.1111/exd.12115.
60. Theeler B.J., Ellezam B., Yust-Katz S. et al. Prolonged survival in adult neurofibromatosis type 1 patients with recurrent high-grade gliomas treated with bevacizumab. *J Neurol* 2014;261(8):1559–64. DOI: 10.1007/s00415-014-7292-0.
61. Walker J.A., Upadhyaya M. Emerging therapeutic targeting for neurofibromatosis. *Expert Opin Ther Targets* 2018;22(5):419–37. DOI: 10.1080/14728222.2018.1465931.
62. Cui X.W., Ren J.Y., Gu Y.H. et al. NF1, neurofibromin and gene therapy: Prospects of next-generation therapy. *Curr Gene Ther* 2020;20(2):100–8. DOI: 10.2174/1566523220666200806111451.
63. Keeling K.M., Xue X., Gunn G., Bedwell D.M. Therapeutics based on stop codon readthrough. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2014;15:371–94. DOI: 10.1146/annurev-genom-091212-153527.
64. Lee M.J., Hung S.H., Huang M.C. et al. Doxycycline potentiates antitumor effect of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy in malignant peripheral nerve sheath tumor cells. *PLoS One* 2017;12(5):e0178493. DOI: 10.1371/journal.pone.0178493.
65. Pros E., Fernandez-Rodriguez J., Canet B. et al. Antisense therapeutics for neurofibromatosis type 1 caused by deep intronic mutations. *Hum Mutat* 2009;30(3):454–62. DOI: 10.1002/humu.20933.
66. Choi G., Huang B., Pinarbasi E. et al. Genetically mediated Nf1 loss in mice promotes diverse radiation-induced tumors modeling second malignant neoplasms. *Cancer Res* 2012;72(24):6425–34. DOI: 10.1158/0008-5472.

ORCID автора / ORCID of author

P.H. Мустафин / R.N. Mustafin: <https://orcid.org/0000-0002-4091-382X>

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 04.05.2021. **Принята к публикации:** 09.09.2021.

Article submitted: 04.05.2021. **Accepted for publication:** 09.09.2021.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-34-43



Циркулирующие предиктивные маркеры ответа на ингибиторы контрольных точек иммунитета при немелкоклеточном раке легкого

А.А. Мусаелян^{1,2}, А.Л. Акопов¹, С.В. Лапин¹, В.Д. Назаров¹, Д.И. Филиппов¹, В.Л. Эмануэль¹, 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

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

Иммунотерапия ингибиторами контрольных точек иммунитета (ИКТИ) в виде монотерапии или в комбинации с химиотерапией стала одним из ключевых подходов в лечении пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Оценка уровня экспрессии PD-L1 (лиганда рецептора запрограммированной клеточной гибели 1) на опухолевых клетках с помощью иммуногистохимического исследования является единственным одобренным методом определения показаний к назначению ИКТИ у этой группы больных. Однако, несмотря на высокий уровень экспрессии данного маркера, до 80 % пациентов не отвечают на терапию в связи с наличием первичной или приобретенной резистентности. Это обуславливает ограниченную эффективность ИКТИ. К тому же у 8–17 % больных НМРЛ с негативной экспрессией PD-L1 наблюдается ответ на данную терапию. Ограничением этого маркера является то, что он не позволяет оценить как внутриопухолевый, так и системный иммунный статус. Необходим поиск дополнительных предиктивных маркеров для повышения точности отбора кандидатов на иммунотерапию, что позволит избежать затрат, потери времени, высокого риска возникновения иммуноопосредованных нежелательных явлений у потенциально не отвечающих на лечение пациентов. Внимание многих исследователей посвящено циркулирующим маркерам в периферической крови как неинвазивной альтернативе биопсии с целью прогнозирования и мониторинга ответа на терапию. Данный обзор посвящен наиболее перспективным иммунологическим маркерам в периферической крови как потенциальным предикторам ответа на ИКТИ у пациентов с распространенным НМРЛ.

Ключевые слова: предиктивные маркеры, немелкоклеточный рак легкого, иммунотерапия, лиганд рецептора запрограммированной клеточной гибели 1

Для цитирования: Мусаелян А.А., Акопов А.Л., Лапин С.В. и др. Циркулирующие предиктивные маркеры ответа на ингибиторы контрольных точек иммунитета при немелкоклеточном раке легкого. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(3):34–43. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-34-43.

Circulating predictive markers of immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer

A.A. Musaelyan^{1,2}, A.L. Akopov¹, S.V. Lapin¹, V.D. Nazarov¹, D.I. Phillipov¹, V.L. Emanuel¹, 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

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

Immune checkpoint inhibitors (ICIs) alone or in combination with chemotherapy have become one of the key approaches in the treatment of patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). Evaluation of level of PD-L1 (ligand of the programmed cell death receptor 1) expression on tumor cells using immunohistochemistry is the only approved option for determining the indications of ICIs in this group of patients. However, despite high level of PD-L1 expression, up to 80 % of patients do not respond to therapy due to the presence of primary or acquired resistance, which determines the limited effectiveness of ICI. In addition, 8–17 % of PD-L1-negative patients with NSCLC are also able to respond to ICIs. The limitation of this marker is that it does not allow assessing both intratumoral and systemic immune status. It is necessary to search for additional predictive markers to improve the accuracy of the selection of candidates for immunotherapy, which will avoid costs, wasted time, and a high risk of immune-related adverse events in potentially unresponsive patients. The attention of researchers is devoted to circulating markers in peripheral blood, as a non-invasive

alternative to biopsy for predicting and monitoring the response. This review focuses on the most promising immunological markers in peripheral blood as potential predictors of response to ICIs in patients with advanced NSCLC.

Key words: predictive markers, non-small cell lung cancer, immunotherapy, ligand of the programmed cell death receptor 1

For citation: Musaelyan A.A., Akopov A.L., Lapin S.V. et al. Circulating predictive markers of immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(3):34–43. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-34-43.

ВВЕДЕНИЕ

Появление ингибиторов контрольных точек иммунитета (ИКТИ) привело к началу новой эры системной противоопухолевой терапии. Антитела, направленные на антиген цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (CTLA-4) и антиген запрограммированной клеточной гибели 1 (PD-1)/лиганд данного белка (PD-L1), продемонстрировали высокую клиническую эффективность при различных солидных опухолях, в том числе при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ). Так, CTLA-4 представляет собой ингибитор функции Т-клеток и взаимодействует с его лигандами (CD80 и CD86). PD-1 является ключевым регулятором Т-клеточного иммунитета и принадлежит к семейству костимулирующих рецепторов B7-CD28 [1]. Лиганд PD-L1 обнаружен на опухолевых клетках, тогда как рецепторы PD-1 избирательно экспрессируются на CD4⁺- и CD8⁺-Т-клетках, моноцитах, естественных киллерах, В-клетках и дендритных клетках [2]. Эти лиганд-рецепторные взаимодействия служат отрицательными регуляторами активации Т-клеток. Таким образом, блокада данных контрольных точек нарушает негативную регуляцию и приводит к активации иммунной системы.

Преимуществом использования ИКТИ по сравнению со стандартной химиотерапией является увеличение показателей выживаемости без прогрессирования (ВБП) и общей выживаемости (ОВ) [3]. В настоящее время при НМРЛ одобрены 5 ИКТИ: анти-PD-1-антитела (пембролизумаб, ниволумаб), анти-PD-L1-антитела (атезолизумаб, дурвалумаб) и комбинация анти-PD-1- и анти-CTLA-4-антител (ниволумаб + ипилимумаб) [4]. Однако, несмотря на разнообразие препаратов, используемых при данном заболевании, в большинстве случаев пациенты имеют первичную или приобретенную устойчивость к ИКТИ [5]. Так, у больных НМРЛ, получающих данные ингибиторы в монорежиме, частота объективного ответа (ЧОО) не превышает 20 % [6]. Кроме того, пациенты, не отвечающие на ИКТИ, имеют высокий риск возникновения иммуноопосредованных нежелательных явлений, а отсутствие отбора кандидатов на проведение иммунотерапии приводит к значимым экономическим затратам. Таким образом, существует необходимость поиска предиктивных маркеров ответа на ИКТИ при НМРЛ.

Определение экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках методом иммуногистохимии (ИГХ) является ключевым и наиболее логичным, исходя из механизма

действия анти-PD-1/PD-L1-антител, предиктивным маркером при НМРЛ [7]. По результатам ряда исследований, в ходе которых изучалось применение анти-PD-1/PD-L1-антител у пациентов с метастатическим НМРЛ, высокий уровень экспрессии PD-L1 ассоциирован с лучшими показателями выживаемости [8]. В частности, пациенты с распространенным НМРЛ с уровнем экспрессии PD-L1 >50 % при отсутствии активирующих мутаций, получавшие пембролизумаб, демонстрируют более высокие показатели ЧОО, ВБП и ОВ по сравнению с пациентами с аналогичным заболеванием, которым проводили стандартную химиотерапию [9]. Исследование M. Reck и соавт. демонстрируют важность определения экспрессии PD-L1 для выявления возможности назначения анти-PD-1/PD-L1-антител. В настоящее время доступен широкий спектр ИГХ-тестов, таких как 22C3 (Agilent), 28–8 (Agilent), SP142 (Roche Diagnostics), SP243 (Roche Diagnostics). Однако в оценке данного маркера есть ряд ограничений. В частности, для обнаружения или количественной оценки экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках используются разные антитела, а также различные пороговые значения [10]. Еще одним недостатком этого маркера является то, что многие пациенты с PD-L1-негативной экспрессией опухолей отвечают на терапию анти-PD-1/PD-L1-антителами [11]. Такая особенность может быть обусловлена клональной и пространственной гетерогенностью новообразования и при локализованном, и при распространенном НМРЛ, что затрудняет оценку статуса PD-L1 в образцах биопсии [12].

В связи с высокой внутриопухолевой гетерогенностью НМРЛ и инвазивностью биопсии для первичной оценки опухоли и последующего мониторинга заболевания требуется поиск предиктивных маркеров в периферической крови, которые могут представлять собой суррогатный маркер ответа на ИКТИ в самой опухоли. Данный обзор посвящен наиболее перспективным периферическим маркерам-предикторам, которые позволяют оценить противоопухолевый иммунитет.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ИММУННЫЕ КЛЕТКИ

Классические клеточные параметры периферической крови. Использование количества эозинофилов, лимфоцитов и нейтрофилов в качестве прогностических и предиктивных маркеров ответа на ИКТИ является одной из важных областей исследования. J. Tanizaki и соавт. в ходе многопараметрического анализа

выявили, что у пациентов с НМРЛ, получавших ниволумаб, исходно низкие показатели абсолютного количества нейтрофилов (пороговое значение $\leq 7500/\text{мкл}$) и исходно высокие значения абсолютного количества лимфоцитов ($\geq 1000/\text{мкл}$) и эозинофилов ($\geq 150/\text{мкл}$) достоверно и независимо коррелируют с увеличением показателей ВБП ($p = 0,001$, $p = 0,04$ и $p = 0,02$ соответственно) и ОВ ($p = 0,03$, $p = 0,03$ и $p = 0,003$ соответственно) [13]. Еще в одном исследовании по результатам многопараметрического анализа было показано, что исходно высокое абсолютное количество лимфоцитов статистически значимо не связано с повышением значений ВБП и ОВ при проведении анти-PD-1-терапии, а исходно высокое абсолютное количество нейтрофилов ассоциировано с более низкими показателями ОВ ($p = 0,02$), но не с низкими показателями ВБП [14]. В 2 исследованиях многопараметрический анализ проводился без учета экспрессии PD-L1. Вероятнее всего, только определение абсолютного количества нейтрофилов или лимфоцитов не позволяет оценить клинические исходы и эффективность ответа на иммунотерапию у пациентов с НМРЛ.

Высокое нейтрофильно-лимфоцитарное отношение (НЛО) отражает статус хронического воспаления, что может служить индикатором иммунного ответа пациентов со злокачественными новообразованиями [10, 15]. В результате ряда исследований выявлена отрицательная прогностическая ценность высокого значения НЛО у пациентов с НМРЛ, получающих ИКТИ [16]. В ретроспективном исследовании 175 пациентов с распространенным НМРЛ, принимавших ниволумаб, в ходе многопараметрического анализа было обнаружено, что НЛО ≥ 5 до лечения ассоциировано с более низкими показателями ВБП и ОВ по сравнению с НЛО < 5 до лечения: ВБП – 1,9 мес против 2,8 мес ($p = 0,04$), ОВ – 5,5 мес против 8,4 мес ($p = 0,002$) [17]. Также многопараметрический анализ, учитывающий, в частности, статус PD-L1, показал, что значение НЛО ≥ 5 через 6 нед после начала анти-PD-1-терапии связано с улучшением показателей ВБП (отношение рисков (ОР) = 15,09, $p < 0,001$) и ОВ (ОР = 3,82, $p = 0,003$) [18]. Более того, результаты метаанализа, включавшего 14 ретроспективных исследований пациентов с НМРЛ, получавших анти-PD-1-антитела, продемонстрировали, что исходное значение НЛО ≥ 5 ассоциировано с более низкими показателями ВБП (ОР = 1,73, $p < 0,05$) и ОВ (ОР = 1,76, $p < 0,05$) [19].

Еще одним возможным суррогатным предиктивным маркером может служить производное НЛО (пНЛО), которое рассчитывается как отношение абсолютного количества нейтрофилов к разности суммы количества лейкоцитов и нейтрофилов [20]. L. Mezquita и соавт. показали, что у пациентов с распространенным НМРЛ, получавших анти-PD-1/PD-L1-терапию, выявлена связь между исходным значением пНЛО > 3 и более низкими показателями ОВ (ОР = 2,2, $p < 0,001$) [21].

Кроме того, в данном исследовании разработан иммунный прогностический индекс, который включает пНЛО (пороговое значение положительного результата > 3) и лактатдегидрогеназу (ЛДГ) (выше верхней границы нормы). Этот индекс позволяет разделять пациентов, получающих ИКТИ, на 3 прогностические группы: хорошего (отсутствие 2 факторов), промежуточного (наличие 1 фактора) и плохого прогнозов (наличие 2 факторов). Медиана ОВ для групп плохого, промежуточного и хорошего прогнозов на основе данного индекса составила 3, 10 и 34 мес соответственно, а медиана ВБП – 2, 3,7 и 6,3 мес соответственно (в обоих случаях $p < 0,001$).

Также по результатам однофакторного анализа через 6 нед после начала терапии анти-PD-1-антителами значение тромбоцитарно-лимфоцитарного отношения ≥ 169 коррелировало с более высокими показателями ОВ ($p = 0,002$) [18]. Увеличение же значения лимфоцитарно-моноцитарного отношения статистически значимо связано с более высокой ЧОО (50,0 % против 20,0 %; $p = 0,015$) и увеличением показателей ВБП (не достигнуты и 3,1 мес соответственно; $p = 0,0092$) [10, 22].

Для подтверждения функции базовых клеточных параметров периферической крови как предиктивных маркеров ответа на иммунотерапию при НМРЛ необходимы дальнейшие крупномасштабные проспективные клинические исследования.

Субпопуляции Т-лимфоцитов. Т-клетки представляют собой популяцию клеток периферической крови, которая наиболее изучена в качестве предиктивных маркеров ответа на терапию ИКТИ у пациентов с различными злокачественными опухолями.

Одной из популяций, которая может служить предиктором ответа на ИКТИ, являются PD-1⁺CD8⁺-клетки. В ходе исследования 29 пациентов с распространенным НМРЛ показано, что увеличение уровня PD-1⁺CD8⁺-Т-клеток в периферической крови в течение 4 нед после начала терапии связано с ответом на анти-PD-1-антитела [23]. При проведении анти-PD-1-терапии раннее увеличение этого уровня Т-клеток наблюдалось у 79 % пациентов с ответом на терапию и у 22 % пациентов с прогрессированием заболевания [12, 23]. Стоит отметить, что данные пролиферирующие CD8⁺-Т-клетки имели эффекторный фенотип (HLA-DR⁺CD38⁺BCL-2^{low}) и демонстрировали высокую экспрессию PD-1, CTLA-4 и костимулирующих молекул (CD28, CD27 и ICOS), играющих ключевую роль в иммунном ответе в сигнальном пути PD-1/PD-L1. В другом исследовании, включавшем 31 пациента с распространенным НМРЛ, получавшего ИКТИ, продемонстрировано, что исходно высокий уровень PD-1⁺CD8⁺-клеток в периферической крови связан с лучшим прогнозом [24]. К. Kim и соавт. также показали, что пролиферативный ответ PD-1⁺CD8⁺-Т-лимфоцитов в периферической крови после 1-й недели введения анти-PD-1-антител ассоциирован с ответом

на терапию у пациентов с НМРЛ [25]. Для прогноза ответа на ИКТИ авторы разработали индекс Ki-67_{D7/D0}, который представляет собой отношение уровня экспрессии Ki-67 на PD-1⁺CD8⁺-клетках через 1 нед после начала терапии к уровню данного маркера до начала лечения. Пороговое значение этого индекса составило 2,8. У пациентов с Ki-67_{D7/D0} >2,8 клинический ответ (ответ в течение 6 мес) был статистически значимо более продолжительным, чем у пациентов с Ki-67_{D7/D0} <2,8 ($p < 0,001$). У больных с Ki-67_{D7/D0} >2,8 медиана ВБП оказалась выше, чем у больных с Ki-67_{D7/D0} <2,8, и составила 8,7 мес и 3,9 мес ($p = 0,027$).

Еще одной популяцией лимфоцитов, которая может служить суррогатным маркером эффективности иммунотерапии, являются Т-клетки памяти. У пациентов с НМРЛ, получавших ниволумаб, высокое значение отношения Т-клеток центральной памяти к эффекторным клеткам ассоциировано с более продолжительной ВБП и более высокой экспрессией PD-L1 в опухоли [26]. Схожие результаты получены в ходе исследования пациентов с НМРЛ, получавших анти-PD-1/PD-L1-антитела [27]. М. Zuazo и соавт. показали, что высокий уровень CD4⁺-Т-клеток памяти с низкой коэкспрессией белков PD-1 и LAG-3 (белок гена активации лимфоцитов 3) ассоциирован с ответом на проводимую терапию [27]. Высокий исходный уровень центральных Т-клеток памяти соотносится с ответом на анти-PD-1-терапию [28]. Небольшая доля эффекторных CD8⁺-Т-клеток памяти (CCR7⁻CD45RA⁻) и большая доля TIGIT⁺-положительных PD-1⁺CD8⁺-Т-лимфоцитов до проведения терапии анти-PD-1-антителами статистически значимо связаны с более низкими показателями ВБП и ОВ, а также риском появления гиперпрогрессивного роста опухоли [10, 29].

Регуляторные Т-клетки (Treg) представляют собой популяцию, которая обуславливает иммунологическую толерантность и подавление иммунного ответа. Исходя из функции этих клеток, ряд исследователей предположили, что малое количество Treg может способствовать эффективности терапии ИКТИ [10]. Исходная доля CD25⁺FOXP3⁺-Treg среди общего количества CD4⁺-Т-клеток была значительно ниже у лиц, ответивших на лечение ниволумабом ($p = 0,034$) [30]. В другом исследовании, напротив, показано, что исходно меньшее количество Treg связано с неэффективностью терапии анти-PD-1/PD-L1-антителами [31]. С. Krieg и соавт. продемонстрировали, что между количеством CD127⁻CD25⁺-Treg как на исходном уровне, так и после лечения между пациентами, ответившими и не ответившими на терапию анти-PD-1-антителами, не было различий [32]. В другом исследовании также не обнаружено взаимосвязи Ki-67⁺-Treg и ответа на терапию ИКТИ [33]. Различия в предиктивной значимости Treg требуют проведения более крупных когортных исследований, направленных на изучение не только изменений количества клеток данной популяции, но и иммуносупрессивной функции Treg [10].

Старение иммунной системы (иммуносенescенция) обусловлено постоянной антигенной стимуляцией [12]. Старение Т-клеток отражает статус дифференцировки Т-клеток с низкой пролиферативной активностью и снижение способности распознавать антигенное разнообразие [34, 35]. R. Ferrara и соавт. в ходе проспективного исследования (медиана наблюдения – 26,6 мес) с помощью проточной цитометрии оценили долю CD28⁻CD57⁺KLRG1⁺-клеток, представляющих собой стареющий иммунный фенотип, среди CD8⁺-Т-клеток у пациентов с распространенным НМРЛ, получавших ИКТИ в монорежиме [36]. Наличие данного фенотипа статистически значимо коррелировало с более низкими значениями ЧОО (0 % против 30 %; $p = 0,04$), медианы ВБП (1,8 мес против 6,4 мес; $p = 0,009$) и медианы ОВ (2,8 мес против 20,8 мес; $p = 0,02$).

Клетки-супрессоры миелоидного происхождения (MDSC). Это популяция миелоидных клеток, участвующих в ингибировании адаптивного иммунитета [37]. Клетки-супрессоры миелоидного происхождения состоят из 2 субпопуляций – полиморфноядерной (PMN-MDSC) и моноцитоподобной (M-MDSC) [12, 37]. При злокачественных новообразованиях происходит постоянная стимуляция костного мозга и, как следствие, в периферической крови появляются преимущественно незрелые и aberrантно функционирующие нейтрофилы и моноциты [12]. Эти клетки и представляют собой MDSC. Их доля увеличивается при прогрессировании заболевания [12, 38].

У пациентов с НМРЛ высокий уровень MDSC ассоциирован с неблагоприятным прогнозом, в частности с ранним рецидивом заболевания после хирургического лечения [39]. Исходя из иммуносупрессивной функции MDSC, в ряде исследований продемонстрирована роль данной группы клеток в качестве предиктивного маркера ответа на анти-PD-1-антитела у пациентов с НМРЛ. А. Passaro и соавт. показали, что у больных НМРЛ, получавших ниволумаб во 2-й линии терапии, исходно высокий уровень PMN-MDSC ассоциирован со значительно лучшим ответом на ИКТИ, а также с увеличением показателей ВБП и ОВ [40]. Однако Н. Kim и соавт. не выявили статистически значимых различий в исходном количестве PMN-MDSC до введения ниволумаба во 2-й линии терапии у пациентов с длительностью ответа более 6 мес и менее 6 мес [31]. В данном исследовании продемонстрировано, что после 1-го введения ниволумаба отмечалось статистически значимое снижение количества PMN-MDSC у больных с длительностью ответа более 6 мес, а также наблюдалась обратная корреляция между соотношением Treg и PMN-MDSC. Авторы показали, что отношение Treg к PMN-MDSC (Treg/PMN-MDSC) имеет высокую предиктивную значимость. Значение отношения Treg к PMN-MDSC $\geq 0,39$ ассоциировано с более продолжительной ВБП по сравнению со значением отношения Treg к PMN-MDSC $< 0,39$ ($p = 0,0079$).

Раннее увеличение количества Tim-3-положительных лимфоидных клеток и M-MDSC, экспрессирующих галектин-9, связано как с первичной, так и с приобретенной резистентностью к анти-PD-1-терапии [41].

Естественные киллеры (NK-клетки). Исходно высокое абсолютное количество фенотипически активных CD56⁺-NK-клеток ассоциировано с ответом на терапию ниволумабом у пациентов с НМРЛ ($p < 0,01$) [24]. В свою очередь, при проведении анти-PD-1-терапии отмечалось значительное увеличение количества циркулирующих NK-клеток у больных, ответивших на анти-PD-1-терапию, а у тех, кто на нее не ответил, их количество оставалось неизменным или незначительно снижалось [24]. Схожие результаты получены в ходе предварительного исследования 9 пациентов с НМРЛ, получавших ИКТИ: обнаружено значимое увеличение количества NK-клеток и их общей активности во время терапии у больных, ответивших на лечение данными ингибиторами, по сравнению с больными, которые на нее не ответили [10, 42]. Однако в другом исследовании пациентов с распространенным НМРЛ, получавших ниволумаб, было показано, что высокий исходный уровень NK-клеток статистически значимо связан с низкими показателями ОВ (ОР = 2,72, $p = 0,002$) [43]. Исходя из полученных данных, необходимо дальнейшее изучение отдельных популяций NK-клеток в отношении иммунотерапии и их потенциала в качестве предиктивного маркера ответа на ИКТИ, а также проведение крупных проспективных когортных исследований.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ СЫВОРОТОЧНЫЕ БИОМАРКЕРЫ

Воспалительные белки. Ряд исследователей в качестве иммунологического механизма резистентности к системной терапии при различных солидных опухолях рассматривают воспалительный процесс [12]. Одним из маркеров этого процесса является ЛДГ. Она также выступает маркером прогноза у пациентов с НМРЛ: высокий уровень ЛДГ статистически значимо связан с низкими показателями ОВ независимо от типа лечения [44]. Также по результатам метаанализа, включавшего 6 ретроспективных когортных исследований, показано, что высокий уровень ЛДГ перед проведением терапии анти-PD-1-антителами у больных НМРЛ ассоциирован с низкими показателями ОВ и ВБП [45].

Еще одним не менее важным белком воспаления, который может также служить неинвазивным маркером ответа на иммунотерапию, является С-реактивный белок (СРБ). J. Riedl и соавт. продемонстрировали, что повышение его уровня перед лечением ИКТИ у пациентов с распространенным НМРЛ является независимым предиктором снижения показателей ЧОО, ОВ и ВБП [46]. В ряде исследований показано, что раннее снижение уровня СРБ во время терапии ИКТИ ассоциировано с уменьшением риска рецидива заболевания [46, 47].

Сывороточный PD-L1. Ряд иммунных контрольных точек, такие как PD-1, PD-L1 и CTLA-4, представлены в 2 формах: в виде белка, расположенного на клеточной поверхности, и сывороточной формы, образующейся в результате протеолитического расщепления [12]. Участие сывороточного PD-L1 (sPD-L1) в сигнальном пути PD-1/PD-L1 при злокачественных новообразованиях остается предметом активного изучения [48]. Отсутствие взаимосвязи экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках и уровня sPD-L1 при многих типах опухолей, например при НМРЛ, предполагает важность микроокружения в продукции sPD-L1 [49]. В частности, активированные зрелые дендритные клетки и активированные Т-клетки способны продуцировать sPD-L1 [50].

В ряде исследований показано, что высокий уровень sPD-L1 ассоциирован с негативным прогнозом и низкой эффективностью применения ИКТИ у пациентов с НМРЛ [51]. Высокий уровень sPD-L1 ($>33,97$ пг/мл) через 2 мес после начала терапии ниволумабом, а также увеличение уровня sPD-L1 во время лечения ассоциированы с низкой степенью и непродолжительным периодом ответа на этот препарат (менее 6 мес) [52]. А. Costantini и соавт. выявили, что высокий уровень sPD-L1 ассоциирован с низкими показателями ВБП и ОВ. Y. Okuma и соавт. в ходе исследования образцов сыворотки крови 39 больных НМРЛ, получавших ниволумаб, показали, что у пациентов с низким уровнем sPD-L1 ($<3,357$ нг/мл) частичный/полный ответ и прогрессирование заболевания наблюдались в 59 % и 22 % случаев соответственно, а у пациентов с высоким уровнем данного белка – в 25 % и 75 % случаев соответственно ($p = 0,0069$) [53]. В ходе этого исследования также выявлена схожая взаимосвязь уровня sPD-L1 и показателей выживаемости. Однако небольшой объем выборки, отсутствие стандартизированного метода детекции белка и общепринятого порогового значения являются ключевыми ограничениями в применении данного маркера в рутинной практике.

Цитокины. В ходе ряда исследований было выявлено, что при многих типах злокачественных опухолей цитокины влияют на эффективность ИКТИ. Определение уровня интерлейкина 6 (ИЛ-6) перед началом проведения терапии анти-PD-1/PD-L1-антителами может служить предиктивным маркером ее эффективности у больных с распространенным НМРЛ [54]. Так, показатель частоты контроля заболевания был значительно выше у пациентов с низким исходным уровнем ИЛ-6 ($<13,1$ пг/мл), чем у пациентов с высоким уровнем ИЛ-6 (80,6 % против 34,9 %; $p < 0,001$). Больные с низким исходным уровнем ИЛ-6 демонстрировали значительно более высокие показатели ВБП (6,3 мес против 1,9 мес; $p < 0,001$) и ОВ (не достигнута и 7,4 мес соответственно; $p < 0,001$), чем пациенты с высоким уровнем ИЛ-6. В ходе исследования 47 пациентов с НМРЛ, получающих ИКТИ, А. Keegan и соавт.

выявили, что снижение уровня ИЛ-6 при терапии анти-PD-1-антителами ассоциировано с улучшением показателей ВБП (медиана ВБП составила 11 мес против 4 мес; $p = 0,04$) [55].

Раннее изменение уровня интерлейкина 8 (ИЛ-8) в сыворотке крови может служить предиктором ответа на анти-PD1-терапию у пациентов с метастатической меланомой и НМРЛ [56]. Так, у больных, ответивших на данную терапию, отмечалось значительное снижение уровня ИЛ-8 в сыворотке в момент наилучшего ответа по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,001$), а также увеличение уровня ИЛ-8 в период прогрессирования заболевания ($p = 0,004$). У пациентов с НМРЛ раннее снижение уровня ИЛ-8 ассоциировано с более продолжительной ОВ. В исследовании M. Hardy-Werbin и соавт. показано, что высокий уровень ИЛ-6, ИЛ-8 и фактора некроза опухоли до начала применения анти-CTLA-4-антител ассоциирован с резистентностью к терапии, а высокий пороговый уровень интерлейкина 2 может рассматриваться в качестве предиктора эффективности использования данного препарата [57]. Для подтверждения значимости цитокинов как предикторов ответа на ИКТИ необходимы дальнейшие масштабные исследования.

