

Краткий итоговый аналитический отчет
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
за 2020 год

В 2020 году научные исследования в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России рамках государственного задания выполнялись по направлениям:

- выполнение фундаментальных научных исследований – 16 тем;
- проведение прикладных научных исследований – 57 тем;
- экспериментальные научные разработки – 11 тем.

Получено патентов, патентообладателем которых является Центр - 17 ед.
Получено патентов, авторами которых являются сотрудники учреждения – 6 ед.
Оформлено заявок на патенты – 16 ед.

Опубликовано статей в 2020 году – 505. Из них:

- в рейтинговых отечественных журналах с импакт-фактором не менее 0,3 опубликовано 213 статей (совокупный импакт-фактор статей 114,869);
- в зарубежных журналах с импакт-фактором не менее 0,3 опубликована 121 статья (совокупный импакт-фактор статей 811,62).

Выпущено в 2020 году:

- Монографии – 3
- Учебники, учебные пособия – 8
- Сборники – 1
- Книги – 1
- Главы в книгах – 2
- Практические руководства – 2
- Практические рекомендации – 43
- Клинические рекомендации – 19
- Методические рекомендации – 1
- Методические пособия -1

Организовано и проведено 220 научно-практических мероприятий.

Сотрудниками Центра защищено 27 диссертационных работ, из них 5 на соискание ученой степени доктора наук, 22 – на соискание ученой степени кандидата наук.

Проводились научные исследования при поддержке: гранты РФФИ – 17, гранты РНФ – 7, гранты Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – 1.

Выполнялись исследования по 16 договорам о научно-техническом сотрудничестве.

Выдающиеся и значимые и результаты, полученные

В области клинической онкологии

Разработан способ изготовления прецизионного индивидуализированного артикуляционного 3D эндопротез-спейсера коленного сустава, совместно с ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, который позволяет изготовить эндопротез-спейсер в точном соответствии с индивидуальными размерами удаляемого эндопротеза и анатомической формой, сохранить качественное состояние костей в местах фиксации элементов спейсера; сохранить частичную опороспособность конечности, за счет использования высокопрочного армирующего каркаса; использовать эндопротез-спейсер можно длительное время, т.к. он выполнен из высокопрочного армирующего каркаса. Разработанная технология эндопротезирования позволяет значительно улучшить функциональный результат, ускорить социальную реабилитацию пациентов и уменьшить клинико-экономические затраты. Применяется на этапе лечения осложнений эндопротезирования коленного сустава после дистальных сегментарных резекций бедренной кости, при инфекционно-воспалительных заболеваниях различной этиологии, требующих удаление имплантата, как этап лечения.

Проанализированы непосредственные и отдалённые результаты лечения местнораспространённого рака прямой кишки в зависимости от использования в рамках предоперационного лечения лучевой терапии с классическим и гипофракционированием, в зависимости от использования различных режимов неoadъювантной химиотерапии. Доказана безопасность выполнения химиолучевой терапии у пациентов с местнораспространённым раком прямой кишки с осложнённым течением опухолевого процесса. На данный момент в большинстве российских клиник подобным пациентам отказывают в проведении предоперационной химиолучевой терапии, выполняют только хирургическое лечение, мотивируя высоким риском осложнений химиолучевого лечения, что резко повышает риск развития рецидива рака прямой кишки при последующем наблюдении. Полученные нами результаты наглядно продемонстрировали безопасность проведения химиолучевой терапии при осложнённом течении рака прямой кишки и послужили поводом для изменения национальных клинических рекомендаций. Подана заявка на получение патента: «Способ органосохраняющего лечения операбельного рака прямой кишки», в настоящее время проходит второй этап экспертизы - экспертиза по существу.

Разработан и внедрен способ хирургического лечения больных с опухолевым поражением двенадцатиперстной кишки. Способ состоит в том, что одномоментно, единым блоком удаляются вся двенадцатиперстная кишка с начальным отделом тощей кишки, головка поджелудочной железы, выходной отдел желудка с прилежащим малым сальником и правой половиной большого сальника, желчный пузырь, общий желчный проток, прилежащая к головке поджелудочной железы клетчатка, фасциально-клетчаточные футляры общей и собственной печеночной артерий, стволов верхнебрыжеечных сосудов и воротной вены. Способ обеспечивает высокую надежность и функциональность анастомоза за счет анатомически обоснованной мобилизации ДПК от ткани поджелудочной железы, способ ассоциируется с низкой послеоперационной морбидностью, хорошей функциональностью и качеством жизни больных, а также меньшим количеством суток пребывания в стационаре по сравнению с расширенными операциями. С учетом отсутствия различий в отдаленных результатах, экономные резекции ДПК, в частности дуоденальная резекция ДПК, являются методом выбора у больных с неэпителиальными (за исключением лимфом), нейроэндокринными опухолями и вторичной опухолевой инвазией двенадцатиперстной кишки извне. Оформлен патент №2716342 «Способ хирургического лечения больных с опухолевым поражением двенадцатиперстной кишки», зарегистрирован в Госреестре 11.03.2020 г.

