

Ю.В. Думанский¹
О.В. Кайряк¹
В.К. Марунич²

¹Донецкий национальный
медицинский университет
им. Максима Горького,
Красный Лиман

²Межрайонный онкологический
диспансер, Краматорск,
Украина

Ключевые слова: система
репарации ДНК, гены
BRCA, таксаны, алкалоиды
барвинка, препараты
платины, индивидуализация
химиотерапии.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Проанализированы данные о некоторых молекулярных механизмах химиорезистентности злокачественных опухолей и рассмотрены клинические аспекты такого анализа. В частности, авторы обращают внимание на нецелесообразность применения препаратов, содержащих глутатион, в качестве терапии сопровождения при проведении химиотерапии, так как это ведет к снижению эффекта лечения. Отмечено, что применение тамоксифена во время курса химиотерапии усиливает ее действие, так как, помимо выполнения антиэстрогенной функции, препарат обладает свойством индукции апоптоза. Рассмотрены данные, по которым активность генов BRCA, участвующих в репарации ДНК, может служить параметром, диктующим выбор назначения или таксанов, или препаратов платины. Применение химиотерапии желательно индивидуализировать с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли либо путем определения индивидуальной чувствительности, в том числе методом, разработанным в Донецком областном противоопухолевом центре.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема химиорезистентности (ХР) и химиочувствительности (ХЧ) продолжает волновать как клиницистов, так и исследователей, работающих в области теоретической онкологии. Возникла эта проблема на заре химиотерапии (ХТ), когда, вопреки теоретическим предпосылкам, онкологи-экспериментаторы, а за ними и клиницисты стали отмечать в некоторых случаях бурный рост опухоли на фоне проведения химиотерапевтического лечения, оцениваемый согласно критериям Всемирной организации здравоохранения как прогрессирующее заболевание [23]. Существующие стандарты предусматривают назначение химиопрепаратов без учета молекулярно-генетических особенностей новообразования у отдельного больного.

Гносеологическими предпосылками создавшейся ситуации является подсознательное отношение клиницистов к молекулярной биологии и генетике как сугубо «чистой науке», не имеющей выхода в клиническую практику. Основу другой подсознательной парадигмы, формирующей мотивацию стандартизации химиотерапевтических подходов к лечению больных онкологического профиля, следует искать в трудах экономистов. С одной стороны, фирмы — производители химиопрепаратов широко используют сетевой маркетинг для увеличения количества продаж новой продукции. С другой, среди врачей и курируемых ими пациентов сформировалось отношение к старым, относительно недорогим препаратам (циклофосфамид, флуороурацил, препараты платины) как к малоэффективным.

В то же время в первую очередь следует отметить, что резистентность к лекарственным препаратам обусловлена не одним механизмом, а целым их спектром. Выделяют, во-первых, фармакокинетическую

резистентность, обусловленную низкой концентрацией препарата в опухолевой ткани вследствие плохой васкуляризации, низкого перфузионного давления; во-вторых, физиологическую резистентность; в-третьих, опухолевую ростовую кинетическую резистентность; в-четвертых, клеточную резистентность.

Так как в одном обзоре невозможно описать суть и нюансы многогранной проблемы ХЧ и ХР, наше внимание было сфокусировано лишь на некоторых, актуальных, с нашей точки зрения, в клинической практике аспектах резистентности и индивидуальном назначении химиопрепаратов с учетом их молекулярных мишеней. Авторами не рассматриваются критерии ХР, связанные с механизмом программированной клеточной гибели, так как по данной проблеме существует ряд монографий и публикаций [12, 16].

Клеточная резистентность по принципу компартиментализации условно может быть классифицирована на мембранную, цитоплазматическую и ядерную [9]. Исследованию молекулярных маркеров клеточной чувствительности и резистентности в последние годы посвящены многие научные работы.

Мембранная и цитоплазматическая резистентность. Одним из первых маркеров, идентифицированных в 1976 г. R.L. Juliano, V. Ling, в связи с устойчивостью опухолевых клеток (ОК) к химиопрепаратам, был белок Р-170 (цит. по: [9]), являющийся продуктом гена *MDR1*. Моделью для изучения феномена множественной лекарственной резистентности (МЛР) являются перевиваемые клеточные культуры, выращенные в условиях повышения дозы химиопрепаратов растительного происхождения в последующих пассажах. Отобранные по одному химическому соединению, эти линии часто демонстрируют устойчивость к ряду других цитотоксиче-

ских препаратов, различных по структуре и внутриклеточным мишеням.