Аутоантитела. Ингибиторы контрольных точек иммунитета подавляют отрицательные костимулирующие сигналы к Т-клеткам, тем самым усиливая их противоопухолевый ответ [58]. Поскольку этот механизм не является антигенспецифическим, ИКТИ могут также активировать «покоящиеся» аутореактивные Т-клетки. Это, в свою очередь, приводит в ряде случаев к нарушению толерантности Т-клеток не только к опухолевым антигенам, но и к аутоантигенам, что вызывает активацию аутореактивных В-клеток и в конечном счете образование аутоантител [59]. Их продукция указывает на высокую иммуногенность, которая может быть связана с эффективным противоопухолевым ответом [60]. В ходе многоцентрового когортного исследования пациентов с распространенным НМРЛ, получавших анти-PD-1/PD-L1-антитела в монорежиме, показано, что появление иммуноопосредованных нежелательных явлений ассоциировано с увеличением показателей ВБП и ОВ ($p = 0,005$ и $p < 0,001$ соответственно) [61]. На высокую иммуногенность указывает и тот факт, что вместо уменьшения количества Т-клеточных клонов ипилимумаб приводил к индукции большого репертуара Т-клеток [62].

Одним из широко применяемых в ревматологии аутоантител является антинуклеарный фактор (АНФ). Он представляет собой спектр аутоантител, которые реагируют с различными ядерными и цитоплазматическими компонентами нормальных клеток человека [63]. Хотя АНФ является важным серологическим маркером некоторых аутоиммунных заболеваний, он также обнаруживается в сыворотке крови пациентов с различными злокачественными опухолями [64]. Ряд исследователей показали, что АНФ может служить

предиктивным маркером ответа на иммунотерапию. На мышинных моделях продемонстрирована связь увеличения АНФ со степенью регресса размеров опухоли при использовании анти-PD-1-, анти-CTLA-4-антител, а также их комбинации: полный ответ у мышей с наличием АНФ составил 67 % против 11 % у мышей с отсутствием АНФ ($p < 0,01$) [65]. В ретроспективном исследовании Y. Yoneshima и соавт. показано, что наличие АНФ (титр $> 1/40$) ассоциировано со снижением показателей ВБП и ОВ у пациентов с НМРЛ, получавших анти-PD-1-антитела в виде монотерапии [66]. Был использован низкий пороговый титр для положительного значения АНФ, что определяет увеличение частоты ложноположительных результатов [63]. В другом исследовании показано, что раннее увеличение (в течение 30 дней после начала терапии) уровня АНФ (титр $> 1/160$), а также наличие антител к экстрагируемому нуклеарному АГ или к гладким мышцам ассоциированы с улучшением показателей ВБП и ОВ у пациентов с НМРЛ, получавших ниволумаб во 2-й и последующих линиях [67].

В качестве потенциальных предикторов ответа на ИКТИ могут выступать анти tireоидные антитела: антитела к тиреоглобулину и тиреопероксидазе. E. Basak и соавт. в ходе исследования сыворотки крови пациентов с НМРЛ ($n = 93$), меланомой ($n = 63$) и почечно-клеточным раком ($n = 12$), получавших анти-PD-1-терапию, продемонстрировали, что увеличение анти tireоидных антител ассоциировано с увеличением показателей ВБП ($p = 0,004$) и ОВ ($p = 0,003$) [68]. В частности, 1-летняя ОВ у больных с наличием данных маркеров составила 83 %, а у больных с их отсутствием — 49 %. В исследовании T. Yukihiro и соавт. продемонстрировано, что наличие одного из предсуществующих аутоиммунных маркеров (АНФ, ревматоидного фактора, анти tireоидных антител) связано со статистически значимым увеличением показателей ВБП при проведении анти-PD-1-терапии у пациентов с распространенным НМРЛ [60].

В таблице представлены ключевые иммунологические предиктивные маркеры ответа на терапию ИКТИ у больных распространенным НМРЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время выявлено большое количество циркулирующих биомаркеров в периферической крови, имеющих предиктивное значение в области иммунотерапии НМРЛ. Данные маркеры отражают как системный, так и внутриопухолевый иммунный ответ. Некоторые из них легкодоступны, например биохимические показатели и различные показатели на основе лейкоцитарной формулы. Однако для анализа ряда других иммунологических маркеров, таких как популяции иммунных клеток, различные цитокины и аутоантитела, требуются специальные методы, которые могут быть реализованы в специализированных клинико-диагностических лабораториях. Большинство

Основные маркеры, определяемые в периферической крови у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого, получающих иммунотерапию

Major markers detected in peripheral blood in patients with advanced non-small cell lung cancer receiving immunotherapy

Биомаркер Biomarker	Число пациентов Number of patients	ИКТИ ICI	Основные результаты Main results	Источ- ник Source
Циркулирующие иммунные клетки Circulating immune cells				
Нейтрофильно-лимфо- цитарное отношение Neutrophil-lymphocyte ratio	1225	Ниволумаб Nivolumab	Высокий показатель НЛО (≥ 5) ассоциирован с низкими показателями ВБП и ОВ ($p < 0,05$) High ratio NLR (≥ 5) is associated with low PFS and OS ($p < 0.05$)	[19]
PD-1 ⁺ CD8 ⁺ -клетки PD-1 ⁺ CD8 ⁺ cells	31	Анти-PD-1/ PD-L1-антитела Anti-PD-1/PD-L1 antibodies	Высокий исходный уровень PD-1 ⁺ CD8 ⁺ -клеток, а также ранее увеличение данной популяции клеток ассоциированы с эффективностью терапии ($p < 0,001$). High baseline level of PD-1 ⁺ CD8 ⁺ cells, as well as an early increase of this cell population, are associated with the effectiveness of therapy ($p < 0.001$)	[24]
CD4 ⁺ -Т-клетки памяти (низкая коэкспрессия PD-1/LAG-3) CD4 ⁺ memory T cells (low PD-1/LAG-3 co-expression)	51	Анти-PD-1/ PD-L1-антитела Anti-PD-1/PD-L1 antibodies	Высокий исходный уровень CD4 ⁺ -Т-клеток памяти с низкой коэкспрессией PD-1/LAG-3 связан с эффективностью проведения ИКТИ ($p = 0,001$) A high baseline level of CD4 ⁺ memory T cells with low PD-1/LAG-3 co-expression is associated with the effectiveness of ICI ($p = 0.001$)	[27]
CD8 ⁺ -Т-клетки памяти (CCR7-CD45RA ⁻) CD8 ⁺ memory T cells (CCR7-CD45RA ⁻)	263	Анти-PD-1/ PD-L1-антитела Anti-PD-1/ PD-L1 antibodies	Высокий исходный уровень CD8 ⁺ -Т-клеток памяти (CCR7-CD45RA ⁻) ассоциирован с более низкими показателями выживаемости ($p < 0,001$) и повышением риска гиперпрогрессивного роста опухоли ($p < 0,001$) A high baseline level of CD8 ⁺ memory T cells (CCR7-CD45RA ⁻) is associated with lower survival rates ($p < 0.001$) and an increased risk of hyperprogressive tumor growth ($p < 0.001$)	[29]
CD28-CD57 ⁺ KLRG1 ⁺ CD8 ⁺ -Т-клетки CD28-CD57 ⁺ KLRG1 ⁺ CD8 ⁺ T-cells	46	Анти-PD-1/ PD-L1-антитела Anti-PD-1/ PD-L1 antibodies	Наличие данных клеток до начала терапии связано с более низкими показателями ЧОО ($p = 0,04$), ВБП ($p = 0,009$) и ОВ ($p = 0,02$) The presence of these cells before therapy is associated with low ORR ($p = 0.04$), PFS ($p = 0.009$), OS ($p = 0.02$)	[36]
Циркулирующие сывороточные маркеры Circulating serum markers				
sPD-L1 sPD-L1	43, 39	Ниволумаб Nivolumab	Высокий уровень маркера связан с негативным прогнозом и низкой эффективностью применения ниволумаба ($p < 0,05$) A high level of the marker is associated with a negative prognosis and low efficacy of nivolumab ($p < 0.05$)	[52], [53]
ИЛ-6 IL-6	125	Анти-PD-1/ PD-L1-антитела Anti-PD-1/PD-L1 antibodies	Низкий исходный уровень и уменьшение уровня ИЛ-6 ассоциированы с более высокими показателями ЧОО, ВБП и ОВ ($p < 0,001$ для каждого) A low initial level and a decrease in the level of IL-6 is associated with higher ORR, PFS and OS ($p < 0.001$ for each)	[54]
Аутоантитела Autoantibodies	137, 92	Анти-PD-1-ан- титела Anti-PD-1 antibodies	Наличие предсуществующих аутоантител (АНФ, ревматоидного фактора, антитиреоидных антител) связано с высокими показателями ВБП ($p = 0,002$). Также появление аутоантител (АНФ, антител к экстрагируемому нуклеарному антигену или гладким мышцам) во время терапии ассоциировано с увеличением показателей ВБП ($p = 0,004$) и ОВ ($p = 0,002$) Presence of preexisting autoantibodies (ANA, rheumatoid factor, anti-thyroid antibodies) is associated with prolonged PFS ($p = 0.002$). Also, the appearance of autoantibodies (ANA, antibodies to extractable nuclear antigen, or antibodies to smooth muscles) during therapy is associated with prolonged PFS ($p = 0.004$) and OS ($p = 0.002$)	[60], [67]

Примечание. ИКТИ – ингибиторы контрольных точек иммунитета; НЛО – нейтрофильно-лимфоцитарное отношение; ВБП – выживаемость без прогрессирования; ОВ – общая выживаемость; АНФ – антинуклеарный фактор; ЧОО – частота объективного ответа; ИЛ-6 – интерлейкин 6.

Note. ICI – immune checkpoint inhibitors; NLR – neutrophil-lymphocyte ratio; PFS – progression-free survival; OS – overall survival; ANA – antinuclear antibodies; ORR – objective response rate; IL-6 – interleukin 6.

доступных результатов исследований являются предварительными, поэтому для их включения в практические рекомендации по системной терапии ИКТИ пациентов с НМРЛ требуются крупномасштабные проспективные клинические исследования.

Ряд авторов демонстрируют противоречивые данные о предиктивной роли отдельных циркулирующих маркеров. Это вызывает необходимость их

дальнейшего изучения в целях определения возможности комбинированного применения для увеличения предиктивной значимости, а также стандартизации существующих методов определения маркеров, в частности, выявления оптимальных пороговых значений. Несмотря на существующие ограничения, использование циркулирующих маркеров позволит реализовать персонализированный подход в иммунотерапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Grigg C., Rizvi N.A. PD-L1 biomarker testing for non-small cell lung cancer: truth or fiction? *J Immunother Cancer* 2016;4:48. DOI: 10.1186/s40425-016-0153-x.
- You W., Shang B., Sun J. et al. Mechanistic insight of predictive biomarkers for antitumor PD-1/PD-L1 blockade: a paradigm shift towards immunome evaluation (Review). *Oncol Rep* 2020;44(2):424–37. DOI: 10.3892/or.2020.7643.
- Signorelli D., Giannatempo P., Grazia G. et al. Patients selection for immunotherapy in solid tumors: overcome the naïve vision of a single biomarker. *Biomed Res Int* 2019;2019:9056417. DOI: 10.1155/2019/9056417.
- Лактионов К.К., Артамонова Е.В., Бредер В.В. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению немелкоклеточного рака легкого. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO 2020;10(2). Доступно по: <https://www.malignanttumors.org/jour/article/view/750/515>. [Laktionov K.K., Artamonova E.V., Breder V.V. et al. Practical recommendations for the drug treatment of non-small cell lung cancer. *Zlokachestvennyye opuholi: Prakticheskie rekomendacii RUSSCO = Malignant tumors: Practical recommendations*. Available at: <https://www.malignanttumors.org/jour/article/view/750/515>. (In Russ.)].
- Walsh R.J., Soo R.A. Resistance to immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer: biomarkers and therapeutic strategies. *Ther Adv Med Oncol* 2020;12:1758835920937902. DOI: 10.1177/1758835920937902.
- Sui H., Ma N., Wang Y. et al. Anti-PD-1/PD-L1 therapy for non-small-cell lung cancer: toward personalized medicine and combination strategies. *J Immunol Res* 2018;2018:6984948. DOI: 10.1155/2018/6984948.
- Янус Г.А., Иевлева А.Г., Суспицын Е.Н. и др. Предиктивные маркеры ответа на блокаторы контрольных точек иммунного ответа. *Сибирский онкологический журнал* 2020;19(4):123–31. [Janus G.A., Ievleva A.G., Suspitsyn E.N. et al. Predictive response markers for immune response blocks. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal = Siberian journal of oncology*. 2020;19(4):123–31. (In Russ.)]. DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-123-31.
- Sajjadi E., Venetis K., Scatena C., Fusco N. Biomarkers for precision immunotherapy in the metastatic setting: hope or reality? *Ecanermedicallscience* 2020;14:1150. DOI:10.3332/ecancer.2020.1150.
- Reck M., Rodríguez-Abreu D., Robinson A.G. et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2016;375(19):1823–33. DOI: 10.1056/NEJMoa1606774.
- Li S., Zhang C., Pang G., Wang P. Emerging blood-based biomarkers for predicting response to checkpoint immunotherapy in non-small-cell lung cancer. *Front Immunol* 2020;11:603157. DOI: 10.3389/fimmu.2020.603157.
- Theelen W.S.M.E., Baas P. Pembrolizumab monotherapy for PD-L1 ≥ 50 % non-small cell lung cancer, undisputed first choice? *Ann Transl Med* 2019;7(Supple 3):S140. DOI: 10.21037/atm.2019.06.35.
- Duchemann B., Remon J., Naigeon M. et al. Integrating circulating biomarkers in the immune checkpoint inhibitor treatment in lung cancer. *Cancers (Basel)* 2020;12(12):3625. DOI: 10.3390/cancers12123625.
- Tanizaki J., Haratani K., Hayashi H. et al. Peripheral blood biomarkers associated with clinical outcome in non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab. *J Thorac Oncol* 2018;13(1):97–105. DOI: 10.1016/j.jtho.2017.10.030.
- Soyano A.E., Dholaria B., Marin-Acevedo J.A. et al. Peripheral blood biomarkers correlate with outcomes in advanced non-small cell lung cancer patients treated with anti-PD-1 antibodies. *J Immunother Cancer* 2018;6(1):129. DOI: 10.1186/s40425-018-0447-2.
- Corbeau I., Jacot W., Guiu S. Neutrophil to lymphocyte ratio as prognostic and predictive factor in breast cancer patients: a systematic review. *Cancers (Basel)* 2020;12(4):958. DOI: 10.3390/cancers12040958.
- Hasegawa T., Yanagitani N., Utsumi H. et al. Association of high neutrophil-to-lymphocyte ratio with poor outcomes of pembrolizumab therapy in high-PD-L1-expressing non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2019;39(12):6851–7. DOI: 10.21873/anticancer.13902.
- Bagley S., Kothari S., Aggarwal C. et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2017;106:1–7. DOI: 10.1016/j.lungcan.2017.01.013.
- Suh K.J., Kim S.H., Kim Y.J. et al. Post-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio at week 6 is prognostic in patients with advanced non-small cell lung cancers treated with anti-PD-1 antibody. *Cancer Immunol Immunother* 2018;67(3):459–70. DOI: 10.1007/s00262-017-2092-x.
- Cao D., Xu H., Xu X. et al. A reliable and feasible way to predict the benefits of Nivolumab in patients with non-small cell lung cancer: a pooled analysis of 14 retrospective studies. *Oncoimmunology* 2018;7(11):e1507262. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1507262.
- Jin J., Yang L., Liu D., Li W. Association of the neutrophil to lymphocyte ratio and clinical outcomes in patients with lung cancer receiving immunotherapy: a meta-analysis. *BMJ Open* 2020;10(6):e035031. DOI: 10.1136/bmjopen-2019-035031.
- Mezquita L., Auclin E., Ferrara R. et al. Association of the lung immune prognostic index with immune checkpoint inhibitor outcomes in patients with advanced non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol* 2018;4(3):351–7. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.4771.
- Sekine K., Kanda S., Goto Y. et al. Change in the lymphocyte-to-monocyte ratio is an early surrogate marker of the efficacy of nivolumab monotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2018;124:179–88. DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.08.012.

23. Kamphorst A.O., Pillai R.N., Yang S. et al. Proliferation of PD-1⁺ CD8 T cells in peripheral blood after PD-1-targeted therapy in lung cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2017;114(19):4993–8. DOI: 10.1073/pnas.1705327114.
24. Mazzaschi G., Facchinetti F., Missale G. et al. The circulating pool of functionally competent NK and CD8⁺ cells predicts the outcome of anti-PD1 treatment in advanced NSCLC. *Lung Cancer* 2019;127:153–63. DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.11.038.
25. Kim K.H., Cho J., Ku B.M. et al. The First-week proliferative response of peripheral blood PD-1⁺CD8⁺ T cells predicts the response to anti-PD-1 therapy in solid tumors. *Clin Cancer Res* 2019;25(7):2144–54. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1449.
26. Manjarrez-Orduño N., Menard L.C., Kansal S. et al. Circulating T cell subpopulations correlate with immune responses at the tumor site and clinical response to PD1 inhibition in non-small cell lung cancer. *Front Immunol* 2018; 9:1613. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01613.
27. Zuazo M., Arasanz H., Fernández-Hinojal G. et al. Functional systemic CD4 immunity is required for clinical responses to PD-L1/PD-1 blockade therapy. *EMBO Mol Med* 2019;11(7):e10293. DOI: <https://doi.org/10.15252/emmm.201910293>.
28. Juliá E.P., Mandó P., Rizzo M.M. et al. Peripheral changes in immune cell populations and soluble mediators after anti-PD-1 therapy in non-small cell lung cancer and renal cell carcinoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 2019;68(10):1585–96. DOI: 10.1007/s00262-019-02391-z.
29. Kim C., Kim K., Pyo K.-H. et al. Hyperprogressive disease during PD-1/PD-L1 blockade in patients with non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2019;30(7):1104–13. DOI: 10.1093/annonc/mdz123.
30. Kagamu H., Kitano S., Yamaguchi O. et al. CD4⁺ T-cell immunity in the peripheral blood correlates with response to anti-PD-1 therapy. *Cancer Immunol Res* 2020;8(3):334. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0574.
31. Kim H.R., Park S.-M., Sco S.-U. et al. The ratio of peripheral regulatory T cells to lox-1+ polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells predicts the early response to anti-PD-1 therapy in patients with non-small cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 2019;199(2):243–6. DOI: 10.1164/rccm.201808-1502LE.
32. Krieg C., Nowicka M., Guglietta S. et al. High-dimensional single-cell analysis predicts response to anti-PD-1 immunotherapy. *Nat Med* 2018;24(2):144–53. DOI: 10.1038/nm.4466.
33. Huang A.C., Postow M.A., Orlowski R.J. et al. T-cell invigoration to tumour burden ratio associated with anti-PD-1 response. *Nature* 2017;545(7652):60–5. DOI: 10.1038/nature22079.
34. Aiello A., Farzaneh F., Candore G. et al. Immunosenescence and its hallmarks: how to oppose aging strategically? A review of potential options for therapeutic intervention. *Front Immunol* 2019;10:2247. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02247.
35. Lian J., Yue Y., Yu W., Zhang Y. Immunosenescence: a key player in cancer development. *J Hematol Oncol* 2020;13(1):151. DOI: 10.1186/s13045-020-00986-z.
36. Ferrara R., Nageon M., Auclin E. et al. Circulating T-cell immunosenescence in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with single-agent PD-1/PD-L1 inhibitors or platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2021;27(2):492–503. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-1420.
37. Veglia F., Perego M., Gabrilovich D. Myeloid-derived suppressor cells coming of age. *Nat Immunol* 2018;19(2):108–19. DOI: 10.1038/s41590-017-0022-x.
38. Bronte V., Brandau S., Chen S.-H. et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. *Nat Commun* 2016; 7:12150. DOI: 10.1038/ncomms12150.
39. Yamauchi Y., Safi S., Blattner C. et al. Circulating and tumor myeloid-derived suppressor cells in resectable non-small cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 2018;198(6):777–87. DOI: 10.1164/rccm.201708-1707OC.
40. Passaro A., Mancuso P., Gandini S. et al. Gr-MDSC-linked asset as a potential immune biomarker in pretreated NSCLC receiving nivolumab as second-line therapy. *Clin Transl Oncol* 2020;22(4):603–11. DOI: 10.1007/s12094-019-02166-z.
41. Limagne E., Richard C., Thibaudin M. et al. Tim-3/galectin-9 pathway and mMDSC control primary and secondary resistances to PD-1 blockade in lung cancer patients. *Oncoimmunology* 2019;8(4):e1564505. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1564505.
42. Cho Y.-H., Choi M.G., Kim D.H. et al. Natural killer cells as a potential biomarker for predicting immunotherapy efficacy in patients with non-small cell lung cancer. *Target Oncol* 2020;15(2):241–7. DOI: 10.1007/s11523-020-00712-2.
43. Ottonello S., Genova C., Cossu I. et al. Association between response to nivolumab treatment and peripheral blood lymphocyte subsets in patients with non-small cell lung cancer. *Front Immunol* 2020;11:125. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00125.
44. Deng T., Zhang J., Meng Y. et al. Higher pretreatment lactate dehydrogenase concentration predicts worse overall survival in patients with lung cancer. *Medicine (Baltimore)* 2018;97(38):e12524. DOI: 10.1097/MD.00000000000012524.
45. Zhang Z., Li Y., Yan X. et al. Pretreatment lactate dehydrogenase may predict outcome of advanced non small-cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis. *Cancer Med* 2019;8(4):1467–73. DOI: 10.1002/cam4.2024.
46. Riedl J.M., Barth D.A., Brueckl W.M. et al. C-Reactive Protein (CRP) levels in immune checkpoint inhibitor response and progression in advanced non-small cell lung cancer: a bi-center study. *Cancers (Basel)* 2020;12(8):2319. DOI: 10.3390/cancers12082319.
47. Socinski M., Velcheti V., Mekhail T. et al. Final efficacy results from B-FIRST, a prospective phase II trial evaluating blood-based tumour mutational burden (bTMB) as a predictive biomarker for atezolizumab (atezo) in 1L non-small cell lung cancer(NSCLC). *Ann Oncol* 2019;30(5):v851–934. DOI: 10.1093/annonc/mdz394.
48. Mildner F., Sopper S., Amann A. et al. Systematic review: soluble immunological biomarkers in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Crit Rev Oncol Hematol* 2020;153:102948. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2020.102948.
49. Bai R., Lv Z., Xu D., Cui J. Predictive biomarkers for cancer immunotherapy with immune checkpoint inhibitors. *Biomark Res* 2020;8:34. DOI: 10.1186/s40364-020-00209-0.
50. Frigola X., Inman B.A., Krco C.J. et al. Soluble B7-H1: differences in production between dendritic cells and T cells. *Immunol Lett* 2012;142(1–2):78–82. DOI: 10.1016/j.imlet.2011.11.001.
51. Okuma Y., Hosomi Y., Nakahara Y. et al. High plasma levels of soluble programmed cell death ligand 1 are prognostic for reduced survival in advanced lung cancer. *Lung Cancer* 2017;104:1–6. DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.11.023.
52. Costantini A., Julie C., Dumenil C. et al. Predictive role of plasmatic biomarkers in advanced non-small cell lung cancer treated by nivolumab. *Oncoimmunology* 2018;7:e1452581. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1452581.
53. Okuma Y., Wakui H., Utsumi H. et al. Soluble programmed cell death ligand 1 as a novel biomarker for nivolumab therapy for non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2018;19(5):410–7. DOI: 10.1016/j.clc.2018.04.014.
54. Kang D.H., Park C.-K., Chung C. et al. Baseline serum interleukin-6 levels predict the response of patients with advanced non-small cell lung cancer to PD-1/PD-L1 inhibitors. *Immune Netw* 2020;20(3):e27. DOI: 10.4110/in.2020.20.e27.
55. Keegan A., Ricciuti B., Garden P. et al. Plasma IL-6 changes correlate to PD-1

- inhibitor responses in NSCLC. *J Immunother Cancer* 2020;8(2):e000678. DOI: 10.1136/jitc-2020-000678.
56. Sanmamed M.F., Perez-Gracia J.L., Schalper K.A. et al. Changes in serum interleukin-8 (IL-8) levels reflect and predict response to anti-PD-1 treatment in melanoma and non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol* 2017;28(8):1988–95. DOI: 10.1093/annonc/mdx190.
57. Hardy-Werbin M., Rocha P., Arpi O. et al. Serum cytokine levels as predictive biomarkers of benefit from ipilimumab in small cell lung cancer. *Oncoimmunology* 2019;8(6):e1593810. DOI: 10.1080/2162402X.2019.1593810.
58. Pardoll D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012;12(4):252–64. DOI: 10.1038/nrc3239.
59. Bertrand A., Kostine M., Barnette T. Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 2015; 13:211. DOI: 10.1186/s12916-015-0455-8.
60. Toi Y., Sugawara S., Sugisaka J. et al. Profiling preexisting antibodies in patients treated with anti-PD-1 therapy for advanced non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol* 2019;5(3):376–83. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.5860.
61. Shankar B., Zhang J., Naqash A.R. et al. Multisystem immune-related adverse events associated with immune checkpoint inhibitors for treatment of non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol* 2020;6(12): 1952–6. DOI: 10.1001/jamaoncol.2020.5012.
62. Oh D.Y., Cham J., Zhang L. et al. Immune toxicities elicited by CTLA-4 blockade in cancer patients are associated with early diversification of the T-cell repertoire. *Cancer Res* 2017;77(6):1322–30. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2324.
63. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. СПб.: Человек, 2010. 272 с. [Lapin S.V., Totolyan A.A. Immunological laboratory diagnostics of autoimmune diseases. Saint Petersburg: Human, 2010. 272 p. (In Russ.).]
64. Nishihara R., Machoski M.C.C., Neppel A. et al. Anti-nuclear antibodies in patients with breast cancer. *Clin Exp Immunol* 2018;193(2):178–82. DOI: 10.1111/cei.13136.
65. Mangsbo S.M., Sandin L.C. et al. Enhanced tumor eradication by combining CTLA-4 or PD-1 blockade with CpG therapy. *J Immunother* 2010;33(3). DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181c01feb.
66. Yoneshima Y., Tanaka K., Shiraishi Y. et al. Safety and efficacy of PD-1 inhibitors in non-small cell lung cancer patients positive for antinuclear antibodies. *Lung Cancer* 2019;130:5–8. DOI: 10.1016/j.lungcan.2019.01.014.
67. Giannicola R., D'Arrigo G., Botta C. et al. Early blood rise in auto-antibodies to nuclear and smooth muscle antigens is predictive of prolonged survival and autoimmunity in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with PD-1 immune-check point blockade by nivolumab. *Mol Clin Oncol* 2019;11(1):81–90. DOI: 10.3892/mco.2019.1859.
68. Basak E.A., van der Meer J.W.M., Hurkmans D.P. et al. Overt thyroid dysfunction and anti-thyroid antibodies predict response to anti-PD-1 immunotherapy in cancer patients. *Thyroid* 2020;30(7):966–73. DOI: 10.1089/thy.2019.0726.

Вклад авторов

А.А. Мусаелян: разработка концепции исследования, сбор и обработка данных, написание текста рукописи;
 А.Л. Акопов: разработка дизайна исследования, сбор и обработка данных, научное редактирование статьи;
 С.В. Лапин: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, научное редактирование статьи;
 В.Д. Назаров, Д.И. Филиппов: сбор и обработка данных, редактирование статьи;
 В.Л. Эмануэль, С.В. Орлов: идея и разработка дизайна, сбор и обработка данных, научное редактирование статьи.

Authors' contribution

A.A. MUSAELYAN: developing the research concept, obtaining data for analysis, article writing;
 A.L. AKOPOV: developing the research design, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;
 S.V. LAPIN: developing the research design, analysis of the obtained data, scientific editing of the article;
 V.D. NAZAROV, D.I. FILIPPOV: obtaining data for analysis, editing of the article;
 V.L. EMANUEL, S.V. ORLOV: idea, developing the research design, obtaining data for analysis, scientific editing of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Мусаелян / A.A. MUSAELYAN: <https://orcid.org/0000-0002-7570-2256>
 А.Л. Акопов / A.L. AKOPOV: <https://orcid.org/0000-0001-8698-7018>
 С.В. Лапин / S.V. LAPIN: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>
 В.Д. Назаров / V.D. NAZAROV: <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>
 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.

Статья поступила: 20.03.2021. Принята к публикации: 14.09.2021.