Проведено пилотное исследование экспрессии рецепторных тирозинкиназ (RTK) на лимфоцитах периферической крови больных почечно-клеточным раком (ПКР) методом проточной цитометрии. Показано, что периферические лимфоциты (CD45+, CD3+, CD8+) экспрессируют VEGFR-1, -2; PDGF α , β ; FGFR-2. Проведено иммуногистохимическое исследование парных образцов первичной опухоли и опухолевого тромба у 25 больных ПКР, при этом продемонстрировано, что клетки, формирующие опухолевый тромб, характеризуются меньшим уровнем экспрессии ростовых факторов (GF), а также RTK по сравнению с клетками первичной опухоли почки. Отмечено, что гиперэкспрессия ряда изученных RTK ассоциирована с местно-инвазивным ростом ПКР и ухудшением общей выживаемости.

Разработан и опубликован модифицированный алгоритм выбора лечебной тактики при раке предстательной железы в период пандемии COVID-19, направленный на достижение 3 основных целей: снижение риска развития жизнеугрожающих осложнений опухолевого процесса, уменьшение риска «пересечения» профилей нежелательных явлений, обусловленных лечением злокачественной опухоли и вирусной инфекцией, а также минимизацию риска заражения COVID-19 для больных раком предстательной железы.

Изучались клинико-морфологические и генетические особенности опухолей у больных первично-множественными злокачественными новообразованиями (ПМЗН), одно из которых локализовано в яичнике. Впервые показано, что полинеоплазия с поражением яичников составляет 9,7% от всех злокачественных эпителиальных опухолей этого органа. РЯ при полинеоплазии наиболее часто сочетался с метакронным РМЖ (70%) и синхронным раком тела матки (16%). Частота мутаций гена BRCA1 значительно выше (46%) в группе больных ПМЗН с поражением яичника, чем в группе больных солитарным РЯ (20,04%). Мутаций в гене BRCA2 обнаружено не было. При полинеоплазии у носительниц мутаций гена BRCA1 РЯ сочетался с РМЖ, меланомой, раком щитовидной железы и с фиброзной гистиоцитомой правого средостения. Средний возраст больных РЯ, носительниц мутаций при ПМЗН существенно ниже, чем средний возраст больных-носительниц мутаций при солитарном РЯ ($43,0 \pm 5,8$ лет против $52,5 \pm 10,1$ лет) ($p < 0,01$). Пятилетняя выживаемость больных РЯ при ПМЗН составляет $42,3 \pm 3,8\%$. В случаях BRCA1-ассоциированного РЯ пятилетняя выживаемость при ПМЗН достоверно выше и составляет $73,68\% \pm 5,2\%$. Пятилетняя выживаемость BRCA1-ассоциированного солитарного РЯ – $58,9 \pm 6,3\%$. В «группу риска» по возникновению ПМЗН у женщин вошли больные РЯ, РМЖ, меланомой, раком тела матки и щитовидной железы, а также носительницы мутаций BRCA1. Проведен анализ метилирования промотора гена BRCA 1 у 31 пациентки с ПМЗН. Наличие метилирования гена BRCA 1 не выявлено, как в тканях РЯ, так и в тканях синхронных и метакронных опухолей других локализаций. Полученные результаты, указывают на то, что инактивация функции BRCA 1 у пациентов с ПМЗН связана в основном с генетическими механизмами, так у 46% больных выявлены наследственные мутации в гене BRCA 1. В то время как частота метилирования гена BRCA 1 у больных с солитарным РЯ в нашем исследовании составляет 11,8 % (13 из 110 пациентов).

Проводился иммуноцитохимический анализ клеток из полости матки, который показал, что наибольшую диагностическую значимость продемонстрировал маркер p53, экспрессия которого выявлена в 61% наблюдений серозного high-grade рака яичников. Маркеры p16 и wt1, положительны в 50% и 47% случаев РЯ соответственно. Идентифицированы новые маркеры метилирования - USP44, ZNF154, OTX1, CRYGD и DLX6_AS, позволяющие дифференцировать образцы РЯ от неопухоловой ткани яичника. Диагностическая чувствительность панели из 5 маркеров для геномной ДНК РЯ составляет 100%, при специфичности 94.5%. Разработана методика на основе метода метил-специфической ПЦР для анализа aberrантного метилирования маркерных сайтов в аспиратах полости матки, характерных для РЯ. Впервые проведено профилирование и

сравнительный анализ микроРНК в экзосомах из маточных аспиринов больных раком яичника и условно здоровых доноров методом высокопроизводительного секвенирования. Выявлены 26 микроРНК с разницей в уровне представленности в 4 и более раза, включая 11 со сниженной и 15 с повышенной экспрессией у пациентов с РЯ по сравнению с контрольной группой. Создана новая недорогая тест-система, которая может быть широко использована в скрининге рака яичников, маточных труб и матки. Применение данной тест-системы позволит диагностировать описанную патологию на ранних стадиях, что приведет к улучшению выживаемости, снижению смертности этой категории больных.

