

СОВРЕМЕННЫЕ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

И.И. Алентов, Н.С. Сергеева, Н.В. Маришутина, И.А. Корнеева, Е.Г. Новикова. Изучение сравнительной клинической значимости серологических опухолеассоциированных маркеров СА125 и НЕ4 в мониторинге больных раком яичников (РЯ). ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» Минздрава России, Москва

В настоящее время СА125 считается маркером выбора для мониторинга больных РЯ. Вместе с тем чувствительность этого антигена снижается у ряда пациенток в динамике химиотерапии. Следовательно, поиск новых маркеров, которые могли бы увеличить клиническую значимость лабораторного мониторинга больных РЯ, является актуальным. На роль одного из таких маркеров претендует белок НЕ4.

Цель исследования – сравнить динамику изменения маркеров СА125 и НЕ4 у больных РЯ на разных этапах лечения и наблюдения.

Уровни СА125 и НЕ4 были измерены в сыворотке крови у 76 больных РЯ (69 серозная аденокарцинома, 4 эндометриодная аденокарцинома, 1 муцинозный рак, 2 – смешанная серозно-эндометриодная аденокарцинома). У 31 из них показатели маркеров оценивали в длительном мониторинге и у 45 – на отдельных этапах лечения и наблюдения. На момент установления диагноза 6 пациенток имели I стадию заболевания, 2 – II, 41 – III, 27 – IV. Средний возраст больных до начала лечения составил 53,8 года (20–74 года). В качестве дискриминационного уровня (ДУ) СА125 использовали значение 35 ед/мл. Для НЕ4 применяли зависимые от возраста ДУ: у женщин моложе 40 лет – 70 пмоль/л, 40–50 лет – 100 пмоль/л, старше 50 лет – 120 пмоль/л. Всего было выполнено 653 анализа СА125 и 517 – НЕ4. Средняя продолжительность маркерного мониторинга больных составила 25,6 мес (18–64 мес).

Диагностическая чувствительность двух маркеров на старте лечения была высокой – 96,2% у СА125 и 92,3% у НЕ4. Перед началом лечения медиана кратности превышения ДУ для СА125 составила 57,9, для НЕ4 – 8,0. После завершения первичного лечения СА125 оставался повышенным в 11,5% случаев, НЕ4 – в 3,8% случаев. На этом этапе снизилась и медиана кратности превышения ДУ до 0,4 у СА125 и до 0,6 у НЕ4. Диагностическая чувствительность обоих маркеров при развитии рецидива оказалась ниже, чем на старте лечения. Так, при развитии рецидива СА125 был повышен лишь в 79,5%, а НЕ4 – в 46,2% случаев. Медиана кратности превышения ДУ на этом этапе составила 1,5 у СА125 и 1,0 у НЕ4. В 44% случаев СА125 и НЕ4 начинали повышаться в разные сроки при развитии рецидива: у 22% пациенток СА125 возрастал на 2–4 мес раньше, чем НЕ4, и у 22% НЕ4 реагировал раньше СА125. В 56% случаев маркеры начинали возрастать одновременно. Коэффициент ранговой корреляции между СА125 и НЕ4 составил 0,56 до начала лечения, снизился до 0,06 в ремиссии и повысился до 0,34 при доказанном рецидиве. Различия в реакции СА125 и НЕ4 в динамике опухолевого процесса при продолжительном мониторинге у ряда больных нарастали.

Представляется целесообразным использование нового серологического маркера НЕ4 в сочетании с СА125 для мониторинга больных РЯ с целью получения более полного представления о состоянии опухолевого процесса на этапах лечения и наблюдения.

Н.И. Поспехова, В.П. Шубин, А.С. Цуканов, С.А. Фролов, Ю.А. Шельгин. Молекулярно-генетические маркеры в онкоколопроктологии: помощь в диагностике, прогнозе, лечении. Государственный научный центр колопроктологии Минздрава России, Москва

Рак толстой кишки (РТК) является одним из самых распространенных злокачественных новообразований у челове-

ка. В России отмечается неуклонный рост заболеваемости и смертности от РТК. Заболевание может значительное время протекать бессимптомно и, как следствие, у каждого третьего больного на момент установления диагноза отмечается генерализация опухолевого процесса. Высокая смертность при РТК объясняется частым метастазированием опухоли, в основном в печень и легкие, нередко даже на первых стадиях заболевания. При этом зачастую лекарственная терапия основывается на вероятности эффекта от препаратов без учета индивидуальных характеристик больного. Таким образом, актуальнейшими задачами онкоколопроктологии являются ранняя диагностика заболевания, необходимость прогноза метастатического поражения, выбор тактики лекарственной терапии. Современные возможности решения этих задач обязательно включают молекулярно-генетическую диагностику, позволяющую применить персонализированный подход при проведении терапии колоректального рака.