Article submitted: 20.03.2021. Accepted for publication: 14.09.2021.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-44-59



Рецептор эстрогенов ER α и киназа LYN: участие в механизмах канцерогенеза и использование в качестве мишеней в таргетной терапии при онкологических заболеваниях

В.В. Тихонова, Ю.П. Финашутина, Л.А. Кесаева*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24***Контакты:** Лаура Артуровна Кесаева kelar-22@mail.ru

Важной проблемой при терапии любого типа опухоли является возникновение первичной или вторичной резистентности, которая зачастую связана с изменением функционирования целевых генов. В связи с этим встает вопрос о понимании функциональных внутриклеточных взаимодействий генов и белков в онкологических процессах и возникновении резистентности к лечению. Для поиска целевых белков таргетной терапии необходимо идентифицировать таких участников сигнальной жизни клетки, функциональное состояние которых различно в норме и при канцерогенезе. Также важно, чтобы определение этих участников не было артефактом вследствие терапии опухолей или культивирования клеточных линий и существовала возможность оказывать на них прямое воздействие, дающее комплексный эффект. Кроме того, необходимо изучить изменения, происходящие с этими участниками, к которым относятся киназы семейства SRC LYN и ген эстрогенового рецептора α , во время терапии в целях преодоления возникающей резистентности.

Цель обзора – изучение роли генов киназы семейства SRC LYN и эстрогенового рецептора α в онкологических процессах и возникновении резистентности к терапии.

Ключевые слова: ген эстрогенового рецептора α , ген киназы семейства SRC LYN, мутации, резистентность, прогноз терапии

Для цитирования: Тихонова В.В., Финашутина Ю.П., Кесаева Л.А. Рецептор эстрогенов ER α и киназа LYN: участие в механизмах канцерогенеза и использование в качестве мишеней в таргетной терапии при онкологических заболеваниях. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(3):44–59. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-44-59.

LYN kinase and estrogen receptor ER α : involvement in carcinogenesis and potential therapeutic target for tumors

V.V. Tikhonova, Y.P. Finashutina, L.A. Kesaeva*N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia***Contacts:** Laura Arturovna Kesaeva kelar-22@mail.ru

Primary or secondary resistance is an important problem when treating any type of tumor. It is often associated with changes in target genes' functioning. This raises the question of understanding functional intracellular interactions of genes and proteins in oncological processes and therapeutic resistance occurring. When searching target proteins of targeted therapy, it is necessary to identify biomolecules, participating in cell signaling life, which differ significantly in normal and oncological processes and interact with a large number of pathways. It is also important that these biomolecules are not an artifact of tumor therapy or cell line cultivation, and that it is possible to influence them directly, obtaining complex effect. In addition, it is important to study changes occurring during therapy with the biomolecules, which include proto-oncogene of SRC family kinase LYN and gene of the estrogen receptor α ESR1. All these factors may help to overcome the emerging resistance.

Objective – to study the way genes of SRC kinase LYN and estrogen receptor α ESR1 influence oncological processes and occurrence of therapeutic resistance.

Key words: estrogen receptor α , SRC kinase, LYN, mutations, resistance, therapy prognosis

For citation: Tikhonova V.V., Finashutina Y.P., Kesaeva L.A. LYN kinase and estrogen receptor α : involvement in carcinogenesis and potential therapeutic target for tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2021;8(3):44–59. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-44-59.

ВВЕДЕНИЕ

Химиотерапия и таргетная терапия (ТТ) лейкозов и солидных опухолей заметно эволюционировали в течение последних десятилетий. Однако неизменным остается возникновение первичной или вторичной резистентности к лечению, которая является важной проблемой при любом типе опухоли. Поскольку терапия, особенно таргетная, воздействует на конкретные белки, участвующие в сигнальных путях клетки, или на определенные фазы клеточного цикла, резистентность зачастую связана с изменением функционирования целевых участников: с трансформацией их структуры, интенсивности экспрессии, а также заменой их роли альтернативными сигнальными путями. В связи с этим важно понимать функциональные внутриклеточные взаимодействия в норме и при онкологическом процессе, а также механизмы возникновения резистентности к терапии.

Внутриклеточная жизнь может быть описана как сложная сеть взаимодействий между генами и белками. Опухолевая клетка, как правило, имеет несколько точек нарушенных взаимодействий, что приводит к высокой пролиферации, нечувствительности к действиям иммунитета, эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП) и др. Таргетная терапия направлена на нейтрализацию этих специфических нарушений, необходимых для того, чтобы раковая клетка оставалась жизнеспособной. Идеальные целевые белки для данной терапии должны быть такими, чтобы их подавление значительно влияло на выживаемость и работоспособность опухолевых клеток и в то же время оказывало меньшее воздействие на нормальные клетки.

Для определения таких мишеней, как правило, сравнивают уровни экспрессии генов в нормальных и опухолевых клетках. Помимо этого рекомендуется обращать внимание на высокую степень связности в сети генов, поскольку подавление их экспрессии затрагивает сразу несколько процессов, важных для функционирования раковой клетки. Такие гены взаимодействуют с большим количеством других генов в подмножествах образцов и выступают концентраторами в связанной генной сети. Чем больше количество связей гена, тем сильнее эффект от его блокирования [1].

Для исследования онкологических процессов важно рассмотреть профили экспрессии и секвенирование нового поколения. С одной стороны, сравнение генетических профилей нормальных и опухолевых тканей позволило определить большое количество новых генов, которые могут участвовать в этих процессах. С другой стороны, быстрое накопление информа-

ции привело к недостаточному пониманию роли открытых генов в возникновении, течении и терапии злокачественных новообразований. Масштабное исследование лекарственных реакций, проведенных на геномно охарактеризованных опухолевых клеточных линиях, тем более не может быть полностью информативным, поскольку клеточные линии несут мутационный «багаж» в виде сотен и тысяч геномных изменений, связанных с их культивированием, что затрудняет поиск связи лекарственного ответа с наличием одной иницирующей мутации [2].

Еще одной проблемой является поиск средств индивидуальной терапии рака при отсутствии прямых мишеней, таких как факторы транскрипции или другие некиназные белки. В этом случае альтернативным методом является ингибирование других участков сигнальных путей с использованием функциональной геномики для рассмотрения взаимодействия мутантных генов и их сигнального окружения [2].

В связи с этим очень важной задачей является идентификация таких участников сигнальных сетей клетки, функциональное состояние которых различно в норме и при канцерогенезе и которые взаимодействуют с большим количеством путей. Также необходимо, чтобы определение этих участников не было артефактом вследствие терапии опухолей или культивирования клеточных линий и существовала возможность оказывать на них прямое воздействие, дающее комплексный эффект. Кроме того, нужно изучить изменения, происходящие с этими участниками во время терапии для преодоления резистентности.

К таким участникам сигнальных сетей относятся протоонкогены киназ семейства SRC (LYN, YES1, HCK, FYN, LCK), имеющие высокую степень связности в генных цепях, дефекты которых встречаются при многих онкологических заболеваниях, в том числе при базальноподобном и HER2-позитивном раке молочной железы (PMЖ). Поскольку это киназы, на них можно оказывать прямое воздействие, например, осуществлять ингибирование LYN с помощью дазатиниба. Другим примером участников сигнальных путей при люминальном подтипе А PMЖ выступают гены *ESR1*, *HER2*, *EGFR*, *FOS*. Для терапии HER2-положительных опухолей используют герцептин; *ESR1*-позитивных люминальных подтипов PMЖ – тамоксифен. Известно, что лечение тамоксифеном люминального подтипа В PMЖ менее успешно, чем люминального подтипа А. Показатель связности *ESR1* с другими генами составляет 6,94 при люминальном подтипе А PMЖ и только 3,44 при люминальном подтипе В, хотя *ESR1* одинаково сверхэкспрессирован в обоих

случаях. Согласно этим данным, причина, по которой тамоксифен не работает так же хорошо при люминальном подтипе В, как и при люминальном подтипе А, может заключаться в том, что в первом случае опухоль в меньшей степени зависит от *ESR1*, чем во втором. Иными словами, количество других генов, зависящих от *ESR1*, при люминальном подтипе В РМЖ намного меньше, чем при люминальном подтипе А. Следовательно, в первом случае РМЖ менее восприимчив к лекарствам, таким как тамоксифен, которые функционируют, блокируя путь эстрогена [1].

В этом обзоре мы продолжаем анализировать корреляции точечных мутаций в генах *LYN* и *ESR1* с резистентностью к эндокринной терапии рака яичников и перспективы использования *mutESR1* и *mutLYN* в качестве предиктивных маркеров терапии. Этой актуальной проблеме посвящена также работа Е.А. Шестаковой [3]. Для более широкого обсуждения данной темы нужно рассмотреть молекулярные причины вовлечения генов *LYN* и *ESR1* в процессы канцерогенеза и резистентности, а также их взаимодействие с другими участниками метаболических путей. Это необходимо для определения прогноза лечения, преодоления лекарственной резистентности и поиска более эффективных ингибиторов эстрогенового рецептора α (*ER α*) и киназы *LYN*, которые можно использовать в комбинации с другими противоопухолевыми лекарствами.

В связи с вышесказанным **цель** данного обзора — изучение роли генов киназы семейства SRC *LYN* и *ER α* в онкологических процессах и возникновении резистентности к терапии.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ *LYN* И *ER α* В НОРМАЛЬНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ

Ген *LYN* расположен в хромосоме 8q13. Он кодирует белок из киназ семейства SRC и является важным посредником передачи сигналов для регулирования различных клеточных процессов, таких как пролиферация, дифференциация, апоптоз, миграция и метаболизм. Нерцепторная тирозин-протеинкиназа *LYN* передает сигналы от рецепторов клеточной поверхности и играет большую роль в регуляции врожденных и адаптивных иммунных реакций, гемопоэза, передачи сигналов интегрин, а также ответов на факторы роста, повреждение ДНК и действие генотоксических агентов. Например, *LYN* инициирует каскад событий при связывании лиганда с В-клеточным рецептором (рис 1). Киназа *LYN* функционирует в основном в качестве отрицательного регулятора, но также может действовать как активатор в зависимости от контекста [4]. Эта двойственность иллюстрируется дефектом В-клеток у *LYN*^{-/-}-мышей. В данном случае *LYN* необходима для ингибирования В-клеточного рецептора. И наоборот, для В-клеток, экспрессирующих сверхактивную киназу *LYN* (*LYN*^{+/+}), характерна повышенная активность стимуляторов В-клеточных рецепторов.

LYN играет большую роль в регуляции дифференцировки, пролиферации, выживания и апоптоза В-клеток. У трансгенных мышей дефицит экспрессии *LYN* приводит к накоплению незрелых В-клеток в костном мозге и селезенке на транзитной стадии T1. Трансгенное снижение экспрессии *Bcl-2* вызывает резкое увеличение количества В-клеток и возобновляет транзитную стадию T2. Исследования показывают, что *LYN* способствует отбору и выживанию зрелых В-клеток, но негативно влияет на их толерантность и активацию [5]. Эта киназа активно функционирует в большинстве кроветворных клеток (а именно в клетках-предшественниках) посредством воздействия на передачу сигналов на киназу c-KIT, а также в зрелых клетках в передаче сигналов от рецепторов к интегрину, например, в эритроцитах, тромбоцитах, тучных клетках и макрофагах. Следовательно, *LYN* играет большую роль в регуляции гемопоэтических нарушений. Эта киназа является важным регулятором аутоиммунных заболеваний, таких как астма и псориаз, из-за ее способности влиять на передачу сигналов иммунных клеток [6].

Влияние эстрогенов на клетку реализуется через их взаимодействие с рецепторами (в том числе с *ER α*), которые, в свою очередь, активируют гены-мишени во многих тканях. Ген *ESR1* локализуется на 6-й хромосоме и кодирует *ER α* . Рецептор представляет собой трансмембранный белок, С-конец которого содержит центр связывания с лигандом, а N-конец содержит несколько доменов, способствующих увеличению транскрипционной активности ряда генов. Присоединение гормона к рецептору вызывает диссоциацию комплекса рецептора с белком HSP90. Далее рецептор в виде гетеродимера взаимодействует с эстроген-респонсивным элементом, увеличивая экспрессию необходимых генов. Показано, что повышенная экспрессия *ER α* сопровождает процессы трансформации во многих тканях и что его количество может измениться в ответ на повышение концентрации эстрогенов, что, в свою очередь, приводит к усилению пролиферации в тканях-мишенях. Одним из механизмов этого процесса служит увеличение активности ароматазы [7].

Поскольку *LYN* и *ER α* являются важными участниками сигнальной сети клетки для регулирования различных клеточных процессов, они часто участвуют в канцерогенезе.

Белки семейства киназ SRC регулируют 4 основные клеточные функции, которые в конечном счете контролируют поведение опухолевых клеток: пролиферацию, адгезию, инвазию и подвижность [8]. Гиперэкспрессия *LYN* ассоциирована с ЭМП и коррелирует с более низкими показателями выживаемости при РМЖ. В связи с этим ряд тирозинкиназ SRC, в том числе *YES1* и *LYN*, являются хорошими терапевтическими мишенями в подгруппах базальноподобного и/или *HER2*-позитивного РМЖ. Показано, что киназа *LYN* необходима для миграции и инвазии клеток

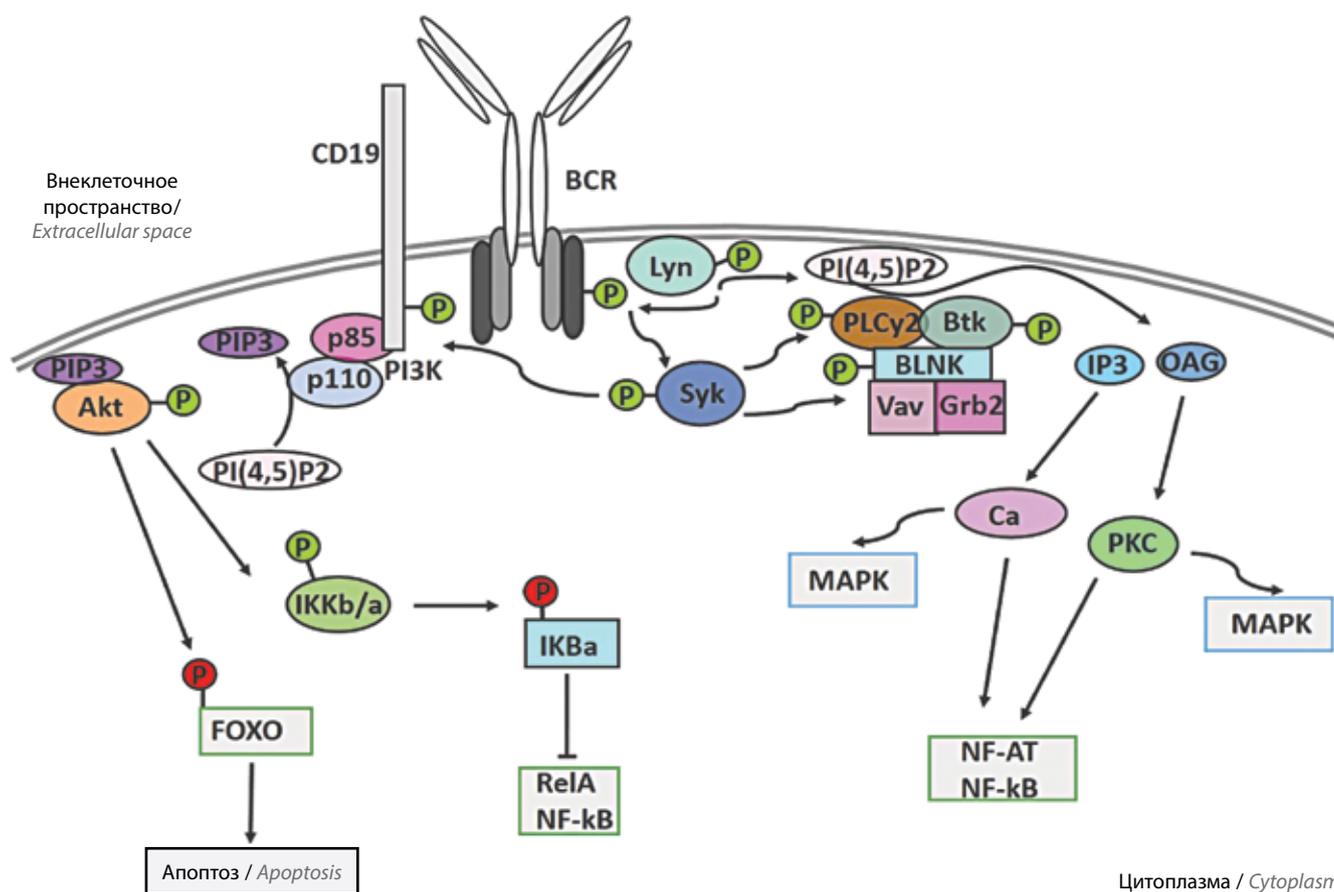


Рис. 1. Инициация киназой LYN каскада событий при связывании лиганда с В-клеточным рецептором. IKK β/α – I-каппа киназа β/α ; p110 – каталитическая субъединица фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфонат-3-киназы; p85 – регуляторный белок фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфонат-3-киназы; Btk – тирозинкиназа Брутона; BLNK – В-клеточный линкер, адаптерный белок; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; PIP3 – белок, образующийся под действием PI3K; BCR – В-клеточный рецептор; P – остаток фосфорной кислоты; PI(4,5)P2 – фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфонат; PLC γ 2 – фосфолипаза γ 2; IP3 – инозитол-1,4,5-трисфосфат; OAG – 1-олеоил-2-ацетил-sn-глицерин; Vav – сигнальные белки; Crb2 – C-реактивный белок; MAPK – киназа, активированная митогеном; Ca – ион кальция; PKC – протеинкиназа C; NF-AT – ядерный фактор активированных T-клеток; NF- κ B – ядерный фактор «каппа-би»; IKBa – белок-ингибитор NF- κ B; RelA – белок-субъединица NF- κ B; FOXO – фактор транскрипции; AKT – внутриклеточная протеинкиназа

Fig. 1. Initiation of cascade of events by LYN kinase during ligand binding to B cell receptor. IKK β/α – I-kappa kinase β/α ; p110 – catalytic subunit of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphonate-3-kinase; p85 – regulatory protein phosphatidylinositol-4,5-bisphosphonate-3-kinase; Btk – Bruton tyrosine kinase; BLNK – B-cell linker, adapter protein; PI3K – phosphatidylinositol-3-kinase; PIP3 – protein formed by the action of PI3K; BCR – B-cell antigen receptor; P – phosphoric acid residue; PI(4,5)P2 – phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate; PLC γ 2 – phospholipase γ 2; IP3 – inositol-1,4,5-trisphosphate; OAG – 1-oleoyl-2-acetyl-sn-glycerin; Vav – signaling proteins; Crb2 – C-reactive protein; MAPK – mitogen-activated protein kinases; Ca – calcium ion; PKC – protein kinase C; NF-AT – nuclear factor of activated T cells; NF- κ B – nuclear factor κ B; IKBa – protein-inhibitor of NF- κ B; RelA – protein-subunit of NF- κ B; FOXO – forkhead box protein O1; AKT – intracellular protein kinase

в базально-подобных клеточных линиях РМЖ, но не для пролиферации [9]. Активация и повышенная экспрессия SRC-киназ были также описаны в клеточных линиях рака яичников (РЯ) человека и клинических образцах этой опухоли. Кроме того, у пациентов с РЯ и гиперэкспрессией SRC также наблюдался худший прогноз течения заболевания [10].

Иммуногистохимические исследования показывают, что экспрессия LYN значительно повышена в тканях рака шейки матки по сравнению с клетками, прилегающими к нормальным тканям шейки матки, и с нормальными тканями шейки матки, а также что повышенная экспрессия LYN коррелирует с дифференциацией и стадией рака шейки матки. Ингибирование киназы LYN снижает пролиферацию, миграцию и инвазию клеток, и наоборот, избыточная экспрессия

LYN способствует этим процессам. Согласно результатам исследования *in vivo* [4], избыточная экспрессия LYN активирует рост опухоли, в то время как нокдаун LYN его ингибирует.

Высокая ядерная экспрессия LYN в клетках светлоклеточного рака почки и нижестоящего маркера активации паксиллина были связаны со снижением показателей выживаемости, и наоборот, повышенная цитоплазматическая экспрессия других членов семейства SRC-киназ и нижестоящего маркера активации – фокальной адгезионной киназы (ФАК) – с улучшением этих показателей [11].

Избыточная экспрессия LYN была также обнаружена при других видах рака, таких как хронический миелолейкоз [12], колоректальный рак [13], рак простаты [14] и желудка [15].

Эпителиально-мезенхимальный переход – переход поляризованных эпителиальных клеток в миграционный, фибробластоидный фенотип – считается ключевым процессом, стимулирующим инвазивность и метастазирование опухолевых клеток. В мезенхимальных линиях РМЖ RNAi-опосредованный нокдаун LYN ингибировал миграцию и инвазию клеток, но не пролиферацию. Дазатиниб, ингибирующий эту киназу, также блокировал инвазию, но не пролиферацию клеток. Нокдаун LYN приводил к снижению экспрессии мезенхимальных маркеров виментина (на 65–75 %) и N-кадгерина (на 50–70 %). Это позволяет предположить, что LYN опосредует только часть мезенхимального фенотипа [9]. Также было установлено, что активность данной киназы важна для установления фенотипа клеток при различных видах гемобластозов, включая острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз и В-клеточный лимфоидный лейкоз (В-ХЛЛ). LYN также может стать потенциальной мишенью для терапии при раке простаты, толстой кишки и глиобластоме [6].

Эстрогеновый рецептор α также участвует в процессах онкогенеза. Приблизительно 75 % случаев РМЖ являются ER α -положительными, а присутствие химерного гена *ESR1-CCDC170* отмечено у пациентов с диагнозом «серозный рак яичников высокой степени тяжести» [16]. Рак яичников является основной причиной смерти пациентов при гинекологических злокачественных новообразованиях. Гипоксия тесно связана со злокачественным ростом клеток. Тем не менее молекулярный механизм регуляции гипоксии клеток яичников остается неясным. В ходе биоинформатического исследования сигнальных путей, участвующих в регуляции гипоксии [17], было выявлено несколько ключевых белков-участников этого процесса, в том числе ESR1, MMP2, E γ B2, MYC, VIM, CYBB, EDN1, SERPINE1 и PDK. Таким образом, гипоксия может способствовать пролиферации опухолевых клеток яичников, влияя на функции инвазии и адгезии через нарушения регуляции сигнальных путей. На модели ксенографтов РЯ было показано, что на ранней стадии лечения препаратами платины активность сигнальных путей ESR1 и ERBB снижается [18]. При этом изменения в WNT-сигнальном пути и изменения маркеров инвазии наблюдаются позже. Данные результаты свидетельствуют о потенциальной терапевтической роли ингибиторов таких путей, которые могут продлевать эффекты химиотерапии с использованием препаратов платины.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ LYN И ER α МЕЖДУ СОБОЙ И С ДРУГИМИ УЧАСТНИКАМИ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Члены семейства нерцепторных SRC-киназ распространяют многочисленные внутриклеточные сигналы от рецепторов факторов роста и стероидных гормонов, рецепторов, связанных с G-белком, комплексов

интегрина, а также через взаимодействия с компонентами цитоскелета [19]. Эти киназы модулируют передачу сигнала через множество известных онкогенных путей, включая EGFR, HER2, PDGFR, FGFR и VEGFR. Был идентифицирован широкий спектр субстратов SRC, которые регулируют клеточный рост, адгезию, инвазию и подвижность клеток [20]. Киназы семейства SRC HCK, FRK и LYN являются онкогеномологами PDGFRA/KIT, взаимодействуют как с PDGFRA, так и с-KIT в качестве нижестоящих эффекторов и играют критическую роль в пролиферации и выживании опухолевых клеток. Например, избыточная экспрессия LYN приводит к В-клеточной хронической лимфоцитарной лейкемии [21]. Известно, что LYN действует ниже по цепочке от нескольких участников сигнальных путей, таких как EPOR, KIT, MPL, хемокиновый рецептор CXCR4, а также от рецепторов интерлейкина 3 (ИЛ-3), ИЛ-5 и CSF2. Также опосредует фосфорилирование слитного белка BCR-ABL и KIT, регулирует активность фосфатидилинозитол-3-киназы и активацию AKT1 и сигнального каскада MAPK (митоген-активируемой протеинкиназы) (рис. 2) [22].

М. Iida и соавт. исследовали, какая SRC-киназа опосредует ядерную транслокацию (рецептор эпидермального фактора роста) (EGFR) в устойчивых к цетуксимабу клетках рака легкого. EGFR является центральным регулятором прогрессирования опухоли при раке легкого у человека. Цетуксимаб представляет собой анти-EGFR-терапевтическое антитело. Анализы экспрессии мРНК и белка показали повышающую регуляцию членов семейства SRC-киназ Yes и LYN во всех клеточных клонах, а анализ иммунопреципитации – что EGFR взаимодействует с Yes и LYN в устойчивых к цетуксимабу клонах, но не в исходных чувствительных клетках. При этом выключение экспрессии данных киназ приводило к нарушению перемещения EGFR в ядро. И наоборот, повышенная экспрессия Yes или LYN в родительских клетках с низкой экспрессией EGFR вызывала увеличение количества EGFR в ядре. Эти результаты демонстрируют, что названные киназы фосфорилируют EGFR по аминокислотному остатку Y1101, который влияет на ядерную транслокацию EGFR в этой модели устойчивости к цетуксимабу [23].

Киназа LYN влияет на ER α , усиливая его экспрессию. Известно также, что LYN увеличивает клеточную пролиферацию в клеточных линиях РМЖ посредством связывания и фосфорилирования EGFR в цитоплазме и сопровождает его перемещение в ядро, благодаря чему LYN действует как фактор транскрипции в повышении экспрессии циклина D1, индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) и других проонкогенных факторов [24].

Киназа LYN гиперэкспрессирована при трижды негативном РМЖ. В ходе изучения механизмов этого явления было показано, что LYN является нижестоящим эффектором рецептора KIT в нормальных

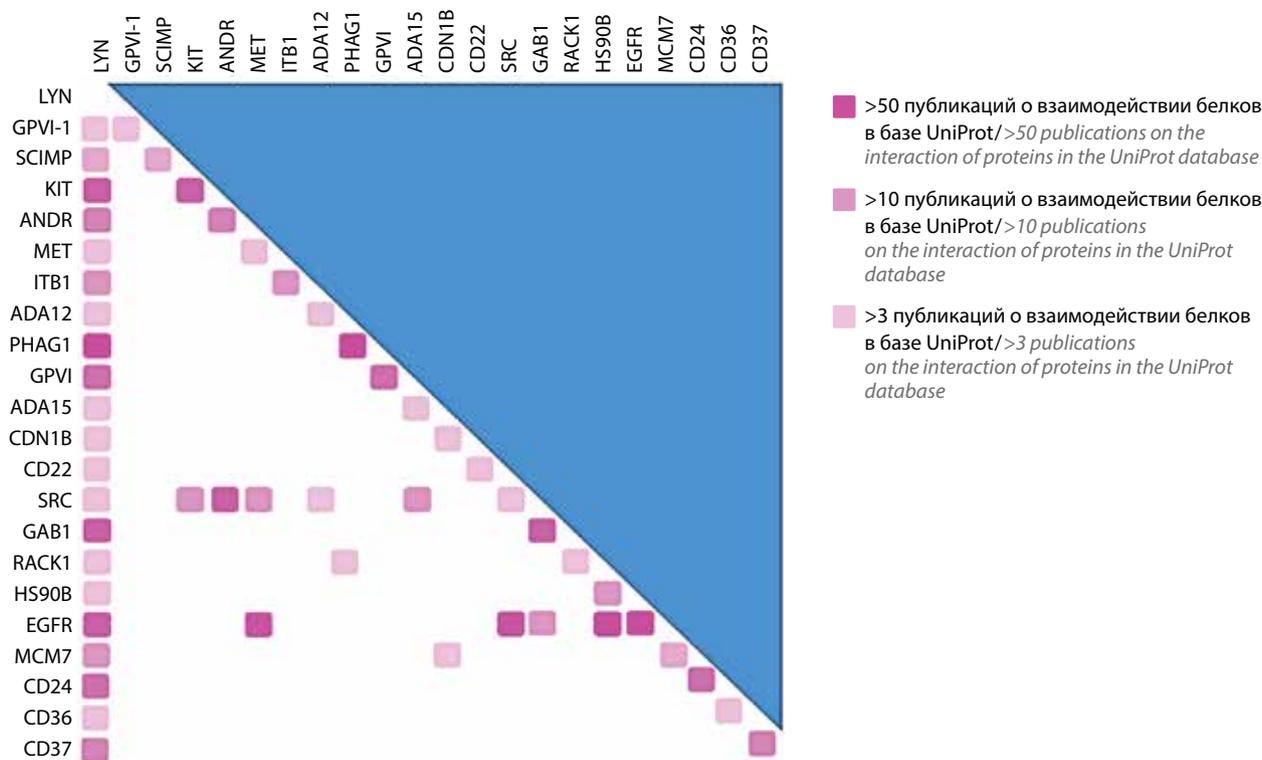


Рис. 2. Схема бинарного взаимодействия киназы LYN с белками в клетке. GPVI-1 – мембранный белок тромбоцитов; SCIMP – трансмембранный адаптерный белок; KIT – белковая рецепторная тирозинкиназа; ITB1 – интегрин бета-1; ADA12 – металлопротеиназа ADAM12; PHAG1 – фосфопротеин, ассоциированный со сфинголипидами; ADA15 – металлопротеиназа ADAM15; CDN1B – циклинзависимая киназа B1; CD22 – мембранный белок-рецептор В-лимфоцитов; SRC – семейство src-киназ; GAB1 – адаптерный белок; RACK1 – рецептор для активированной C киназы 1; HS90B – белок теплового шока 90; EGFR – белок семейства рецепторов эпидермального фактора роста; MCM7 – репликативный фактор MCM7; CD24 – гликопротеин, экспрессирующийся на поверхности В-лимфоцитов; CD36 – лейкоцитарный антиген CD36; CD37 – лейкоцитарный антиген CD37

Fig. 2. Binary interaction of LYN kinase with cell proteins. Color intensity indicates the number of publications on proteins' interaction. Scheme of binary interaction of LYN kinase with proteins in the cell. GPVI-1 – platelet membrane protein; SCIMP – transmembrane adapter protein; KIT – protein receptor tyrosine kinase; ITB1 – integrin beta-1; ADA12 – metalloproteinase ADAM12; PHAG1 – phosphoprotein associated with sphingolipids; ADA15 – metalloproteinase ADAM15; CDN1B – cyclin-dependent kinase B1; CD22 – membrane B-lymphocyte receptor protein; SRC – Src kinase family; GAB1 – adapter protein; RACK1 – receptor for activated C kinase 1; HS90B – heat shock protein 90; EGFR is a protein of the epidermal growth factor receptor family; MCM7 – zeplicative factor MCM7; CD24 – glycoprotein expressed on the surface of B-lymphocytes; CD36 – leukocyte antigen CD36; CD37 – leukocyte antigen CD37

клетках молочной железы [25]. При этом потеря функции белка BRCA1 гиперактивирует данную киназу. Полноразмерная изоформа LYN способствует инвазии опухолевых клеток. Продолжительность жизни пациентов с РМЖ с высоким соотношением изоформ LYN A/B меньше. Результаты экспериментов демонстрируют двойные механизмы стимулирования активности данной киназы при агрессивных формах РМЖ. Понимание этих механизмов имеет терапевтический потенциал, так как соотношение форм LYN A/B является биомаркером идентификации пациентов для ТТ.