В рамках экспериментальной научной разработки тест-системы для диагностики и мониторинга эффективности проводимого лечения злокачественных новообразований различной локализации на основе анализа циркулирующей в крови пациентов опухолевой ДНК разработан промышленный регламент на производство тест системы «TestComCr». Регистрация тест-системы планируется в 2021-2022 гг. В основе метода «жидкостной биопсии» (“liquid biopsy”) лежит выявление молекулярно-генетических изменений в циркулирующей в крови ДНК, которые характерны для опухолевых клеток (цоДНК). Определение цоДНК помогает не только в перспективе заменить биопсийный материал на анализ крови для определения биомаркеров эффективности противоопухолевой терапии, но помогает делать выводы о наличии резидуальной болезни после хирургического лечения при резектабельных стадиях заболевания. На первом этапе работы была создана тест-система по поиску соматических мутаций в опухоли путем таргетного секвенирования 50 наиболее часто мутированных генов. На образцах опухолей различной локализации 658 пациентов была доказана высокая чувствительность тест системы и прогностическое значение циркулирующей в крови опухолевой ДНК (цоДНК) при резектабельных стадиях.

В рамках экспериментальной научной разработки тест-системы для выявления мутаций в генах гомологичной рекомбинации при раке поджелудочной железы разработан Способ анализа герминальных мутаций в генах BRCA1, BRCA2, ATM и PALB2 с использованием мультиплексной ПЦР и последующей гибридизацией с олигонуклеотидным биологическим микрочипом (биочипом) (оформлен патент №2729360, от 06.08.2020). Сравнительный анализ литературы показал, что новая тест-система для выявления мутаций в генах гомологичной рекомбинации ДНК способна более эффективно выявлять мутации в генах гомологичной рекомбинации у пациентов, страдающим раком поджелудочной железы, раком предстательной железы, раком молочной железы и раком яичников. (Согласно клиническим рекомендациями RUSSCO генетическое тестирование в отношении данных мутаций является обязательным

компонентом в алгоритме диагностики. ФОМС уже определил тариф на тестирование данных мутаций в рамках программы ОМС с примерной стоимостью услуги около 15000 рублей.) Полученные данные указывают на повышенную чувствительность опухолей с мутациями BRCA/PALB2 к производным платины. Эти опухоли продемонстрировали также низкую чувствительность к альтернативной химиотерапии. Это свидетельствует о важной предикативной роли данных мутаций при раке поджелудочной железы. Данный предиктор предсказывает эффективность препаратов с невысокой стоимостью, например, цисплатину.

Получены расчетные данные об эффективности иммунотерапии анти PD-1/PD-L1 препаратами, которые соответствуют предварительным ожиданиям по выделению группы пациентов со злокачественными опухолями легкого и плевры с длительными ответами на иммунотерапию. В рамках изучения возможности преодоления резистентности на фоне таргетной терапии получены результаты, показывающие увеличение безрецидивной выживаемости у больных EGFR–позитивным немелкоклеточным раком легкого при использовании комбинированного подхода с применением интегрированной химиотерапии и таргетной терапии: медиана выживаемости без прогрессирования у пациентов, завершивших химиотерапевтический этап составила 20,0 мес (16,0- 23,9 мес, ДИ 95%), а стандартное применение зарегистрированных препаратов 1-2 поколения обеспечивает медиану безрецидивной выживаемости около 10 месяцев у этих пациентов. Проведенный нами анализ позволяет сказать, что экспрессия PD-L1 является прогностическим маркером продолжительности жизни больных злокачественной мезотелиомой плевры и может стать мишенью для иммунотерапии. Комплексный подход с использованием новейших хирургических, радиохирургических методов лечения в сочетании с химиотерапией при тщательном отборе среди пациентов распространенным, метастатическим НМРЛ позволяет получить значительное увеличение общей выживаемости для группы больных с олигометастатическим поражением.