Основными молекулярно-генетическими методами, применяемыми в молекулярной онкологии, являются полимеразная цепная реакция (ПЦР) в разных вариантах, секвенирование, фрагментный анализ, электрофоретические методы и др. В ближайшем будущем секвенирование нового поколения (NGS) станет доступным методом в молекулярно-генетической диагностике.

1. Молекулярно-генетические маркеры в диагностике РТК. Часть случаев (5–10%) колоректального рака имеет наследственную природу. Исследования в области онкогенетики направлены на определение структурных изменений генов, которые могут служить специфическими маркерами различных форм РТК. В настоящее время молекулярно-генетическая основа возникновения РТК известна для ряда наследственных синдромов, наиболее частыми из них являются: семейный аденоматозный полипоз (гены *APC* и *MUTYH*) и наследственный непוליозный рак толстой кишки (ННПРТК), он же синдром Линча (гены *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*). Люди с герминальными мутациями в одном из генов имеют очень высокий риск развития рака (при мутации в гене *APC* 100%) и нуждаются в постоянном клиническом мониторинге для оказания своевременной медицинской помощи и профилактики РТК.

Для ранней диагностики колоректального рака возможно применение тестов, использующих молекулярно-генетические маркеры. Такие тесты основаны на данных о структурных и функциональных изменениях в опухолевых клетках – соматические мутации в генах (*APC*, *DCC*, *KRAS*, *TP53*), изменение экспрессии генов (*SI00A12*, *TIMP1*) и микроРНК (miR-21), аномальное метилирование генов (*SEPT9*). Важно, что биоматериалом для исследования могут служить не только биопсийные образцы, но и плазма крови, кал.

2. Прогностические молекулярно-генетические маркеры. Около 45% случаев РТК имеют активирующие соматические мутации в 2–4 экзонах гена *KRAS*, 3–4% – в 2–4 экзонах гена *NRAS*, 5–8% – в 600 кодоне гена *BRAF*. Мутационный статус этих генов может быть использован как прогностический – при колоректальном раке наличие мутации в генах *KRAS*, *NRAS* и *BRAF* традиционно интерпретируется как фактор плохого прогноза. Помимо определения мутаций в генах исследуют изменения, выявляемые в повторяющихся последовательностях ДНК (микросателлиты). Высокий уровень микросателлитной нестабильности (МСН) характеризует несостоятельность системы репарации в опухолевых клетках. МСН высокого уровня обнаруживается при ННПРТК, а также встречается в 14–18% спорадического РТК. Опухоли с высоким уровнем МСН редко встречаются при поздних стадиях рака и имеют неплохой прогноз. В последнее время активно развивается поиск новых прогностических молеку-

лярных маркеров, а именно изменение экспрессии генов и микроРНК. Метастатический потенциал опухоли может оцениваться по характеру изменений экспрессии генов в опухолевых клетках (например, гены *MCC1*, *SI00A4*, *FOXMI*, *CXCR4*, *ERCC1* и ряд других).

3. Молекулярно-генетические маркеры и лекарственная терапия. В настоящее время известны мутации некоторых генов, определяющих резистентность метастатического РТК к таргетным препаратам. В первую очередь это ген *KRAS*. При обнаружении мутации в 12/13 кодонах (2 экзон) *KRAS* терапия антителами к рецептору эпидермального фактора роста (EGFR) – цетуксимабом и панитумумабом – противопоказана (ASCO, 2008). В 2013 г. эти рекомендации расширены: необходимо проводить тестирование 2–4 экзонов генов *KRAS* и *NRAS*, мутация в любом из них служит противопоказанием к таргетной терапии.

Таким образом, современные возможности ранней диагностики РТК, прогнозирование течения заболевания, определение чувствительности/резистентности к лекарственным препаратам основаны на индивидуальных наследственных и соматических молекулярно-генетических характеристиках.