Киназа LYN входит в прогностически значимый набор генов для ERα-позитивного РМЖ. Высокий уровень его экспрессии соотносится с неблагоприятным прогнозом. LYN и некоторые другие белки сигнального пути STAT3 являются терапевтическими мишенями для дальнейшего изучения, основанного на степени дифференциальной экспрессии [26].

Белки STAT, особенно STAT3, имеют решающее значение для путей, лежащих в основе опухоль-опо-

средованного воспаления. Постоянная активация STAT3 при различных онкологических заболеваниях человека увеличивает пролиферацию опухолевых клеток, выживаемость, ангиогенез и метастазирование. Также конститутивно активированный STAT3 был обнаружен в раковых клетках шейки матки. Интерлейкин 6 (ИЛ-6) является центральным провоспалительным цитокином, вовлеченным в инфекцию женских половых органов. Он широко распространен в микроокружении рака шейки матки и важен в процессе канцерогенеза. Также ИЛ-6 является одним из ключевых активаторов STAT3 и может влиять на экспрессию LYN, которая, в свою очередь, способствует метастазированию клеток рака шейки матки посредством активации пути ИЛ-6/STAT3. Пониженная или повышенная экспрессия LYN блокировала или активировала передачу сигналов по пути ИЛ-6/STAT3. STAT3 может напрямую взаимодействовать с LYN, способствуя метастазированию клеток рака шейки матки посредством активации пути ИЛ-6/STAT3 [4]. Первым

этапом метастазирования рака является инвазия в окружающие ткани. Ключевым моментом проникновения в клетку и ее миграции служит цитоскелетная реорганизация. В эукариотических клетках миграция клеток требует формирования дополнительных актиновых филаментов. *LYN* может регулировать миграцию и инвазию клеток путем индуцированного ремоделирования F-актина [4].

Клаудин-2 усиливает метастазирование РМЖ и способствует развитию колоректального рака. Нокдаун отдельных членов киназ семейства *SRC* показывает, что снижение экспрессии *Yes* или *Fyn* усиливает экспрессию клаудина-2, тогда как пониженный уровень *LYN* уменьшает ее в клетках РМЖ. При колоректальном раке уровень клаудина-2 повышен. Его экспрессия может быть обнаружена при предопуховых состояниях, таких как воспалительные заболевания кишечника, которые предрасполагают к образованию рака толстой кишки, а активация *SRC* коррелирует с худшим течением заболевания у пациентов с различными типами злокачественных опухолей. Было показано, что путь *EGFR*-*MEK*-*ERK1/2* может регулировать транскрипцию *CLDN2* в клетках аденокарциномы легкого A549. В этих клетках активация пути *EGFR* приводила к усилению связывания транскрипционных факторов *c-Fos* и *c-Jun* с промоторной областью человеческого *CLDN2* через сайт связывания *AP-1*. Эти данные демонстрируют, что транскрипция клаудина-2 может регулироваться посредством пути *SFK*-*c-Fos* [27].

В другом исследовании было установлено, что *LYN* является ключевым узлом нескольких значимых биологических сетей, что предполагает его тесную связь с возникновением и прогрессированием рака пищевода. Сравнение паттернов экспрессии генов нормальных образцов пищевода, аденокарциномы пищевода и образцов клеток пищевода Барретта показало, что ключевым модулем в сигнальных взаимодействиях является ген *LYN*. Кроме того, этот ген был гиперэкспрессирован в образцах как рака, так и пищевода Барретта, который является предраковым состоянием. Согласно результатам этого исследования, повышенная экспрессия гена *LYN* указывает на то, что он выполняет важную функцию как на ранних, так и на поздних стадиях патогенеза аденокарциномы пищевода. Это усиливает биологическое значение данного гена в механизмах развития и прогрессирования рака пищевода [28].

В исследовании методом анализа микрочипов определили список генов и путей, которые могут быть вовлечены в патогенез синдрома поликистозных яичников (СПКЯ). Биоинформационный анализ показал, что в образцах СПКЯ повышен уровень экспрессии *LYN* относительно нормальных образцов. Это также было подтверждено результатами полимеразной цепной реакции (ПЦР). Анализ сигнальных путей продемонстрировал, что *LYN* был значительно обогащен

в *CXCR4*-опосредованных передачах сигналов и хемокин-опосредованных событиях. В нормальных условиях киназы семейства *SRC* необходимы, в том числе для механизмов воспалительных процессов. Нарушение регуляции белка *LYN* может участвовать в воспалении, связанном с СПКЯ, которое является важным механизмом, лежащим в основе резистентности к инсулину, часто встречающейся у пациентов с данной патологией. Также было высказано предположение, что дисрегуляция генов у пациентов с инсулинорезистентностью и без нее может играть большую роль в метаболических нарушениях и задержке роста фолликулов [29].

Результаты следующего исследования показали, что все пациенты с хроническим эозинофильным лейкозом и экспрессией онкогена *FIP1L1-PDGFRα* имеют более высокий уровень фосфорилированной киназы *LYN*. Она может фосфорилировать рецептор *IL-5α*. Ингибирование *LYN* в *FIP1L1-PDGFRα*-положительных клетках хронического эозинофильного лейкоза снижает клеточную пролиферацию, индуцирует апоптоз и блокирует миграцию клеток [30]. Таким образом, гиперэкспрессия *LYN* ассоциирована со злокачественным фенотипом клеток эозинофильного лейкоза, что дает возможность проведения альтернативной терапии ингибиторами вышестоящих по сигнальным путям белков.

В 70 % случаев развитие РМЖ зависит от экспрессии *ERα* и связанного с ним пути передачи сигнала, а в 20 % – от статуса *HER2/ERBB2*. Обнаруживаются все новые участники сигнальных путей *ERα*. Например, *NFIB* и *YBX1* представляют собой транскрипционные факторы, связанные с прогрессированием *ERα*-негативного рака. В недавнем исследовании Т.М. Campbell и соавт. было показано, что они также взаимодействуют с *ERα* – ключевым драйвером люминального *ERα*-позитивного РМЖ [31]. Примечательно, что они оба взаимодействуют с комплексом *ESR1-FOXA1* и подавляют активность *ERα*.

Белок *GREB1* является *ERα*-регулируемым белком, который может опосредовать действие эстрогена. Выключение *GREB1* предотвращает гормональную пролиферацию нескольких клеточных линий РМЖ и предстательной железы и увеличивает продолжительность жизни мышей, которым имплантированы клетки рака яичника. Это может быть связано с ингибированием пролиферации и стимуляцией эпителиальной морфологии посредством снижения содержания субъединицы 2 коллагена типа I [32]. Таргетная терапия, направленная на белок *GREB1*, может ингибировать сигнальные пути, стимулирующие развитие опухолевых клеток, как ниже по *ERα*-цепи взаимодействий, так и независимо от нее.

Известно, что заместительная гормональная терапия с использованием эстрогенов при менопаузе является общепризнанным фактором риска развития рака яичника, но есть мало сведений о том, как эстроген может

способствовать возникновению этого заболевания на клеточном уровне. При исследовании этой проблемы канадские ученые определили, что хемокиновый рецептор CXCR7/ACKR3 чувствителен к эстрогену, так как экспрессия этого рецептора заметно усиливается эстрогеном посредством прямого вовлечения молекулы ER α и активации транскрипции в клетках рака яичников [33]. Экспрессия CXCR7 заметно повышалась при обработке эстрогеном клеток рака яичников. Эти данные подтверждают механизм прямой связи, который поддерживает активацию комплекса CXCR7/CXCL11 под контролем ER α , что ведет к индукции ЭМП и метастатическому поведению опухолевых клеток.

Эстрогеновый рецептор также оказывается вовлечен в сигнальный путь фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), регуляция которого часто нарушается при злокачественных новообразованиях. В масштабном исследовании 60 911 образцов солидных опухолей с помощью секвенирования нового поколения [34] мутации в генах, связанных с сигнальным путем PI3K, были обнаружены в 44 % случаев. При этом сочетание изменений в гене *ESR1* и/или в андрогеновом рецепторе (AR) с изменениями в пути PI3K было статистически значимым при раке мочевого пузыря, ободочной и прямой кишки, матки, простаты и первичном раке из неизвестного очага. Такой корреляции не наблюдается для образцов РМЖ, хотя мутации в этом гене часто вовлечены в механизм возникновения приобретенной устойчивости к эндокринной терапии. Эти данные предполагают, что существуют различные пути приобретения резистентности в зависимости от типов опухолей, что дает исследователям новые мишени для ТТ и варианты дизайна клинических испытаний.

LYN И ER α КАК МИШЕНИ ТЕРАПИИ И ПРИЧИНА РЕЗИСТЕНТНОСТИ К НЕЙ

Наиболее часто используемым препаратом для подавления экспрессии LYN является мультитаргетный низкомолекулярный ингибитор дазатиниб. Он ингибирует фосфорилирование SRC и LYN и нижестоящего субстрата киназы фокальной адгезии (FAK) в гормоночувствительных и гормонорезистентных клеточных линиях [35]. Было показано, что SRC и ER α взаимодействуют на клеточной мембране в комплексе с PELP-1 и PI3K, что приводит к активации путей ERK1/2 и АКТ. Взаимодействие ER α и SRC, приводящее к фосфорилированию ER α по тирозину 537, способствует ядерному экспорту. Ингибирование SRC сводит на нет этот эффект, вызывая секвестирование ER α в ядре [36]. SRC-киназы регулируются фосфорилированием 2 остатков тирозина, которые имеют противоположные эффекты. Тирозин 416 в петле активации киназного домена SRC увеличивает активность фермента, в то время как фосфорилирование тирозина 527 с помощью CSK (С-концевой SRC-киназы) снижает активность фермента. Известно, что дазатиниб воздействует на оба

фосфорилированных сайта [37]. Этот препарат значительно ингибирует инвазию и индуцирует апоптоз клеток, но меньше влияет на клеточный цикл. Клеточные линии с высокой экспрессией Yes, LYN, Eph²A, кавеолина-1 и -2, мезина, аннексина-1 и uPA (урокиназа) особенно чувствительны к дазатинибу [38]. Другими ингибиторами SRC являются KX2-391, бозутиниб и саракатиниб. Эти препараты обладают противоопухолевой активностью и используются для терапии онкологических заболеваний.

При лечении трижды негативного РМЖ клинически эффективными оказались препараты, опосредованно действующие на онкоген MYC, в том числе ингибиторы АКТ/PI3K-пути и дазатиниб (за счет воздействия на киназу LYN). Исследования демонстрируют, что MYC является важной терапевтической мишенью для онкогенеза рака. Однако специфические низкомолекулярные ингибиторы данного онкогена пока не имеют достаточной эффективности в клинической терапии. Следовательно, существует потребность в косвенном воздействии на MYC через других участников сигнальных путей. В их качестве рассматриваются циклинзависимые киназы (CDK1), киназы Aurora B и SUMO-активирующие киназы. Известно, что клетки РМЖ с высокой экспрессией MYC реагируют на дазатиниб. Киназа LYN является прямой мишенью этого препарата, важна для активации В-клеток и активна при раке простаты и РМЖ. Экспрессия мутантной формы LYN (T319I) делает клеточные линии нечувствительными к дазатинибу. Пациенты с высокой экспрессией LYN были более склонны к рецидивам и имели низкие показатели выживаемости. При этом у больных с низкими значениями MYC экспрессия LYN не коррелировала с выживаемостью. Предполагается, что гиперактивность MYC приводит к усилению зависимости от LYN при РМЖ [2].

Эстрогены влияют на многие физиологические процессы и могут участвовать в развитии или прогрессировании заболеваний, включая онкологические, в первую очередь РМЖ. Эстрогенный сигнал передается через рецепторы эстрогена, которые имеют двойную локализацию: содержатся внутри клеток и в плазматической мембране. После связывания лиганда мембранный рецептор активирует различные сигнальные пути, индуцируя нижестоящие факторы транскрипции [39]. Механизм эстроген-индуцированного канцерогенеза и факторы, усиливающие генотоксический компонент в общем действии эстрогенов, в том числе в случае возрастной патологии [40], очень важны, поскольку могут влиять на тип канцерогенеза и свойства развивающихся гормонозависимых опухолей [41].

При РМЖ обычно экспрессируется ER α -регулируемый транскрипционный фактор. ER α -позитивный РМЖ обычно хорошо реагирует на терапию, которая ослабляет передачу сигналов ER α , либо блокируя выработку эстрогенов через ингибиторы ароматазы,

либо антагонизируя активность эстрогенов посредством конкурентного связывания антагонистов ER α , таких как тамоксифен [42].

В течение последних двух десятилетий ингибиторы ароматазы 3-го поколения, такие как анастрозол, летрозол и эксеместан, стали стандартным гормональным методом лечения пациентов с РМЖ как при поздних, так и при ранних стадиях заболевания. После появления резистентности к терапии можно назначать прием другого эндокринного агента (например, фулвестранта), использовать селективный модулятор ER α (например, тамоксифен) или аддитивные гормональные препараты, такие как прогестины (ацетат медроксипрогестерона) и эстрогены (этинилэстрадиол) [43] (рис. 3).

Также при развитии резистентности к гормональной терапии РМЖ применяются комбинации гормональных препаратов с таргетными ингибиторами. Данные некоторых клинических исследований в этой области представлены в таблице. Сочетание ингибирования SRC-киназ с ингибиторами ароматазы [44, 45] и фулвестрантом [46, 47] увеличивает эффективность лечения у некоторых подгрупп пациентов с РМЖ. Да-

затиниб и бортезомиб отчасти вызывают ресенсибилизацию к гормональным препаратам при комбинированной терапии [47, 48]. Вероятно, необходима разработка дополнительных молекулярных способов отбора пациентов в подгруппы для назначения комбинированных вариантов лечения.

Молекулярная диагностика опухолей, направленная на определение дефектов в генах, ассоциированных с сигнальными путями, может выявлять устойчивость к терапии. Однако в случае лечения, направленного на LYN, мутации редко являются причиной резистентности. Секвенирование Р-петли и сегмента активации киназного домена LYN из геномной ДНК 5 клеточных линий мезенхимального РМЖ и 50 опухолей молочной железы не выявило соматических мутаций. Также не была обнаружена амплификация ДНК в линиях или опухолях РМЖ. Избыточная экспрессия/активность LYN, скорее всего, контролируется в основном вышестоящими регуляторами [9] и регулирует нижестоящие процессы. Например, гиперэкспрессия LYN при трижды негативном РМЖ ассоциирована с потерей функции белка BRCA1 [24]. В случае хронического миелолейкоза гиперэкспрессия LYN может привести

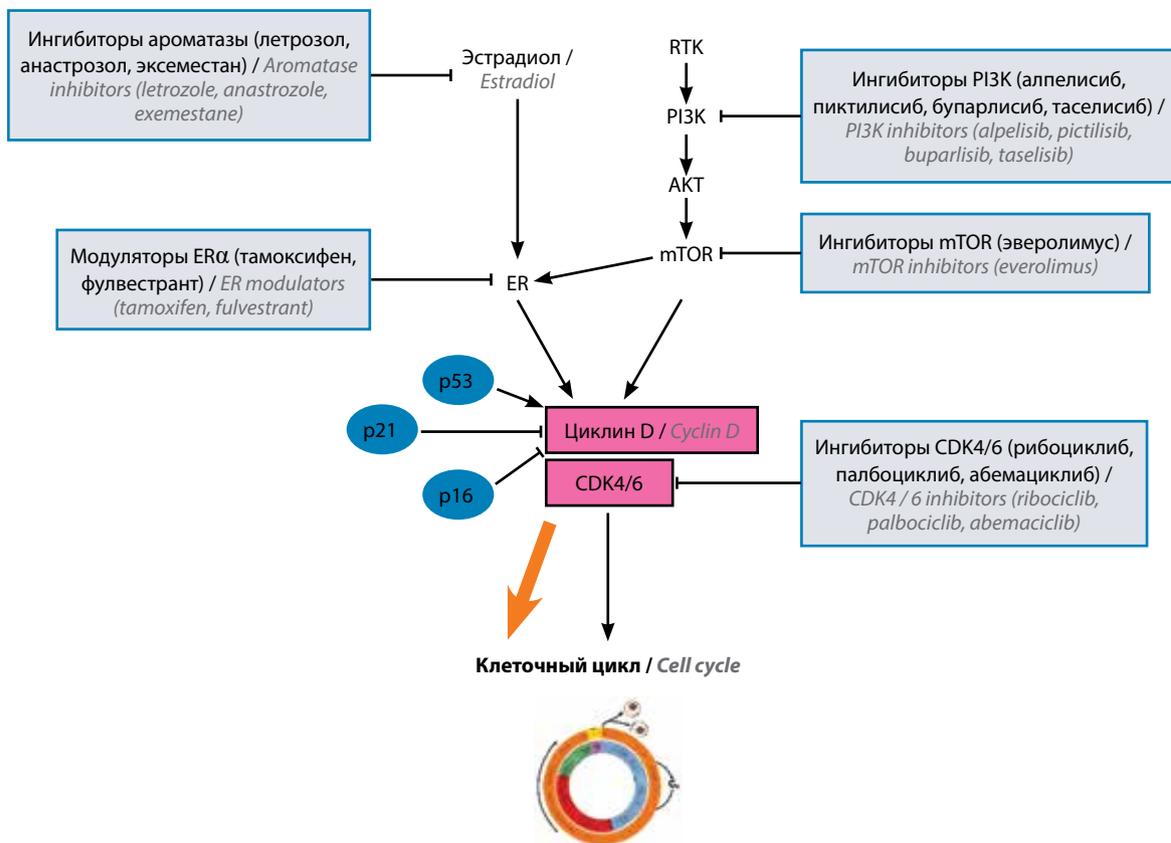


Рис. 3. Действие препаратов для лечения рака молочной железы на мишени сигнальных путей клетки. ER – эстрогеновый рецептор; RTK – рецепторная тирозинкиназа; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; AKT – внутриклеточная протеинкиназа; mTOR – мишень рапамицина; CDK4/6 – циклинзависимые киназы 4/6; p53 – транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл; p21 – внутриклеточный белок-ингибитор циклинзависимой киназы; p16 – белок-регулятор клеточного цикла

Fig. 3. The way drugs used to treat breast cancer affect target of cell signaling pathways. ER – estrogen receptor; RTK – receptor tyrosine kinase; PI3K – phosphatidylinositol-3-kinase; AKT – intracellular protein kinase; mTOR – mammalian target of rapamycin; CDK4/6 – cyclin-dependent kinases 4/6; p53 – transcription factor regulating the cell cycle; p21 – intracellular protein inhibitor of cyclin-dependent kinases; p16 – a protein regulator of the cell cycle

Результаты клинических исследований комбинаций гормональных и таргетных препаратов для лечения рака молочной железы
Results of clinical trials of combinations of hormonal and targeted drugs for the treatment of breast cancer

Номер исследования Identifier	Препараты Drugs	Статус Status	Результат исследования Study results
NCT00767520	Дазатиниб + экземестан Dasatinib + Exemestane	Завершено 28.02.2013 Completed 28.02.2013	Различия по показателям беспродвинутой выживаемости не были значимыми в общей популяции исследования, но более высокие показатели частоты клинической эффективности в группе дазатиниба и выживаемости без прогрессирования у пациентов с метастатической стадией позволяют предположить, что дазатиниб имеет эффективность в определенных подгруппах Progression-free survival difference was not significant in overall study population, but higher clinical benefit rate in the dasatinib arm and higher progression-free survival in patients with symptomatic bone metastasis suggests that dasatinib has efficacy in a subset
NCT00903006	Дазатиниб + фулвестрант, дазатиниб + далотузумаб Dasatinib + fulvestrant, dasatinib + dalotuzumab	Прекращено 02.02.2015 Terminated 02.02.2015	Комбинация фулвестранта и дазатиниба была эффективнее, чем далотузумаба и дазатиниба в испытаниях <i>in vitro</i> . Исследование с участием пациентов прекращено досрочно в связи с малым количеством участников The combination of fulvestrant and dasatinib was more effective than dalotuzumab and dasatinib in <i>in vitro</i> trials. The study involving patients was terminated prematurely due to the small number of participants
NCT00754325	Дазатиниб + фулвестрант Dasatinib + fulvestrant	Завершено 26.05.2016 Completed 26.05.2016	Добавление дазатиниба к фулвестранту не улучшило клинических показателей. Комбинация фулвестранта и дазатиниба переносилась хорошо The addition of dasatinib to fulvestrant did not improve clinical performance. The combination of fulvestrant and dasatinib was well tolerated
NCT00696072	Дазатиниб + летрозол Dasatinib + letrozole	Завершено 13.06.2016 Completed 13.06.2016	Улучшение клинических показателей наблюдалось у 71 % пациентов. Средняя выживаемость без прогрессирования при приеме летрозола и дазатиниба составила 20 мес Improvement of clinical indicators was observed in 71 % of patients. The average progression-free survival with letrozole and dasatinib was 20 months
NCT01142401	Бортезомиб + фулвестрант Bortezomib + fulvestrant	Активно Active	Бортезомиб, вероятно, повышает эффективность фулвестранта при резистентности к ингибиторам ароматазы за счет снижения приобретенной устойчивости Bortezomib likely enhances the effectiveness of fulvestrant in AI-resistant metastatic breast cancer by reducing acquired resistance

к резистентности путем регуляции образования белковых комплексов BCR-ABL через сигнальный путь LYN/BCR-ABL/SIRT1, что, в свою очередь, влияет на экспрессию Ac-Foxo1 и p53, уменьшая апоптоз и опосредуя устойчивость к иматинибу [49].

Приблизительно в 75 % случаев РМЖ поддается лечению с помощью гормональной терапии, но зачастую у пациентов развивается резистентность. Длительное воздействие антиэстрогенов заставляет клетки РМЖ адаптироваться и изменять свои свойства. Это многоаспектная проблема, поскольку в данном процессе задействовано множество сигнальных путей вследствие комбинированных изменений негеномных или геномных эффектов [50]. В ходе этого эволюционного процесса в опухоли увеличивается активность ароматазы и MAPK [51]. Путь MAPK частично участвует в адаптивном процессе, способствует фосфорилированию ER α (и следовательно, его активации) и приводит к усиленному синтезу ДНК и пролиферации клеток в отсутствие экзогенного эстрогена [52].

Помимо этого, с процессом адаптации связаны еще несколько механизмов, в том числе:

- изменения в активации сигнальных путей АКТ/PI3K и рапамицинового фактора роста млекопитающих (mTOR) [53] (уровень экспрессии АКТ (pS473) значимо выше в тамоксифен-резистентной группе по сравнению с тамоксифен-чувствительной [54]);
- гиперэкспрессия факторов роста семейства EGFR тирозинкиназ – уровень экспрессии EGFR значимо выше в тамоксифен-резистентной группе по сравнению с тамоксифен-чувствительной группой [54];
- высокий уровень экспрессии VEGFR-2, который также рассматривается в качестве маркера резистентности опухоли к тамоксифену [55];
- транскрипция тирозинкиназных рецепторов факторов роста (EGFR, HER2 и IGFR), что повышает активность их медиаторов и увеличивает пролиферацию клеток, и активация гипоксия-зависимых сигнальных путей (HIF-1/VEGF и Snail/ β -катенин) [56].

Предполагалось, что данные эффекты (снижение содержания ER α , активность EGFR, IGFR) могут возникать в том числе вследствие развивающейся в опухолях гипоксии и разницы в стабильности данных факторов [56]. Параллельных аналогичных сигнальных путей всегда несколько, и активизация происходит в результате изменения действующих веществ: например, в случае метформина (подавляет ER α и mTOR) происходит активация передачи сигналов AKT/Snail1 [57].

Большую роль в возникновении гормональной резистентности играют также межклеточные механизмы передачи сигнала и эпигенетические факторы, например воздействие на соседние клетки путем межклеточных контактов [58] или паракринным путем, в том числе через продукцию клетками экзосом, содержащих метаболически активные белки и некоторые нуклеиновые кислоты, такие как микроРНК [59]. Короткие одноцепочечные РНК (микроРНК) участвуют в посттранскрипционной регуляции экспрессии различных генов. Искажение работы этой системы происходит в процессе злокачественной трансформации, а потом и терапии опухоли [60], и микроРНК могут служить биомаркерами устойчивости к лечению [61]. Другие эпигенетические механизмы модификации экспрессии гена *ESR1* включают в себя гиперметилирование CpG (CpG-островки генома) в промоторах и повышенную активность гистондеацетилазы [62].

Мутации в гене *ESR1*, кодирующем ER α , также негативно влияют на ответ на гормональную терапию. Было предположено, что устойчивость к тамоксифену является результатом выбора опухолевых клеток, которые распознают комплекс ER α /тамоксифен как агонистический. Однако в последнее время у пациентов с рецидивами метастазирования обнаружены мутации в лигандсвязывающем домене ER α (25–40 % случаев), хотя они очень редко встречаются у больных, не прошедших лечение [63]. Соматические мутации в *ESR1* являются потенциальным механизмом вторичной эндокринной резистентности при РМЖ, тогда как при секвенировании ER α -позитивных и ER α -негативных первичных опухолей молочной железы не были обнаружены мутации в гене *ESR1*. При недавно диагностированном нелеченом РМЖ мутации в *ESR1* встречаются редко, но, по-видимому, они часто возникают во время прогрессирования резистентности к гормонам, особенно в контексте терапии эстрогенной депривацией. Мутации в кодонах лигандсвязывающего домена (LBD) в гене, кодирующем ER α (*ESR1*) (10–40 % случаев), приводят к появлению лиганд-независимых конститутивно активных рецепторов. Кроме того, могут происходить хромосомные транслокации в районе *ESR1*, приводящие к формированию слитных белков, которые лишены LBD и полностью невосприимчивы ко всем эндокринным методам лечения. Результаты исследований указывают на то, что N-концевые слияния *ESR1* с участием экзонов 6–7 являются

рецидивирующим фактором устойчивости к гормональной терапии и нечувствительны к ER α -таргетной терапии. Важно, что все слияния *ESR1* представляют собой результат точки разрыва в районе интрона 6 *ESR1* и, следовательно, не имеют интактного LBD [64]. Две наиболее распространенных мутации – Y537S и D538G – и химерный белок *ESR1*-YAP1 демонстрировали усиленные коактиваторные взаимодействия по сравнению с рецепторами ER α дикого типа. Ингибирование этих коактиваторов снижало способность мутантов *ESR1* к активированию транскрипции и содействовало развитию РМЖ *in vitro* и *in vivo*. Таким образом, выявление коактиваторов, которые связываются с мутантными белками ER α , поможет определить новые терапевтические мишени для эндокринно-резистентного рака [65]. У пациентов с мутантным аллелем Y537S могут быть худшие результаты по сравнению с пациентами, у которых в опухолях присутствует мутация D538G [66].

Носительство мутантного генотипа GG rs2228480 (T594T) гена *ESR1* ассоциировано с резистентностью к терапии тамоксифеном [67], особенно при люминальном подтипе В РМЖ [68]. Полагают, что данная мутация может способствовать нарушению сайтов связывания ER α для взаимодействия с коактиваторами. В результате образуется функционально неактивный рецептор, неспособный взаимодействовать с тамоксифеном [54].

Согласно исследованию пациентов с раком эндометрия, в 19 из 1034 (1,8 %) случаев опухолей имелись мутации в *ESR1*: 12 – в 537Y, 4 – в 538D и 3 – в 536L. У больных с мутацией в данном гене отмечается значительно более низкий индекс массы тела по сравнению с больными без мутаций, но все пациенты имели сходные характеристики по возрасту, стадии и степени заболевания, а также по показателям беспрогрессивной выживаемости [69].