P-170 представлен в различных нормальных тканях по-разному. Высокий уровень экспрессии этого белка регистрируют в клетках коры надпочечников, реснитчатом эпителии проксимальных почечных канальцев, гепатоцитах, плаценте, секреторных железах эндометрия матки беременных, слизистой оболочке тонкой и толстой кишки, эпителии поджелудочной железы, эндотелии капилляров головного мозга и яичек. Высокое содержание P-гликопротеина выявлено в макрофагах и CD34-положительных (CD34⁺) клетках костного мозга. Умеренный уровень P-170 отмечен в паренхиме надпочечников, трахее, крупных бронхах и предстательной железе. Кожа, пищевод, желудок, яичники, сердце, спинной мозг, селезенка характеризуются низким уровнем P-170. Клетки периферической крови и костного мозга (за исключением CD34⁺ клеток) вообще не экспрессируют P-170 [13]. Физиологическая роль P-170 окончательно не установлена. Тем не менее анализ экспрессии данного протеина в эндотелии капилляров головного мозга, яичек, плаценте позволяет предположить его участие в формировании гематоэнцефалического, тестикулярного и плацентарного барьеров. Логична связь высокого уровня P-170 с экспрессией антигена CD34⁺ в клетках, обладающих высоким пролиферативным потенциалом. В данном случае P-170, наряду с иными механизмами, охраняет геном CD34⁺ клеток от воздействия ксенобиотиков, способствуя сохранению генофонда стволовых клеток.

Помимо P-гликопротеина, существует ряд других транспортных белков, входящих в семейство MRP, или GHS-X-помпы. Функция белков данного семейства состоит в «выбрасывании» из клетки химиопрепаратов, связанных с глутатионом. Последний играет решающую роль среди цитоплазматических факторов, определяющих устойчивость к химиопрепаратам. Глутатион является трипептидом, «мини-белком», состоящим из цистеина, глутаминовой кислоты и глицина. Его физиологическое значение определяется способностью «противостоять» свободным радикалам. Экспрессия глутатиона зарегистрирована практически во всех нормальных клетках эукариот. Особенно высокая концентрация глутатиона выявлена в эритроцитах, печени и надпочечниках. В некоторых ОК отмечена более высокая концентрация данного вещества. Ключевым ферментом, определяющим глутатион-зависимую устойчивость ОК к цитостатикам, является глутатион-S-трансфераза (GST). GST играет роль катализатора при связывании глутатиона с электрофильными препаратами, вызывая их быструю экскрецию из клетки. В ферментах, принимающих участие в детоксикации организма и связанных с системой глутатиона, встречается генетический полиморфизм. Связь полиморфизма

с эффектом проводимой ХТ и качеством жизни является темой многочисленных исследований [23].

В этой связи хочется обратить внимание на факт наличия глутатиона в ряде лекарственных препаратов, зарекомендовавших себя как гепатопротекторы и применяемых врачами параллельно с проведением курсов ХТ в качестве терапии сопровождения. Между тем, такое одновременное назначение препаратов снижает эффективность ХТ. Показано, что в исследованиях *in vitro* «добавление антиоксидантов вызывает не только блокирование апоптоза, но и активирование пролиферации клеток» [16].

Традиционно в качестве препаратов, влияющих на ликвидацию мембранной составляющей синдрома МЛР, используются ингибиторы кальциевых каналов, такие как верапамил и нифедипин.

Целесообразно отметить, что в последнее время распространилась тенденция к отмене гормонотерапии во время проведения курсов лучевой терапии и ХТ. Ссылка на источники литературы с упоминанием такого нововведения у adeптов возникшего течения добиться довольно сложно. Вместе с тем в руководствах по ХТ присутствует фраза: «Непрерывным курсом назначаются только гормоны и антигормоны» [19], причем длительность проведения гормонотерапии у некоторых категорий пациентов исчисляется годами. Кроме того, в доступной литературе имеются данные о механизме действия тамоксифена как индуктора апоптоза [16]. А как известно, целью проведения ХТ также является индукция апоптотической программы в ОК, то есть синхронное назначение химиопрепаратов и антиэстрогенов повышает эффект проводимой противопухоловой терапии. Эта парадигма подтверждена результатами клинических наблюдений [5].

К ядерным механизмам резистентности следует отнести такие физиологические реакции клеток на воздействие вредных веществ, как полиплоидия, амплификация генов, репарация ДНК и рекомбинация.

Полиплоидия является наиболее хорошо изученным феноменом ХР. По данной проблеме существует множество экспериментальных работ и аналитических обзоров [1, 7]. Содержательные материалы по проблеме можно найти в статьях и монографиях коллектива Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого Национальной академии наук Украины [6].

Амплификация генов является эволюционно приобретенным механизмом, позволяющим клетке выжить при воздействии на нее токсических веществ. Открытие данного феномена связано с выявлением экстрахромосомных копий гена, кодирующего дегидрофолатредуктазу в клетках китайского хомячка, устойчивых к метотрексату. Наиболее известным фактом, нашедшим отражение в изменении тактики лечения больных с эпителиальными опухолями молочной железы, является амплификация гена рецептора эпидермального фактора ро-

ста (epidermal growth factor receptor — EGFR) *Her-2/neu*. *Her-2/neu* относится к семейству трансмембранных тирозинкиназных рецепторов, контролирующей пролиферацию клеток, их дифференцировку и выживание. Белки данного семейства, как и большинство трансмембранных белков, имеют внеклеточный, трансмембранный и внутриклеточный домены. Внутриклеточный домен является местом локализации тирозинкиназы. Полимеризация белков *Her-2/neu* вызывает фосфорилирование этого домена, что, в свою очередь, запускает цепную реакцию фосфорилирования белков сигнальных каскадов, стимулирующих клеточную пролиферацию. В норме комплекс рецептор-лиганд, находящийся во внутриклеточном компартменте, является короткоживущим и разрушается в лизосомах путем диссоциации и последующей деградации. Однако при гиперэкспрессии *Her-2/neu* эти механизмы не срабатывают [21]. Повышенное содержание EGFR выявлено на поверхностных мембранах клеток многих опухолей: рака молочной железы (РМЖ), немелкоклеточного рака легкого, плоскоклеточных новообразований головы и шеи, опухолей желудочно-кишечного тракта, яичника, мочевого пузыря и некоторых других локализаций [12]. В 1987 г. опубликовали первые данные о корреляции амплификации и гиперэкспрессии *Her-2/neu* с агрессивным течением и неблагоприятным прогнозом РМЖ [36]. Вскоре были получены мышиные МкАТ к различным эпитопам внеклеточного домена *Her-2/neu*, из которых, по результатам подавления роста перевиваемой линии клеток РМЖ с амплифицированным *Her-2/neu*, отобрано МкАТ 4D5. В дальнейшем проведено его «гуманизирование»: 95% мышиного МкАТ было заменено последовательностями, характерными для иммуноглобулина человека; в конечном продукте осталось 5% первоначального мышиного иммуноглобулина, представленного вариабельным участком, что позволило сохранить высокий аффинитет связывания с лигандом [12, 21]. Применение трастузумаба — первого МкАТ к одному из эпитопов *Her-2/neu* — позволило увеличить продолжительность жизни пациенток с *Her-2/neu*+ РМЖ до уровня выживаемости больных с *Her-2/neu*– опухолями. Тем не менее у ряда пациенток может развиваться резистентность и к этому препарату с последующим прогрессированием заболевания [28].

Лекарственная резистентность и система репарации ДНК. Внимание исследователей в последние годы привлекает система репарации ДНК, так как клинический эффект отдельных алкилирующих агентов, интеркаляторов и некоторых антиметаболитов напрямую связан с активностью ферментов данной системы [23].

Особое внимание уделяют генам *BRCA* [29, 30, 32, 33, 35]. Ген *BRCA1* был идентифицирован в 1994 г. с помощью позиционного клонирования на длинном плече хромосомы 17 [30]. *BRCA2* был картирован на 13q-хромосоме и выделен в 1995 г. [39].

При цитогенетических исследованиях опухолей молочной железы и яичника были зарегистрированы делеции областей локализации этих генов. С введением в клиническую практику метода полимеразной цепной реакции стала возможной идентификация мутаций названных генов. Оказалось, что большинство мутаций ассоциированы со случаями семейного рака яичника и РМЖ; кроме того, мутации в генах *BRCA* описаны при опухолях предстательной, поджелудочной железы, при РМЖ у мужчин [8, 15, 29, 30].

Молекулярная анатомия *BRCA*. Ген *BRCA1* содержит 22 кодирующих экзона, на которые приходится около 100 килобаз геномной ДНК. Белковый продукт гена содержит 1863 аминокислоты. В N-концевой части белка расположен RING домен, затем следует участок связывания с продуктом «хранителя генома» p53, участок связывания с NLS (обеспечивает ядерную локализацию протеина), домен взаимодействия с RAD51, сайты связывания с CHK2 и ATM. C-Терминальный конец содержит 2 BRCT домена, способных взаимодействовать с p53, РНК-хеликазой А и белком BRCA2 [29]. RING домен кодируется 2–6 экзонами гена, участок связывания с RAD51 локализуется в 11-м экзоне. Примечательно, что *BRCA1* чрезвычайно обогащен Alu-повторами [32].

N-Терминальный участок *BRCA2* причастен к активации транскрипции, в средней части гена расположены восемь BRC мотивов, отвечающих за взаимодействие с Rad51. Сигнал ядерной локализации (NLS) размещен ближе к C-терминальному участку гена [29].

***BRCA* и система репарации ДНК.** Одним из первых доказательств участия белка *BRCA1* в процессе восстановления поврежденной ДНК служит факт, что он перемещается в сайты репликативных виллок и подвергается гиперфосфорилированию [35]. Последующие работы продемонстрировали, что *BRCA1* причастен к репарации одно- и двунитевых разрывов ДНК, входит в состав мультибелкового комплекса, инициирующего гомологичную рекомбинацию и, очевидно, участвует и в работе системы репарации неспаренных оснований ДНК. *BRCA1* связывает, в частности, белки, ответственные за гомологичную рекомбинацию и репарацию разрывов ДНК (Rad50, Rad51, *BRCA2*), а также компоненты систем репарации (MSH2, MSH3, MSH6, MLH1 и др.). В исследованиях, посвященных определению локализации *BRCA1* (с использованием МкАТ к его эпитопам), показано, что он присутствует в ядре вместе с белками-партнерами, рекрутируя комплексы Rad50-Mre11-NBS1, что подготавливает концы разорванной ДНК к репарации [29, 32].

Центральной фигурой комплекса репарации является Rad51 — аналог бактериального RecA белка, одного из ключевых в системе общей (гомологичной) рекомбинации. При воздействии мутагенов на бактерии продукция RecA возрастает настолько,

что составляет около 34% общего белкового синтеза. RecA белок обладает несколькими ферментативными активностями. Он связывается с одно- и двуниевыми ДНК, расщепляет аденозинтрифосфат, проявляет протеолитическую активность. Отличительной особенностью данного пептида является его зависимость от одонитевой ДНК, наличие которой инициирует ферментативную активность RecA [22]. Rad51 покрывает одонитевой участок ДНК и формирует нуклеопротеидные филаменты, обеспечивающие гомологичную рекомбинацию.

Физиологическая роль продуктов гена *BRCA2* до настоящего времени менее изучена. Дефектные по этому гену клетки демонстрируют повышенную чувствительность к ионизирующей радиации, накапливают хромосомные разрывы и аномальные митозы при культивировании *in vitro*. Аналогичные изменения отмечены в клетках, дефектных по Rad51. Это наводит на мысль о тесной функциональной связи Rad51 и *BRCA2*. В *BRCA2* дефектных клетках регистрируется снижение внутриядерной концентрации Rad51, что позволяет предположить участие *BRCA2* в адресной доставке Rad51 из места его синтеза к сайту поврежденной ДНК [26].

Мультибелковые комплексы (в том числе включающие *BRCA1* и *BRCA2*), задействованные в регуляции фундаментальных процессов в клетке, как правило, являются короткоживущими. В связи с этим получить прямые воспроизводимые доказательства участия того либо иного белка в изучаемом процессе практически невозможно. Поиск белковой функции основывается преимущественно на косвенных доказательствах: выяснении локализации белка в том или ином клеточном компартменте путем применения МкАТ, в зависимости от фаз клеточного цикла, степени дифференцировки клеток. Использование МкАТ к эпитомам различных белков на одних и тех же гистологических срезах дает возможность оценки формирования мультибелковых комплексов для выполнения определенной клеточной функции. Другим методологическим подходом является изучение белковой и матричной РНК экспрессии в различных вариантах клеточных культур, отличающихся определенными генетическими дефектами. С открытием феномена РНК-интерференции [27, 37, 38], которое было отмечено Нобелевской премией в 2006 г., получен мощный инструмент, позволяющий нокаутировать функцию того или иного гена, а затем оценить морфологические, функциональные и молекулярно-генетические изменения, происходящие в культуре клеток после сайленсинга тестируемого гена si-RNA.

Важные данные, свидетельствующие об участии генов *BRCA* в репарации ДНК, определяющей чувствительность ОК к цитостатикам, получены на клеточных культурах. Линия перевиваемой культуры НСС1937 (первоначально полученной из РМЖ пациентки с *BRCA1* мутацией зародышевого типа) была трансфицирована вектором, несущим дикий

тип *BRCA1*. После трансфекции клетки продемонстрировали повышение чувствительности к таксанам и винорельбину [14, 34].

При слаженной работе систем репарации ДНК в клетке назначения в монорежиме химиопрепаратов, непосредственной мишенью которых являются нуклеиновые кислоты, недостаточно, так как аддукты ДНК химиопрепарата сразу же будут удалены системой репарации нуклеиновых кислот. Кроме этого, назначение ХТ без учета генетических параметров ОК отдельного пациента, только по существующим стандартам (нивелирующим индивидуализацию лечения), может привести к повышению уровня генетической нестабильности в ОК и ускорить процесс отбора наиболее злокачественных клонов, интенсифицируя опухолевую прогрессию и метастазирование.

Рассмотрим это на конкретном примере. Цисплатин (ЦП), один из наиболее часто назначаемых химиопрепаратов при опухолях различной локализации, ковалентно связывается с атомом азота в 7-м положении пуринов (аденина и гуанина). Одна молекула ЦП соединяется с двумя нуклеотидами, образуя внутрицепную сшивку. Реже, приблизительно в 5%, ЦП формирует сшивки между цепями. Одним из механизмов, определяющих резистентность к данному препарату, является повышенная активность ферментов системы эксцизионной репарации, в частности ERCC1 [23]. Высокая экспрессия ERCC1 ассоциирована со сниженной чувствительностью опухоли к препаратам платины. Наличие полиморфизма AAC AAT в 118-м кодоне ERCC1 связано со снижением экспрессии гена и увеличением эффекта при воздействии препаратов этой группы. Ферменты эксцизионной системы репарации способны удалять ошибочно спаренные нуклеотиды, а также петли длиной не более 3 нуклеотидов. В то же время во многих генных последовательностях существуют участки, в которых количество подряд расположенных пуринов превышает 3 нуклеотида. Связавшись с препаратами платины, такие последовательности становятся «не по зубам» ферментам системы эксцизионной репарации неспаренных нуклеотидов. Для удаления участков поврежденной ДНК в таких случаях задействована система репарации, «действующими лицами» которой, помимо прочих участников, являются продукты генов *BRCA*.

Оксалиплатин (ОП), по сравнению с ЦП, имеет более громоздкую формулу и демонстрирует эффективность как при исследовании на клеточных линиях, устойчивых к ЦП, так и в клинической практике в случаях прогрессирования заболевания на фоне лечения ЦП [12]. Напрашивается вывод, что ДНК-аддукты, полученные при воздействии ОП, не имеют пространственного соответствия с ферментами, осуществляющими эксцизионную репарацию и рекомбинацию, не взаимодействуют с ними, поэтому данный препарат оказывает цитотоксический

эффект и при наличии активности системы репарации ДНК. Вместе с тем ЦП, карбоплатин и ОП значительно различаются по стоимости. Возможно, назначение ОП является «непростительной роскошью» в случаях генетических и эпигенетических нарушений в генах *BRCA*, так как в этой ситуации достаточно назначения ЦП либо карбоплатина. Данное положение может служить основанием для проведения рандомизированных исследований.

Как уже отмечалось, полагают, что *BRCA* связывает участки двунитевых разрывов, осуществляя транспорт Rad51 к месту повреждения ДНК [26, 34]. Подтверждением предположения об участии продукта гена *BRCA2* в общей транспортной системе жизнеобеспечения клетки является также факт большей частоты «трижды негативных» случаев РМЖ среди *BRCA*-ассоциированных опухолей молочной железы по сравнению с общей выборкой пациенток с РМЖ [17].

Рассмотренное выше предположение косвенно подтверждается и клиническими фактами о неэффективности у больных с дефектами в генах *BRCA* химиопрепаратов группы таксанов [12] и алкалоидов барвинка [33]. Мишень действия таксанов — тубулин, полимеризация которого приводит к образованию микротрубочек. Последние, кроме канонической функции — формирования митотического веретена, входят в состав цитоскелета в клетке, образуя при полимеризации тубулина полые внутри структуры. Эти структуры используются клеткой не только в качестве каркаса, но и в качестве систем, по которым осуществляется транспорт веществ (подобно старому римскому акведуку, выполняющему двойную функцию — пешеходного моста и водопровода). Клетка пользуется микротрубочками для адресной доставки вещества в нужное время и место, осуществляя принцип компартментализации. Таксаны не препятствуют полимеризации, а наоборот, усиливают этот процесс, обрывая деполимеризацию тубулина. Микротрубочки в результате воздействия таксанов получают неправильной, звездчатой формы и не способны адекватно выполнять возложенную на них природой функцию [12]. Алкалоиды барвинка, напротив, препятствуют полимеризации тубулина, и микротрубочки либо не образуются вообще, либо формируют нецелостные структуры [12]. Таким образом, в основе действия химиопрепаратов растительного происхождения, мишенью которых являются микротрубочки, лежит блокада доставки некоторых ферментов, обеспечивающих рекомбинацию и вовлеченных в систему репарации ДНК. Цель и смысл проведения ХТ таксанами и алкалоидами барвинка — индукция запрограммированной гибели ОК как в митозе путем блокирования образования полноценного веретена, так и в интерфазном ядре путем блокады адекватного транспорта по системе микротрубочек, следствием чего является отсутствие компартментализации. Заключительным этапом возрастающего клеточно-

го хаоса при условии отсутствия мутаций в проапоптотических генах является апоптоз. Альтернативный вариант развития событий подразумевает повышение уровня генетической нестабильности и малигнизации нормальной клетки либо увеличение злокачественного потенциала клеток опухоли. Очевидно, что при сбое в системе репарации ДНК увеличение злокачественного потенциала будет происходить более быстрыми темпами.

Резонно предположить, что назначение таксанов и алкалоидов барвинка целесообразно для воздействия на те опухоли, в клетках которых отсутствуют генетические и эпигенетические изменения в генах системы репарации ДНК. В случаях, когда белки системы репарации генетически дефектны, назначение химиопрепаратов растительного происхождения вряд ли правомочно. Сочетание названных выше препаратов с антрациклинами, производными платины либо фторпиримидинами является фактически попыткой компенсировать в клинической практике отсутствие данных об активности системы репарации ДНК каждого пациента. Этот постулат подтверждается эффективностью эмпирически обоснованных режимов лечения больных РМЖ: паклитаксел и капецитабин, доцетаксел и капецитабин, винорельбин и капецитабин, доцетаксел и доксорубин, карбоплатин и паклитаксел [23].

Вместе с тем данная категория больных (с *BRCA*-ассоциированными опухолями) при назначении адекватной ХТ демонстрирует лучший ответ на лечение. В частности, отмечена парадоксально высокая чувствительность *BRCA*-ассоциированных опухолей (РМЖ с мутациями в *BRCA1*) к неоадьювантной терапии ЦП: частота полных патоморфологических ответов — 83%, а также повышение общей и безрецидивной выживаемости [25, 31].

Ряд авторов отмечают лучшую выживаемость у лиц с генетическими и эпигенетическими мутациями в генах *BRCA* в сравнении со случаями спорадического рака [14]. Объяснением данного парадокса может служить лишь предположение о вовлечении иммунной системы в процесс опухолевой прогрессии не в качестве инструмента противоопухолевой защиты, а в качестве «пособника» опухолевого роста и метастазирования. Представления о роли иммунной системы при опухолевом росте были сформулированы более 50 лет тому [3]. По аналогии с противомикробным иммунитетом, появление в опухолевой ткани «чужих» антигенов, индуцированных вирусами и канцерогенами, должно стимулировать иммунный ответ и элиминацию чужеродных антигенов из макроорганизма (данное положение легло в основу концепции иммунологического надзора). Следствием этой логической выкладки явились положения о несостоятельности иммунной системы при опухолевой болезни и необходимости иммуностимуляции. Однако дальнейшие исследования выявили, что наряду с развитием противоопухолевых реакций происходит блокирование эффектор-

ного звена иммунной системы, а в ряде случаев — иммуностимуляция опухолевого роста [18, 20, 24].

Очевидно, что при более интенсивной работе иммунной системы на фоне опухолевого роста следует ожидать худшего прогноза заболевания, чем в ситуации, когда иммунная система работает «на малых оборотах». Так как процесс синтеза иммуноглобулинов невозможен без предварительной реаранжировки генома, сопровождающейся гомологичной рекомбинацией, резонно предположить, что у лиц с дефектами *BRCA* генов, являющихся участниками гомологичной рекомбинации, возникает иммунодефицит.

Исследованиями, проведенными в Донецком областном противоопухолевом центре [4], также показано, что иммунная система принимает активное участие в становлении и развитии опухолевой болезни. У пациентов с раком желудка с благоприятным вариантом течения заболевания зарегистрированы достоверно более высокие значения в реакции подавления прилипания лейкоцитов (11,25 против –1,45) с антигенами нормальной слизистой оболочки желудка. Аутосыворотка пациентов при неблагоприятном прогнозе опухолевой болезни чаще усиливала реакцию с опухолевыми антигенами; у пациентов с благоприятным прогнозом регистрировали вариант блока реакции или отсутствие влияния аутосыворотки. При оценке эффекта эндолимфатической ХТ у больных с распространенным РМЖ и раком яичника в случае достижения полной либо частичной регрессии опухоли зафиксировано снижение интенсивности реакции к опухолевым антигенам и повышение аффинитета к антигенам нормальной ткани [11].

Одной из важнейших функций иммунной системы является формообразующая, контролирующая пролиферацию и дифференцировку лимфоидных и соматических нелимфоидных клеток [2]. Так как в норме эти процессы невозможны без генетической нестабильности, и в них принимают участие ферменты системы рекомбинации и репарации, логичным будет предположение о более частых и выраженных осложнениях при проведении лучевой терапии и ХТ у больных с генетическими дефектами систем рекомбинации и репарации ДНК. К сожалению, эти генетические особенности не всегда учитываются стандартами проведения лечения.

Представленные данные указывают на необходимость назначения ХТ с учетом молекулярно-генетических особенностей пациента. Из-за сложившейся экономической ситуации в Украине молекулярно-генетическое тестирование может быть заменено недорогим методом, разработанным в Донецком областном противоопухолевом центре [10]. Как правило, мутации в генах *BRCA* носят характер *germ-line* мутаций, то есть представлены во всех тканях организма, включая лимфоциты. Использование лимфоцитов периферической крови в качестве объекта генетического тестирования является удобным

малоинвазивным методом. Теоретическими предпосылками для использования мононуклеаров периферической крови в качестве индикатора чувствительности ОК к специальному лечению стали данные о том, что циркулирующая внеклеточная ДНК является «зеркалом» генетических и эпигенетических событий, происходящих в тканях макроорганизма, в том числе и в опухолевой. Характеристики циркулирующей внеклеточной ДНК большого онкологического профиля, как правило, коррелируют со спектром мутаций и эпигенетических нарушений в опухоли.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Автандилов ГГ.** Диагностическая медицинская плоидометрия. Москва: Медицина, 2006. 192 с.
2. **Бабаева АГ.** Прошлое, настоящее и будущее проблемы лимфоидной регуляции пролиферации нелимфоидных клеток. Бюл эксп биол мед 1995; **9**: 230–4.
3. **Бернет ФМ.** Клеточная иммунология. Москва: Мир, 1971. 480 с.
4. **Бондарь ГВ, Кайряк ОВ.** Напряженность иммунного ответа к антигенам нормальной ткани как показатель естественной противоопухолевой резистентности у больных раком желудка. В: Тез докл конф «Віддалені наслідки опромінення в імунній та гемопоетичній системах». Київ, 1996: 198–9.
5. **Бондарь ГВ, Лисовская НЮ, Кайряк ОВ и др.** Химиотерапия в комбинированном лечении распространенного рака яичников. Пробл совр мед науки образов 2009; **2**: 33–7.
6. **Ганина КП.** Цитогенетическая диагностика в онкомоρφологии. Киев: Наукова думка, 1980. 173 с.
7. **Грабовой АН, Великошапко СД.** Содержание нуклеиновых кислот в ядрах клеток уротелиального рака мочевого пузыря. Клини онкол 2014; (4 (16)): 70–4.
8. **Ельчева ИА, Гаспарьян АВ, Карселадзе АИ и др.** Молекулярно-генетические нарушения в области локализации гена *BRCA-1*, ассоциированные с карциномами яичников. Мол биол 1998; **32** (2): 277–84.
9. **Иванов СД, Акимов АА, Акимов МА и др.** Молекулярно-клеточные механизмы устойчивости опухоли к цитостатикам и возможные пути преодоления этой химиорезистентности. Усп совр биол 2001; **121** (2): 198–210.
10. **Кайряк ОВ, Лисовская НЮ.** UA, патент № 31502A від 15.12.2000, МПС. Оpubлікован бюл № 7–11.
11. **Кайряк ОВ, Лисовская НЮ.** Критерии эффективности эндолимфатической химиотерапии у больных распространенным раком молочной железы и яичников. Укр химиотер журн 2000; **4**: 17–21.
12. **Корман ДБ.** Основы противоопухолевой химиотерапии. Москва: Практическая медицина, 2006. 512 с.
13. **Леонтьева ОВ.** Молекулярные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолей. Антибиот химиопреп 1995; **40** (5): 48–60.
14. **Любченко ЛН, Портной СМ, Брюзгин ВВ и др.** Клинико-молекулярные аспекты наследственного рака молочной железы. Мол мед 2007; **1**: 8–15.
15. **Панферова ЕВ, Писарева ЛФ, Одинцова ИН и др.** Наследственный первично-множественный рак молочной железы и яичников (клинический случай). Сиб онкол журн 2014; **1** (61): 54–7.
16. Программированная клеточная гибель / Под ред: **ВС Новикова.** СПб: Наука, 1996. 276 с.
17. **Сивак ЛА, Верьовкіна НО, Лялькін СА.** Прогностичні фактори при раку грудної залози. Сучасний стан проблеми. Клини онкол 2014; (4 (16)): 46–9.