Ю.С. Тимофеев, И.В. Бабкина, Д.В. Рогожин, И.Н. Кузнецов, И.В. Бульчева, Ю.Н. Соловьев, Н.Е. Кушлинский. Система инсулиноподобного фактора роста при опухолях костей. Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Новообразования костей – редко встречающаяся группа онкологических заболеваний, характеризующаяся низкими показателями выживаемости и слабым ответом на проводимое лечение. Трудности ранней диагностики опухолей костей, низкая информативность материала, получаемого при открытых биопсиях, проблемы выбора таргетной терапии и неясность прогноза приводят к необходимости разработки неинвазивных лабораторных методик, применяемых для предварительной оценки характера опухолей костей, выбора химиотерапии, прогноза. В развитии новообразований костной ткани участвует ряд клеточных сигнальных систем и молекулярных факторов (VEGF, ЭФР, ММП, интерлейкины), в нормальных условиях отвечающих за рост, пролиферацию, дифференцировку клеток. Одной из систем, роль которой при новообразованиях костей активно изучается в последние годы, является система инсулиноподобного фактора роста (ИФР). В состав этой сигнальной сети входят инсулиноподобные факторы 1 и 2 типа (ИФР-1, ИФР-2), их рецепторы (ИФР-1Р, ИФР-2Р и рецептор инсулина). В качестве модуляторов активности передачи сигнала служат 10 белков, связывающие инсулиноподобные факторы роста (ИФРСБ 1–10), которые способны избирательно связывать лиганды или высвобождать их, тем самым регулируя их уровень и как следствие активность системы в целом. Физиологическая функция системы ИФР заключается в регуляции процессов роста организма, дифференцировки различных тканей, контроле процессов регенерации и др. В свою очередь нарушение функции системы ИФР, приводящее к ее чрезмерной активности или дисбалансу, способно провоцировать развитие онкологических процессов посредством влияния на клеточный цикл, усиливая процессы инвазии и метастазирования. В литературе описана повышенная экспрессия ИФР-1 в тканях остеосаркомы, имеются данные о зависимости клеток опухоли Юинга от активности ИФР-1Р. Описаны некоторые изменения в гене *IGF1*, которые могут приводить к изменению экспрессии ИФР-1 при остеосаркоме. Таргетная терапия, направленная на подавление ИФР-1Р, вызвала неоднозначный эффект на ранних стадиях клинических исследований.

Цель исследования – изучение сывороточных уровней компонентов системы ИФР (ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-1, ИФРСБ-3), анализ их применимости в качестве маркеров для предварительной оценки характера новообразований кости и прогноза выживаемости.

В исследование включено 113 больных с впервые выявленными новообразованиями костей, среди которых 74

пациента со злокачественными новообразованиями (остеосаркома, хондросаркома, опухоль Юинга, злокачественная фиброзная гистиоцитома, хордома), 14 пациентов с пограничными новообразованиями (гигантоклеточная опухоль кости) и 25 пациентов с доброкачественными новообразованиями и опухолеподобными поражениями костей в возрасте от 14 до 69 лет. Все больные поступили в отдел общей онкологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН и получали там лечение. В качестве контрольной группы обследовали 50 практически здоровых людей соответствующего возраста. Определение уровней ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-1, ИФРСБ-3 в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом с помощью реактивов фирмы DSL (США) при использовании автоматического ридера «Elx 800» («Biotek Instruments Inc.», США). Статистический анализ данных проводили в программе Statistica 7 (Statsoft, США).