Ранее было показано, что соматические мутации в гене *ESR1* вовлечены в развитие устойчивости к гормональной терапии РМЖ тамоксифеном. Например, соматическая мутация Y537S была специфически связана с приобретенной эндокринной устойчивостью. В исследовании М. Fiorillo и соавт. [70] изучался молекулярный механизм этого явления. Культура клеток РМЖ MCF-7, трансдуцированная лентивирусным вектором, экспрессирующим молекулу *ESR1* (Y537S), была функционально устойчива к тамоксифену. Дальнейшая фенотипическая характеристика клеток MCF-7-Y537S показала, что они демонстрируют повышенную устойчивость к апоптозу, вызванному данным препаратом. Анализ метаболизма этих клеток выявил гиперметаболический фенотип с усилением митохондриального дыхания и продукции аденозинтрифосфата, а также с усиленным аэробным гликолизом (рис. 4).

Также была обнаружена избирательная активация сигнального пути Rho-GDI/PTEN мутацией ER α Y537S. Кроме того, мутация Y537S специфически связана со сверхэкспрессией ряда белковых маркеров



Рис. 4. Роль мутации Y537S эстрогенового рецептора ERα в развитии резистентности к тамоксифену

Fig. 4. The way Y537S mutation of estrogen receptor ERα affects development of tamoxifen resistance

неблагоприятного клинического прогноза (COL6A3, ERBB2, STAT3, AFP, TFF1, CDK4 и CD44). Таким образом, был обнаружен новый метаболический механизм, приводящий к эндокринной резистентности, который может иметь большое значения для улучшения результатов терапии.

В последнее время исследования с помощью высокопроизводительных технологий выявили в ERα-положительных образцах метастатического РМЖ большое количество молекулярных aberrаций в других потенциальных генах-драйверах, таких как мутации в PIK3CA, амплификации FGFR1 и CCND1. Это привело к появлению нескольких методов лечения, нацеленных на данные пути, чтобы обойти или задержать развитие эндокринной резистентности [48].

Тамоксифен, входящий в группу селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов (SERM), используется для долгосрочной адъювантной терапии при ERα-положительном РМЖ уже более 40 лет [71]. Новую группу составляют селективные ERα-регуляторы (SERD), к которым относится фулвестрант. Они являются конкурентными антагонистами ERα, вызывающими конформационный сдвиг рецептора, приводящий к убиквитинированию и последующей деградации ERα через убиквитин-протеасомную систему. Уникальная двойная функция SERD (антагонизм и истощение ERα) может позволить им блокировать передачу сигналов ERα в клеточных условиях, где другие эндокринные агенты, такие как тамоксифен или ингибиторы ароматазы, не работают [72]. Другими широко применяемыми в клинической практике лечения гормонозависимого РМЖ препаратами являются ингибиторы ароматазы 3-го поколения эксеместан, летрозол и анастрозол.

Тамоксифен в целом хорошо переносится больными, но иногда может вызывать побочные эффекты

(например, рак эндометрия или тромбозные осложнения) из-за его частичной активности в качестве агониста эстрогенов. Согласно результатам ряда метаанализов, фулвестрант демонстрирует ряд преимуществ по сравнению с анастрозолом, эксеместаном, тамоксифеном и торемифеном [73] и лучше переносится пациентами. Первоначально он был одобрен как препарат 2-й линии, однако клинические исследования продемонстрировали, что его лучше использовать в качестве 1-й линии терапии. К недостаткам фулвестранта относятся плохая биологическая доступность и внутримышечная инъекционная доставка [74]. Наиболее распространенный подход для преодоления вторичной резистентности – смена режима гормональной терапии.

Мутантный белок ERα все еще может связывать антиэстрогены, такие как тамоксифен и фулвестрант, хотя для его ингибирования требуются более высокие дозы этих препаратов. Таргетная терапия в случае ESR1-мутаций, возможно, будет ориентирована на геномные портреты каждого пациента. Существует потребность в разработке более сильных или специфических антагонистов мутантных форм для блокирования передачи сигналов ERα в качестве селективных модуляторов ERα следующего поколения, а также селективных ERα понижающих регуляторов [48].

Изучение мутантных аллель-специфических транскрипционных программ показывает, что они обогащены генами и путями, которые опосредуют передачу сигналов фактора роста и способствуют метастазированию. Эти результаты обеспечивают механистическую основу, на которой мутации ERα вызывают эндокринную резистентность, и могут объяснить склонность к развитию метастазов и низкие показатели общей выживаемости у пациентов с метастатическим РМЖ [75].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения участников взаимодействия проонкогенов обнаруживаются новые метаболические механизмы, приводящие к лекарственной резистентности, что может иметь большое значение для прогноза лечения и открытия новых мишеней для ТТ.

На основе давно известного факта, что в результате адаптивных изменений в тканях опухолей во время длительного лечения тамоксифеном повышается чувствительность к эстрогену [50], разрабатываются синтетические селективные имитаторы эстрогена (SEM) ВМ1-135, ТТС-352 [76], а также природный эстроген эстетрол [77], которые предлагается использовать в качестве более безопасных эстрогенных агентов по сравнению с 17β-эстрадиолом для лечения эндокринно-резистентных РМЖ.

При развитии резистентности к гормональной терапии РМЖ применяется комбинация ингибиторов ароматазы с ингибиторами PI3K/АКТ/mTOR/сигнального пути (эверолимус), а в случае HER2-положительных

опухолей добавляется анти-HER2-таргетная терапия (трастузумаб) [74]. Комбинация ингибирования SRC с ингибиторами ароматазы [78] и фулвестрантом [79] снижает пролиферацию и метастазирование эндокринно-устойчивых клеточных линий РМЖ. Дазати-ниб [36] и другие ингибиторы SRC [80] вызывают ре-сенсбилизацию к тамоксифену и фулвестранту, но только в определенных подгруппах пациентов.

В целом можно предположить, что ингибирование передачи дополнительных клеточных сигналов в сочетании с гормональной терапией поможет не допустить или задержать развитие гормональной резистентности. Также с появлением новых терапевтических подходов необходимо использовать дополнительные молекулярные способы отбора пациентов в подгруппы для назначения комбинированных вариантов терапии.

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

1. Bilal E., Alexe G., Yao M. et al. Identification of the YES1 kinase as a therapeutic target in basal-like breast cancers. *Genes Cancer* 2010;1(10):1063–73. DOI: 10.1177/1947601910395583.
2. Martins M.M., Zhou A.Y. Corella A. et al. Linking tumor mutations to drug responses via a quantitative chemical-genetic interaction map. *Cancer Discov* 2015;5(2):154–67. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-14-0552.
3. Шестакова Е.А. Мутации в генах эстрогенового рецептора α (ESR1) и киназы семейства SRC (LYN), ассоциированные с резистентностью к гормонотерапии рака яичников. *Успехи молекулярной онкологии* 2021;8(1):10–6. [Shestakova E.A. Mutations in the genes of the estrogen receptor α (ESR1) and kinase of the SRC (LYN) family associated with resistance to hormone therapy for ovarian cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(1):10–6. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-1-10-16.
4. Liu S., Hao X., Ouyang X. et al. Tyrosine kinase LYN is an oncotarget in human cervical cancer: a quantitative proteomic based study. *Oncotarget* 2016;7(46):75468–81. DOI: 10.18632/oncotarget.12258.
5. Meade J., Fernandez C., Turner M. The tyrosine kinase Lyn is required for B cell development beyond the T1 stage in the spleen: rescue by over-expression of Bcl-2. *Eur J Immunol* 2002;32(4):1029–34. DOI: 10.1002/1521-4141(200204)32:4<1029::AID-IMMU1029>3.0.CO;2-M.
6. Ingley E. Functions of the Lyn tyrosine kinase in health and disease. *Cell Commun Signal* 2012;10(1):21. DOI: 10.1186/1478-811X-10-21.
7. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С. и др. Транскриптомная активность эстроген-регуляторных генов при малигнизации тканей тела матки. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного уни-*
8. versитета 2016;115:294–304. [Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Kutilin D.S. et al. Transcriptomic activity of estrogen-regulatory genes in malignancy uterine tissues. *Politematicheskij setevoy elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Scientific Journal of the Kuban State Agrarian University* 2016;115:294–304. (In Russ.)].
8. Summy J.M., Gallick G.E. Src family kinases in tumor progression and metastasis *Cancer Metastasis Rev* 2003;22(4):337–58. DOI: 10.1023/a:1023772912750.
9. Choi Y.L., Bocanegra M., Kwon M.J. et al. LYN is a mediator of epithelial-mesenchymal transition and a target of dasatinib in breast cancer. *Cancer Res* 2010;70(6):2296–306. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3141.
10. Dressman H.K., Berchuck A., Chan G. et al. An integrated genomic-based approach to individualized treatment of patients with advanced-stage ovarian cancer *J Clin Oncol* 2007;25(5):517–25. DOI: 10.1200/JCO.2006.06.3743.
11. Roseweir A.K., Qayyum T., Lim Z. et al. Nuclear expression of Lyn, a Src family kinase member, is associated with poor prognosis in renal cancer patients. *BMC Cancer* 2016;16:229. DOI: 10.1186/s12885-016-2254-9.
12. Wu J., Meng F., Lu H. et al. Lyn regulates BCR-ABL and Gab2 tyrosine phosphorylation and c-Cbl protein stability in imatinib-resistant chronic myelogenous leukemia cells. *Blood* 2008;111(7):3821–9. DOI: 10.1182/blood-2007-08-109330.
13. Su N., Peng L., Xia B. et al. Lyn is involved in CD24-induced ERK1/2 activation in colorectal cancer. *Mol Cancer* 2012;11:43. DOI: 10.1186/1476-4598-11-43.
14. Zardan A., Nip K.M., Thaper D. et al. Lyn tyrosine kinase regulates androgen receptor expression and activity in castrate-resistant prostate cancer. *Oncogenesis* 2014;3(8):e115. DOI: 10.1038/oncsis.2014.30.
15. Mello A.A., Leal M.F., Rey J.A. et al. Deregulated Expression of SRC, LYN and
16. CKB kinases by DNA methylation and its potential role in gastric Cancer invasiveness and metastasis. *PLoS One* 2015;10(10):e0140492. DOI: 10.1371/journal.pone.0140492.
16. Yang S.Y.C., Lheureux S., Karakasis K. et al. Landscape of genomic alterations in high-grade serous ovarian cancer from exceptional long- and short-term survivors. *Genome Med* 2018;10(1):81. DOI: 10.1186/s13073-018-0590-x.
17. Zhang K., Kong X., Feng G. et al. Investigation of hypoxia networks in ovarian cancer via bioinformatics analysis. *J Ovarian Res* 2018;11(1):16. DOI: 10.1186/s13048-018-0388-x.
18. Koussounadis A., Langdon S.P., Um I. et al. Dynamic modulation of phospho-protein expression in ovarian cancer xenograft models. *BMC Cancer* 2016;16:205. DOI: 10.1186/s12885-016-2212-6.
19. Bromann P.A., Korkaya H., Courtneidge S.A. The interplay between Src family kinases and receptor tyrosine kinases. *Oncogene* 2004;23(48):7957–68. DOI: 10.1038/sj.onc.1208079.
20. Yeatman T.J. A renaissance for SRC. *Nat Rev Cancer* 2004;4(6):470–80. DOI: 10.1038/nrc1366.
21. Chen W., Li Y., Wang Z. Evolution of oncogenic signatures of mutation hotspots in tyrosine kinases supports the atavistic hypothesis of cancer. *Sci Rep* 2018;8(1):8256. DOI: 10.1038/s41598-018-26653-5.
22. Liang X., Wisniewski D., Strife A. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase and Src family kinases are required for phosphorylation and membrane recruitment of Dok-1 in c-Kit signaling. *J Biol Chem* 2002;277(16):13732–8. DOI: 10.1074/jbc.M200277200.
23. Iida M., Brand T.M., Campbell D.A. et al. Yes and Lyn play a role in nuclear translocation of the epidermal growth factor receptor. *Oncogene* 2019;3893:2435. DOI: 10.1038/s41388-018-0572-x.
24. Tatosyan A.G., Mizenina O.A. Kinases of the Src family: structure and functions. *Biochemistry (Mosc)* 2000;65(1):49–58.

25. Tornillo G., Knowlson C., Kendrick H. et al. Dual Mechanisms of LYN kinase dysregulation drive aggressive behavior in breast cancer cells. *Cell Rep* 2018;25(13):3674–92.e10. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.11.103.
26. Liu L.Y., Chang L.Y., Kuo W.H. et al. Prognostic features of signal transducer and activator of transcription 3 in an ER(+) breast cancer model system *Cancer Inform* 2014;13:21–45. DOI: 10.4137/CIN.S12493.
27. Tabariès S., Annis M.G., Hsu B.E. et al. Lyn modulates Claudin-2 expression and is a therapeutic target for breast cancer liver metastasis. *Oncotarget* 2015;6(11):9476–87. DOI: 10.18632/oncotarget.3269.
28. Liu D. LYN, a key gene from bioinformatics analysis, contributes to development and progression of esophageal adenocarcinoma. *Med Sci Monit Basic Res* 2015;21:253–61. DOI: 10.12659/MSMBR.895463.
29. Shen H., Liang Z., Zheng S., Li X. Pathway and network-based analysis of genome-wide association studies and RT-PCR validation in polycystic ovary syndrome. *Int J Mol Med* 2017;40(5):1385–96. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3146.
30. Li B., Zhang G., Li C. et al. Lyn mediates FIP1L1-PDGFR α signal pathway facilitating IL-5RA intracellular signal through FIP1L1-PDGFR α /JAK2/Lyn/AKT network complex in CEL. *Oncotarget* 2016;8(39):64984–98. DOI: 10.18632/oncotarget.11401.
31. Campbell T.M., Castro M.A.A., de Oliveira K.G. et al. ER α binding by transcription factors NFIB and YBX1 enables FGFR2 signaling to modulate estrogen responsiveness in breast cancer. *Cancer Res* 2018;78(2):410–21. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1153.
32. Hodgkinson K., Forrest L.A., Vuong N. et al. GREB1 is an estrogen receptor-regulated tumour promoter that is frequently expressed in ovarian cancer. *Oncogene* 2018;37(44):5873–86. DOI: 10.1038/s41388-018-0377-y.
33. Benhadjeba S., Edjekouane L., Sauvè K. et al. Feedback control of the CXCR7/CXCL11 chemokine axis by estrogen receptor α in ovarian cancer. *Mol Oncol* 2018;12(10):1689–705. DOI: 10.1002/1878-0261.12362.
34. Millis S.Z., Jardim D.L., Albacker L. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase pathway genomic alterations in 60,991 diverse solid tumors informs targeted therapy opportunities. *Cancer* 2019;125(7):1185–99. DOI: 10.1002/cncr.31921.
35. Tatarov O., Mitchell T.J., Seywright M. et al. SRC family kinase activity is up-regulated in hormone-refractory prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15(10):3540–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-185.
36. Guest S.K., Ribas R., Pancholi S. et al. Src is a potential therapeutic target in endocrine-resistant breast cancer exhibiting low estrogen receptor-mediated transactivation. *PLoS One* 2016;11(6):e0157397. DOI: 10.1371/journal.pone.0157397.
37. Caccia D., Miccichè F., Cassinelli G. et al. Dasatinib reduces FAK phosphorylation increasing the effects of RPI-1 inhibition in a RET/PTC1-expressing cell line. *Mol Cancer* 2010;9:278. DOI: 10.1186/1476-4598-9-278.
38. Konecny G.E., Glas R., Dering J. et al. Activity of the multikinase inhibitor dasatinib against ovarian cancer cells. *Br J Cancer* 2009;101(10):1699–708. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605381.
39. Ortona E., Pierdominici M., Berstein L. Autoantibodies to estrogen receptors and their involvement in autoimmune diseases and cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014;144(Pt. B):260–7. DOI: 10.1016/j.jsmb.2014.07.004.
40. Berstein L.M. Role of endocrine-genotoxic switchings in cancer and other human diseases: basic triad. *Adv Exp Med Biol* 2008;630:35–51. DOI: 10.1007/978-0-387-78818-0_3.
41. Berstein L., Tsyrlina E., Poroshina T. et al. Switching (overtargeting) of estrogen effects and its potential role in hormonal carcinogenesis. *Neoplasma* 2002;49(1):21–5.
42. Davies C., Godwin J., Gray R. et al. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2011;378(9793):771–84. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60993-8.
43. Yamamoto-Ibusuki M., Arnedos M., André F. Targeted therapies for ER+/HER2-metastatic breast cancer. *BMC Med* 2015;13:137. DOI: 10.1186/s12916-015-0369-5.
44. Safety and efficacy of exemestane plus dasatinib versus placebo for advanced ER+ breast cancer. *Clinical Trial*. Identifier: NCT00767520. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00767520>.
45. Randomized phase II trial of letrozole with or without dasatinib as first and second-line treatment for hormone receptor-positive, HER2-negative postmenopausal breast cancer that is unresectable, locally recurrent or metastatic. *Clinical Trial*. Identifier: NCT00696072. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT00696072>.
46. Trial of fulvestrant, MK-0646, and dasatinib for metastatic hormone receptor-positive HER2-negative breast cancer. *Clinical Trial*. Identifier: NCT00903006. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT00903006>.
47. Randomized trial of fulvestrant with or without dasatinib in men and postmenopausal women who have hormone receptor-positive advanced breast cancer previously treated with an aromatase inhibitor. *Clinical Trial*. Identifier: NCT00754325. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT00754325?term=dasatinib&cond=breast+cancer&draw=2&rank=10>.
48. Fulvestrant with or without bortezomib in patients with inoperable locally advanced or metastatic estrogen receptor positive breast cancer. *Clinical Trial*. Identifier: NCT01142401. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01142401>.
49. Teng Y.Q., Jin H., Liu Z.Y. et al. The Lyn-SIRT1 signaling pathway is involved in imatinib resistance in chronic myeloid leukaemia. *Am J Transl Res* 2020;12(6):2711–25.
50. Berstein L.M., Wang J.P., Zheng H. et al. Long-term exposure to tamoxifen induces hypersensitivity to estradiol. *Clin Cancer Res* 2004;10(4):1530–4. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-0433-03.
51. Berstein L.M., Zheng H., Yue W. et al. New approaches to the understanding of tamoxifen action and resistance. *Endocr Relat Cancer* 2003;10(2):267–77. DOI: 10.1677/erc.0.0100267.
52. Jeng M.H., Yue W., Eischeid A. et al. Role of MAP kinase in the enhanced cell proliferation of long term estrogen deprived human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2000;62(3):167–75. DOI: 10.1023/a:1006406030612.
53. Santen R.J., Song R.X., Zhang Z., Kumar R. et al. Long-term estradiol deprivation in breast cancer cells up-regulates growth factor signaling and enhances estrogen sensitivity. *Endocr Relat Cancer* 2005;12(Suppl 1):S61–73. DOI: 10.1677/erc.1.01018.
54. Дронова Т.А., Бабышкина Н.Н., Завьялова М.В. и др. Взаимосвязь компонентов EGFR/PI3K/AKT-сигнального пути с эффективностью терапии тамоксифеном у больных эстрогензависимым раком молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии* 2018;5(3):40–50. [Dronova T.A., Babyshkina N.N., Zavyalova M.V. et al. Relation of EGFR/PI3K/AKT signaling components with tamoxifen efficacy in patients with estrogen-dependent breast cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2018;5(3):40–50. (in Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-3-40-50.
55. Dronova T.A., Babyshkina N.N., Zavyalova M.V. et al. Vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) contributes to tamoxifen resistance in estrogen-positive breast cancer patients. *Mol Biol (Mosk)* 2021;55(1):118–25. DOI: 10.31857/S0026898421010055.

56. Красильников М.А., Щербakov А.М. Сигнальные пути, регулируемые эстрогенами, и их роль в опухолевой прогрессии: новые факты и направления поиска. *Успехи молекулярной онкологии* 2014;1(1):18–26. [Krasil'nikov M.A., Shcherbakov A.M. Estrogen-dependent signaling pathways and their role in the tumor progression: progress and perspectives. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2014;1(1):18–26. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X.2014.1.1.18-26.
57. Scherbakov A.M., Sorokin D.V., Tatarskiy V.V. et al. The phenomenon of acquired resistance to metformin in breast cancer cells: The interaction of growth pathways and estrogen receptor signaling. *IUBMB Life* 2016;68(4):281–92. DOI: 10.1002/iub.1481.
58. Семина С.Е., Багров Д.В., Красильников М.А. Межклеточные взаимодействия и развитие гормональной резистентности клеток рака молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии* 2015;2(2):50–5. [Semina S.E., Bagrov D.V., Krasil'nikov M.A. Intercellular interactions and progression of hormonal resistance of breast cancer cells. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2015;2(2):50–5. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X.2015.2.2.50-55.
59. Сорокин Д.В., Андреева О.Е., Михайевич Е.И. и др. Эффект негативной регуляции эстрогенового сигналинга под действием экзосом: роль в развитии резистентности клеток рака молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии* 2020;7(3):58–62. [Sorokin D.V., Andreeva O.E., Mikhaevich E.I. et al. Effect of the exosome-mediated suppression of the estrogen signaling: the role in the progression of the hormonal resistance of breast cancer cells. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2020;7(3):58–62. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-3-58-62.
60. Малек А.В., Берштейн Л.М. МикроРНК: половые гормоны, гормональный канцерогенез, гормоночувствительность опухолевой ткани. *Успехи молекулярной онкологии* 2015;2(1):004–012. [Malek A.V., Bershtein L.M. MicroRNA: sex steroids, hormonal carcinogenesis, hormonal sensitivity of tumor tissue. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2015;2(1):004–012. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X.2015.2.1.004-012.
61. Kalinina T., Kononchuk V., Alekseenok E. et al. Expression of estrogen receptor- and progesterone receptor-regulating microRNAs in breast cancer. *Genes* (Basel) 2021;12(4):582. DOI: 10.3390/genes12040582.
62. Sukocheva O.A., Lukina E., Friedemann M. et al. The crucial role of epigenetic regulation in breast cancer anti-estrogen resistance: current findings and future perspectives. *Semin Cancer Biol* 2020;S1044-579X(20)30263-7. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.12.004.
63. Jeselsohn R., Yelensky R., Buchwalter G. et al. Emergence of constitutively active estrogen receptor- α mutations in pretreated advanced estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(7):1757–67. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2332.
64. Hartmaier R.J., Trabucco S.E., Priedigkeit N. et al. Recurrent hyperactive ESR1 fusion proteins in endocrine therapy-resistant breast cancer. *Ann Oncol* 2018;29(4):872–80. DOI: 10.1093/annonc/mdy025.
65. Gates L.A., Gu G., Chen Y. et al. Proteomic profiling identifies key coactivators utilized by mutant ER α proteins as potential new therapeutic targets. *Oncogene* 2018;37(33):4581–98. DOI: 10.1038/s41388-018-0284-2.
66. Chandralapaty S., Chen D., He W. et al. Prevalence of ESR1 mutations in cell-free DNA and outcomes in metastatic breast cancer: a secondary analysis of the BOLERO-2 clinical. *JAMA Oncol* 2016;2(10):1310–5. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.1279.
67. Babyshkina N., Vtorushin S., Zavyalova M. et al. The distribution pattern of ER α expression, ESR1 genetic variation and expression of growth factor receptors: association with breast cancer prognosis in Russian patients treated with adjuvant tamoxifen. *Clin Exp Med* 2017;17(3):383–93. DOI: 10.1007/s10238-016-0428-z.
68. Babyshkina N., Vtorushin S., Dronova T. et al. Impact of estrogen receptor α on the tamoxifen response and prognosis in luminal-A-like and luminal-B-like breast cancer. *Clin Exp Med* 2019;19(4):547–56. DOI: 10.1007/s10238-019-00583-6.
69. Backes F.J., Walker C.J., Goodfellow P.J. et al. Estrogen receptor- α as a predictive biomarker in endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2016;141(2):312–7. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.03.006.
70. Fiorillo M., Sanchez-Alvarez R., Sotgia F., Lisanti M.P. The ER- α mutation Y537S confers Tamoxifen-resistance via enhanced mitochondrial metabolism, glycolysis and Rho-GDI/PTEN signaling: Implicating TIGAR in somatic resistance to endocrine therapy. *Aging* (Albany NY) 2018;10(12):4000–23. DOI: 10.18632/aging.101690.
71. Jordan V.C. 50th anniversary of the first clinical trial with ICI 46,474 (tamoxifen): then what happened? *Endocr Relat Cancer* 2021;28(1):R11–30. DOI: 10.1530/ERC-20-0335.
72. Berry N.B., Fan M., Nephew K.P. Estrogen receptor- α hinge-region lysines 302 and 303 regulate receptor degradation by the proteasome. *Mol Endocrinol* 2008;22(7):1535–51. DOI: 10.1210/me.2007-0449.
73. Lee C.I., Goodwin A., Wilcken N. Fulvestrant for hormone-sensitive metastatic breast cancer. *Cochrane Database f Syst Rev* 2017;1(1):CD011093. DOI: 10.1002/14651858.CD011093.pub2.
74. Khisamov A.A., Manujlova O.O., Byakhov M.Y. Mechanisms of development and the ways to overcome endocrine resistance in breast cancer. *Malignant Tumours* 2015;4:52–61. DOI: 10.18027/2224-5057-2015-4-52-61.
75. Jeselsohn R., Bergholz J.S., Pun M. et al. Allele-specific chromatin recruitment and therapeutic vulnerabilities of ESR1 activating mutations. *Cancer Cell* 2018;33(2):173–86.e5. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.01.004.
76. Abderrahman B., Maximov P.Y., Curpan R.F. et al. Pharmacology and molecular mechanisms of clinically relevant estrogen estretol and estrogen mimic BMI-135 for the treatment of endocrine-resistant breast cancer. *Mol Pharmacol* 2020;98(4):364–81. DOI: 10.1124/molpharm.120.000054.
77. Abderrahman B., Maximov P.Y., Curpan R.F. et al. Rapid induction of the unfolded protein response and apoptosis by estrogen mimic TTC-352 for the treatment of endocrine-resistant breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2021;20(1):11–25. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-20-0563.
78. Hiscox S., Barrett-Lee P., Borley A.C., Nicholson R.I. Combining Src inhibitors and aromatase inhibitors: a novel strategy for overcoming endocrine resistance and bone loss. *Eur J Cancer* 2010;46(12):2187–95. DOI: 10.1016/j.ejca.2010.04.012.
79. Larsen S.L., Laenkholm A.V., Duun-Henriksen A.K. et al. SRC drives growth of antiestrogen resistant breast cancer cell lines and is a marker for reduced benefit of tamoxifen treatment. *PLoS One* 2015;10(2):e0118346. DOI: 10.1371/journal.pone.0118346.
80. Zhou J., Xu M., Le K., et al. SRC promotes tamoxifen resistance in breast cancer via up-regulating SIRT1. *Onco Targets Ther* 2020;13:4635–47. DOI: 10.2147/OTT.S245749.

Вклад авторов

В.В. Тихонова: анализ публикаций по теме статьи, написание текста статьи;
Ю.П. Финашутина: анализ и обобщение данных литературы, написание текста статьи;
Л.А. Кесаева: сбор и обработка данных, редактирование статьи.

Authors' contributions

V.V. Tikhonova: reviewed relevant publications, article writing;
Y.P. Finashutina: analysis and generalization of literature data, article writing;
L.A. Kesaeva: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, scientific editing of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.В. Тихонова / V.V. Tikhonova: <https://orcid.org/0000-0002-8658-2819>
Ю.П. Финашутина / Y.P. Finashutina: <https://orcid.org/0000-0002-6154-535X>
Л.А. Кесаева / L.A. Kesaeva: <https://orcid.org/0000-0001-8277-8649>

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.

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-60-76



Глиобластома: молекулярно-генетический портрет и современные терапевтические стратегии лекарственного лечения

Г.П. Генс¹, В.Д. Санникович¹, В.А. Милейко², А.А. Лебедева²

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

²ООО «Онкодиагностика Атлас»; Россия, 121069 Москва, ул. Малая Никитская, 31

Контакты: Варвара Дмитриевна Санникович v8varvara@gmail.com

Мультиформная глиобластома – наиболее распространенная злокачественная первичная опухоль центральной нервной системы. Несмотря на применение современной комплексной терапии и успехи в изучении молекулярно-генетических изменений данной опухоли, прогноз при этом заболевании является крайне неблагоприятным. В данном обзоре рассмотрены существующие терапевтические агенты и клинические исследования потенциальных препаратов для лечения пациентов с мультиформной глиобластомой.

Секвенирование нового поколения прочно вошло в клиническую практику онкологов и позволяет определять мутации генов в клетках опухоли, часть из которых может служить мишенями для терапии. Глиобластома характеризуется большим количеством потенциально таргетируемых молекулярно-генетических нарушений. Как и в случае с другими солидными опухолями, активно изучается таргетная и иммунная терапия глиобластом, в том числе комбинация лекарственных препаратов с физическими методами воздействия.