Изучены возможности иммунотерапии ингибиторами контрольных точек иммунного надзора при распространенном гепатоцеллюлярном раке (ГЦР) как в первой линии лечения, так и при рефрактерном опухолевом процессе. Показана возможность достижения длительных (более 1 года) объективных эффектов в 15-18% случаев. Продemonстрирована возможность улучшения непосредственных и отдаленных результатов иммунотерапии ГЦР атезолизумабом при использовании в комбинации с препаратом моноклональным антителом к сосудистому эндотелиальному фактору роста: частота объективных эффектов в группе комбинированного лечения составила 32% по критериям mRECIST (включая 10% случаев полного эффекта), медианой времени до

прогрессирования равной 6,4 мес при недостигнутой медиане ОВ; в сравнении со стандартом терапии ГЦР - сорафенибом - отношение рисков прогрессирования ОР-0,58 и рисков смерти - ОР-0,59 в пользу комбинации иммунотерапии и антиангиогенной терапии, различие глубоко достоверно ($p < 0,001$). Моноиммунотерапия химиорефрактерного ГЦР пембролизумабом при 16,9% объективных эффектов позволила достигнуть медианы ОВ в 13,9 мес, что выше, чем в группе плацебо (10,6 мес) (ОР 0.781; 95% ДИ 0.611-0.998). Преимущество иммунотерапии над стандартным лечением продемонстрировано во всех клинически значимых подгруппах пациентов. Получены первые результаты понижения стадии локализованного ГЦР как этапа перевода заболевания в рамки, подходящие под критерии для ортотопической трансплантации печени.

Установлено, что при немелкоклеточном раке легкого Т- и НК-клетки в костном мозге достоверно преобладают при плоскоклеточном раке, а зрелые В-лимфоциты – при аденокарциноме. Эффекторные (перфорин-положительные) субпопуляции CD4+ и CD27+ были достоверно более выраженными при аденокарциноме легкого. Установлена связь этих популяций с уровнем эритрокариоцитов КМ при немелкоклеточном раке легкого. Выявленные особенности иммунного ответа (Т-, НК-клеточного или гуморального) для разных гистологических форм немелкоклеточного рака легкого позволят более направленно планировать таргетную и иммунотерапию у больных.

Выявлена достоверная корреляция между молекулярным подтипом рака молочной железы и уровнем В1-лимфоцитов в костном мозге. При раке молочной железы в сравнении с доброкачественными заболеваниями наблюдается достоверная взаимосвязь CD5+ В-лимфоцитов с клетками миелоидного ряда — эозинофильными миелоцитами и сегментоядерными нейтрофилами. Установлена зависимость между плазматическими клетками и В1-лимфоцитами: при повышенном уровне В1 клеток чаще повышены уровни плазматических клеток. Полученные данные позволяют предположить, что повышенный уровень В-клеток в костном мозге связан с большей вероятностью микрометастатического поражения костного мозга опухолью. Исследование уровня В-клеток костного мозга у больных раком молочной железы может помочь прогнозировать течение болезни и планировать терапию.

Установлены возрастные различия состояния системного противоопухолевого иммунного ответа на опухоль для 145 пациенток и 39 здоровых доноров двух возрастных групп (<40 и ≥ 40 лет) первично-операбельным РМЖ. Определен характер взаимосвязи субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с возрастом у 29 больных раком слизистой оболочки полости рта. Полученные результаты могут послужить основой

для дифференцированного подхода к назначению системного противоопухолевого лечения с учетом различий в иммунном ответе на опухоль у больных РМЖ разного возраста. Определены референсные значения и границы нормы для 35-ти субпопуляций лимфоцитов (186 здоровых доноров) на основе разработанной в лаборатории клинической иммунологии панели маркеров иммунокомпетентных клеток системного иммунитета в качестве основы оценки состояния иммунной системы онкологических больных. Предложен алгоритм анализа иммунограмм, в частности, линейной принадлежности клеток с детализацией гетерогенности популяции CD8⁺-лимфоцитов, маркеров активации и пула наивных клеток, различных типов регуляторных клеток лимфоидной дифференцировки (NKT, CD4, CD8), функциональной неоднородности CD8⁺ - лимфоцитов, функциональной активности клеток эффекторного звена врожденного и адаптивного иммунитета.

Получены Свидетельства о государственной регистрации базы данных: «База данных иммунного профиля опухолей и эффективности неoadъювантной химиотерапии у больных раком молочной железы» (№ 2020621197, зарегистрировано в Госреестре 15.07.2020 г.) и «База данных иммунного профиля опухолей и эффективности лечения больных меланомой» (БД № 2020622301, зарегистрировано в Госреестре 17.11.2020 г). Базы данных содержат информацию о характере лимфоидной инфильтрации опухолей, содержании различных субпопуляций лимфоцитов в опухолях, клинические и лабораторные данные, а также результаты оценки клинической эффективности лечения пациентов. Базы данных предназначены для систематизации и хранения сведений о характере иммунного профиля опухолей, а также обнаружения предикторов эффективности терапии и течения заболевания у больных меланомой и раком молочной железы на основе анализа выраженности лимфоидной инфильтрации и субпопуляционного состава опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов.