Обнаружено, что сывороточные уровни ИФР-1 при новообразованиях костей ($241,1 \pm 10,5$ нг/мл) достоверно превышают таковые показатели у практически здоровых людей ($153,8 \pm 6,5$ нг/мл). Наиболее высокие значения данного фактора характерны для больных остеосаркомой и опухолью Юинга. Уровни ИФР-1 при остеосаркоме ($289,7 \pm 25,8$ нг/мл) и при опухоли Юинга ($282,7 \pm 22,8$ нг/мл) достоверно превышают среднее значение у больных при хондросаркоме ($211,9 \pm 17,3$ нг/мл) и хордоме ($118,4 \pm 20,3$ нг/мл). Пороговое значение для ИФР-1 относительно контрольной группы составило 243 нг/мл при специфичности 93%; чувствительность при выявлении злокачественных опухолей костей составила 51,3% (в группе больных остеосаркомой 64%). Нами проведен анализ базальных уровней ИФР-1 с отдаленными результатами лечения. У больных злокачественными опухолями костей при развитии метастазов в течение 12 мес от начала лечения средние исходные значения ИФР-1 были достоверно выше их уровней у пациентов, у которых в течение 12 мес метастазы не развились. У пациентов со злокачественными и пограничными опухолями костей при значениях ИФР-1 выше порогового наблюдали достоверно более низкие показатели 1- и 3-летней безметастатической выживаемости от начала лечения. Так, 3-летняя безметастатическая выживаемость пациентов с ИФР-1 > 243 нг/мл составила 43,1%, а у пациентов с низкими значениями ИФР-1 – 70%. Общая выживаемость больных злокачественными опухолями костей также может быть ассоциирована с уровнем ИФР-1 до начала специфического лечения. Показатели 3-летней общей выживаемости больных злокачественными опухолями костей (остеосаркома, опухоль Юинга, хондросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома) при значениях ИФР-1 выше пороговых составила 48,3%, а при значениях ниже пороговых – 73,7%. При анализе уровней ИФР-2 выявлено его достоверное повышение при злокачественных новообразованиях ($1982,5 \pm 58,9$ нг/мл), а также пограничных опухолях костей ($1991,0 \pm 86,4$ нг/мл), относительно уровня данного фактора роста при доброкачественных новообразованиях ($1569,0 \pm 62,6$ нг/мл) и контрольной группы ($1457,3 \pm 38,1$ нг/мл). Выявлено достоверное превышение уровня ИФР-2 при остеосаркоме, хондросаркоме и опухоли Юинга над его показателями при доброкачественных новообразованиях и в контроле. Также нами выявлены достоверные различия между уровнем ИФР-2 при остеосаркоме и злокачественной фиброзной гистиоцитоме, а также между группами больных остеосаркомой и хордомой. Анализ уровней ИФРСБ-1 выявил повышение сывороточного уровня данного белка в группе больных остеосаркомой ($40,1$ нг/мл) относительно уровня ИФРСБ-1 у практически здоровых людей ($23,9$ нг/мл). При этом у пациентов со злокачественными новообразованиями, получавших химиотерапию, в группе с положительным эффектом химиотерапии (стабилизация или частичная регрессия опухолевого процесса) базальный уровень ИФРСБ-1 был более высоким ($35,8 \pm 3,7$ нг/мл), чем в группе, в которой наблюдали прогрессирува-

ние заболевания ($23,2 \pm 4,4$ нг/мл). Исследование базальных уровней ИФРСБ-3 показало, что наиболее высокие его значения отмечены при доброкачественных новообразованиях костей. Так, при доброкачественных поражениях костей уровень ИФРСБ-3 в сыворотке крови составил $6029,6$ нг/мл, что достоверно выше, чем уровень ИФРСБ-3 в сыворотке крови при саркомах костей ($5093,5$ нг/мл), а также значительно выше, чем в группе здоровых людей ($4106,0$ нг/мл). При пороговом значении 5845 нг/мл (при 99% специфичности) значения выше пороговых наблюдали у 52% пациентов с доброкачественными образованиями и у 27% со злокачественными опухолями костей. Примечательно, что для всех

изученных факторов не выявлено зависимостей от размера опухоли, ее локализации, типа пораженной кости и стадии на момент обследования.

Согласно полученным данным, сывороточные уровни ИФР-1, ИФР-2 ассоциированы со злокачественностью процесса и гистологическим типом опухоли. ИФР-1 может рассматриваться как предположительный фактор прогноза безметастатической выживаемости при злокачественных и пограничных новообразованиях костей, а также общей выживаемости при саркомах костей. Повышение уровня ИФРСБ-3 более характерно для доброкачественных новообразований, чем для сарком костей.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

И.В. Бабкина, И.Н. Кузнецов, Е.А. Тен, И.В. Бульчева, Ю.Н. Соловьев. **Интерферон альфа в сыворотке крови больных новообразованиями костей различного гистологического строения.** Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Интерфероны (ИФН) – это цитокины с широким спектром биологического действия. К наиболее важным функциям ИФН относят способность оказывать противовирусное действие, ингибировать гемопоэз, модулировать иммунный и воспалительный ответ, регулировать пролиферацию и дифференцировку клеток. Участие ИФН в этих процессах осуществляется путем стимуляции транскрипции генов, кодирующих различные белки. С учетом антигенных и физико-химических характеристик, способа индукции, эффективности и механизмов действия ИФН подразделяются на два типа: ИФН типа I (лейкоцитарный ИФН- α и фибробластный ИФН- β) и ИФН типа II (иммунный ИФН, или ИФН- γ), который продуцируется Т-клетками и натуральными киллерами в ответ на чужеродные антигены или митогены. Известны также ИФН- ω и ИФН- τ . Большинство исследований посвящено изучению ИФН- γ . Клинических исследований по изучению роли ИФН при опухолях костей очень мало, в одном из исследований последних лет представлены данные о применении ИФН- α в качестве дополнения к комплексной адьювантной терапии остеосаркомы.

Цель исследования – изучение содержания ИФН- α в сыворотке крови больных первичными новообразованиями костей для выявления возможной взаимосвязи с гистологическим строением опухоли.