На сегодняшний день новые методы лечения глиобластомы, включая антиангиогенную, иммунную и генную терапию, все еще имеют неопределенные или весьма скромные клинические результаты. Причин этому много: от неспособности большинства молекул преодолеть гематоэнцефалический барьер, заканчивая широкой генетической гетерогенностью данных опухолей. Наиболее перспективным направлением является иммунотерапия. Однако на данном этапе нельзя утверждать, что существует эффективная монотерапия глиобластомы. Комбинация иммунотерапии с лучевой и химиотерапией повышает мутационную нагрузку, экспрессию стрессовых и других факторов, поэтому исследователи возлагают большие надежды именно на комбинированные методы лечения.

Ключевые слова: глиобластома, таргетная терапия, иммунотерапия, новые терапевтические стратегии

Для цитирования: Генс Г.П., Санникович В.Д., Милейко В.А., Лебедева А.А. Глиобластома: молекулярно-генетический портрет и современные терапевтические стратегии лекарственного лечения. Успехи молекулярной онкологии 2021; 8(3):60–76. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-60-76.

Glioblastoma: a molecular genetic portrait and modern therapeutic strategies for drug treatment

G.P. Guens¹, V.D. Sanikovich¹, V.A. Mileyko², A.A. Lebedeva²

¹Department of Oncology and Radiation Therapy A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 20 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russia;

²Oncodiagnosics Atlas; 31 Malaya Nikitskaya St., Moscow 121069, Russia

Contacts: Varvara Dmitrievna Sanikovich v8varvara@gmail.com

Glioblastoma multiforme is the most common and malignant primary tumor of the central nervous system. Despite the existing modern complex therapy and advances in the study of molecular genetic changes in this tumor, the prognosis for patients with glioblastoma is one of the most unfavorable in oncology. This overview reviews existing therapeutic agents and clinical studies of potential drugs for the treatment of patients with glioblastoma multiforme.

Next-generation sequencing has become firmly established in the clinical practice of oncologists and allows detecting gene mutations in tumor cells, some of which can serve as targets for therapy. Glioblastoma is characterized by a large number of potentially targeted molecular genetic disorders. As in the case of other solid tumors, targeted and immunotherapy for glioblastomas is being actively studied, including the combination of drugs with physical methods of exposure.

To date, new treatment methods of glioblastoma, including antiangiogenic therapy, immunotherapy, oncolytic viral therapy and gene therapy still have uncertain or very modest clinical results. There are many reasons for the lack of progress in the treatment of glioblastoma – from the banal inability of most molecules to overcome the blood-brain barrier to the wide genetic heterogeneity of these tumors. The most promising direction of studies is immunotherapy. But at this stage, we cannot say that there is an effective monotherapy for glioblastoma. The combination treatment with radiation therapy and chemotherapy increases the mutational load, the expression of stress and other factors, therefore, the researchers pin great hopes on the combined methods of treatment.

Key words: glioblastoma, targeted therapy, immunotherapy, novel treatment

For citation: Guens G.P., Sanikovich V.D., Mileyko V.A., Lebedeva A.A. Glioblastoma: a molecular genetic portrait and modern therapeutic strategies for drug treatment. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):60–76. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-60-76.

ВВЕДЕНИЕ

Мультиформная глиобластома (ГБ) – первичная опухоль центральной нервной системы (ЦНС). В зависимости от лечения медиана выживаемости составляет от 12 до 25 мес [1, 2].

При отсутствии противопоказаний на 1-м этапе лечения всегда выполняется максимальное хирургическое удаление опухоли. Из-за инфильтративного характера роста ГБ хирургическая резекция обеспечивает медиану выживаемости всего от 3 до 6 мес. За последние 60 лет, с развитием лучевой терапии (ЛТ), показатели послеоперационной выживаемости пациентов увеличились примерно до 1 года путем добавления адьювантной ЛТ [3].

Несмотря на применение современной комплексной терапии, включающей химиолучевую (ХЛТ), химио- и таргетную терапию [4–6], прогноз при ГБ крайне неблагоприятный [7]. Прогрессирование заболевания обычно наблюдается через 6–9 мес после лечения. Затем применяемые методы терапии уже имеют минимальный клинический эффект, и только 3–5 % пациентов переступают порог 3-летней выживаемости [2, 8].

Стандартного подхода к лечению больных с рецидивами злокачественных глиом до сих пор не существует. Применяют повторное хирургическое, радиохирургическое, системное лекарственное лечение, повторное облучение и паллиативную терапию [4]. При решении вопроса о лекарственном лечении рецидива ГБ выбирать онкологам практически не из чего: несколько цитостатиков (ломустин, кармустин, темозоломид) и 2 таргетных препарата (бевацизумаб и регорафениб) [5, 9]. Поэтому поиск активных субстанций для терапии данного заболевания представляется чрезвычайно актуальным.

В последние годы большое внимание уделяется выявлению и изучению молекулярно-генетических нарушений в клетках ГБ как прогностических маркеров и потенциальных терапевтических мишеней. В данном обзоре рассмотрены потенциальные терапевтические агенты и клинические исследования таргетных и иммуноонкологических препаратов для лечения ГБ, которые уже были протестированы или в настоящий момент находятся на разных стадиях клинических исследований.

Резистентность ГБ к противоопухолевому лечению связывают со множеством факторов: локализацией в головном мозге, наличием гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), влиянием микроокружения (гипоксии, интерстициального давления, ангиогенеза). Однако наиболее значима изначальная биологическая агрессивность опухоли, сочетающая в себе разные клоны опухолевых клеток с различными генетическими свойствами.

К основным подтвержденным прогностически значимым маркерам, используемым в клинической практике в настоящий момент, относят мутации в генах *IDH1* и *IDH2* и метилирование гена *MGMT*. Наличие мутации в генах *IDH1* и *IDH2* (*IDH+*), отвечающих за синтез ферментов изоцитратдегидрогеназы 1, 2 (*IDH1*, 2) коррелирует с лучшими показателями выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости [10–12].

Метилирование промотора гена *MGMT* является прогностически благоприятным фактором, так как приводит к снижению экспрессии белка *MGMT*, отвечающего за репарацию ДНК клеток в ответ на воздействие алкилирующих агентов. Кодированный геном белок катализирует перенос метильных групп от O (6) – алкилгуанина и других метилированных участков ДНК, что приводит к снижению активности репарации ДНК и повышению чувствительности опухолевых клеток к химиопрепаратам алкилирующего ряда (например, темозоломиду) [5, 6, 13, 14].

Исследования зарубежных и российских ученых показали, что ГБ представляют собой гетерогенную группу опухолей с различными биологическими свойствами и генетическими изменениями [7, 13, 15, 16]. Данные исследования генома, полученные в ходе реализации проекта «Атлас ракового генома» (The Cancer Genome Atlas, TCGA), были использованы Всемирной организацией здравоохранения для создания новой классификации опухолей ЦНС (2016), в основу которой положено не только гистологическое строение того или иного новообразования, но и его наиболее значимая молекулярно-генетическая характеристика или хромосомная aberrация [1, 17].

Проект TCGA улучшил понимание ключевых онкогенных сигнальных путей в развитии ГБ. Анализ генетических aberrаций в этих опухолях выявил

3 основных сигнальных пути, которые обычно дисрегулированы: сигнальные пути EGFR/Ras/PI3K/AKT (88 %), опухолевого супрессора p53 (87 %) и сигнальные пути, в которые вовлечен опухолевый супрессор ретинобластомы (pRb) (78 %) [16]. Препараты, нацеленные на многие из этих часто наблюдаемых альтераций, активно исследуются как потенциальные таргетные агенты для лечения ГБ [17].

В ходе крупного исследования D. T. Blumenthal и соавт., проведенного в 2016 г., было изучено 236 и 315 генов (из 2 разных панелей), ассоциированных с раком. При анализе результатов геномного секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) 43 высокостокачественных глиом идентифицировали в общей сложности 241 нарушение в 62 генах, при этом среднее количество генетических нарушений на 1 пациента составило 4,5 (диапазон 1–23). Наиболее частыми изменениями были утрата гена *CDKN2A/B* (49 %), изменения в генах *TP53* (44 %), *EGFR* (40 %), *PIK3CA* (28 %), *PTEN* (28 %) и *IDH1* (19 %). В группе из 25 пациентов с ГБ мутации промотора *TERT* были обнаружены в 8 (32 %) случаях. Ген рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, *EGFR*) оказался наиболее распространенным терапевтически доступным мутированным геном, выявленным в данной группе [18].

C. Neftel и соавт. в ходе исследования генетического ландшафта ГБ (2019) провели секвенирование РНК единичных клеток 28 опухолей и 401 опухолевого образца из TCGA и выявили 4 основных фенотипа злокачественных клеток ГБ, сходных с отдельными типами нейроцитов [19]:

- 1) нейральные прогениторные клетки;
- 2) прогениторные клетки олигодендроцитов;
- 3) астроцитоподобные клетки;
- 4) мезенхимоподобные клетки.

Каждая опухоль состоит из клеток нескольких типов, а также их смешанных видов. Относительный процент каждого фенотипа варьирует между опухолями и обладает своим пролиферативным потенциалом, который наиболее высок у нейральных прогениторных и прогениторных клеток олигодендроцитов. Авторы указывают, что это связано с генетическими изменениями в *CDK4*, *PDGFRA*, *EGFR* и *NF1* [19].

Реальность такова, что генетический ландшафт ГБ развивается невероятно быстро и создает высокую неоднородность клеточных популяций в пределах 1 опухоли, что обуславливает множественную лекарственную устойчивость, устойчивость новообразования к радиотерапии и определяет его способность к быстрому росту и рецидивированию [20].

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ

EGFR. Изменения (мутации и/или амплификации) в гене *EGFR* в ГБ обнаруживаются в более чем 40 % случаев и поэтому представляют собой крайне привлекательную терапевтическую мишень, особенно

в свете клинически подтвержденного преимущества ингибирования EGFR-опосредованных путей при других типах злокачественных опухолей. Хотя экспрессия гена *EGFR* и амплификация гена *EGFRvIII* (ген рецептора эндотелиального фактора роста, вариант III) не коррелируют со снижением показателей общей выживаемости пациентов с ГБ, они способствуют росту и пролиферации опухоли [21–23].

К сожалению, клинические испытания не показали эффективности ингибиторов тирозинкиназ, таких как эрлотиниб, gefитиниб, лапатиниб и афатиниб, ни в монорежиме, ни в комбинации с другими препаратами [24]. Так, применение эрлотиниба не дало хороших результатов ГБ вне зависимости от статуса *EGFR*. К тому же этот препарат продемонстрировал высокую токсичность [25, 26]. Более поздние исследования эрлотиниба в комбинации с ингибиторами mTOR и бевацизумабом также не показали его эффективности [27, 28].

По данным клинических исследований I/II и II фазы, терапия gefитинибом в монорежиме и комбинации с радиотерапией не улучшает показатели общей выживаемости как при диком типе, так и при наличии мутаций в гене *EGFR* или при его амплификации у пациентов с ГБ [29, 30]. Афатиниб и лапатиниб также продемонстрировали минимальную эффективность в лечении больных с данным заболеванием [31, 32].

Наиболее перспективны исследования пептидной вакцины против EGFRvIII риндопепимута и конъюгата антитело–лекарственное средство АВТ-414. Однако рандомизированные исследования III фазы, ACT IV и INTELLANCE 1 (NCT02573324) не подтвердили повышения показателей выживаемости больных при использовании этих препаратов. При комбинации риндопепимута и темозоломида медиана выживаемости составила 20,0 мес, в то время как при монотерапии темозоломидом – 20,1 мес.

Цетуксимаб и нимотузумаб – антитела, связывающие внеклеточный домен EGFR, – также не показали клинической эффективности у пациентов независимо от статуса амплификации гена *EGFR* [15, 33, 34].

BRAF. Мутации в протоонкогене *BRAF*, наиболее распространенной из которых является V600E, приводят к активации киназы Raf, стимулирующей неконтролируемую клеточную пролиферацию и рост опухоли. *BRAF V600E* мутирован примерно в 50 % случаев эпителиоидной ГБ, характеризующейся агрессивным клиническим течением и высокой частотой лептоменингеального распространения [35].

Результаты нескольких исследований показывали, что наличие мутации *BRAF V600E* ассоциируется с лучшими показателями общей выживаемости больных, однако ее влияния на прогрессирование опухоли и чувствительности к радиотерапии и химиотерапии (ХТ) выявлено не было [36, 37]. Прогностическое значение *BRAF V600E* может зависеть от возраста пациента: наличие мутации в опухоли связано с лучшими

показателями выживаемости у детей (0–16 лет) и молодых людей (17–35 лет), но не имеет прогностической ценности у взрослых пациентов (>35 лет) [23, 37]. На основании этих выводов описано несколько клинических случаев ответа на монотерапию ингибиторами BRAF дабрафенибом и вемурафенибом [35, 38]. Однако доклинические исследования продемонстрировали, что более успешной стратегией лечения пациентов с ГБ является комбинация ингибиторов BRAF с ингибиторами MEK или радиотерапией [36, 39]. На данный момент опубликовано несколько клинических случаев успешного применения комбинации ингибиторов BRAF и MEK дабрафениба и траметиниба у пациентов с ГБ [40, 41].

В настоящее время проводятся исследования эффективности таргетных препаратов, воздействующих на *BRAF V600E* [42].

PTEN. Данные TCGA по ГБ показали высокую распространенность мутаций, влияющих на ген *PTEN* [17]. Этот опухолевый супрессор является негативным регулятором сигнального пути PI3K/AKT, активация которого необходима для клеточной выживаемости. *PTEN* также выполняет роль опухолевого супрессора в клеточном ядре, обеспечивая целостность генома. Потеря функции этого гена вызывает нарушение функции CHK1 (checkpoint kinase 1), что, в свою очередь, приводит к накоплению двунитевых разрывов и геномной нестабильности. *PTEN* также регулирует экспрессию RAD51 – ключевого белка – участника гомологичной рекомбинации (homologous recombination, HR) [43, 44].

Доклинические исследования показали сильную связь между мутациями в *PTEN* и снижением функции гомологичной рекомбинации, что позволило предположить эффективность ингибиторов PARP в терапии ГБ. Однако результаты недавнего доклинического исследования не продемонстрировали эффективности PARP-ингибиторов велипариба и олапариба при лечении *PTEN*-мутантной ГБ [45].

Применение ингибиторов PARP в качестве сенситизаторов к ЛТ и терапии темозоломидом является многообещающим подходом к лечению ГБ. С того момента, как была доказана безопасность использования комбинации препаратов рупапариб и темозоломид у пациентов с солидными опухолями, начались исследования эффективности и безопасности различных PARP-ингибиторов у пациентов с ГБ [46].

Исследование I фазы L. Kleinberg и соавт. показало плохую переносимость пациентами комбинированного применения велипариба, ХЛТ и темозоломида [47]. Основываясь на этих данных, в новых исследованиях изучается использование велипариба самостоятельно или в комбинации с ЛТ или ХТ (темозоломид) [48, 49]. Такая тактика позволит избежать высокой токсичности, которая наблюдается при тройных комбинациях с велипарибом. Исследования использования тройных комбинаций других PARP-ингибиторов продолжают [50–53].

Еще одно важное исследование I фазы (OPARATIC) продемонстрировало, что олапариб достигает как края, так и центральной части ГБ, а также хорошо переносится в комбинации с низкодозной ХТ темозоломидом. Эти результаты вызвали энтузиазм у ученых [54].

Стоит отметить, что недавно начатые исследования не только включают пациентов с впервые диагностированной ГБ, но и стратифицируют их по статусу метилирования *MGMT*, чтобы выделить группы больных, которые получают наибольшую выгоду от терапии PARP-ингибиторами [49, 50, 52, 53]. В ходе нескольких доклинических испытаний были выявлены биомаркеры потенциальной эффективности данных препаратов. В одном из исследований было продемонстрировано, что амплификация *EGFR* приводит к накоплению активных форм кислорода и, как следствие, активирует репарацию ДНК, что вызывает чувствительность к талазопарибу клеточных линий ГБ [55].

Еще в одном исследовании также было показано, что 2-гидроксиглутарат (2 ГГ) – онкометаболит, накопление которого происходит в результате мутаций в генах *IDH1* и *IDH2*, мешает работе гомологичной рекомбинации, что нарушает репарацию двунитевых разрывов ДНК. PARP-ингибитор велипариб угнетает рост опухоли как *in vitro*, так и *in vivo* в доклинических моделях *IDH1*-мутантной глиомы [56].

PI3K. Активация сигнального пути PI3K (phosphoinositide 3-kinases) зачастую связана с онкогенезом. Нарушение данного пути приводит к возникновению резистентности опухолей к лекарственным препаратам. По данным TCGA, его дисрегуляция встречается более чем в 85 % случаев ГБ. Ингибирование PI3K подавляет рост и выживаемость опухолевых клеток [17].

Паксалисид – пероральный низкомолекулярный пан-ингибитор PI3K и механистической мишени рапамицина (mTOR). В отличие от других PI3K-ингибиторов этот препарат проникает через ГЭБ.

Первые данные нерандомизированного, открытого, многоцентрового клинического исследования IIa фазы (NCT03522298), в которое были включены 47 пациентов, ежедневно принимающих паксалисид в качестве адьювантной терапии после стандартного лечения (хирургической резекции и ХЛТ), свидетельствуют об увеличении медианы ВВП до 8,4 мес у больных с нелеченой ГБ и отрицательным *MGMT*-статусом, получающих этот препарат. При этом у 25 % пациентов на протяжении 15 мес наблюдений не было выявлено прогрессирования заболевания. Это говорит о том, что паксалисид сдерживает рост ГБ [57]. Разница существенная: медиана выживаемости без прогрессирования при применении стандартной адьювантной терапии находится в пределах 5,3 мес.

Другие экспериментальные ингибиторы PI3K продемонстрировали минимальную эффективность в лечении больных с *PIK3CA*-мутантной ГБ. Так, в клиническом исследовании II фазы NCT01339052 ни у одного пациента с ГБ и соматическими мутациями

в данном гене не было ответа на терапию, у 5 (71 %) наблюдалась стабилизация заболевания в ответ на бупарлисиб (NVP-ВКМ120) — пан-ингибитор Р13К. Наличие мутаций в *PIK3CA* не было ассоциировано с улучшением показателей медианы общей выживаемости и ВБП [58].

Поскольку ГБ обычно не определяется одним генетическим или молекулярным изменением, изолировать сигнальные пути, ответственные за онкогенез данных опухолей, крайне трудно, и терапевтические результаты монотерапии таргетными препаратами остаются скромными [2].

Изоцитратдегидрогеназа 1, 2 (IDH1, IDH2). Гены *IDH1* и *IDH2* кодируют IDH1 и IDH2 соответственно. Этот фермент катализирует одну из реакций цикла Кребса (цикла трикарбоновых кислот) — окислительное декарбоксилирование изоцитрата в α -кетоглутарат с высвобождением НАДФ-Н. Основная роль IDH состоит в возобновлении запаса НАДФ-Н, который участвует во многих реакциях в клетке, в том числе в получении энергии из жиров и защите от реактивных форм кислорода [59].

Соматические мутации в генах *IDH1* и *IDH2*, как правило, возникают в каталитическом домене фермента. Наиболее часто встречаются мутации в кодоне 132 (R132H), реже — замена C105G [60, 61]. Мутированный белок вместо α -кетоглутарата (α -КГ) образует низкомолекулярный онкометаболит 2-гидроксиглутарат (2-ГГ), который ингибирует белки, ответственные за эпигенетическую регуляцию. В отсутствие этой регуляции клетки не могут пройти процесс созревания. В результате образуется скопление незрелых клеток, переходящее в злокачественное новообразование. Кроме того, накопление 2-ГГ способствует стабилизации фактора, индуцируемого гипоксией 1- α (HIF-1 α), и активации фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Это, в свою очередь, может вызвать формирование микроокружения опухоли и опухолевой инвазии [62].

Мутации в генах *IDH1* и *IDH2* встречаются в более чем 80 % глиом, а также в 70–80 % вторичных ГБ [63]. Часто данные мутации являются ранними и ключевыми событиями для развития опухоли, что определяет более благоприятный прогноз заболевания [64].

Мутации в генах *IDH1* и *IDH2* ассоциированы с потенциальной эффективностью IDH-ингибиторов. Так, в клиническом исследовании I фазы NCT02073994 участвовали 66 пациентов с глиомами, в том числе 12 пациентов с ГБ и мутацией в *IDH1* в кодоне 132. В рамках исследования все больные получали ивосидениб (AG-120) — экспериментальный низкомолекулярный ингибитор IDH1. У 1 (2,9 %) пациента наблюдался частичный ответ на терапию, у 44 (66,7 %) была достигнута стабилизация заболевания, однако у 21 (31,8 %) отмечено его прогрессирование [65]. Также описан клинический случай длительной стабилизации заболевания (на протяжении 4 лет) у больного с рецидивной ГБ в ответ на терапию ивосиденибом [66].

В рамках еще одного клинического исследования I фазы 14 пациентов с глиомами и мутациями в гене *IDH1* получали экспериментальный препарат ворасидениб (AG-881) — ингибитор IDH1 и IDH2, еще 13 пациентов — ивосидениб (сначала в качестве неоадьювантной, а затем — адьювантной терапии). Было показано, что в обеих группах наблюдалось снижение уровня онкометаболита 2-гидроксиглутарата (на 93 % в группе ворасидениба, на 95 % в группе ивосидениба), что может свидетельствовать о потенциальной противоопухолевой активности данных препаратов [67].

В настоящий момент проводится несколько клинических исследований экспериментальных ингибиторов IDH1 (ивосидениба) и IDH1/2 (ворасидениба).

CD95. Рецептор CD95 (Fas, или APO-1) входит в суперсемейство рецепторов фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF) и представляет собой трансмембранный белок с внеклеточным лиганд-связывающим и внутриклеточным сигнальным доменами. Связывание лиганда CD95L с CD95 запускает образование сигнального комплекса, вызывающего индукцию апоптоза. Передача сигналов по пути CD95/CD95L играет большую роль в опухолевой инвазии и прогрессировании ГБ. Было показано, что в отсутствие активации CD95 уровень миграции клеток данной опухоли существенно снижается [68]. В связи с этим данный рецептор является перспективной мишенью для терапии ГБ.

На сегодняшний день разработан экспериментальный препарат асунерцепт (asunercept, APG101), действие которого направлено против CD95. Он представляет собой рекомбинантный гибридный белок, состоящий из внеклеточного домена CD95, связанного с доменом Fc IgG1. Асунерцепт селективно связывается с CD95L, что приводит к невозможности активации нижележащих сигнальных путей. Клиническое исследование II фазы NCT01071837 продемонстрировало улучшение медианы выживаемости в группе пациентов с ГБ, получавших данный препарат в комбинации с радиотерапией, по сравнению с пациентами, которым проводили только радиотерапию (4,5 мес против 2,5 мес; отношение рисков 0,49; $p = 0,0162$). У больных с метилированием промотора CD95L отношение рисков составило 0,13 (95 % доверительный интервал (ДИ): 0,03–0,52) [69].

Ингибиторы протеасом. Данные лекарственные средства блокируют работу протеасом — клеточных комплексов, разрушающих белки, например p53. Проводятся исследования применения этого класса препаратов для терапии рака. В настоящее время ингибиторы протеасом используются для лечения онкогематологических заболеваний, в первую очередь множественной миеломы.

Ранние клинические исследования ингибитора протеасом бортезомиба не продемонстрировали эффективности этого препарата в лечении пациентов с ГБ [70], что, вероятно, связано с невозможностью пересечения ГЭБ.

Маризомиб – протеасомный ингибитор 2-го поколения – более выражено и избирательно подавляет опухолевый рост и ангиогенез, нежели его предшественники, а также обладает лучшей способностью проникать через ГЭБ, что и вызвало к нему интерес исследователей относительно терапии ГБ. К середине 2022 г. должны появиться результаты клинических испытаний III фазы Европейской организации по исследованию и лечению рака (European organisation for Reserch and Treatment of Cancer, EORTC), в которых изучается эффективность добавления данного препарата к ХЛТ с использованием темозоломида у пациентов с впервые диагностированной ГБ [71].

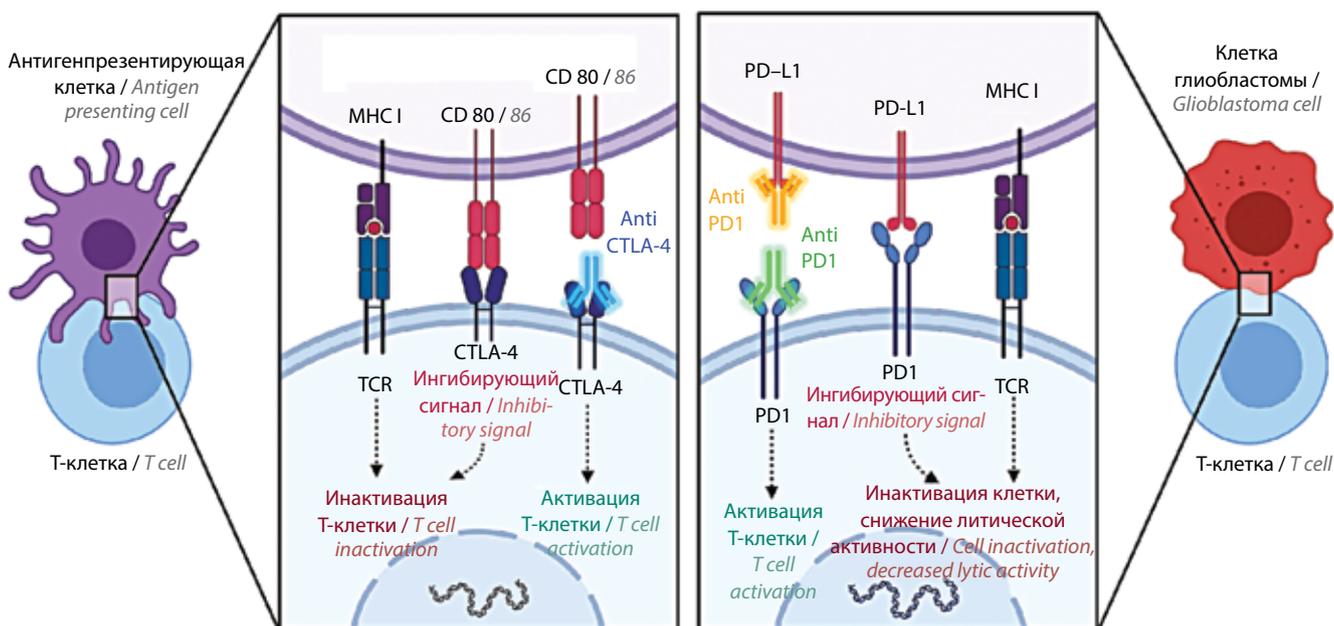
Иммунотерапия. Центральная нервная система в значительной степени в связи с защитной функцией ГЭБ традиционно считалась иммунологически привилегированной системой. Однако открытие антигенпредставляющей роли макрофагов, микроглии, дендритных клеток в ЦНС и путей проникновения через ГЭБ иммунных клеток радикально изменили это предположение [72, 73].

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа. Ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами антиген 4 (CTLA-4) и белок программируемой клеточной гибели 1 (PD-1) – 2 наиболее изученных белка контрольных точек иммунного ответа. CTLA-4 и PD-1

вовлечены в разные его стадии. CTLA-4 подавляет потенциально аутореактивные Т-лимфоциты на начальных стадиях активации наивных Т-клеток в лимфатических узлах. PD-1, в свою очередь, вовлечен в регуляцию ранее активированных Т-клеток на более поздних стадиях иммунного ответа преимущественно в периферических тканях (см. рисунок).

В микроокружении ГБ часто наблюдается гиперэкспрессия лигандов этих белков, что приводит к ингибированию Т-клеточного противоопухолевого ответа, поэтому они стали потенциальными мишенями для терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа (чекпойнт-ингибиторами) пембролизумабом и ниволумабом (моноклональные антитела к рецепторам PD-1).

После получения в ходе доклинических исследований многообещающих результатов по ингибированию пути PD-1/PD-L1 при ГБ было проведено множество клинических испытаний иммунотерапии (ИТ) как при первичной опухоли, так и при ее рецидиве [2, 74]. Однако, к всеобщему разочарованию, 3 исследования эффективности ниволумаба при ГБ не принесли ожидаемых результатов. В апреле 2017 г. в клиническом исследовании III фазы CheckMate-143 этот препарат не показал значимого эффекта при сравнении с бевацизумабом в 1-й линии терапии рецидива ГБ [75].



Клеточный противоопухолевый иммунитет активируется при распознавании Т-лимфоцитами опухолевых антигенов, которые находятся на поверхности антигенпрезентирующих клеток. Рецептор CTLA-4, располагающийся на поверхности Т-клеток, является отрицательным регулятором их активации. В результате взаимодействия CTLA-4 с ко-стимуляторными молекулами происходит устойчивое угнетение антигенспецифического иммунного ответа. Рецептор PD-1, экспрессируемый на поверхности активированных Т-лимфоцитов, при контакте с соответствующими лигандами (PD-L1, PD-L2) подавляет активацию Т-клеток и индуцирует их апоптоз. Применение моноклональных антител, направленных против CTLA-4, рецептора PD-1 или его лигандов (PD-L1, PD-L2), способствует активации противоопухолевого ответа. (Взято из: Created with BioRender.com)

Cellular antitumor immunity is activated when T-lymphocytes recognize tumor antigens that are located on the surface of antigen-presenting cells. The CTLA-4 receptor located on the surface of T cells downregulates their activation. CTLA-4 interaction with co-stimulatory molecules results in a steady inhibition of the antigen-specific immune response. PD-1 receptor expressed on the surface of activated T-lymphocytes, suppresses T cells activation and induces their apoptosis when contacting with the corresponding ligands (PD-L1, PD-L2). Using monoclonal antibodies against CTLA-4, PD-1 receptor or its ligands (PD-L1, PD-L2) activates the antitumor response. (Taken from: Created with BioRender.com)

В мае 2018 г. ниволумаб снова «провалил» исследование III фазы CheckMate-498, в котором его применяли на фоне ЛТ и сравнивали со стандартной схемой (ХЛТ с использованием темозоломида) [76]. В сентябре 2019 г. появились результаты мультицентрового исследования III фазы CheckMate-548, в котором оценивалась комбинация ниволумаба с ЛТ +/- темозоломидом при *MGMT*-метилированном типе опухоли. К сожалению, препарат не достиг первичной конечной точки – ВБП [77].

Более обнадеживающие результаты были получены в последующих исследованиях, проведенных в 2019 г. Ученые Калифорнийского университета (University of California, США) А. Mochizuki и соавт. оценили эффективность ИТ с использованием пембролизумаба в неoadъювантном режиме у 35 пациентов с операбельным рецидивом ГБ. Исследователи пришли к выводу, что выживаемость больных была выше, если данный препарат назначался до хирургического вмешательства (13,7 мес против 7,5 мес; $p = 0,04$). Медиана ВБП также была выше (3,3 мес против 2,4 мес; $p = 0,03$) [78].

I. Melero и специалисты Университетской клиники Наварры (Clinica Universidad de Navarra, Испания) изучили эффективность ИТ ГБ с использованием ниволумаба, который пациенты получали как до, так и после операции. В исследовании приняли участие пациенты с первичной ГБ ($n = 3$) и ее рецидивом ($n = 27$). Проанализировав данные, ученые пришли к выводу, что назначение ниволумаба в неoadъювантном режиме является безопасным, однако результаты по безрецидивной и общей выживаемости пациентов с рецидивной ГБ не были выше результатов предыдущих исследований. Тем не менее выживаемость 2 из 3 пациентов с впервые диагностированной ГБ превысила 2 года (33 и 28,5 мес). В связи с небольшим размером выборки эти результаты требуют дальнейшего анализа [79].

В ходе оценки результатов цитометрии и секвенирования образцов опухоли до и после введения иммунопрепаратов группы исследователей Калифорнийского университета и Университетской клиники Наварры выявили, что после воздействия ингибитора PD-1 в микроокружении опухоли наблюдается значительно больше Т-лимфоцитов с более разнообразным набором антигенных рецепторов. После хирургического лечения остается мало опухолевых клеток и, соответственно, меньше мишеней для Т-лимфоцитов, поэтому применение препаратов в неoadъювантном режиме было более эффективным, чем только в адъювантном.

Специалисты Медицинской школы Фейнберг Северо-Западного университета (Northwestern University Feinberg School of Medicine, США) провели важное ретроспективное исследование, в ходе которого выполнили транскриптомный и геномный анализы образцов ГБ от 66 взрослых пациентов. Было обнаружено, что наличие в опухолях большого количества мутаций *P TEN* усиливало их иммуносупрессивную

активность, а эффективность ингибиторов PD-1 в таких новообразованиях оказывалась крайне низкой. Наибольшую эффективность ингибиторы PD-1 показали в опухолях с выявленными изменениями в сигнальных путях MAPK (митоген-активируемой протеинкиназы) (PTPN11, BRAF) [80].

Существуют свидетельства о пользе потенциальной эффективности анти-PD-L1 моноклонального антитела авелумаба и анти-PD-1 моноклонального антитела дурвалумаба. Согласно данным II фазы клинического исследования NCT02336165, из 40 пациентов с нелеченой ГБ и метилированным промотором гена *MGMT* общей выживаемости в 12 мес достигли 24 (60 %) больных (90 % ДИ: 46,0–71,4), получавших дурвалумаб в монотерапии после стандартной радиотерапии. Медиана ОБ составила 15,1 мес (95 % ДИ: 12,0–18,4). К моменту окончания наблюдения у 8 (20 %) пациентов показатели выживаемости составили от 15,7 до 34,9 мес [81].

Промежуточные результаты клинического исследования II фазы NCT03047473, в которое были включены 24 пациента с ГБ, завершившие курс комбинированной ЛТ с использованием темозоломида, продемонстрировали потенциальную эффективность анти-PD-L1 моноклонального антитела авелумаба. Из первых 8 пациентов объективный ответ на лечение авелумабом на 52-й неделе исследования получен у 4 (50 %); 2 (25 %) пациента имели полный ответ, 1 (12,5 %) – частичный, еще у 1 (12,5 %) наблюдалась стабилизация заболевания. Медиана ВБП составила 11,9 мес [82].

Таким образом, несмотря на то что ИТ успешно используется в лечении различных типов злокачественных опухолей, в случае ГБ необходимо дальнейшее изучение эффективности данной группы препаратов, а также предиктивных биомаркеров ответа.

Виротерапия. Существуют 2 основных направления виротерапии: использование репликаторных онколитических вирусов и вирусных векторов, которые применяются для доставки терапевтических генов в клетки. Онколитические вирусы представляют собой генетически модифицированные вирусы, которые избирательно поражают опухолевые клетки, размножаются в них, а затем их разрушают. Использование данных вирусов считается одним из видов ИТ, поскольку они могут вызывать эффективный противовирусный и противоопухолевый иммунный ответ [83, 84].

Некоторые онколитические вирусы, такие как поли-, ретро-, адено-, рео-, парвовирусы, вирусы простого герпеса, болезни Ньюкасла, кори, в доклинических исследованиях были изучены на глиомах. Наиболее перспективные результаты получены при исследовании рекомбинантного онколитического полиовируса PVS-RIPO, аденовируса DNX-2401 и вирусного вектора Тоса 511 [84, 85].

Тоса 511, или воцимаджин амиретрорепвек (vocimagene amiretrorepvec), компании «Тоукаджен»

(Tosagen) – ретровирусный вектор, который избирательно поражает опухолевые клетки и вызывает в них экспрессию фермента цитозиндезаминазы CD. Когда пациент принимает пролекарство Тоса FC (5-фторцитозин), данный фермент превращает 5-FC в противоопухолевый препарат 5-фторурацил (5-FU). В рандомизированных открытых многоцентровых клинических исследованиях I/III фазы Тоса 511, в которые были включены 403 пациента с ГБ и анапластической астроцитомой, сравнивали результаты применения Тоса 511 + Тоса FC со стандартной ХТ (ломустин или темозоломид) и использованием бевацизумаба (авастина) [85]. К сожалению, ожидания не оправдались: достигнуть первичной конечной точки – продления общей выживаемости (с 11,1 мес до 12,2 мес в контрольных группах), и вторичных конечных точек – полного или частичного ответа и увеличения их длительности, не удалось.

Позже компания «Тоукаджен» сообщила, что у их стратегии все же имеются клинические перспективы. При назначении Тоса 511 + Тоса FC пациентам со 2-м рецидивом ($n = 60$) риск смерти снизился на 57 % (ОР 0,43; $p = 0,0162$). Медиана общей выживаемости была почти в 2 раза выше (21,8 мес против 11,1 мес в группе стандартной терапии) [85].

Хотя клинические испытания применения онколитических вирусов при ГБ продемонстрировали их безопасность и приемлемую токсичность и некоторые исследования показали признаки ответа на терапию, общая эффективность монотерапии данными вирусами остается невысокой [2, 84, 86]. Поэтому в настоящее время изучаются стратегии сочетания онколитических вирусов с другими терапевтическими агентами, особенно с ингибиторами контрольных точек. Так, в исследовании CAPTIVE/KEYNOTE-192 оценивалась эффективность сочетания аденовируса DNX-2401 и пембролизумаба. По протоколу исследования вирус вводился внутрь опухоли через канюлю. Затем, через 7 сут, внутривенно вводили пембролизумаб в дозе 200 мг каждые 3 нед до 24 мес или до подтверждения прогрессирования заболевания/непереносимой токсичности. По промежуточным результатам данного исследования II фазы у 2 из 23 пациентов, которые получают терапию до сих пор, достигнут частичный ответ, и отмечается 100-процентная 9-месячная выживаемость у 7 первых пролеченных пациентов. Несколько случаев вазогенных отеков были купированы применением глюкокортикоидных гормонов или редукцией доз бевацизумаба [87].

Противораковые вакцины. С целью стимулирования адаптивных иммунных реакций, нацеленных на специфические опухолевые антигены, в настоящее время используется стратегия создания противораковых вакцин, включающая введение нагруженных опухолевым антигеном дендритных клеток.

Успешно завершено слепое рандомизированное контролируемое исследование III фазы противоопу-

холевой вакцины DCVax-L (NCT00045968). В испытании принял участие 331 пациент с впервые выявленной ГБ. В 1-й группе больные получали стандартную ХТ с применением персонализированной вакцины, во 2-й группе – ХТ и плацебо. Стоит отметить, что по протоколу в 1-й группе пациентов было в 2 раза больше, чем во 2-й группе, и при прогрессировании заболевания после первоначального лечения больным назначали вакцину в монорежиме. В конечном счете исследуемый препарат получили 90 % участников исследования. Опубликованные результаты свидетельствуют о том, что добавление вакцины DCVax-L к стандартной терапии пациентов с ГБ безопасно и может увеличить выживаемость. Медиана общей выживаемости исследуемой группы составила 23,1 мес, а в общей популяции – 15–17 мес. Отмечена прогностическая значимость статуса метилирования MGMT: медиана выживаемости пациентов с метилированием составила 34,7 мес, без метилирования – 19,8 мес. Была выделена группа из 100 пациентов, в которой наблюдались особенно высокие показатели медианы общей выживаемости (40,5 мес). У некоторых больных, вошедших в эту группу, были положительные прогностические факторы: 29 % пациентов оказались моложе 50 лет, у 65,9 % определен метилированный MGMT, 71 % выполнена радикальная резекция опухоли, однако только у 8 % пациентов имелись все эти факторы. Данные больные станут участниками дальнейших исследований [88, 89].

Адоптивная клеточная терапия. Адоптивная клеточная терапия (CAR T-cell therapy) – это один из видов иммунной терапии, при котором иммунные клетки выделяют из организма пациента, культивируют, снабжая химерным антигенным рецептором, облегчающим распознавание опухолевых клеток Т-киллерами, а затем возвращают больному в увеличенном количестве.

Исследования I и II фазы продемонстрировали значительно более высокие показатели ВВП и общей выживаемости у вакцинированных пациентов с ГБ, экспрессирующей EGFRvIII, по сравнению с пациентами группы контроля, которым была проведена вакцинация (26 мес против 14,6 мес) [90].

S. Rosenberg и соавт. в Калифорнийском университете и Университете штата Пенсильвания (The Pennsylvania State University, USA) проводят тестирование безопасности введения анти-EGFRvIII Car-T-клеток пациентам с глиомами, экспрессирующими EGFRvIII (исследование NCT02209376) [91–94].

Сочетание использования CAR-T-клеток с другими видами лечения ГБ усиливает противоопухолевую эффективность этих клеток и является перспективным направлением исследований. В настоящий момент продолжается изучение результативности совместного применения адоптивной клеточной терапии и иммуноонкологических препаратов, например, исследование I фазы Университета Пенсильвании по оценке безопасности и переносимости анти-EGFRvIII

Результаты клинических исследований таргетной и иммунной терапии глиобластомы

Clinical trials of targeted and immune therapy for glioblastoma

Класс препаратов Drug class	Препарат/комбинация препаратов Drug / drug combination	Фаза исследования Study phase	Биомаркер Biomarker	Результаты исследования Study results	Исследование Study
Анти-EGFR терапия Anti-EGFR therapy	Эрлотиниб Erlotinib	II	Без биомаркера No biomarker	Медиана ВВП: 2 мес. Медиана ОВ: 6 мес Median PFS: 2 months. Median OS: 6 months	[26]
	Гефитиниб Gefitinib	II	Амплификация <i>EGFR</i> : $n = 15$ (36 %). Экспрессия <i>EGFRvIII</i> : $n = 26$ (49 %). Экспрессия <i>EGFR</i> : $n = 42$ (79 %) Amplification of the <i>EGFR</i> gene: $n = 15$ (36 %). <i>EGFRvIII</i> expression: $n = 26$ (49 %). <i>EGFR</i> expression: $n = 42$ (79 %)	ЧОО: 0 %. 6-месячная бессобытийная выживаемость: 13 %. Медиана ОВ: 39,4 нед ORR: 0 %. 6-month event-free survival rate: 13 %. Median OS: 39.4 weeks	[95]
	Гефитиниб Gefitinib	II	Амплификация <i>EGFR</i> или ее отсутствие <i>EGFR</i> amplification or lack thereof	1-летняя выживаемость: 54,2 %. 1-летняя ВВП: 13,3 %. Наличие амплификации <i>EGFR</i> не было ассоциировано с увеличением медиан ОВ и ВВП 1-year survival rate: 54.2 %. 1-year PFS: 13.3 %. <i>EGFR</i> amplification did not correlate with an increased median OS and median PFS	[29]
	Эрлотиниб, темозоломид Erlotinib, temozolomide	II	Амплификация <i>EGFR</i> : $n = 9$ (35 %) <i>EGFR</i> Amplification: $n = 9$ (35 %)	Медиана ОВ: 11 мес при наличии амплификации <i>EGFR</i> , 8 мес – при ее отсутствии ($p = 0,13$). Выживаемость без неблагоприятных исходов: 5,9 мес при наличии амплификации <i>EGFR</i> , 2,6 мес – при ее отсутствии ($p = 0,16$) Median OS: 11 months in the presence of <i>EGFR</i> amplification, 8 months in the absence thereof ($p = 0.13$). Survival without adverse outcomes: 5.9 months in the presence of <i>EGFR</i> amplification, 2.6 months in the absence thereof ($p = 0.16$)	[25]
	Эрлотиниб, бевацизумаб Erlotinib, bevacizumab	II	Отсутствие метилирования <i>MGMT</i> No <i>MGMT</i> methylation	Медиана ВВП: 9,2 мес. Медиана ОВ: 13,2 мес Median PFS: 9.2 months. Median OS: 13.2 months	[27]
	Эрлотиниб, темсиролимус Erlotinib, temsirolimus	I/II	Амплификация <i>EGFR</i> : $n = 11$ <i>EGFR</i> amplification: $n = 11$	ЧОО: 0 %. Стабилизация: 12 (29 %). Наличие амплификации гена <i>EGFR</i> или варианта <i>EGFRvIII</i> не коррелировало с показателями выживаемости ORR: 0 %. Stabilization: 12 (29 %). Amplification of <i>EGFR</i> gene or <i>EGFRvIII</i> variant did not correlate with survival rates	[28]
	Гефитиниб, лучевая терапия Gefitinib, radiation therapy	I/II	Экспрессия рецептора <i>EGFR</i> <i>EGFR</i> expression	Медиана ВВП: 4,9 мес. Медиана ОВ: 11,5 мес. Наличие экспрессии рецептора <i>EGFR</i> не было ассоциировано с увеличением медиан ВВП и ОВ Median PFS: 4.9 months. Median OS: 11.5 months. Expression of <i>EGFR</i> receptor did not correlate with an increased median PFS and median OS	[30]

Продолжение таблицы

Continuation of table

Класс препаратов Drug class	Препарат/комбинация препаратов Drug / drug combination	Фаза исследования Study phase	Биомаркер Biomarker	Результаты исследования Study results	Исследование Study
Анти-EGFR-терапия Anti-EGFR therapy	Лапатиниб, пазопаниб Lapatinib, pazopanib	I/II	EGFRvIII ⁻ /PTEN ⁺ : n = 8 (42 %). EGFRvIII ⁺ /PTEN ⁻ : n = 7 (37 %). EGFRvIII ⁺ /PTEN ⁺ : n = 4 (21 %). Наличие активированного сигнального пути АКТ: n = 10 (53 %). Нарушения в MAPK-пути: n = 17 (74 %) MAPK pathway abnormalities: n = 17 (74 %), pAKT-positive: n = 0 (53 %)	II фаза исследования: 6-месячная ВБП – 0 % в когорте пациентов с положительными биомаркерами; 15 % – в когорте пациентов с отрицательными биомаркерами. ЧОО: 2 пациента (5 %) в общей популяции пациентов ORR: 0 % in a cohort with any of the biomarkers. ORR: 5 % in the general population (2 partial responses)	[31]
	Афатиниб в монорежиме или в комбинации с темозоломидом Afatinib as monotherapy or in combination with temozolomide	I/II	EGFRvIII: n = 25 (21 %). EGFR-активация: n = 35 (29 %). EGFR-амплификация: n = 35 (29 %). PTEN-делеция: n = 51 (43 %) EGFR activation: n = 35 (29 %). EGFR amplification: n = 35 (29 %). PTEN deletion: n = 51 (43 %)	Афатиниб: 1 частичный ответ. Афатиниб + темозоломид: 2 частичных ответа. Медиана ВБП выше в группе пациентов с мутацией EGFRvIII относительно группы пациентов без нее Afatinib: 1 partial response. Afatinib + temozolomide: 2 partial responses. Median PFS is higher in the group with the EGFRvIII mutation comparing to the group without it	[32]
	Нимотузумаб, лучевая терапия Nimotuzumab, radiation therapy	II/III, IV	Без биомаркера No biomarker	Медиана ОВ: 12,4 мес Median OS: 12.4 months	[34]
	АВТ-414 в монорежиме или в комбинации с темозоломидом ABT-414 as monotherapy or in combination with temozolomide	I	Амплификация EGFR: n = 11 (в группе АВТ-414 + темозоломид). Амплификация EGFR: n = 7 (в группе АВТ-414 в монорежиме) EGFR amplification: n = 11 (in the ABT-414 + temozolomide group). EGFR amplification: n = 7 (in ABT-414 as monotherapy group)	Группа АВТ-414 + темозоломид: 1 полный ответ, 4 частичных ответа. Группа АВТ-414: 1 полный ответ, 1 частичный ответ. У всех пациентов, ответивших на терапию, выявлена амплификация EGFR ABT-414 + temozolomide group: 1 complete response, 4 partial responses. ABT-414 group: 1 complete response, 1 partial response. All patients who responded to therapy showed EGFR amplification	[96]
	Цетуксимаб Cetuximab	II	Амплификация EGFR: n = 28 (49 %) EGFR amplification: n = 28 (49 %)	ЧОО: 5,5%. Медиана времени до прогрессирования: 1,9 мес. Медиана ОВ: 5,0 мес. ORR: 5.5 %. Median time to progression: 1.9 months. Median OS: 5.0 months	[33]
	Риндопепимут, темозоломид Rindopepimut, temozolomide	III	Экспрессия EGFRvIII EGFRvIII expression	Медиана ОВ: 20,1 мес в группе риндопепимута + темозоломида против 20,0 мес в контрольной группе Median OS: 20.1 months in the rindopepimut + temozolomide group versus 20.0 months in the control group	[97]

Продолжение таблицы

Continuation of table

Класс препаратов Drug class	Препарат/комбинация препаратов Drug / drug combination	Фаза исследования Study phase	Биомаркер Biomarker	Результаты исследования Study results	Исследование Study
Ингибиторы PARP PARP inhibitors	Велипариб, темозоломид Veliparib, temozolomide	I	Без биомаркера No biomarker	Выявлена гематологическая токсичность Hematological toxicity revealed	[47]
	Олапариб, темозоломид	I	Без биомаркера No biomarker	6-месячная ВБП: 45 %. Выявлена низкая токсичность. Было показано, что олапариб достигает как края, так и центра опухоли 6-month PFS: 45 %. Low toxicity revealed. Olaparib has been shown to reach both edge and center of the tumor	[54]
Ингибиторы PI3K/mTOR/AKT PI3K/mTOR/AKT inhibitors	Паксалисиб Paxalisib	IIa	Отсутствие метилирования MGMT No MGMT methylation	Медиана ВБП: 8,4 мес. У 25 % пациентов не наблюдалось прогрессирования заболевания в течение 15 мес Median PFS: 8.4 months. 25 % of patients showed no disease progression within 15 months	[98]
	Бупарлисиб Buparlisib	II	Без биомаркера No biomarker	6-месячная ВБП – 8 %. Медиана ВБП: 1,7 мес 6-month PFS – 8 %. Median PFS 1.7 months	[58]
Ингибиторы IDH1/2 IDH1/2 inhibitors	Ивосидениб Ivosidenib	I	Активирующие варианты в IDH1 Activating IDH1 variants	У 1 (2,9 %) пациента – частичный ответ, у 44 (66,7 %) – стабилизация заболевания, у 21 (31,8 %) – прогрессирование заболевания 1 (2.9 %) patient – partial response, 44 patients (66.7 %) – disease stabilization, 21 patients (31.8 %) – disease progression	[65]
	Ивосидениб Ivosidenib	I	Активирующие варианты в гене IDH1 Activating IDH1 variants	Снижение уровня онкометаболита 2-гидроксиглутарата на 93 % (потенциальная противоопухолевая активность препарата) Decrease of oncometabolite 2-hydroxyglutarate level by 93 % (potential antitumor activity of the drug)	[67]
	Ворасидениб Vorasidenib	I	Активирующие варианты в гене IDH1 Activating IDH1 variants	Снижение уровня онкометаболита 2-гидроксиглутарата на 95 % (потенциальная противоопухолевая активность препарата) Decrease of oncometabolite 2-hydroxyglutarate level by 95 % (potential antitumor activity of the drug)	[67]
Терапия против CD95 Anti-CD95 therapy	Асунерцепт, повторная лучевая терапия Asunercept, repeated radiation therapy	II	Метилирование промотора CD95L (CpG2) Methylation of CD95L promoter (CpG2)	Медиана ВБП: 2,5 мес в группе асунерцепт + лучевая терапия, 4,5 мес в группе лучевой терапии. Низкий уровень метилирования CpG2 ассоциирован со снижением рисков (ОР 0,19) Median PFS: 2.5 months in asunercept + radiation therapy group, 4.5 months in radiation therapy group. Low CpG2 methylation correlated with reduced risk (RR 0.19)	[68]

Продолжение таблицы

Continuation of table

Класс препаратов Drug class	Препарат/комбинация препаратов Drug / drug combination	Фаза исследования Study phase	Биомаркер Biomarker	Результаты исследования Study results	Исследование Study
Ингибиторы протеосом Proteasome inhibitors	Бортезомиб Bortezomib	II	Метилирование промотора <i>MGMT</i> : $n = 10$ (43 %). Мутация в <i>IDH1</i> : $n = 3$ (13 %) Methylation of the <i>MGMT</i> promoter: $n = 10$ (43 %). Mutation in <i>IDH1</i> : $n = 3$ (13 %)	Медиана ВВП: 6,2 мес. Медиана ОВ: 19,1 мес. Медиана ВВП: 24,7 мес в группе пациентов с метилированием <i>MGMT</i> , 5,1 в группе без метилирования <i>MGMT</i> Median PFS: 6.2 months. Median OS: 19.1 months. Median PFS: 24.7 months in <i>MGMT</i> methylated group, 5.1 months in <i>MGMT</i> non-methylated group	[70]
Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа Immune checkpoint inhibitors	Ниволумаб (сравнение с бевацизумабом) Nivolumab (Compared to bevacizumab)	III	Метилирование промотора <i>MGMT</i> : $n = 102$ (28 %) Methylation of <i>MGMT</i> promoter: $n = 102$ (28 %)	ЧОО: 7,8 % в группе ниволумаба и 23,1 % в группе бевацизумаба. Медиана ВВП: 9,8 мес в группе ниволумаба и 10,0 мес в группе бевацизумаба ORR: 7.8 % in nivolumab group and 23.1 % in bevacizumab group. Median PFS: 9.8 months in nivolumab group and 10.0 months in bevacizumab group	[75]
	Ниволумаб Nivolumab	III	Отсутствие метилирования <i>MGMT</i> No <i>MGMT</i> methylation	ОВ: в группе ниволумаб + ЛТ – 13,4 мес, в группе темозоломид + ЛТ – 14,8 мес. ВВП: в группе ниволумаб + ЛТ – 6,0 мес, в группе темозоломид + ЛТ – 6,2 мес OS: 13.4 months in nivolumab + RT group, 14.8 months in temozolomide + RT group. PFS: 6.0 months in nivolumab + RT group, 6.2 months in temozolomide + RT group	[76]
	Пембролизумаб Pembrolizumab	–	Без биомаркера No biomarker	Медиана ОВ: 13,7 мес при применении неoadъювантного режима и 7,5 мес при применении адъювантного режима ($p = 0,04$). Медиана ВВП: 3,3 мес при применении неoadъювантного режима и 2,4 мес при применении адъювантного режима ($p = 0,03$) Median OS: 13.7 months with the neoadjuvant regimen and 7.5 months with the adjuvant regimen ($p = 0.04$). Median PFS: 3.3 months with the neoadjuvant regimen and 2.4 months with the adjuvant regimen ($p = 0.03$)	[78]
	Ниволумаб Nivolumab	II	Без биомаркера No biomarker	Медиана ОВ: 7,3 мес. Медиана ВВП: 4,1 мес Median OS: 7.3 months. Median PFS: 4.1 months	[79]
	Дурвалумаб, лучевая терапия Durvalumab, radiation therapy	II	Без биомаркера No biomarker	Медиана ОВ: 15,1 мес. Median OS: 15.1 months.	[81]
	Авелумаб Avelumab	II	Без биомаркера No biomarker	ЧОО: 50 %. 2 (25 %) полных ответа, 1 (12,5 %) частичный ответ. В 1 (12,5 %) случае наблюдалась стабилизация заболевания. Медиана ВВП: 11,9 мес ORR: 50 %. 2 (25 %) full responses, 1 (12.5 %) partial response. Disease stabilization was observed in 1 (12.5 %) case. Median PFS: 11.9 months	[82]

Окончание таблицы

End of table

Класс препаратов Drug class	Препарат/комбинация препаратов Drug / drug combination	Фаза исследования Study phase	Биомаркер Biomarker	Результаты исследования Study results	Исследование Study
Терапия онколитическими вирусами Oncolytic virus therapy	Toca 511 + Toca FC		Без биомаркера No biomarker	ЧОО: 11,3 % (6/53). 6 полных ответов. Медиана ОВ: 11,9 мес ORR: 11.3 % (6/53) – 6 complete responses. Median OS: 11.9 months	[85]
	Toca 511 + Toca FC		Без биомаркера No biomarker	ЧОО: 21,7 % (5/23). 5 полных ответов. В 5 (21,7 %) случаях наблюдалась стабилизация. ОВ: 14,1 мес ORR: 21.7 % (5/23). 5 complete responses. In 5 (21.7 %) cases stabilization was observed. OS: 14.1 months	[85]
	DNX-2401, пембролизумаб DNX-2401, pembrolizumab	II (промежуточные результаты) II (intermediate results)	Без биомаркера No biomarker	ЧОО: 8,7 % (2/23). 2 частичных ответа. 100-процентная 9-месячная выживаемость (n = 7) ORR: 8.7 % (2/23). 2 partial responses. 100 % 9-month survival (n = 7)	[99]
Противораковые вакцины Cancer vaccines	DCVax-L, темозоломид DCVax-L, temozolomide	II	Метилирование промотора <i>MGMT</i> : n = 131 Methylation of <i>MGMT</i> promoter: n = 131	Медиана ОВ в общей популяции: 23,1 мес. Медиана ОВ у пациентов с метилированием <i>MGMT</i> 34,7 мес, у пациентов без метилирования <i>MGMT</i> – 19,8 мес Median OS in general population: 23.1 months. Median OS in patients with <i>MGMT</i> methylation is 34.7 months, in patients without <i>MGMT</i> methylation – 19.8 months	[89]

Примечание. ВВП – выживаемость без прогрессирования; ОВ – общая выживаемость; EGFR – рецептор эпидермального фактора роста; EGFRvIII – рецептор эпидермального фактора роста, вариант 3; ЧОО – частота объективного ответа; MARK – митоген-активируемая протеинкиназа; ОР – отношение рисков

Note. PFS – progression-free survival; OS – overall survival; EGFR – epidermal growth factor receptor; EGFRvIII – epidermal growth factor receptor, version 3; ORR – objective response rate; MARK – mitogen-activated protein kinase; RR – risk ratio

CAR-T-клеток в комбинации с пембролизумабом у пациентов с впервые выявленной EGFRvIII+MGMT-неметилированной ГБ (NCT03726515) и исследование I фазы CAR-T-клеток, нацеленных на IL13Rα2, в комбинации с ниволумабом и ипилимумабом при лечении пациентов с рецидивирующей или рефрактерной глиобластомой (NCT04003649).

Результаты клинических исследований таргетной и иммунной терапии ГБ представлены в таблице.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день новые методы лечения ГБ, включая антиангиогенную, иммунную и генную терапию, все еще имеют неопределенные или весьма скромные клинические результаты. Причин этому много: от неспособности большинства молекул

преодолеть ГЭБ, заканчивая широкой генетической гетерогенностью данных опухолей.

Фенотипические характеристики клеток ГБ гораздо шире, чем предполагали в начале их изучения. Кроме того, они чрезвычайно пластичны. Необходимо понять, что лежит в основе феномена пластичности клеток ГБ, тогда с большей вероятностью можно будет разработать комбинированную терапию, влияющую на триггерные точки этого феномена, и улучшить терапевтический ответ.

Глиобластома характеризуется большим количеством потенциально таргетируемых молекулярно-генетических нарушений. Ингибиторы тирозинкиназы EGFR, а также экспериментальные ингибиторы PI3K не продемонстрировали эффективности при лечении пациентов с данным заболеванием. По результатам

многих клинических исследований, применение ингибиторов BRAF в комбинации с ингибиторами MEK или радиотерапией, а также ингибиторов PARP и IDH1/2 является перспективной стратегией терапии ГБ. Однако необходимо дальнейшее изучение эффективности этих групп препаратов и биомаркеров ответа на больших выборках пациентов.

На данном этапе мы не можем сказать, что существует эффективная монотерапия ГБ. Наиболее перспективным направлением, пожалуй, является иммунная терапия. Однако эффективность этого метода ограниче-

на рядом факторов: определенной иммунологической обособленностью ЦНС, способностью опухоли угнетать механизмы иммунной защиты, созданием новообразованием сосудистой и стромальной оболочек и наличием опухолевых стволовых клеток, обладающих высоким мутационным потенциалом. К сожалению, результаты ИТ глиальных опухолей головного мозга пока далеки от совершенства. Комбинация ИТ с ЛТ и ХТ повышает мутационную нагрузку, экспрессию стрессовых и других факторов, которые увеличивают антигенпрезентацию опухолевых клеток иммунокомпетентным клеткам

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System (Revised). Ed. by D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler, W.K. Cavenee. 4th edn. Lyon: IARC, 2016. 408 p.
- Coleman N., Ameratunga M., Lopez J. Development of molecularly targeted agents and immunotherapies in glioblastoma: a personalized approach. *Clin Med Insights Oncol* 2018;12:1179554918759079. DOI: 10.1177/1179554918759079.
- Zhang H., Wang R., Yu Y., Liu J et al. Glioblastoma treatment modalities besides surgery. *J Cancer* 2019;10(20):4793–806. DOI: 10.7150/jca.32475.
- Кобяков Г.Л., Бекяшев А.Х., Голанов А.В. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению первичных опухолей центральной нервной системы. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO 2018;8(3):83–99. Доступно по: <https://rosoncweb.ru/standarts/RUSSCO/2018/2018-06.pdf>. [Kobyakov G.L., Bekyashev A.Kh., Golanov A.V. et al. Practical recommendations for the drug treatment of primary tumors of the central nervous system. *Zlokachestvennyye opuholi: Prakticheskie rekomendacii RUSSCO = Malignant tumors: Practical recommendations of RUSSCO* 2018;8(3):83–99. Available at: <https://rosoncweb.ru/standarts/RUSSCO/2018/2018-06.pdf>. (In Russ.). DOI:10.18027/2224-5057-2017-7-3s2-77-92.
- National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Central Nervous System Cancers. Version 2.2021. Available at: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cns.pdf.
- Batchelor T. Initial postoperative therapy for glioblastoma and anaplastic astrocytoma. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/initial-treatment-and-prognosis-of-newly-diagnosed-glioblastoma-in-adults#H13374802>.
- Inda M.M., Bonavia R., Seoane J. Glioblastoma multiforme: a look inside its heterogeneous nature. *Cancer's (Basel)* 2014;6(1):226–39. DOI: 10.3390/cancers6010226(3).
- Krex D., Klink B., Hartmann C. et al. Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain* 2007;130(Pt 10):2596–606. DOI: 10.1093/brain/awm204.
- Batchelor T., Shih H.A., Carter B.S. Management of recurrent high-grade gliomas. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/management-of-recurrent-high-grade-gliomas>.
- Batchelor T., Louis D.N. Molecular pathogenesis of diffuse gliomas. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/molecular-pathogenesis-of-diffuse-gliomas>.
- Лобанова Н.В., Шишкина Л.В., Рыжова М.В. и др. Клинические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические факторы прогноза у больных с глиобластомой. *Архив патологии* 2016;78(4):10–9. [Lobanova N.V., Shishkina L.V., Ryzhova M.V. et al. Clinical, immunohistochemical and molecular genetic prognostic factors in patients with glioblastoma. *Arhiv patologii = Archive of Pathology* 2016;78(4):10–9. (In Russ.)]. DOI: 10.17116/patol201678410-19.
- Lewandowska M.A., Furtak J., Szyllberg T. et al. An analysis of the prognostic value of IDH1 (isocitrate dehydrogenase 1) mutation in Polish glioma patients. *Mol Diagn Ther* 2014;18(1):45–53. DOI: 10.1007/s40291-013-0050-7.
- Рыжова М.В., Шишкина Л.В., Желудкова О.Г. и др. Сравнительная характеристика генетических aberrаций в глиобластомах у детей и взрослых. *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко* 2014;78(2):3–11. [Ryzhova M.V., Shishkina L.V., Zheludkova O.G. et al. Comparative characteristics of genetic aberrations in glioblastomas in children and adults. *Questions of neurosurgery named after N.N. Burdenko = Voprosy neirohirurgii im. N.N. Burdenko* 2014;78(2):3–11. (In Russ.)].
- Thomas P.R., Recht L., Nagpal S. Advances in the management of glioblastoma: the role of temozolomide and MGMT testing. *Clin Pharmacol* 2013;5:1–9. DOI: 10.2147/CPAA.S26586.
- Morokoff A., Ng W., Gogos A., Kaye A.H. Molecular subtypes, stem cells and heterogeneity: implications for personalised therapy in glioma. *J Clin Neurosci* 2015;22(8):1219–26. DOI: 10.1016/j.jocn.2015.02.008(5).
- Wang X., Venugopal C., Singh S.K. Cancer stem cells in brain cancer. In: *Cancer stem cells in solid tumors*. Ed. by Alison L. Allan. Springer Science, Business Media, 2011. Pp. 37–56.
- Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Cancer Genome Atlas Research Network. Nature* 2008;455(7216):1061–8. DOI: 10.1038/nature07385.
- Blumenthal D.T., Dvir A., Lossos A. et al. Clinical utility and treatment outcome of comprehensive genomic profiling in high grade glioma patients. *J Neurooncol* 2016;130(1):211–9. DOI: 10.1007/s11060-016-2237-3.
- Nefel C., Laffy J., Filbin M.G. et al. An integrative model of cellular states, plasticity, and genetics for glioblastoma. *Cell* 2019;178(4):835–49.e21. DOI: 10.1016/j.cell.2019.06.024.
- Yap T.A., Gerlinger M., Futreal P.A. et al. Intratumor heterogeneity: seeing the wood for the trees. *Sci Transl Med* 2012;4(127):127ps10. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003854.
- Shergalis A., Bankhead A. 3th, Luesakul U. et al. Current challenges and opportunities in treating glioblastoma. *Pharmacol Rev* 2018;70(4):412–45. DOI: 10.1124/pr.117.014944.
- Messaoudi K., Clavreul A., Lagarce F. Toward an effective strategy

- in glioblastoma treatment. Part I: resistance mechanisms and strategies to overcome resistance of glioblastoma to temozolomide. *Drug Discov Today* 2015;20(7):899–905.
DOI: 10.1016/j.drudis.2015.02.011.
23. Monticelli M., Zeppa P., Zenga F. et al. The post-surgical era of GBM: how molecular biology has impacted on our clinical management. A review. *Clin Neurol Neurosurg* 2018;170:120–6.
DOI: 10.1016/j.clineuro.2018.05.015.
 24. Westphal M., Maire C.L., Lamszus K. EGFR as a target for glioblastoma treatment: an unfulfilled promise. *CNS Drugs* 2017;31(9):723–35.
DOI: 10.1007/s40263-017-0456-6.
 25. Peereboom D.M., Shepard D.R., Ahluwalia M.S. et al. Phase II trial of erlotinib with temozolomide and radiation in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2010;98(1):93–9.
DOI: 10.1007/s11060-009-0067-2.
 26. Raizer J.J., Abrey L.E., Lassman A.B. et al. A phase II trial of erlotinib in patients with recurrent malignant gliomas and nonprogressive glioblastoma multiforme postradiation therapy. *Neuro Oncol* 2010;12(1):95–103.
DOI: 10.1093/neuonc/nop015.
 27. Raizer J.J., Giglio P., Hu J. et al. A phase II study of bevacizumab and erlotinib after radiation and temozolomide in MGMT unmethylated GBM patients. *J Neurooncol* 2016;126(1):185–92.
DOI: 10.1007/s11060-015-1958-z.
 28. Wen P.Y., Chang S.M., Lamborn K.R. et al. Phase I/II study of erlotinib and temsirolimus for patients with recurrent malignant gliomas: North American Brain Tumor Consortium trial 04-02. *Neuro Oncol* 2014;16(4):567–78.
DOI: 10.1093/neuonc/not247.
 29. Uhm J.H., Ballman K.V., Wu W. et al. Phase II evaluation of gefitinib in patients with newly diagnosed Grade 4 astrocytoma: Mayo/North Central Cancer Treatment Group Study N0074. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011;80(2):347–53.
DOI: 10.1016/j.ijrobp.2010.01.070.
 30. Chakravarti A., Wang M., Robins H.I. et al. RTOG 0211: a phase 1/2 study of radiation therapy with concurrent gefitinib for newly diagnosed glioblastoma patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013;85(5):1206–11.
DOI: 10.1016/j.ijrobp.2012.10.008.
 31. Reardon D.A., Groves M.D., Wen P.Y. et al. A phase I/II trial of pazopanib in combination with lapatinib in adult patients with relapsed malignant glioma. *Clin Cancer Res* 2013;19(4):900–8.
DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1707.
 32. Reardon D.A., Nabors L.B., Mason W.P. et al. Phase I/randomized phase II study of afatinib, an irreversible ErbB family blocker, with or without protracted temozolomide in adults with recurrent glioblastoma. *Neuro Oncol* 2015;17(3):430–9.
DOI: 10.1093/neuonc/nou160.
 33. Neyns B., Sadones J., Joosens E. et al. Stratified phase II trial of cetuximab in patients with recurrent high-grade glioma. *Ann Oncol* 2009;20(9):1596–603.
DOI: 10.1093/annonc/mdp032.
 34. Solomon M.T., Miranda N., Jorrin E. et al. Nimotuzumab in combination with radiotherapy in high grade glioma patients: a single institution experience. *Cancer Biol Ther* 2014;15(5):504–9.
DOI: 10.4161/cbt.28021.
 35. Kleinschmidt-DeMasters B.K., Aisner D.L., Foreman N.K. *BRAF V600E* immunoreactivity patterns in epithelioid glioblastomas positive for *BRAF V600E* mutation. *Am J Surg Pathol* 2015;39(4):528–40.
DOI: 10.1097/PAS.0000000000000363.
 36. Vuong H.G., Altibi A.M.A., Duong U.N.P. et al. BRAF mutation is associated with an improved survival in glioma – a systematic review and meta-analysis. *Mol Neurobiol* 2018;55(5):3718–24.
DOI: 10.1007/s12035-017-0599-y.
 37. Horbinski C., Nikiforova M.N., Hagenkord J.M. et al. Interplay among BRAF, p16, p53, and MIB1 in pediatric low-grade gliomas. *Neuro Oncol* 2012;14(6):777–89.
DOI: 10.1093/neuonc/nos077.
 38. Burger M.C., Ronellenfitsch M.W., Lorenz N.I. et al. Dabrafenib in patients with recurrent, BRAF V600E mutated malignant glioma and leptomeningeal disease. *Oncol Rep* 2017;38(6):3291–6.
DOI: 10.3892/or.2017.6013.
 39. Dasgupta T., Olow A.K., Yang X. et al. Survival advantage combining a BRAF inhibitor and radiation in BRAF V600E-mutant glioma. *J Neurooncol* 2016;126(3):385–93.
DOI: 10.1007/s11060-015-1939-2.
 40. Kanemaru Y., Natsumeda M., Okada M. et al. Dramatic response of BRAF V600E-mutant epithelioid glioblastoma to combination therapy with BRAF and MEK inhibitor: establishment and xenograft of a cell line to predict clinical efficacy. *Acta Neuropathol Commun* 2019;7(1):119.
DOI: 10.1186/s40478-019-0774-7.
 41. Kushnirsky M., Feun L.G., Gultekin S.H. et al. Prolonged complete response with combined dabrafenib and trametinib after BRAF inhibitor failure in BRAF-mutant glioblastoma. *JCO Precision Oncology* 2020;4(PO.19.00272):44–50.
DOI: 10.1200/po.19.00272.
 42. Ceccon G., Werner J.M., Dunkl V. et al. Dabrafenib Treatment in a Patient with an Epithelioid Glioblastoma and BRAF V600E Mutation. *Int J Mol Sci* 2018;19(4):1090.
DOI: 10.3390/ijms19041090.
 43. Mendes-Pereira A.M., Martin S.A., Brough R. et al. Synthetic lethal targeting of PTEN mutant cells with PARP inhibitors. *EMBO molecular medicine*. 2009;1(6-7):315–22.
DOI: 10.1002/emmm.200900041.
 44. Shen W.H., Balajee A.S., Wang J. et al. Essential role for nuclear PTEN in maintaining chromosomal integrity. *Cell* 2007;128(1):157–70.
DOI: 10.1016/j.cell.2006.11.042.
 45. Hermanowski H., Huebert B., Aldrighetti C. et al. Role of PARylation and PTEN mutation on PARP and PARG inhibitor efficacy on glioblastoma. Available at: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.06.30.180216v1>.
DOI: 10.1101/2020.06.30.180216.
 46. Plummer R., Jones C., Middleton M. et al. Phase I study of the poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor, AG014699, in combination with temozolomide in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 2008;14(23):7917–23.
DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1223.
 47. Kleinberg L., Supko J.G., Mikkelsen T. et al. Phase I adult brain tumor consortium (ABTC) trial of ABT-888 (veliparib), temozolomide (TMZ), and radiotherapy (RT) for newly diagnosed glioblastoma multiforme (GBM) including pharmacokinetic (PK) data. *J Clin Oncol*. 2013;31 (Suppl. 15):2065.
DOI: 10.1200/jco.2013.31.15_suppl.2065–2065.
 48. ClinicalTrials.gov.identifier NCT03581292. Veliparib, radiation therapy, and temozolomide in treating patients with newly diagnosed malignant glioma without H3 K27M or BRAFV600 mutations. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03581292>.
 49. ClinicalTrials.gov.identifier NCT02152982. Temozolomide with or without veliparib in treating patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02152982>.
 50. Gupta S.K., Smith E.J., Mladek A.C. et al. PARP inhibitors for sensitization of alkylation chemotherapy in glioblastoma: impact of blood-brain barrier and molecular heterogeneity. *Front Oncol* 2019;8:670.
DOI: 10.3389/fonc.2018.00670.
 51. Lesueur P., Lequesne J., Grellard J.M. et al. Phase I/IIa study of concomitant radiotherapy with olaparib and temozolomide in unresectable or partially resectable glioblastoma: OLA-TMZ-RTE-01 trial protocol. *BMC Cancer* 2019;19(1):198.
DOI: 10.1186/s12885-019-5413-y.
 52. ClinicalTrials.gov.identifier NCT03150862. A Study assessing pamiparib with radiation and/or temozolomide (TMZ) in participants with newly diagnosed

- or recurrent glioblastoma. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03150862>.
53. Fulton B., Short S.C., James A. et al. PARADIGM-2: two parallel phase I studies of olaparib and radiotherapy or olaparib and radiotherapy plus temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma, with treatment stratified by MGMT status. *Clin Transl Radiat Oncol* 2017;8:12–6. DOI: 10.1016/j.ctro.2017.11.003.
 54. Halford S.E.R., Cruickshank G., Dunn L. et al. Results of the OPARATIC trial: a phase I dose escalation study of olaparib in combination with temozolomide (TMZ) in patients with relapsed glioblastoma (GBM). *J Clin Oncol* 2017; 35(15_suppl):2022. DOI: 10.1200/jco.2017.35.15_suppl.2022.
 55. Wu S., Gao F., Zheng S. et al. EGFR amplification induces increased DNA damage response and renders selective sensitivity to talazoparib (PARP inhibitor) in glioblastoma. *Clin Cancer Res* 2020;26(6):1395–407. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-2549.
 56. Wang Y., Wild A.T., Turcan S. et al. Targeting therapeutic vulnerabilities with PARP inhibition and radiation in IDH-mutant gliomas and cholangiocarcinomas. *Sci Adv* 2020;6(17). DOI: 10.1126/sciadv.aaz3221.
 57. Wen P.Y., de Groot J., Battiste J.D. et al. Abstract CT205: Phase 2 study to evaluate the safety, pharmacokinetics, and clinical activity of the PI3K / mTOR inhibitor paxalisib (GDC-0084) in glioblastoma (GBM) with unmethylated O6-methylguanine-methyltransferase (MGMT) promoter status. *Cancer Res* 2020;80(Suppl 6):vi23. DOI: 10.1093/neuonc/noy148.083.
 58. Wen P.Y., Touat M., Alexander B.M. et al. Buparlisib in patients with recurrent glioblastoma harboring phosphatidylinositol 3-kinase pathway activation: an open-label, multicenter, multi-arm, phase II trial. *J Clin Oncol* 2019;37(9):741–50. DOI: 10.1200/jco.18.01207.
 59. Reitman Z.J., Yan H. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cancer: alterations at a crossroads of cellular metabolism. *J Natl Cancer Inst* 2010;102(13): 932–41. DOI: 10.1093/jnci/djq187.
 60. Parsons D.W., Jones S., Zhang X. et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008;321(5897):1807–12. DOI: 10.1126/science.1164382.
 61. Yang H., Ye D., Guan K.L. et al. *IDH1* and *IDH2* mutations in tumorigenesis: mechanistic insights and clinical perspectives. *Clin Cancer Res* 2012;18(20):5562–71. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1773.
 62. Huang J., Yu J., Tu L. et al. Isocitrate dehydrogenase mutations in glioma: from basic discovery to therapeutics development. *Front Oncol* 2019;9:506. DOI: 10.3389/fonc.2019.00506.
 63. Han S., Liu Y., Cai S.J. et al. *IDH* mutation in glioma: molecular mechanisms and potential therapeutic targets. *British J Cancer* 2020;122(11):1580–9. DOI: 10.1038/s41416-020-0814-x.
 64. Weller M., Felsberg J., Hartmann C. et al. Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German Glioma Network. *J Clin Oncol* 2009;27(34): 5743–50. DOI: 10.1200/JCO.2009.23.0805.
 65. Mellingshoff I.K., Ellingson B.M., Touat M. et al. Ivosidenib in isocitrate dehydrogenase 1-mutated advanced glioma. *J Clin Oncol* 2020;38(29):3398–406. DOI: 10.1200/JCO.19.03327.
 66. Tejera D., Kushnirsky M., Gultekin S.H. et al. Ivosidenib, an IDH1 inhibitor, in a patient with recurrent, IDH1-mutant glioblastoma: a case report from a phase I study. *CNS Oncol* 2020;9(3):CNS62. DOI: 10.2217/cns-2020-0014.
 67. Mellingshoff I.K., Cloughesy T.F., Wen P.Y. et al. A phase I, open label, perioperative study of AG-120 and AG-881 in recurrent IDH1 mutant, low-grade glioma: results from cohort 1. *J Clin Oncol* 2019;37(15_suppl):2003. DOI: 10.1200/jco.2019.37.15_suppl.2003.
 68. Kleber S., Sancho-Martinez I., Wiestler B. et al. Yes and PI3K bind CD95 to signal invasion of glioblastoma. *Cancer Cell* 2008;13(3):235–48. DOI: 10.1016/j.ccr.2008.02.003.
 69. Platten M., Fricke H., Junge K. et al. Final results of APG101_CD_002: APG101 plus reirradiation versus reirradiation in the treatment of patients with progressive glioblastoma. *J Clin Oncol* 2014;32(15_suppl):2006. DOI: 10.1200/jco.2014.32.15_suppl.2006.
 70. Kong X.T., Nguyen N.T., Choi J.Y. et al. Phase 2 study of bortezomib combined with temozolomide and regional radiation therapy for upfront treatment of patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme: safety and efficacy assessment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2018;100(5):1195–203. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2018.01.001.
 71. Clinical Trials.gov.identifier: NCT03345095. A phase iii trial of with marizomib in patients with newly diagnosed glioblastoma (MIRAGE). Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03345095>.
 72. Yang I., Han S.J., Kaur G. et al. The role of microglia in central nervous system immunity and glioma immunology. *J Clin Neurosci* 2010;17(1):6–10. DOI: 10.1016/j.jocn.2009.05.006.
 73. Karman J., Ling C., Sandor M. et al. Dendritic cells in the initiation of immune responses against central nervous system-derived antigens. *Immunol Lett* 2004;92(1–2):107–15. DOI: 10.1016/j.imlet.2003.10.017.
 74. Zeng J., See A.P., Phallen J. et al. Anti-PD-1 blockade and stereotactic radiation produce long-term survival in mice with intracranial gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013;86:343–9. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2012.12.025.
 75. Reardon D.A., Brandes A.A., Omuro A. et al. Effect of nivolumab vs bevacizumab in patients with recurrent glioblastoma: the checkmate 143 phase 3 randomized clinical trial. *JAMA Oncol* 2020;6(7):1003–10. DOI: 10.1001/jamaoncol.2020.1024.
 76. Sampson J.H., Omuro A.M.P., Preusser M. et al. A randomized, phase 3, open-label study of nivolumab versus temozolomide (TMZ) in combination with radiotherapy (RT) in adult patients (pts) with newly diagnosed, O-6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT)-unmethylated glioblastoma (GBM): CheckMate-498. *J Clin Oncol* 2016;34(15):TPS2079. DOI: 10.1200/jco.2016.34.15_suppl.tps2079.
 77. Bristol-Myers Squibb provides update on phase 3 Opdivo (nivolumab) CheckMate-548 trial in patients with newly diagnosed MGMT-methylated glioblastoma multiforme. News release. Available at: <https://news.bms.com/news/details/2020/Bristol-Myers-Squibb-Announces-Update-on-Phase-3-CheckMate-548-Trial-Evaluating-Patients-with-Newly-Diagnosed-MGMT-Methylated-Glioblastoma-Multiforme/default.aspx>.
 78. Cloughesy T.F., Mochizuki A.Y., Orpilla J.R. et al. Neoadjuvant anti-PD-1 immunotherapy promotes a survival benefit with intratumoral and systemic immune responses in recurrent glioblastoma. *Nat Med* 2019;25(3):477–86. DOI: 10.1038/s41591-018-0337-7.
 79. Schalper K.A., Rodriguez-Ruiz M.E., Diez-Valle R. et al. Neoadjuvant nivolumab modifies the tumor immune microenvironment in resectable glioblastoma. *Nat Med* 2019;25(3):470–6. DOI: 10.1038/s41591-018-0339-5.
 80. Zhao J., Chen A.X., Gartrell R.D. et al. Immune and genomic correlates of response to anti-PD-1 immunotherapy in glioblastoma. *Nat Med* 2019;25(3):462–9. DOI: 10.1038/s41591-019-0349-y.
 81. Reardon D.A., Kaley T.J., Dietrich J. et al. Phase II study to evaluate safety and efficacy of MEDI4736 (durvalumab) + radiotherapy in patients with newly diagnosed unmethylated MGMT glioblastoma (new unmeth GBM). *J Clin Oncol* 2019;37(15_suppl):2032. DOI: 10.1200/jco.2019.37.15_suppl.2032.
 82. Jacques F.H., Nicholas G., Lorimer I. et al. Avelumab in newly diagnosed

- glioblastoma multiforme: The SEJ study. *J Clin Oncol* 2019;37(15_suppl):e13571. DOI: 10.1200/jco.2019.37.15_suppl.e13571.
83. Kaufman H.L., Kohlhapp F.J., Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2015;14(9):642–62. DOI: 10.1038/nrd4663.
84. Foreman P.M., Friedman G.K., Cassady K.A., Markert J.M. Oncolytic virotherapy for the treatment of malignant glioma. *Neurotherapeutics* 2017;14(2):333–44. DOI: 10.1007/s13311-017-0516-0.
85. Philbrick B.D., Adamson D.C. Early clinical trials of Toca 511 and Toca FC show a promising novel treatment for recurrent malignant glioma. *Expert Opin Investig Drugs* 2019;28(3):207–16. DOI: 10.1080/13543784.2019.1572112.
86. Markert J.M., Razdan S.N., Kuo H.C. et al. A phase 1 trial of oncolytic HSV-1, G207, given in combination with radiation for recurrent GBM demonstrates safety and radiographic responses. *Mol Ther* 2014;22(5):1048–55. DOI: 10.1038/mt.2014.22.
87. Zadeh G., Lang F., Daras M. et al. Interim results of a phase II multicenter study of the conditionally replicative oncolytic adenovirus DNX-2401 with pembrolizumab (Keytruda) for recurrent glioblastoma; CAPTIVE study (KEYNOTE-192). *Neuro Oncol* 2018;20(Suppl 6):vi6. DOI: 10.1093/neuonc/ny148.019.
88. Liao L.M., Ashkan K., Tran D.D. et al. First results on survival from a large Phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma. *J Transl Med* 2018;16(1):142. DOI: 10.1186/s12967-018-1507-6.
89. Liao L.M., Ashkan K., Tran D.D. et al. First results on survival from a large Phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma. *J Transl Med* 2018;16:142. DOI: 10.1186/s12967-018-1507-6.
90. Wen P.Y., Reardon D.A., Phuphanich S. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial of dendritic cell (DC) vaccination with ICT-107 in newly diagnosed glioblastoma (GBM) patients. *J Clin Oncol* 2014;32:2005. DOI: 10.1200/jco.2014.32.15_suppl.2005.
91. NCT01454596. CAR T cell receptor immunotherapy targeting EGFRvIII for patients with malignant gliomas expressing EGFRvIII. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01454596>.
92. O'Rourke D.M., Nasrallah M., Morrisette J.J. et al. Pilot study of T cells redirected to EGFRvIII with a chimeric antigen receptor in patients with EGFRvIII+ glioblastoma. *J Clin Oncol* 2016;34(15_suppl):2067–2067. DOI: 10.1200/jco.2016.34.15_suppl.2067.
93. Del Vecchio C.A., Li G., Wong A.J. Targeting EGF receptor variant III: tumor-specific peptide vaccination for malignant gliomas. *Expert Rev Vaccines* 2012;11(2):133–44. DOI: 10.1586/erv.11.177.
94. Swartz A.M., Li Q.J., Sampson J.H. Rindopepimut: a promising immunotherapeutic for the treatment of glioblastoma multiforme. *Immunotherapy* 2014;6(6):679–90. DOI: 10.2217/imt.14.21.
95. Rich J.N., Reardon D.A., Peery T. et al. Phase II trial of gefitinib in recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol* 2004;22(1):133–142. DOI: 10.1200/JCO.2004.08.110.
96. Gan H.K., Papadopoulos K.P., Fichtel L. et al. Phase I study of ABT-414 mono- or combination therapy with temozolomide (TMZ) in recurrent glioblastoma (GBM). *ASCO Meet Abstr* 2015;33:2016. DOI: 10.1200/JCO.2017.77.6385.
97. Weller M., Butowski N., Tran D.D. et al. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017(10):1373–85. DOI: 10.1016/s1470-2045(17)30517-x.
98. Wen P.Y., De Groot J.F., Battiste J.D. et al. Escalation portion of phase II study to evaluate the safety, pharmacokinetics, and clinical activity of the PI3K/mTOR inhibitor paxalisib (GDC-0084) in glioblastoma (GBM) with unmethylated O6-methylguanine-methyltransferase (MGMT) promoter status. *J Clin Oncol* 202038(15_suppl):2550. DOI: 10.1200/jco.2020.38.15_suppl.2550.
99. Zadeh G., Lang F., Daras M. et al. Atim-24. Interim results of a phase II multicenter study of the conditionally replicative oncolytic adenovirus dnx-2401 with pembrolizumab (keytruda) for recurrent glioblastoma; captive study (keynote-192). *Neuro Oncology* 2018;20(suppl_6):vi6. DOI: 10.1093/neuonc/ny148.019.

Вклад авторов

Г.П. Генс: разработка концепции, анализ полученных данных, научное редактирование;

В.Д. Санникович: разработка концепции, сбор и обработка данных, написание текста статьи, научное редактирование, создание графического материала;

В.А. Милейко: обработка данных, научное редактирование;

А.А. Лебедева: сбор и обработка данных, написание текста статьи, научное редактирование.

Authors' contributions

G.P. Guens: research concept development, analysis of the obtained data, scientific editing;

V.D. Sanikovich: research concept development, obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, article writing, scientific editing, creating graphic material;

V.A. Mileyko: analysis of the obtaining data, scientific editing;

A.A. Lebedeva: obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, article writing, scientific editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Г.П. Генс / G.P. Guens: <https://orcid.org/0000-0001-8708-2712>

В.Д. Санникович / V.D. Sanikovich: <https://orcid.org/0000-0002-4840-4106>

В.А. Милейко / V.A. Mileyko: <https://orcid.org/0000-0002-0272-1747>

А.А. Лебедева / A.A. Lebedeva: <https://orcid.org/0000-0003-1920-5076>

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.

Статья поступила: 18.02.2021. **Принята к публикации:** 06.09.2021.

Article submitted: 18.02.2021. **Accepted for publication:** 06.09.2021.