При клинико-морфологическом анализе крупноклеточного нейроэндокринного рака (КНЭР) различных локализаций (в легком и органах ГЭП системы), проведена оценка пролиферативной активности, дифференцировки, ИГХ исследование (chromogranin A, synaptophysin, SSTR-2A, p53, Ki-67) и секвенирование (ген TP53). Нейроэндокринная дифференцировка подтверждена выявлением экспрессии хромогранина А и/или синаптофизина. Индекс Ki-67 составлял от 40 до 80%. Экспрессия рецепторов соматостатина 2 типа была обнаружена в 15% опухолей. Белок p53 демонстрировал ядерную экспрессию в 64% случаев, из которых 72% были локализованы в легком. Для КНЭР легкого было дополнительно выполнено секвенирование гена TP53 (экзоны 4, 5, 6, 7, 8). Обнаружена миссенс мутация в 5 экзоне гена TP53. Не выявлено

корреляции между наличием мутантной формы белка p53 в клетках опухоли и морфологией или прогнозом КНЭР. Более низкий индекс Ki-67 коррелировал с нормальным/диким типом экспрессии p53 и наличием экспрессии SSTR-2 в клетках опухолей, что требует дальнейшего изучения.

В целях расширения возможностей диагностики бактериемии/сепсиса с полиорганной недостаточностью разработан и внедрен способ посева гемодиализных фильтров (в дополнение к посеву крови), который позволил увеличить частоту выделения микроорганизмов с 16,3% до 55%. Получен патент №2732222 «Способ диагностики бактериемии», зарегистрирован в Госреестре 14.09.2020 г. Способ предусматривает микробиологическое исследование гемофильтра, используемого при экстракорпоральной детоксикации больным с сепсисом, и включает несколько последовательных этапов. Жидкость из использованного гемофильтра высевается на стандартный набор питательных микробиологических сред. Далее в гемофильтр заливается стерильный физиологический раствор и он помещается в термостат на 24 часа. Производится повторный высев этой жидкости на питательные среды. В случае роста микроорганизмов производится их идентификация. Способ прост при осуществлении, высокоэффективен, осуществляется без использования дополнительного дорогостоящего оборудования, универсален, может использоваться в любой бактериологической лаборатории.

На биопсийном и операционном материале пациентов с диагнозом нейробластома была исследована зависимость экспрессии белка CRABP1 от типа генетических нарушений (амплификации гена MYCN, делеции локусов 1p36 и 11q23) и эффекта проведенной терапии. Показано, что в результате лечения возрастает степень дифференцировки опухолевых клеток ($p=0,035$) и увеличивается экспрессия белка CRABP1 ($p=0,027$). Созревание клеток нейробластомы зависело от типа генетических нарушений: при наличии амплификации гена MYCN повышение дифференцировки опухоли происходило более выражено, чем при наличии делеции 11q23. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности проведения детального анализа экспрессии белка CRABP1 в опухоли, что позволит более точно определить параметры, влияющие на ее поведение после проведенной терапии, что может быть важным клинически значимым фактором. Второй раздел работы – изучение экспрессии белка MYCN. На 20 образцах операционного/биопсийного материала пациентов с диагнозом нейробластома была проведена оценка экспрессии белка MYCN (Abcam) в зависимости от статуса гена MYCN и степени клеточной дифференцировки. По предварительным данным уровень экспрессии белка MYCN с большой вероятностью может коррелировать с прогнозом, а не со статусом гена MYCN.

В области детской онкологии

Разработаны и внедрены в детскую онкологию оптимизированные методики эндохирургии для диагностики и лечения детей и подростков с новообразованиями торако-абдоминальной локализации, что позволяет исключить инвалидизацию детей, послеоперационные осложнения, сократить период реабилитации и время госпитализации. Малоинвазивные операции характеризуются, незначительной кровопотерей и низким процентом конверсий доступа, интраоперационных и послеоперационных осложнений. Малоинвазивные операции у детей при новообразованиях торако-абдоминальной локализации не ухудшает отдаленных результатов терапии. Определены показания и противопоказания к малоинвазивным операциям в лечении детей с новообразованиями.

Разработана и внедрена в клиническую практику методика реконструктивной и функциональной эндоскопической хирургии с применением компьютерно-ассистированных систем навигации у детей и подростков, ранее перенесших эндоскопическое трансназальное удаление новообразований параменингеальной локализации. Применение данной методики позволило значительно снизить количество осложнений специального лечения.

Разработана и внедрена методика трехкомпонентной селективной интраартериальной химиотерапии (СИАХТ) у детей с рефрактерной и рецидивной ретинобластомой, методика основана на интенсификации интраартериальной химиотерапии. Предложенная методика позволяет значительно повысить процент сохраненных глаз, а также сохранить зрительные функции от светоощущения до предметного зрения.

Разработана и внедрена методика интраоперационной визуализации паращитовидных желёз. Методика основана на флуоресцентной навигации паращитовидных желёз с использованием источника оптического излучения, с длиной волны в диапазоне 380 нм - 440 нм и эндоскопа с системой фильтров. Применение данного метода позволяет интраоперационно визуализировать и сохранять паращитовидные железы у пациентов, тем самым исключить хроническую паратиреоидную недостаточность после тиреоидэктомии.

Разработана и внедрена методика интраоперационной визуализации возвратных нервов с помощью нейромониторинга при операциях на щитовидной железе. Применение данного метода позволяет визуализировать и выполнить деликатное и сохранное выделение возвратных нервов, под контролем нейромонитора с сохранением

анатомической целостности и функции нерва. Применение метода позволяет снизить риск послеоперационного пареза и паралича мышц гортани у пациентов с метастатическим и местно-распространённым раком щитовидной железы.

Изучен спектр соматических мутаций в меланоцитарных невусах у детей и наличие полиморфизмов в генах-кандидатах, ассоциированных с риском развития меланомы, проведено исследование молекулярно-генетического профиля редких меланоцитарных опухолей, включая меланому кожи, у детей в сравнении с меланомой кожи у взрослых с помощью высокопроизводительного секвенирования и биологических микрочипов. Продемонстрировано отличие молекулярно-генетического профиля редких меланоцитарных опухолей у детей от молекулярно-генетического профиля меланомы кожи у взрослых. На основании полученных данных разработаны алгоритмы рациональных действий врачей детских медицинских учреждений любого уровня для ранней диагностики и адекватной тактики ведения пациентов с пигментными новообразованиями кожи.

Разработана и внедрена методика анестезиологического обеспечения при селективной доставке химиопрепарата к сетчатке глаза при лечении детей с интраокулярной ретинобластомой. Получен патент на изобретение № 2713838 «Способ анестезиологического обеспечения при селективной доставке химиопрепарата к сетчатке глаза при лечении интраокулярной ретинобластомы у детей».

Разработан и внедрен метод дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных образований в печени у детей с помощью количественной оценки данных мультипараметрической магнитно-резонансной томографии. Подготовлена заявка № 2020126558 на получение патента «Способ дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных образований в печени у детей с помощью количественной оценки данных мультипараметрической МРТ с использованием как внеклеточных, так и гепатоспецифичных контрастных препаратов».

Разработан и внедрен в клиническую практику единый общероссийский протокол риск-адаптированной терапии детей с опухолями печени, в рамках протокола деэскалирован объем химиотерапии у пациентов группы низкого риска. Разработан алгоритм, позволяющий определить пациентов с гепатобластомой группы очень низкого риска, которые могут быть излечены только хирургическим методом, без химиотерапии. Определение стратегии лечения детей с опухолями печени позволило снизить непосредственную и отдаленную токсичность лечения и сократить период реабилитации.

Разработаны и одобрены научно-практическим Советом Минздрава России клинические рекомендации:

1. Злокачественные новообразования почек, почечных лоханок, мочеточника, других и неуточненных мочевых органов;
2. Интраокулярная ретинобластома;
3. Рак щитовидной железы;
4. Опухоли слюнных желез у детей;
5. Рак носоглотки;
6. Гепатобластома;
7. Экстракраниальные герминогенно-клеточные опухоли;
8. Злокачественные новообразования костей и суставных хрящей: остеосаркома, саркома Юинга;
9. Меланома кожи и слизистых оболочек;
10. Саркомы мягких тканей;
11. Нейробластома.

Результаты исследования внедрены в НИИ детской онкологии и гематологии, также разработанные методы лечения могут быть внедрены в отделения детских онкологических учреждений РФ.

В области клинической и экспериментальной радиологии

Впервые проведены клинические исследования целесообразности использования насыщаемых микросфер «Сфера – Спектр» Санкт-Петербург. Трансартериальная химиоэмболизация (ТАХЭ) печени была выполнена у 11 больных с первичным гепатоцеллюлярным раком. Во всех случаях при введении насыщенных микросфер удавалось достигнуть дистальной эмболизации опухолевых сосудов с неполной редукцией кровотока в приводящих печеночных артериях. Все больные перенесли лечение удовлетворительно, тяжелых осложнений в виде холецистита, панкреатита, абсцессов печени, печеночной недостаточности не было. На данном этапе исследования можно сделать заключение, что микросферы производства «Сфера – Спектр» Санкт-Петербург обладают необходимой безопасностью при выполнении ТАХЭ у больных с гепатоцеллюлярным раком и могут применяться при планировании поэтапной химиоэмболизации у больных со значительным объемом поражением печени, в т.ч. и билобарном.

Впервые в России на большой группе пациентов успешно разработан комплекс критериев, позволяющий наиболее корректно охарактеризовать изменения в

периферических лимфоузлах с использованием сочетанных ультразвуковых технологий, изучены эластические свойства периферических ЛУ с лимфопролиферативными изменениями.

Впервые в отечественной практике на большом клиническом материале изучена возможность применения ультразвуковой диагностики в оценке парастерального лимфатического коллектора у больных раком молочной железы, проведен анализ данных эластометрии и эластографии, определено пороговое значение скорости сдвиговой волны для лимфатических узлов, с целью более точного определения характера поражения. При использовании эластографии сдвиговой волной выявлено пороговое значение минимальной скорости сдвиговой волны – 2,00 м/с с чувствительностью 70,0%, специфичностью 59,3%, точностью 61,6%. Параметр «Area ratio» следует применять для дифференциальной диагностики лимфопролиферативного и метастатического поражения периферических ЛУ, чувствительность 80,6%, специфичность 70,0% и точность 78,8%. При количественном анализе КУУЗИ при лимфомах отмечается более высокое значение параметра TTR ($28,284 \pm 12,994$ с), чем при метастазах ($19,110 \pm 4,159$ с), что свидетельствует о неоангиогенезе в ЛУ с метастатическими изменениями.

Разработана методика ультразвуковой визуализации лимфатических узлов парастеральной области в В–режиме, информативность составила: чувствительность – 95,8%, специфичность – 88,9%, точность – 92,2%. Определено оптимальное пороговое значение СРСВ, которое составило 1.9 м/с. Комплексное УЗ–исследование, включающее в себя В–режим, режим ЦДК, эластографию и эластометрию, повышает информативность мультипараметрического ультразвукового исследования: чувствительность – 95,8%, специфичность – 92,6%, точность – 94,1%. Определена диагностическая эффективность мультипараметрического ультразвукового исследования в определении первичного и метастатического поражения периферических лимфатических узлов, что позволит в дальнейшем создать эффективный алгоритм исследования.

Оценены преимущества проведения ПЭТ/КТ с 18F-ПСМА (по сравнению с 18F-ФМХ) для выявления причины роста ПСА и подтверждения прогрессирования заболевания. ПЭТ/КТ с 18F-ПСМА продемонстрировала большую чувствительность при низких значениях ПСА, поэтому основной областью применения данного обследования стало рестадирирование пациентов после радикальной простатэктомии или лучевой терапии при биохимическом рецидиве (минимальный уровень ПСА, при котором было выявлено прогрессирование заболевания, составил 0,25 нг/мл). ПЭТ/КТ с 18F-ПСМА продемонстрировала высокий уровень выявления патологических изменений при увеличении уровня ПСА в сыворотке крови, а также наглядно показала преимущества по

сравнению с ^{18}F -фторметилхолином в выявлении местного рецидива заболевания, пораженных, но не увеличенных в размерах лимфатических узлов и в ранней диагностике костных метастазов.

Для отработки тераностического подхода применения наноструктур в лучевой диагностике и терапии злокачественных новообразований была расширена линейка используемых нами наноконструкций: 1. разработана методика получения прочного координационного комплекса иона гадолиния (Gd^{3+}) с рекомбинантным белком W4 - контрастирование опухолей с помощью спектроскопии парамагнитного резонанса и радиотерапия опухолей по принципу термоабляции. Исследование комплекса показали, что молярное соотношение W4/ Gd^{3+} составляет 1/4, что соответствует количеству гадолиний-связывающих сайтов в составе белка. 2. осуществлена наработка трех типов наноструктур золота (AuBSA , AuPEG и AuArE1 .) для проведения исследования их безопасности на лабораторных животных *in vivo*. Установлено, что включение в протокол синтеза стабилизаторов (BSA , меркапто-ПЭГ и рекомбинантный белок ArE1), выполняющих роль одновременно и протекторного покрытия, позволяет получать золотые наноструктуры с высокой концентрацией золота. Полулетальная доза LD50 составила 978 мг/кг для AuBSA , 2400 мг/кг для AuPEG и 915 мг/кг для AuArE1 . Наноструктуры AuPEG не оказывают токсического действия на животных в течение 3-х недель по данным острой токсичности и гистологического исследования.

Для изучения потенциальных возможностей применения создаваемых конструкций двойной направленности (тераностика, в том числе с использованием радионуклидов) разработана методика реализации опухолевой модели, основанной на внутрикостной инокуляции клеток меланомы мышей.