Обследовали 72 больных (44 мужчин и 28 женщин) опухолями костей в возрасте от 14 до 75 лет (медиана – 25): доброкачественные – 3, пограничные (гигантоклеточная опухоль кости) – 13, злокачественные – 56 (остеосаркома – 17, хондросаркома – 19, опухоль Юинга – 16, злокачественная фиброзная гистиоцитомы – 4). Контрольная группа состояла из 14 практически здоровых людей, 8 мужчин и 6 женщин в возрасте от 14 до 30 лет (медиана – 22,5). Определение ИФН- α проводили до начала специфического лечения с использованием реактивов фирмы «Bender MedSystems» (Австрия) при использовании автоматического ридера «Elx 800» («Biotek Instruments Inc.», США).

ИФН- α обнаружили в сыворотке крови всех обследованных практически здоровых людей и больных опухолями костей. Отмечена тенденция к увеличению среднего содержания ИФН- α в сыворотке крови практически здоровых людей по сравнению со здоровыми. Так, концентрация ИФН- α в сыворотке практически здоровых людей составила $63,5 \pm 7,1$ пг/мл, (медиана – 62,6, пределы колебаний 44,5–88,0). У больных опухолями костей уровень ИФН- α равнялся $51,6 \pm 2,4$ пг/мл (медиана – 47,3, пределы колебаний 27,9–181,3).

Содержание ИФН- α в сыворотке крови больных доброкачественными опухолями костей составило $42,2 \pm 3,2$ пг/мл (медиана 43,1, пределы колебаний 36,2–47,3), пограничными опухолями – $46,5 \pm 2,5$ пг/мл (медиана 44,5, пределы колебаний 36,2–66,8), злокачественными опухолями – $53,3 \pm 2,9$ пг/мл (медиана 49,4, пределы колебаний 27,9–181,3). При злокачественных опухолях костей наибольшее среднее содержание ИФН- α выявлено при типичной остеосаркоме, наименьшее – при злокачественной фиброзной гистиоцитоме, однако различия были статистически недостоверными. При типичной остеосаркоме (11) средние уровни ИФН- α были равны $62,4 \pm 12,5$ пг/мл, при периостальной остеосаркоме (1) – 51,4 пг/мл, при паростальной остеосаркоме (5) – $51,5 \pm 1,5$ пг/мл, при хондросаркоме (19) – $50,2 \pm 2,1$ пг/мл, при опухоли Юинга (16) – $54,3 \pm 5,2$ пг/мл, при злокачественной фиброзной гистиоцитоме (4) – $41,4 \pm 5,1$ пг/мл. У больных опухолями костей достоверных различий в содержании ИФН- α в крови с учетом пола не выявили. У мужчин уровень ИФН- α был равен $53,7 \pm 3,7$ пг/мл (медиана 48,7, пределы колебаний 36,2–181,3), у женщин – $48,2 \pm 1,9$ пг/мл (медиана 46,6, пределы колебаний 27,9–79,5) ($p = 0,27$). Взаимосвязи между возрастом пациентов и содержанием ИФН- α не обнаружили. У 9 больных злокачественными опухолями костей в период наблюдения выявлены отдаленные метастазы в легких. Следует отметить тенденцию к увеличению содержания ИФН- α у пациентов с метастазами по сравнению с больными локализованной формой заболевания – $63,0 \pm 15,2$ и $51,4 \pm 2,1$ пг/мл соответственно ($p = 0,16$). Достоверных различий в содержании ИФН- α в сыворотке крови больных с учетом размера первичной опухоли не выявлено. Так, при типичной остеосаркоме и хондросаркоме коэффициент корреляции между размером первичной опухоли и содержанием ИФН- α в крови был отрицательным и составил $r = -0,37$ и $r = -0,25$ соответственно, а при опухоли Юинга – положительным ($r = 0,38$), что может быть связано с особенностями гистологического строения новообразования.

Анализ содержания ИФН- α в сыворотке крови пациентов с опухолями костей с учетом их гистологического строения достоверных различий не выявил. Взаимосвязи между возрастом пациентов с опухолями костей и содержанием ИФН- α не обнаружено. У больных злокачественными новообразованиями костей с отдаленными метастазами и с локализованной формой заболевания уровни ИФН- α в сыворотке крови достоверно не различались. Достоверных различий в содержании ИФН- α в сыворотке крови больных с учетом размера первичной опухоли не выявлено.

В.Н. Блиндарь, Г.Н. Зубрихина, И.И. Матвеева, Е.В. Демкина. **Анемический синдром у больных лимфомой Ходжкина до лечения.** Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва