

УДК 576.8+615.849616-006.04

©Иванов

## ПРЕДИКТИВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ЛУЧЕВУЮ И ХИМИЛУЧЕВУЮ ТЕРАПИЮ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

*С.Д. Иванов*

ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий  
МЗСР РФ, 197758 Санкт-Петербург, Песочный, ул. Ленинградская д. 70;  
тел.: (812)596-6703; факс: (812)596-6705; эл. почта: sergey.d.ivanov@mail.ru

В последние годы возрос интерес к радиогеномике и характеристике молекулярных профилей экспрессии ДНК, которые могут позволить предсказать ответ на облучение опухолей и неопухолевых тканей (НТ). Проведенные к настоящему времени исследования, выполненные на банках образцов опухолей и НТ в различных странах мира, свидетельствуют, что в перспективе маркерами для предсказания ответа конкретного больного на планируемую лучевую терапию (ЛТ) могут явиться некоторые показатели апоптоза, спектр ряда специализированных белков, а также профили молекулярного считывания ДНК и определение полиморфизма одиночных нуклеотидов в геноме пациентов. К настоящему времени имеется всего несколько надёжных молекулярных маркеров, предсказывающих ответ опухоли и НТ на облучение.

**Ключевые слова:** опухоли и неопухолевые ткани; эффективность лучевой терапии; предиктивное биотестирование; биохимические маркеры.

**ВВЕДЕНИЕ.** Согласно данным обзора Королевского колледжа радиологов Великобритании, успешное лечение онкологических больных в настоящее время осуществляется, прежде всего, с использованием хирургического вмешательства – 49%, а вклад лучевой (ЛТ) и химиотерапии (ХТ) составляет 40% и 11%, соответственно [1]. Вместе с тем подсчитано, что, несмотря на все технические совершенствования, ЛТ эффективна примерно у 52% онкологических больных, которым подводится такой вид лечения самостоятельно или в комплексе с другими лечебными мероприятиями [2]. Одной из причин низкой эффективности ЛТ может быть её назначение без учёта степени радиочувствительности опухолевых клеток у конкретного пациента, изменения активности системы репарации ДНК после облучения, а также ряда других, связанных с ними параметров в процессе лечения. Принятие в расчёт чувствительности к химиопрепаратам уже используется при некоторых видах целевой ХТ онкологических больных (например, при назначении трастузумаба и тамоксифена) [3], но оно ещё не применяется в случае ЛТ, так как в клинической практике отсутствуют соответствующие предиктивные способы биотестирования.

На основании определения предиктивных маркеров можно осуществить отбор пациентов, которым целесообразно проведение той или иной схемы лечения. В отличие от прогностических факторов, которые являются показателями биологии развития опухолевого процесса при различных схемах лечения, предиктивные маркеры позволяют получить информацию о пользе для

## ПРЕДИКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ В ОНКОЛОГИИ

конкретного пациента планируемой терапии. Это одна из основ индивидуализации лечения. Определение таких биомаркеров чаще всего включает исследование тканей опухоли или анализ крови, направленное на выявление чувствительности или резистентности к планируемой схеме терапии. Конечной целью такого биотестирования является идентификация показателя, который способен помочь врачу принять решение о проведении той или иной схемы лечения. Вместе с тем способы определения маркеров должны быть достаточно оперативными, что позволит вести мониторинг проводимой терапии, так как изменения метаболизма в организме больного могут привести к снижению и даже потере эффективности исходно запланированного лечения. Поиск таких биомаркеров уже начался. Однако до настоящего времени межотраслевые клинические исследования, включающие анализ на молекулярном уровне (см. ниже), ещё не позволили сделать однозначных выводов. Предсказание результата лечения с учётом радиочувствительности позволит не только отобрать тех больных, кто будет реагировать на протокольную схему ЛТ, но также поможет тем, кто не будет реагировать или могут воздержаться от неё в пользу проведения другой схемы лечения.

В 2002 г. проблема предиктивного тестирования радиочувствительности онкологических больных была представлена в виде проекта координации исследований этого направления Международным Агентством по Атомной Энергии (МАГАТЭ) [4]. Когда возможности молекулярного тестирования уже не могли быть непризнанными, в 2005 г. МАГАТЭ организовало встречу в Амстердаме, чтобы придать этой проблеме международное звучание. В сообщении об этой встрече были выделены лишь некоторые из проведённых такого рода исследований, а также новые инициативные разработки, выполняющиеся в мире на банке образцов опухолей и неопухолевых тканей (НТ), которые могут представлять собой фундамент развития молекулярных маркеров для предсказания ответа пациента на ЛТ [5]. Исследования развивались исходя из ранее известных клинических тестов (например [6]), а также тестов, основанных на цитологических анализах, в которых математически было показано, что общий положительный результат лечения для совокупности больных теоретически может быть достигнут, если дозы облучения изменялись с учётом радиочувствительности клеток пациентов [7].

Однако к концу XX - началу XXI века уже стало ясно, что тестам, основанным на анализе клеток, не хватает чувствительности и специфичности. Например, миелосупрессия, будучи информативным предиктором при оценке эффективности комбинированной и адъювантной химиотерапии больных раком молочной железы (РМЖ) или лимфомой Ходжкина, оказалась не значимым показателем при органосохраняющем лечении больных раком мочевого пузыря [8-12]. Кроме того, результат такого тестирования может быть получен лишь после начала лечения больного. В перспективе более надёжными, с более широким спектром применения и способными к лучшей стандартизации представляются молекулярные тесты [5, 13, 14]. Вскоре после этого был опубликован проект разработки генетических предикторов неблагоприятных эффектов ЛТ (GENE-PARE) [15]. Полагали, что в результате реализации этого проекта будет получена информация, которая позволит на основании генетических данных оптимизировать лечение с учетом индивидуальных особенностей больного. Затем в 2008 г. в Колумбийском университете Нью-Йорка было организовано совещание “Предсказание индивидуальной радиочувствительности: технологии настоящего и будущего” [16]. Одной из задач этой встречи явилось обсуждение значения индивидуальной радиочувствительности для разработки предикторных показателей ранних и отдалённых последствий облучения, которое произошло в результате применения ЛТ, так как врачи-радиологи располагают достаточно большим числом таких наблюдений. Идентификация молекулярных маркеров предсказания ответа конкретного пациента на ЛТ становится центральной в этой области исследований.

В России назначение ЛТ онкологическим больным пока основывается на комплексе клинических данных о характере опухолевого процесса, прогнозе его распространения, состояния самого больного, его возраста, сопутствующих заболеваний, а также на интуитивном решении врача, зависящим от его личного опыта. Учитываются также такие косвенные показатели как радиочувствительность ткани, из которой возникла опухоль, индекс опухолевого роста, гематологические параметры – уровень гемоглобина, число лейкоцитов крови, групповые статистические данные и ряд других. Наряду с этим необходимо отметить, что биологические процессы в каждой опухоли даже одного гистопатологического типа чрезвычайно гетерогенны по своей реакции на облучение. Реакции опухолей и неопухолевых тканей (НТ) на лучевое воздействие каждого пациента индивидуальны, что в итоге влияет на терапевтический эффект ионизирующего излучения у конкретного больного. Поэтому важна разработка объективных биологических маркеров, которые могли бы предопределить реакцию опухолей и организма конкретного пациента на планируемую схему ЛТ, и тем самым индивидуализировать лечение. Однако в настоящее время в России учёт результатов определения радиочувствительности клеток опухоли и организма при ЛТ больных носит эпизодический характер. Отсутствие оценки радиочувствительности вносит свой вклад в то, что лишь 20-40% больных нашей страны получают ЛТ более адекватно из всей группы пролеченных таким образом пациентов [13] в сравнении с вышеупомянутой 52%-й величиной этого показателя за рубежом. Вместе с тем предпринимаются также различные способы радиомодификации и даже полирадиомодификации уровня радиочувствительности опухолей [17].

Задачей настоящего обзора явилось сделать не просто исчерпывающий анализ проведённых исследований в этом направлении, большинство которых пока еще не достигло поставленной цели, а обосновать новые пути адекватного решения поставленной проблемы.

## 1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ АНАЛИЗА.

### 1.1. Материал для исследований.

Результаты многочисленных количественных данных измерения радиочувствительности, которые апробировались для предсказания результатов ЛТ, к настоящему времени можно обобщить следующим образом. Часть такого рода тестов была направлена на предсказание чувствительности материала самих опухолей, тогда как в других пытались предсказать степени повреждения НТ (в том числе и клеток крови). Разработаны методы культивирования фибробластов, в которых показано наличие корреляции между результатами тестирования *in vitro* и ранними (но не отдалёнными) реакциями, наблюдавшимися в клинике [18]. Более адекватным для клиники представлялось использование микрокультивирования клеток собственно опухоли для определения их чувствительности к терапевтическим воздействиям [19]. Вместе с тем, следует отметить, что показатели радиочувствительности опухолевых клеток не всегда оказались достоверными предикторами эффективности ЛТ [20]. В то же время, если на гистологическом уровне окружающая опухоль ткань определялась ещё как нормальная, то уже на биохимическом уровне в ней наблюдался ряд аномалий, что давало основание не считать её нормальной. Эти аномалии включали нарушение метилирования [21, 22], укорочение теломер [23], изменённый ответ на введение эстрадиола [24], потерю экспрессии бета рецептора ретиноевой кислоты [25] и ряд других.

Результаты сопоставления полной экспрессии генов выявили различия транскрипции в эпителии здоровых пациенток (ЭЗП) в сравнении с транскрипцией ДНК в ткани гистологически нормально выглядящего эпителия терминальных дуктально-лобулярных долей больных раком молочной железы (РМЖ) – эпителии онкологических больных (ЭОБ) в диапазоне 1-2 см от новообразования [26]. В 82% случаев отмечены транскрипционные различия у ЭЗП и в CIS (*cancer in situ*), причём транскрипционный паттерн ЭОБ был более близок к CIS, чем к ЭЗП.

## ПРЕДИКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ В ОНКОЛОГИИ

При этом большинство генов транскрибировалось в ЭОБ менее активно, чем в ЭЗП. Авторы [26] пришли к выводу, что в эпителии онкологических больных, гистологически видимом ещё как нормальном, уже на ранних этапах развития новообразования имеет место сходная с опухолью аномалия глобальной экспрессии генов и, следовательно, нарушения метаболизма. Эти аномалии могут быть маркерами скрыто протекающей патологии, ответа ткани на существующую опухоль или риска заболевания. Выявление таких аномалий может улучшить понимание функциональных изменений уже на разных этапах процесса канцерогенеза, повысить оценку риска опухолеобразования и установить чувствительность онкологических больных к той или иной терапии. Позднее другими авторами также было показано, что образцы НТ больных РМЖ, представляющиеся гистологически нормальными, на биохимическом уровне уже отличались от аналогичных здоровых тканей одновозрастных пациентов [27]. При этом транскрипция 33 генов в 20% ткани, окружающей опухоль и гистологически кажущейся нормальной, лишь количественно несколько отличалась от экспрессии ДНК соответствующих новообразований.

В лучевой диагностике при оценке распространённости злокачественные новообразования (в частности глиомы) рассматриваются как относительно чётко контурируемый очаг контрастного усиления, иногда с центральной зоной некроза, окружённой перифокальным отёком. Однако такая модель опухолевой структуры является упрощённой для глиом, тенденция которых к инфильтрации смежных структур хорошо известна, и часто опухолевые клетки находят в зоне предполагаемого перитуморозного отёка, представленного как область изменённого сигнала без контрастного усиления. Серийные биопсии при оперативном вмешательстве у больных со злокачественными глиомами показали наличие опухолевых клеток на расстоянии более 3 см от очага контрастного усиления при компьютерной томографии, что подтверждалось данными магнитно-резонансной спектроскопии [28].

Следовательно, окружающая новообразование ткань должна рассматриваться как вероятное направление потенциального роста опухоли, а некоторые параметры этого матрикса могут быть использованы в качестве предиктивных показателей для планируемой терапии.

Периферическая кровь также является одним из компонентов опухолевого микроокружения. Ещё в 1990 г. в тотальной ДНК лейкоцитов крови с использованием системы двух флуоресцентных красителей (этидий бромида / 4',6-диамидино-2-фенилиндола) нами было обнаружено относительное увеличение доли аденин-тимин обогащённых сегментов на 30 сутки после облучения крыс, причём только у тех животных, у которых впоследствии возникали опухоли – плоскоклеточный рак лёгкого, лимфолейкозы, гепатоцеллюлярный рак [29]. Выявленные с помощью коэффициента относительной флуоресценции (КОФ) изменения в структуре ДНК нуклеотидов свидетельствовали о повышении в ней числа гетерохроматиновых областей, что, как известно, сопровождается конденсацией ДНК и снижением общей экспрессии [30]. Полученные нами результаты затем были верифицированы итогами использования показателя КОФ для ускорения отбора препаратов растительного происхождения, предотвращающих развитие РМЖ у самок крыс [31], а также данными других авторов о редукции спектра экспрессии ДНК НТ у больных РМЖ [26]. Кроме того, было продемонстрировано, что предсказание радиочувствительности на основании вышеупомянутого биохимического анализа тотальной ДНК крови, включающего применение флуоресцентных красителей (S-индекса), и связанное с изменением гетерохроматиновых областей в полинуклеотиде, коррелирует с числом нестабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах [32].

Затем было показано, что по ряду биохимических характеристик и показателям кинетики пострадиационной репарации ДНК, основные фракции лейкоцитов - лимфоциты и нейтрофилы онкологических больных отличались

от аналогичных клеток у здоровых пациентов, а лучевое терапевтическое воздействие на них приводило лишь к определенной степени нормализации измерявшихся параметров, наблюдающихся у здоровых людей [9, 33, 34]. У животных-опухоленосителей активность ряда ферментов в лейкоцитах также отличалась от аналогичных показателей у здоровых особей [35]. Недавно у собак с не-Ходжкинскими лимфомами выявлена корреляция между численными хромосомными аберрациями в ткани опухоли и в лимфоцитах периферической крови [36]. Эти результаты в определенной степени также согласуются с цитогенетическими данными о лимфоцитах онкологических больных [37]. Канцерогенным воздействиям подвергаются многие ткани и клетки организма (в том числе и крови, как интегрирующей системы организма), а озлокачиваются, в силу особенностей метаболизма, лишь органы-мишени. Следовательно, лейкоциты крови онкологических больных, скорее всего, следует рассматривать не как нормальные, а как ещё не озлокачиваемые. Вместе с тем, ряд параметров крови (такие, как число лейкоцитов, количество поврежденных лимфоцитов, антиоксидантная способность после воздействия) некоторые авторы предлагали считать предиктивными показателями при оценке индивидуальной радиочувствительности больных острым миелобластным лейкозом, не-Ходжкинскими лимфомами [38]. Эти данные дают основание говорить о возможных перспективах использования новых методов анализа периферической крови для предсказания радиочувствительности также и солидных новообразований, особенно когда определение чувствительности опухолевой ткани к планируемой терапии практически неосуществимо или по каким-либо причинам осложнено (например, опухоли головного мозга).

#### *1.2. Методы анализа.*

Длительное время доминировала точка зрения, что данные магнитно-резонансной томографии (МРТ), дополненные информацией о биохимических нарушениях в очаговом новообразовании, полученной с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), способствуют раскрытию генеза поражения, улучшению стадирования заболевания, выявлению крупных отдалённых крупных метастазов и обеспечивают точное планирование лечения, в том числе и ЛТ [39]. Причины несоответствий данных, полученных с помощью МРТ или компьютерной томографии (КТ) и ПЭТ, основанных на известных изменениях обмена глюкозы или аминокислот опухолевых клеток, объясняли чаще всего морфологической и функциональной неоднородностью каждого вида опухолей. Например, глиомы со сходными морфологическими проявлениями могли иметь различные метаболические характеристики и клиническое течение. Кроме того, возможны ошибки при анализе материала биопсии вследствие значительной гетерогенности опухолей, а также субъективизма патоморфологического анализа. Вместе с тем, по мере накопления данных, применение  $2\text{-}^{18}\text{F}$  – фтор-2-дезоксид-Д-глюкозы (ФДГ) для дифференциации опухолевого и неопухолевого генеза очагового поражения головного мозга в настоящее время некоторые исследователи считают уже малоинформативным [40]. Наибольшие трудности возникали в диагностике доброкачественных глиом с типичным отсутствием контрастного усиления при МРТ. Гипометаболизм глюкозы в опухолях головного мозга низкой степени злокачественности также не позволял отдифференцировать их от неопухолевых патологических процессов. Сначала предполагали, что более широким диагностическим спектром в ПЭТ диагностике таких опухолей должен обладать  $^{11}\text{C}$ -метионин, индекс накопления которого коррелировал с выживаемостью. Так, у больных с глиомами, имеющих уровень накопления этой метки, соответствующий злокачественным астроцитомам, наблюдалась быстрая прогрессия опухоли и низкая продолжительность жизни, и наоборот, при низком уровне накопления – длительный период ремиссии и значительная продолжительность жизни. Однако, затем появились данные, что в глиобластомах лишь 58,6% очага позитивной фиксации  $^{11}\text{C}$ -метионина

## ПРЕДИКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ В ОНКОЛОГИИ

совпадало с зоной контрастного усиления на МРТ [41]. Попытки выявить отдельные реакции, радикально отличающихся от нормы специфических нарушений обмена белков в таких гетерогенных, генетически нестабильных новообразованиях как опухоли, по-видимому, бесперспективны. Об этом свидетельствовал также предыдущий опыт многолетней работы соответствующих специалистов биохимиков [42]. Нет таких метаболических реакций, которые происходят в опухолях и которые не наблюдались бы в нормальных тканях. Различия носят в основном количественный характер [26, 27, 43]. Возможно, гипоксия, связанная с нарушениями энергетического или пластического метаболизма опухолевых клеток, модифицирует их радиочувствительность. Вместе с тем, данные, полученные, например, с помощью ПЭТ в сочетании с КТ, дают возможность планировать хирургическое вмешательство, а также оценить эффективность органосохраняющей терапии, но уже после начала лечения [44, 45]. Результаты этих исследований пока не позволяют предиктивно определить чувствительность опухолей к химиотерапевтическим препаратам и ЛТ, тогда как многолетний опыт высококвалифицированного врача - проф. А. Кутена (директора клиники онкологического центра "Рамбам", Хайфа, Израиль) свидетельствует о том, что "именно в онкологии критична первая ошибка, которую потом никак нельзя исправить" [устное персональное сообщение].

Цитогенетические исследования опухолей животных показали, что собаки с лимфомами, клинически сходными с не-Ходжкинской лимфомой человека, и несущими трисомию в 13 хромосоме как первичной аберрации, имеют лучшие возможности предсказания течения болезни, чем собаки с опухолями, несущими другие аберрации [46, 47]. Численные хромосомные аберрации (делеции, гиперанеуплоидии, трисомии) наблюдались в опухолях собак более часто, чем структурные изменения (типа транслокаций и перестроек) [47]. Проведение цитогенетического анализа или его модификации - флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) даёт возможность обеспечить определение радиочувствительности и мониторинг процесса лечения онкологических больных [37]. Однако, следует отметить, что процедура цитогенетического анализа достаточно длительна (одно только время инкубации клеток занимает 48-72 ч), трудоемка и требует специалистов высокой квалификации.

Ранее полагали, что цитологические анализы должны иметь более непосредственное отношение к планированию терапии, чем, например, экспрессия генов [12]. В работах, основанных на цитологических параметрах, предпринимались попытки оценить не только цитогенетические повреждения, но и популяционные клеточные изменения, гибель клеток [5]. К вышеупомянутым недостаткам этих методов следует отнести, кроме продолжительности анализа, также фактор субъективности в оценке результатов. И хотя цитологические тесты ещё используются во многих клинических исследованиях, они отражают, скорее, процесс развития опухоли при различных схемах лечения, и можно полагать, что в перспективе они будут иметь большее значение в интерпретации результатов лечения.

Так как изменения обмена ДНК связаны с пролиферацией клеток, их гиперанеу- и полиплоидией, апоптозом и некрозом, то есть процессами, которые вовлечены в процессы индукции новообразований и терапии онкологических больных [48], то вероятно эффективными предиктивными индексами при лучевой и химиолучевой терапии больных солидными злокачественными новообразованиями на практике могут стать некоторые молекулярно-биологические параметры клеток крови. Среди новых подходов более адекватными выглядят исследования ДНК, РНК или белка. Современные тенденции развития в этой области смещаются от цитологических тестов и оценок одиночных генов или продуктов генов в направлении высокопроизводительных методов, позволяющих охарактеризовать многокомпонентные процессы апоптоза, нарушения репарации ДНК, экспрессии генов или мутации [49].

Проведённые недавно определения профиля экспрессии генов мононуклеарных воспалительных клеток крови выявили существенные различия проанализированных паттернов, полученных у больных с гепатоцеллюлярной карциномой, в сравнении с аналогичными клетками неонкологических пациентов [50]. По мнению авторов, реакция клеток крови позволяет быстро оценить изменения регуляции противоопухолевого иммунитета и может быть использована для предсказания прогноза заболевания у таких пациентов. Анализ экспрессии генов мононуклеаров крови больных немелкоклеточным раком лёгкого (РЛ) в сопоставлении с такими же клетками больных незлокачественными лёгочными заболеваниями выявил их различия и показал, что использование этих профилей экспрессии может быть использовано для идентификации ранних стадий немелкоклеточного рака лёгкого при действии определенных факторов риска [51]. Оценка экспрессии тотальной ДНК клеток крови больных раком органов системы пищеварения (рак прямой кишки, рак желудка, рак поджелудочной железы) выявила его отличия от профиля, полученного для клеток крови здоровых пациентов [52]. Эти примеры также свидетельствуют о том, что молекулярные параметры крови способны отразить, в какой степени окружение опухоли (в частности периферия системы гемопоза) вовлечено в процесс системного поражения организма в ходе канцерогенеза, и о возможности использования профиля экспрессии ДНК клеток крови в качестве критерия для разработки новых тестов чувствительности онкологических больных к определенным видам терапии.

Подходы для определения возможных изменений ДНК (мутаций/ полиморфизмов) включают секвенирование ДНК, электрофорез в денатурирующем градиенте геля, определение полиморфизма одиночных нуклеотидов (ПОН), а также пострадиационных модификаций в теломерах [53]. Методы для исследования изменений числа копий генов (их делеций или амплификаций) включают когнитивную гибридизацию генома в широком диапазоне вариаций хромосом [5, 54]. Для оценки изменений экспрессии РНК используют методы гибридизации *in situ* или обратной транскрипции-ПЦР, а также микроматрицы [55, 56]. Определение экспрессии белков представляется в принципе более адекватным, чем транскрипция РНК, причём корреляция между транскрипцией РНК и синтезом белков может быть слабой, в частности для белков, связанных с внеклеточными структурами [57]. Для количественного анализа экспрессии белков можно применить иммуногистохимию, проточную цитометрию, вестерн-блот гибридизацию, а также различные протеомные методы, обычно включающие использование масс-спектрометрии или антитела/экстракты матриц [58, 59]. Примером маркерного белка, регулирующего (но не обязательно) программируемую гибель клеток, является, в частности bcl2; активно исследуется в настоящее время также такой ингибитор апоптоза в опухолях, как сурвивин [60, 61].

В отношении анализа функции генов в предиктивном контексте следует отметить, что они предпринимались редко, будучи по своей сути более сложными, чем просто анализы экспрессии. Однако особую важность в предиктивном аспекте приобретает не только выяснение спектра синтезируемых белков, а анализ реализуемых ими функций в индивидуальных условиях у конкретного пациента. Известно, что различные индукторы синтеза белков могут привести к сходному результату. Например, ткани молочной железы дают различные ответы в спектре синтезируемых белков при индукции опухоли химическим канцерогеном – 7,12-диметилбенз[а]антраценом или облучением, а конечным результатом их действия является сходная патология – РМЖ [62]. Это свидетельствует о целесообразности разработки в качестве предиктивного маркера эффективности ЛТ не просто спектра экспрессии генов, а показателя функционального ответа на лучевое воздействие.

## ПРЕДИКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ В ОНКОЛОГИИ

Ясно, что степень реакций опухоли и НТ на ионизирующее излучение зависит от многих факторов и множества генов, и маловероятно, что определение изменений активности только одного S гена будет достаточно для надёжного предсказания ответа у всех опухолей. Разработка новых критериев идёт в направлении общегеномной стратегии, которая потенциально способна охватить все большее число биологических факторов, лежащих в основе различий в гипоксии, пролиферации и радиочувствительности пациентов [63]. Тестирование активности множества генов должно повысить шанс вероятности предсказания. На уровне ДНК определение ПОН в сочетании с некоторыми высокопроизводительными методами позволяет оттестировать большое число генов-кандидатов. Например, с помощью метода ПЦР 96-луночного формата можно отсортировать тысячу образцов за один день. Методы анализа РНК, кДНК или микроматриц олигонуклеотидов быстро становятся стандартными в большинстве крупных лабораторий, позволяя тестировать одновременно весь геном человека. Определение широкого профиля экспрессии генов уже показало свои возможности в плане диагностики лейкемии [64] и прогнозирования выживания больных РМЖ [65]. Анализ ПОН в 5 генах, вовлечённых в репарацию ДНК и в регуляцию клеточного цикла, выявил различия по сравнению со здоровыми пациентами лишь у больных раком прямой кишки (РПК) и раком головы и шеи (РГШ), но не для больных РМЖ [66].

Из-за больших структурно-функциональных различий белков, а также множества их посттрансляционных модификаций оценка большого числа кодируемых генами белков по своей сути является более сложной, чем определение соответствующих ДНК или РНК. Хотя такие исследования на их относительно ранней стадии сопоставимы с микроматричным анализом ДНК, высокопроизводительные протеомные методы быстро развиваются и находятся уже в процессе внедрения во многих клинических исследованиях, имеющих дело большей частью с белками крови [67]. Проводятся также испытания микроматриц тканей, способные стать ценным методом анализа. Они дают возможность оттестировать экспрессию одного гена во многих тканях/опухолях, если предметные стекла могут быть последовательно окрашены другими антителами, позволяя экранировать экспрессию белка из большого числа генов (примерно 20) во множестве опухолей (150). Эффективность протокольных схем ЛТ и ХЛТ может быть оценена с помощью некоторых маркерных белков апоптоза. Кластерные анализы, такие например, как микроматрицы кДНК или как высокопроизводительная количественная обратно-транскриптазная ПЦР, также могут использоваться в виде профилей предиктивных генов [68, 69].

Все перечисленные показатели, полученные в результате анализов, могут быть выполнены на тканях опухолей. Сравнение профиля экспрессии генов после начала лечения с исходным профилем может позволить определить, как опухоль ответит на терапевтическое воздействие. При анализе НТ могут возникнуть осложнения, так как для них не всегда имеются биоптаты, или данные о том, как такая ткань/тип клеток наиболее вероятно ответят на повреждающее воздействие. Поэтому в ряде исследований изучали возможность использования такой реакции, включающей анализ лимфоцитов периферической крови [33, 70, 71]. Весьма вероятно, что генетические факторы, затронутые в результате ЛТ, будут также отражаться и в реакциях клеток системы крови. Для предсказания токсичности в НТ, по-видимому, наиболее информативной будет оценка изменений их ДНК, так как иначе трудно объяснить, почему профиль экспрессии РНК или белка в лимфоцитах имеет отношение к развитию фиброза, например, в лёгком. Особенно привлекательным материалом для анализа представляются лейкоциты, так как пробы могут быть получены быстро и у всех людей.

Предиктивный анализ предполагает включение в работу образца ещё до начала лечения. Это возможно, если материал, взятый от больного, анализируется после облучения и культивирования *in vitro*. Идеальная

методика должна быть чувствительной, воспроизводимой, минимально инвазивной и быстрой, чтобы её можно было повторить при необходимости несколько раз прежде, чем лечение будет завершено. Вместе с тем, известно, что величины показателей радиочувствительности онкологических больных индивидуально зависимы [71]. Проходящие в настоящее время доклинические и клинические исследования в значительной степени связаны с решением этих проблем.

## 2. РЕЗУЛЬТАТЫ МЕЖОТРАСЛЕВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ МАРКЕРОВ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ.

Для изучения различных аспектов молекулярно-генетических маркеров ответа при ЛТ были созданы генетический проект предсказания эффектов облучения (GENEPI) [5] и вышеупомянутый GENE-PARE проект [15], которые стимулировали развитие скоординированных исследований во многих научных центрах земного шара.

Среди целого ряда результатов, полученных в последние годы европейскими специалистами, в процессе межотраслевой реализации их исследований в рассматриваемой области, в том числе и в рамках названных проектов, наиболее значимыми представляются следующие:

1) данные учёных Швейцарии и Франции о том, что низкая радиочувствительность лимфоцитов к тестирующему воздействию *in vitro* связана с более высоким риском развития неблагоприятных отдалённых эффектов ЛТ больных солидными новообразованиями различных локализаций [72, 73];

2) данные немецких исследователей о повышении экспрессии ингибитора апоптоза - сурвивина, как маркера высокой опасности рецидивирования больных раком мочевого пузыря (РМП) [60, 61], а также

3) данные итальянских специалистов о генетическом полиморфизме ряда ДНК-репарационных генов как предиктивном показателе радиочувствительности у больных РМЖ [74].

Из исследований проведённых на североамериканском континенте можно выделить результаты, полученные в Колумбийском университете Нью Йорка, где был разработан анализатор дозозависимой экспрессии генов для оценки величины осуществлённого радиационного воздействия [75]. Изменения мРНК нескольких десятков генов в клетках крови оказалось достаточно для такой биодозиметрии, на основании чего затем может быть определена радиочувствительность этих клеток. Предсказание степени радиационного воздействия на уровне организма у лейкемических больных, пациентов с лимфомами и множественной миеломой, а также здоровых доноров было осуществлено недавно путем определения экспрессии генов в клетках периферической крови, облучённых *ex vivo* [76]. Учёные Канады исследовали взаимосвязи ПОН в геноме (в генах или фланкирующих областях) больных раком предстательной железы (РПЖ) с отдалёнными токсическими последствиями лечения, индуцированными радиацией в мочевом пузыре и прямой кишке [77]. Это дало возможность авторам в определённой степени объяснить вариабельность индивидуальной радиочувствительности различных тканей пациентов. Таким образом, был предпринят ряд попыток найти предиктивный показатель радиочувствительности. Полагают, что он может определяться путём идентификации ПОН на уровне всего генома [78]. В последние годы внимание было сфокусировано на идентификации генетических факторов связанных с радиочувствительностью, как основанием создания предиктивных тестов для выявления лиц, имеющих повышенную степень риска осложнений, возникающих в результате лучевого воздействия. Однако, по мнению самих же авторов [76], к настоящему времени ни один из вышеперечисленных разработанных тестов при необходимом уровне чувствительности и специфичности пока не соответствует требованиям, необходимым для повседневного использования.

## ПРЕДИКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ В ОНКОЛОГИИ

Японское исследование РадГеномики включало анализ генов-кандидатов и селекцию генов, основанную на отборе данных *in vitro*, полученных на линиях клеток человека и в моделях на животных [79]. Радиочувствительность измеряли на 32 различных линиях культивируемых клеток опухолей человека и анализировали экспрессию их генов с применением микроматриц. Кроме того, были проанализированы профили экспрессии генов линий мышей различной радиочувствительности [80]. Затем гены отбирали с учётом трёх критериев: 1) генов с профилями экспрессии, выявивших значимые взаимосвязи с клеточной радиочувствительностью; 2) генов, активность которых возрастала или подавлялась в результате облучения; 3) генов, общеизвестно связанных с радиочувствительностью. Всего было отобрано 140 генов-кандидатов, у которых встречается, по крайней мере, один из этих критериев. Информация о 1300 ПОН для генов-кандидатов была получена из японской базы данных ПОН (<http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/>) и базы данных бдПОН (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>). Типирование по ПОН включало белые клетки крови и аллель-специфическую терминацию метода расширения праймера с использованием масс-спектрометрии MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight). Типирование 643 ПОН для 108 генов-кандидатов от 346 человек и одновариантный анализ позволили выявить у 284 больных РМЖ 25 маркеров ПОН, связанных с ранними кожными реакциями после облучения, и 22 маркера ПОН, связанных с лучевыми эффектами через 3 или 6 месяцев после облучения. Авторы полагают, что идентификация функционально значимых полиморфизмов в генах, отвечающих на радиационное воздействие, может выявить индивидуальные различия в радиочувствительности [81], что в будущем будет способствовать улучшению результатов ЛТ.

Представители Китая не присутствовали на совещаниях, организованных в связи с обсуждением проектов GENEPI и GENE-PARE, однако работы по этой актуальной проблеме в этой стране проводятся, что нашло отражение, в частности, в публикациях об эффективности ЛТ у больных глиомами [82]. В предварительных работах с использованием биологически активных соединений было показано, что длина теломер и теломеразная активность имеют определённое отношение к радиочувствительности опухолевых клеток [82, 83]. Эти исследования привели к частичному пониманию молекулярных механизмов, ответственных за радиочувствительность клеток, однако, полная картина оставалась неясной. Так как сложный механизм радиочувствительности не мог быть объяснён активностью отдельных генов, необходимо было собрать более обширную информацию о генах, вовлечённых в реакцию. Ранее сообщалось, что повышенная экспрессия генов MDM2 и CDC25B в клетках NIH 3T3 может быть ответственна за радиорезистентность и за опухолеобразование, индуцированное облучением [84]. В более поздних исследованиях было показано, что в радиорезистентной линии клеток Нер-2R ген белка-протектора теломер (POT1) экспрессировался в 3,4 раза больше, а ген подавления активности теломеразы (PINX1) – в 2 раза меньше, чем в чувствительной к облучению исходной линии клеток [85]. Следовательно, радиорезистентные клетки имели более высокую активность теломераз и более длинные теломеры в сравнении с исходными клетками. По мнению авторов, теломерный маркер может быть критерием радиочувствительности клеток.

Среди исследований, проведённых в Российской Федерации, заслуживают внимания экспериментальные данные о многократном увеличении цитотоксического действия полиморфноядерных лейкоцитов на опухолевые и неопухолевые клетки организма в процессе развития новообразования [86]. На основании полученных данных авторы полагают, что одной из причин гибели животных-опухоленосителей являлось цитотоксическое действие полиморфноядерных лейкоцитов на клетки организма, обусловленное гиперпродукцией реактивных форм кислорода. Затем было показано, что функциональные свойства нейтрофилов мышей изменяются в зависимости

от типа, локализации и стадии онкологического процесса [35]. При этом нарушение функциональных свойств нейтрофилов крови является одним из основных проявлений окислительного стресса, развивающегося под влиянием растущей в организме опухоли. Вместе с тем сопоставление результатов исследования процессов перекисного окисления липидов в злокачественных опухолях и НТ свидетельствует об однотипности изменений активности свободнорадикальных окислительных реакций в различных тканях онкологических больных, хотя и выраженных в разной степени [87]. В настоящее время одним из наиболее адекватных критериев нарушений в процессе роста опухолей представляется расстройство апоптоза у онкологических больных, которое в интеграле выражается в изменении скорости распада ДНК. Всё это послужило основанием для разработки способа определения радиочувствительности с использованием тотальной ДНК крови в качестве анализируемого материала [88]. Методически это осуществляли путём исследования периферической крови больных, в которых определяли относительно контроля степень снижения содержания ДНК в пробах после их облучения *ex vivo* в дозе 2 Гр и последующей инкубации в течение 3 ч. Применение разработанного метода позволило установить, что эффективность планируемой ЛТ и химиолучевой терапии больных РМЖ или комбинированной терапии больных РМП можно прогнозировать до начала лечения пациентов путём определения величины S-индекса – показателя степени радиационно-индуцированного апоптотического распада ДНК проб крови [9, 20, 89]. При значении S-индекса выше 1,0 (у радиочувствительных лиц) наблюдался в 1,5-2 раза более длительный период безрецидивной выживаемости в сравнении с радиорезистентными пациентами. В абсолютном выражении это составляло от 5 до 32 мес. в зависимости от заболевания и контингента больных. Таким образом, к настоящему времени разработан достаточно эффективный, простой и быстрый предиктивный маркер отбора пациентов для успешного лечения, включающего применение ЛТ самостоятельно или адъювантно. Кроме того, были установлены взаимосвязь S-индекса со степенью лейкопении, которая может возникнуть в последующем процессе лечения у части больных РМЖ и лимфомой Ходжкина, как одним из показателей гематотоксического действия ЛТ или химиотерапии на организм пациента [8, 9], а также изменения величины S-индекса в ходе ЛТ [90], что свидетельствует о возможности использования этого показателя для мониторинга процесса лечения. Исследования в этой сфере продолжаются и, по-видимому, есть основания в перспективе расширить фронт работ в таком направлении.

Можно полагать, что определение показателя радиочувствительности микроокружения опухоли пациента (в частности, ДНК его крови) позволит повысить эффективность ЛТ и более обоснованно назначать радиомодификаторы. Так, путём предиктивной оценки радиочувствительности на генетическом уровне можно избежать осложнения заболевания и даже сокращения продолжительности жизни, возникающих вследствие повреждения органов, второстепенных по отношению к ЛТ. Кроме того, использование этих маркеров позволит выявить радиочувствительных больных, для которых стандартные дозы облучения являются эффективными, и дифференцировать этих больных от радиорезистентных пациентов. В итоге может оказаться, что более значительная часть онкологических больных устойчива к облучению, чем обычно предполагалось на основании косвенных показателей. Такого рода данные могут дать основание лучевым терапевтам увеличить дозу облучения или повысить радиочувствительность опухолей с помощью модификаторов для больных с относительно радиорезистентными новообразованиями. Таким образом, предиктивный показатель предоставит конкретным лицам, столкнувшимся с диагнозом рак, и их врачам ценную информацию, которая нужна, чтобы достичь решения для принятия оптимальной схемы лечения.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Проведённые к настоящему времени исследования, выполненные в лабораториях различных стран на банках образцов опухолей и неопухолевых тканей, свидетельствуют о том, что в перспективе маркерами для предсказания ответа конкретного больного на планируемую ЛТ могут явиться показатели радиочувствительности ДНК крови на основании некоторых параметров пострадиационного апоптоза, спектра ряда специализированных белков, а также профиля молекулярного считывания ДНК пациента и определение ПОН в геноме. К настоящему времени имеется небольшое число надёжных сообщений о молекулярных маркерах, предсказывающих ответ опухолей, НТ и нормальных клеток и тканей на облучение. В ближайшие годы можно ожидать новых исследований, на основании которых в более полных испытаниях должны быть выбраны технологии методик и уточнены области их применения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Соухами Р., Тобайс Дж. (2009) Рак и его лечение (пер. с англ.), БИНОМ. Лаборатория знаний, М.
2. Delaney G., Jacob S., Featherstone C., Barton M. (2005) *Cancer*, **104**, 1129-1137.
3. Desar I.M.E., van Herpen C.M.I., van Laarhoven H.W.N., Barentsz J.O., Oyen W.J.G., van der Graaf W.T.A. (2009) *Cancer Treatment Reviews.*, **35**, 309-321.
4. IAEA-TECDOC-1297 (2002) Predictive assays and their role in selection of radiation as the therapeutic modality. International Nuclear Information System Clearinghouse, International Atomic Energy Agency. Vienna.
5. West C.M.L., McKay M.J., Holscher T., Holscher T., Baumann M., Stratford I.J., Bristow R.G., Iwakawa M., Imai T., Zingde S.M., Anscher M.S., Bourhis J., Begg A.C., Haustermans K., Bentzen S.M., Hendry J.H. (2005) *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, **62**, 1264-1273.
6. Hiotis K., Ye W., Sposto R., Skinner K.A. (2005) *Cancer*, **103**, 892-899.
7. Mackay R.I., Hendry J.H. (1999) *Radiother. Oncol.*, **50**, 67-75.
8. Иванов С.Д. (2000) *Вопр. онкол.*, **46**, 129-135.
9. Иванов С.Д., Ямишанов В.А., Корытова Л.И., Хазова Т.В., Арзуманов А.С. (2003) *Вопр. онкол.*, **49**, 601-607.
10. Ivanov S.D., Korytova L.I., Yamshanov V.A., Il'in N.V., Sibirtsev V.S. (1997) *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **16**, 413-418.
11. Mayers C., Panzarella T., Tannock I.F. (2001) *Cancer*, **91**, 2246-2257.
12. Saarto T., Blomqvist C., Rissanen P., Auvinen A., Elomaa I. (1997) *Br. J. Cancer*, **75**, 301-305.
13. Иванов С.Д. (2008) *Вопр. онкол.*, **54**, 483-489.
14. Rodel C., Grabenbauer G., Rodel F., Birkenhake S., Kühn R., Martus P., Zörcher T., Fürsich D., Papadopoulos T., Dunst J., Schrott K.M., Sauer R. (2000) *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, **46**, 1213-1221.
15. Ho A.Y., Atencio D.P., Peters S., Stock R.G., Formenti S.C., Cesaretti J.A., Green S., Haffty B., Drumea K., Leitzin L., Kuten A., Azria D., Ozsahin M., Overgaard J., Andreassen C.N., Trop C.S., Park J., Rosenstein B.S. (2006) *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, **65**, 646-655.
16. Ramakrishnan N., Brenner D. (2008) *Radiat. Res.*, **170**, 666-675.
17. Барсуков Ю.А., Ткачёв С.И., Кныш В.И., Олтаржевская Н.Д., Коровина М.А., Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А., Перевоицков А.Г., Николаев А.В., Градюшко А.Т., Кутателидзе Т.О., Власов О.А., Малихов А.Г., Тамразов Р.И., Кузьмичёв Д.В., Алиев В.А., Мамедли З.З. (2008) *Вопр. онкол.*, **54**, 350-353.
18. Oppitz U., Baier K., Wulf J., Schakowski R., Flentje M. (2001) *Int. J. Radiat. Biol.*, **77**, 105-110.

19. *Kravtsov V.D.* (1994) *Eur. J. Cancer*, **30A**, 1564-1570.
20. *Иванов С.Д., Маслюкова Е.А., Карелин М.И., Ямианов В.А., Кованько Е.Г.* (2006) *Вопр. онкол.*, **52**, 565-570.
21. *Holst C.R., Nuovo G.J., Esteller M., Chew K., Baylin S.B., Herman J.G., Tilsty T.D.* (2003) *Cancer Res.*, **63**, 1596-1601.
22. *Yan P.S., Venkataramu C., Ibrahim A., Liu J.C., Shen R.Z., Diaz N.M., Centeno B., Weber F., Leu Y.W., Shapiro C.L., Eng C., Yeatman T.J., Huang T.H.* (2006) *Clin. Cancer Res.*, **12**, 6626-6636.
23. *Meeker A.K., Hicks J.L., Gabrielson E., Strauss W.M., De Marzo A.M., Argani P.* (2004) *Am. J. Pathol.*, **164**, 925-935.
24. *Khan S.A., Sanchdeva A., Naim S., Meguid M.M., Marx W., Simon H., Halverson J.D., Numann P.J.* (1999) *Cancer Epidemiol. Biomarker Prev.*, **8**, 867-872.
25. *Widschwendter M., Berger J., Daxenbichler G., Muller-Holzner E., Widschwendter A., Mayr A., Marth C., Zeimet A.G.* (1997) *Cancer Res.*, **57**, 4158-4161.
26. *Tripathi A., King C., de la Morenas A., Perry V.K., Burke B., Antoine G.A., Hirsch E.F., Kavanah M., Mendez J., Stone M., Gerry N.P., Lenburg M.E., Rosenberg C.L.* (2008) *Int. J. Cancer*, **122**, 1557-1566.
27. *Schummer M., Beatty D., Urban N.* (2010) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1210**, 78-85.
28. *Pirzkall A., McKnight T.R., Graves E.E., Carol M.P., Sneed P.K., Wara W.W., Nelson S.J., Verhey L.J., Larson D.A.* (2001) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **50**, 915-928.
29. *Иванов С.Д., Ремизова И.В., Кованько Е.Г., Губарева А.В., Комар В.Е.* (1990) *Бюлл. экспер. биол. мед.*, **CIX**, 296-299.
30. *Dillon N.* (2004) *Biol. Cell*, **96**, 631-637.
31. *Ivanov S.D., Bepalov V.G., Kovanko E.G., Aleksandrov V.A., Yamshanov V.A.* (2002) *Eur. J. Cancer*, **38**, Suppl. 3, P. 119.
32. *Иванов С.Д., Ямианов В.А., Кованько Е.Г., Воробцова И.Е., Порошина Т.Е., Берштейн Л.М.* (2006) *Бюлл. экспер. биол. мед.*, **137**, 654-658.
33. *Gabelova A., Farkasova T., Gurska S., Machackova Z., Lukacko P., Witkovsky V.* (2008) *Neoplasma*, **55**, 182-191.
34. *Krishnamurthy V., Gunalan G., Haridas S., Thangamani V.* (2008) *Current Sci.*, **94**, 1195-1199.
35. *Мальцева В.Н., Авхачева Н.В., Санталов Б.Ф., Сафронова В.Г.* (2006) *Цитология*, **48**, 1000-1009.
36. *Devitt J.J., Maranon D.G., Ehrhart E.J., Bachand A.M., Lana S.E., LaRue S.M.* (2009) *Cytogenet. Genome Res.*, **124**, 12-18.
37. *Монахов А.С., Семиглазов В.Ф., Вагнер Р.И., Гуляев А.В., Анисимов В.В., Барчук А.С.* (2008) *Вопр. онкол.*, **54**, 565-572.
38. *Severin E., Greve B., Pascger E., Wedemeyer N., Hacker-Klom U., Silling G., Kienast J., Willich N., Gohde W.* (2006) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **64**, 242-250.
39. *Hicks R.J., Manus M.P.* (2003) *J. Nucl. Med.* **44**, P.30-32.
40. *Скворцова Т.Ю., Бродская З.Л., Малахова Е.С., Медведев С.В.* (2010) *Лучевая диагностика терапия*, **1**, 5-17.
41. *Miwa K., Shinoda J., Yano H., Okutsuma A., Iwama T., Nakashima T., Sakai N.* (2004) *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **75**, 1457-1462.
42. *Сейц И.Ф.* (1976) *Биохимические и молекулярно-биологические исследования опухолей и процесса канцерогенеза.* // В кн. "Патогенетические основы диагностики и лечения злокачественных опухолей", Л.: "Медицина", , 3-17.
43. *Xiang Z.-L., Zang Z.-C., Tang Z.-Y., Fan J., He J., Zeng H.-Y., Zhu X.D.* (2011) *The Oncologist*, **16**, 1028-1039
44. *Storto G., Nicolai E., Salvatore M.* (2009) *J. Nucl. Med. Imaging*, **53**, 167-180.

ПРЕДИКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ В ОНКОЛОГИИ

45. *Everaert H., Hoorens A., Vanhove C., Sermeus A., Ceulemans G., Engels B., Vermeersch M., Verellen D., Urbain D., Storme G., De Ridder M.* (2011) *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, **80**, 91-96.
46. *Hahn K.A., Richardson R.C., Hahn E.A., Christmas C.L.* (1994) *Vet. Pathol.*, **31**, 528-540.
47. *Thomas R., Smith K.C., Galibert F., Breen M.* (2003) *Br. J. Cancer.* **89**, 1530-1537.
48. *Chin L., Gray J.W.* (2008) *Nature*, **452**, 553-563.
49. *Swanton C., Caldas C.* (2010) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1210**, 34-44.
50. *Sakai Y., Honda M., Fujinaga H., Tatsumi I., Mizukoshi E., Nakamoto Y., Kaneko S.* (2008) *Cancer Res.*, **68**, 10267-10279.
51. *Showe M.K., Vachani A., Kossenkov A.V., Yousef M., Nichols C., Nikonova E.V., Chang C., Kucharczuk J., Bao Tran B., Wakeam E., Yie T.A., Speicher D., Rom W.N., Albelda S., Showe L.C.* (2009) *Cancer Res.*, **69**, 9202-9210.
52. *Honda M., Sakai Y., Yamashata T., Yamashita T., Sakai A., Mizukoshi E., Nakamoto Y., Tatsumi I., Yoshitaka M.Y., Hiroshi T.H., Kaneko S., Hokuriku O.* (2010) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **400**, 7-15.
53. *M'kacher R., Bennaceur-Griscelli A., Girinsky T., Koscielny S., Delhommeau F., Dossou J., Violot D., Leclercq E., Courtier M.H., Beron-Gaillard N., Assaf E., Ribrag V., Bouhis J., Fenneux D., Bernheim A., Parmentier C., Carde P.* (2007) *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, **68**, 465-471.
54. *van de Vijver M.* (2005) *The Oncologist*, **10**, Suppl. 2, P. 30-34.
55. *Pramana J., Van den Brekel M.W.M., van Velthuysen M.-L.F., Wesseks L.F.A., van Nuyten D.S., Hofland I., Atsma D., Pimentel N., Hoebbers F.J.P., Rasch C.R.N., Begg A.C.* (2007) *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, **69**, 1544-1552.
56. *Theurillat J.-P., Zurrer-Hardi U., Varga Z., Barghorn A., Saller E., Frei C., Storz M., Behnke S., Seifert B., Fehr M., Fink D., Rageth C., Linsenmeier C., Pestalozzi B., Chen Y.-T., Knuth A., Jager D., Moch H.* (2008) *Int. J. Cancer.*, **122**, 1585-1591.
57. *Nishizuka S., Charboneau L., Young L., Major S., Reinhold W.C., Waltham M., Kouros-Mehr H., Bussey K. J., Lee J.K., Espina V., Munson P.J., Petricoin III E., Liotta L.A., Weinstein J.N.* (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 14229-14234.
58. *Sawyers C.L.* (2008) *Nature*, **452**, 548-552.
59. *van't Veer L., Bernards R.* (2008) *Nature*, **452**, 564-570.
60. *Weiss C., von Romer F., Capalbo G., Ott O.J., Wittlinger M., Krause S.F., Sauer R., Rodel C., Rodel F.* (2009) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **74**, 1455-1460.
61. *Capalbo G., Dittman K., Weiss C., Reichart S., Hausmann E., Rodel C., Rodel F.* (2010) *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, **77**, 226-234.
62. *Lee H.-J., Lee Y.-J., Kang C.-M., Bae S., Jeoung D., Jang J.-J., Lee S.-S., Cho C.-K., Lee Y.-S.* (2008) *Radiation Res.*, **170**, 579-590.
63. *West C.M.L., Elliott R.M., Burnet N.G.* (2007) *Clin. Oncol.*, **19**, 470-480.
64. *Nasedkina T.V., Zharinov V.S., Isaeva E.A., Mityaeva O.N., Yurasov R.A., Surzhikov S.A., Turigin A.Yu., Rubina A.Yu., Karachunskii A.I., Gartenhaus R.B., Mirzabekov A.D.* (2003) *Clin. Cancer Res.*, **9**, 5620-5629.
65. *van de Vijver M.J., He Y.D., van't Veer L.J., Dai H., Hart A.A.M., Voskuil D.W., Schreiber G.J., Peterse J.L., Roberts C., Marton M.J., Parrish M., Atsma D., Witteveen A., Glas A., Delahave L., vander Velde T., Baterlink H., Rodenhuis S., Rutgers E.T., Friend S.H., Bernards R.* (2002) *N. Engl. J. Med.*, **347**, 1999-2009.
66. *Jelonek K., Gdowicz-Klosok A., Pietrowska M., Borkowska M., Korfanty J., Rzeszowska-Wolny J., Widlak P.* (2010) *J. Appl. Genet.* **51**, 343-352.
67. *Espina V., Mehta A.I., Winters M.E., Calvert V., Wulfkuhle J., Petricoin E.F., Liotta L.A.* (2003) *Proteomics*, **3**, 2091-2100.
68. *Buffa F.M., Bentzen S.M., Daley F.M., Dische S., Saunderson M.I., Richman P.I., Wilson G.D.* (2004) *Clin. Cancer Res.*, **10**, 3745-3754.
69. *Eriksen J.G., Buffa F.M., Alsner J., Steiniche T., Bentzen S.M., Overgaard J.* (2004) *Radiother. Oncol.*, **72**, 275-282.
70. *Streffler C., Bauch T.H., Stuben G., Zolzer F., Muller W.-U.* (1998) *Progr. Radio-Oncology*, **VI**, 501-507.

71. *Borgmann K., Hoeller U., Nowack S., Bernhard M., Roper B., Brackrock S., Petersen C., Szymczak S., Ziegler A., Feyer P., Alberti W., Dikomey E.* (2008) *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, **71**, 256-264.
72. *Ozsahin M., Crompton N.E., Gourgou S., Kramar A., Li L., Shi Y., Sozzi W.J., Zouhair A., Mirimanoff R.O., Azria D.* (2005) *Clin. Cancer Res.*, **11**, 7426–7433.
73. *Azria D., Ozsahin M., Kramar A., Peters S., Atencio D.P., Crompton N.E.A., Momex F., Pelegrin A., Dubois J.-B., Mirimanoff R.-O., Rosenstein B.S.* (2008) *Clin. Cancer Res.*, **14**, 6284-6288.
74. *Mangoni M., Bisanzi S., Carozzi F., Sani C., Biti G., Livi L., Barletta E., Constantini A.S., Gorini G.* (2011) *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, **81**, 52-58.
75. *Brenner D.J.* (2008) *Radiat. Res.*, **170**, 668.
76. *Paul S., Barker C.A., Turner H.C., McLane A., Wolden S.L., Amundson S.A.* (2011) *Radiation Res.*, **187**, 257-265.
77. *Damaraju S., Sehrawat B.S., Carandang D., Rashmi Penugonde R., Greinerb R., Parliament M.* (2008) *Radiat. Res.*, **170**, 671-672.
78. *Rosenstein B.S.* (2008) *Radiat. Res.*, **170**, 670–671.
79. *Iwakawa M., Imai T., Harada Y., Ban S., Michikawa Y., Saegusa K.* (2002) *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*, **62**, 484-489.
80. *Iwakawa M., Imai T., Ohta T., Oohira C., Tanaka H., Tsuji A., Ishikawa A., Imai T.* (2004) *J. Radiat. Res.*, **45**, 423-433.
81. *Imai T., Iwakawa M.* (2008) *Radiat. Res.*, **170**, 674.
82. *Zhou F.-X., Liao Z.K., Dai J., Xiong J., Xie C.H., Luo Z.G., Liu S.Q., Zhou Y.F.* (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **354**, 353–356.
83. *Ji X.M., Xie C.H., Fang H., Zhou F.-X., Zhang W.-J., Zhang M.-S., Zhou Y.-F.* (2006) *Acta Pharmacol. Sin.*, **27**, 1185-1191.
84. *Kang C.-M., Cho H.-N., Ahn J.-M., Lee S.-S., Jeoung D.-I., Cho C.-K., Bae S., Lee S.-J., Lee Y.-S.* (2004) *Carcinogenesis*, **25**, 123-132.
85. *Zhou F.-X., Xiong J., Luo Z.-G., Dai J., Yu H.-J., Liao Z.-K., Lei Y., Xie C.-H., Zhou Y.-F.* (2010) *Radiation Res.*, **174**, 550–557.
86. *Поцелуева М.М., Пустовидко А.В., Ковалева Е.В., Шаталин Ю.В., Евтодиенко Ю.В.* (2005) *Цитология*, **47**, 57-63.
87. *Горожанская Э.Г.* (2010) *Клин. лаб. диагн.*, №6, 28-44.
88. *Иванов С.Д., Ямшанов В.А., Маслюкова Е.А.* (2008) Способ определения показаний к проведению органосохраняющего лечения больных раком мочевого пузыря. / Пат. изобр. № 2319963, С. 1–5, Оpubл. 20.03.2008, Бюлл. №8.
89. *Иванов С.Д.* (2010) Сб. мат. III Евразийского конгр. по мед. физике и инженерии “Медицинская физика – 2010”, **2**, 247-249.
90. *Ivanov S., Korytova L., Yamshanov V., Ilyn N., Akimov A., Sibirtsev V., Shust V.* (1998) *Progress in Radio-Oncology*, **VI**, 569-573.

Поступила: 29. 12. 2011.

**BIOCHEMICAL MARKERS PREDICTING RESPONSE  
TO RADIATION- AND RADIOCHEMO-THERAPY IN CANCER PATIENTS**

*S.D. Ivanov*

Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, Leningradskaya ul., 70, Pesochny, St.-Petersburg, 197758 Russia; tel.: (812)596-6703; fax: (812)596-6705; e-mail: sergey.d.ivanov@mail.ru

In last years there is increasing interest in radiogenomics and the characterization of DNA array molecular profiles that can predict tumor and no tumor tissues radioresponse. Ongoing studies carried out worldwide in the banking of tumor and no tumor samples give evidence that perspective markers for response prediction in individual patient to intended radiation therapy can be some apoptotic indexes, spectrum a number of specific proteins, and DNA-based microarray molecular profiling analysis as well determination of single nucleotide polymorphisms in genome of the patients. So far there are only a few robust reports of molecular markers predicting tumor and no tumor tissues response to radiation. The results of new studies, which in future should be validated in larger definitive trials, are likely to see in nearest years. It is needed to determine technologies of methods and to define more precisely areas of its applications.

**Key words:** tumor and no tumor tissues, radiation therapy efficacy, predictive biotesting, biochemical markers.