18. **Соснина АВ, Великая НВ, Аугеншлюс АИ.** Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск: Вектор-Бест, 2013. 87 с.
19. Справочник по онкологии / Под ред.: *СА Шалимова, ЮА Гриневича, ДЕ Мясоедова.* Киев: Здоров'я, 2008: 574 с.
20. **Уманский ЮА.** Иммунологическая реактивность при раке. Киев: Здоров'я, 1974. 240 с.
21. **Хансон КП, Имянитов ЕН.** Онкоген ERBB2/HER2: от молекулярной к клинической онкологии. *Вопр онкол* 2002; **2**: 137–45.
22. **Хесин РБ.** Непостоянство генома. Москва: Наука, 1985. 472 с.
23. **Чу Э, Де Вита В.** Химиотерапия злокачественных образований. Москва: Практика, 2008. 447 с.
24. **Шевченко ОВ, Шевченко ВолО, Шевченко ВО.** Специфічна імунна реакція організму як ініціюючий і промоторний фактор канцерогенезу. *Журн АМН України* 2006; **10** (1): 50–64.
25. **Byrski T, Gronwald J, Huzarski T, et al.** Pathologic complete response rates in young women with *BRCA1*-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2010; **28**: 375–9.
26. **Davies AA, Masson JY, McIlwrath MJ, et al.** Role of *BRCA2* in control of the *RAD51* recombination and DNA repair protein. *Mol Cell* 2001; **7**: 273–82.
27. **Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al.** Potent and specific genetic interference by doublestranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; **391** (6669): 80611.
28. *HER-2* таргетная терапия метастатического рака грудной железы: механизм действия, эффективность и профиль безопасности представителя нового класса препаратов трастузумаб эмтансина. *Клин онкол* 2014; (4 (16)): 41–5.
29. **Kiyotsugu Y, Miki Y.** Role of *BRCA1* and *BRCA2* as regulators of DNA repair, transcription and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci* 2004; **95** (11): 866–71.
30. **Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al.** A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 1994; **266**: 66–71.
31. **Moiseyenko VM, Protsenko SA, Brezhnev NV, et al.** High sensitivity of *BRCA1* associated tumors to cisplatin monotherapy: report of two cases. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; **197**: 911–4.
32. **Pavlicek A, Noskov V, Kouprina N, et al.** Evolution of the tumor suppressor *BRCA1* locus in primates: implications for cancer predisposition. *Human Mol Genet* 2004; **13** (22): 2737–51.
33. **Quinn JE, Colin RJ, Stewart GE, et al.** *BRCA1* mRNA expression levels predict for overall survival in ovarian cancer after chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2007; **13** (24): 7413–20.
34. **Romanowicz-Makowska H, Smolarz B, Zadrozny M, et al.** Analysis of *RAD51* polymorphism and *BRCA1* mutations in Polish women with breast cancer. *Exp Oncol* 2006; **28** (2): 156–9.
35. **Scully R, Chen J, Ochs RL, et al.** Dynamic changes of *BRCA1* subnuclear location and phosphorylation state are initiated by DNA damage. *Cell* 1997; **90**: 425–35.
36. **Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al.** Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of *HER-2/neu* oncogene. *Science* 1987; **235**: 177–82.
37. **Tabara H, Sarkissian M, Kelly WG, et al.** The *rde-1* gene, RNA interference, and transposon silencing in *C. elegans*. *Cell* 1999; **99** (2): 123–32.
38. **Timmons L, Fire A.** Specific interference by ingested dsRNA. *Nature* 1998; **395** (6705): 854.
39. **Wooster R, Biggnel G, Lancaster J, et al.** Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*. *Nature* 1995; **378**: 789–92.

SOME ASPECTS OF CHEMORESISTANCE PROBLEM

Yu. V. Dumanskiy, O. V. Kaireak, V. K. Marunich

Summary. *Data are analyzed about some molecular mechanisms of chemoresistance of malignant tumors and the clinical aspects of such analysis are considered. In particular, authors pay attention to pointlessness of the use of preparations, containing a glutathione, as therapy of accompaniment during realization of chemotherapy, because it conduces to the decline of effect of treatment. It is marked that realization of therapy tamoxifen during the course of chemotherapy strengthens its action, because besides a antiestrogen function, preparation is the inductor of apoptosis. Data, coming from that activity of genes of BRCA, participating in reparation of DNA, can serve as a parameter, dictating a choice between setting of taxanes and preparations of platinum, are considered. Chemotherapy is desirable to individualize taking into account the molecular-genetic features of tumor, or by determination of individual sensitivity, including by a method, worked out in the Donetsk Regional Antitumoral Center.*

Key Words: DNA reparation system, genes *BRCA*, taxanes, vincaloides, platinates, individualization of chemotherapy.

Адрес для переписки:

Думанский Ю.В.
84404, Красный Лиман, ул. Кирова, 27
Донецкий национальный медицинский
университет им. Максима Горького
E-mail: oncologdopc@gmail.com

Получено: 19.10.2015