Выполнены курсы эндобилиарной фотодинамической терапии с использованием различных доз фотооблучения и дозировок фотосенсибилизатора. Проведена сравнительная оценка дозозависимых эффектов ФДТ у различных пациентов в различные сроки послеоперационного периода. На основании полученных данных разработан персонализированный алгоритм локорегионарного лечения неоперабельных больных гиллюсной холангиокарциномой.

Разработаны и внедрены методики нестандартного фракционирования дозы лучевой терапии в лечении больных раком легкого, молочной железы, предстательной железы, опухолями головного мозга. Данный подход позволяет увеличить дозу лучевой терапии на опухоль при сокращении курса облучения, что имеет радиобиологические и клинические обоснования. При указанных методиках не отмечено нарастание лучевой

токсичности, что связано с использованием высокотехнологичных подходов в планировании и реализации лучевой терапии.

Продемонстрирована значимая роль гипофракционной стереотаксической радиотерапии в улучшении результатов лечения местнораспространенного рака поджелудочной железы.

Разработаны оригинальные методики лучевого лечения метастазов рака предстательной железы, позволившие достигнуть стойкого локального контроля. На данные методики имеются патенты на изобретения.

При поддержке Минздрава России реализована программа клинической апробации метода лечения больных с метастатическим поражением печени с использованием стереотаксической радиотерапии, стереотаксической радиохирургии при метастатическом поражении головного мозга, позволяющие повысить эффективность лечения.

В области экспериментальной онкологии

Разработан состав пептидной дендритноклеточной вакцины против мышиной меланомы B16F10, которая является перспективной моделью для создания персонализированных вакцин для иммунотерапии меланомы человека, что может улучшить результаты лечения меланомы.

Разработан дизайн технологии получения персонализированной противоопухолевой вакцины. Предложена модель лекарственной формы в виде лиофилизата для получения суспензии. Разработаны лабораторные протоколы реализации технологии, создана биоинформационная система обработки данных NGS для получения специфических опухолевых неоантигенных пептидов.

Разработана новая технология молекулярного фенотипирования опухолей методом двойного иммунофлуоресцентного окрашивания, ассоциированного с проточной цитометрией, для количественной оценки уровня эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) солидных эпителиальных новообразований. Метод включает последовательное проведение двух этапов: а) выделение пула эпителиальных опухолевых клеток при иммунофлуоресцентном окрашивании антителами к цитокератинам; б) количественная оценка в этой популяции клеток исследуемого опухолевого маркера ЭМТ – виментина. Достоверность и воспроизводимость результатов, подтверждена при аналитической валидации сходимости, временной стабильности иммунофлуоресцентной окраски и внутрилабораторной прецизионности. Создан протокол проведения количественной оценки ЭМТ эпителиальных опухолей с использованием

иммунофлуоресцентного двойного окрашивания антителами к цитокератинам и к мезенхимальному белку виментину на проточном цитометре Navios Beckman Coulter.

Разработана оригинальная технология получения биомедицинского клеточного продукта на основе генетически модифицированных лимфоцитов с химерным T-клеточным рецептором. Проведенные доклинические исследования показали эффективность и безопасность клеточного продукта. Формируется производственная база, оснащенная современным высокопроизводительным оборудованием. Клеточный продукт предназначен для терапии солидных злокачественных опухолей, резистентных к стандартным методам противоопухолевого лечения у взрослых и детей.

Разработаны методические рекомендации и стандартная операционная процедура оценки иммунопрофилирования опухолей, в качестве фактора прогноза эффективности лекарственного лечения и течения рака молочной железы и меланомы.

Разработаны инновационные биомиметические клеточно-инженерные конструкции, перспективные для замещения сегментарных дефектов костей у больных с остеогенной саркомой. В опытах на собаках со спонтанными опухолями костей подтверждена функциональность созданных биоимплантатов.

Получены резистентные к ряду препаратов клетки рака предстательной железы человека. В ходе 20-кратного пассирования с 1/10 IC50 доксорубицина, цисплатина и абиратерона получены культуры клеток рака предстательной железы, отличающиеся по чувствительности к изученным агентам на два порядка. Резистентные культуры клеток адаптированы к росту у иммунодефицитных мышей. Запланировано исследование с использованием этих моделей механизмов развития резистентности с оценкой особой роли в этом процессе белков антиоксидантной системы, а также оценка изменения чувствительности полученных культур клеток к другим препаратам (перекрестная резистентность). Полученные данные позволят получить новые сведения о биологии рака предстательной железы и механизмах развития резистентности к терапии.

Получены данные о фармакокинетике новых ингибиторов CYP17A1, исследованы изменения экспрессии андрогенных рецепторов и их различных сплайс-вариантов в ходе терапии ксенографтов рака предстательной железы у иммунодефицитных мышей. Показана способность алсевирона дозозависимо ингибировать CYP17A1, регулировать экспрессию андрогенных рецепторов и вызывать противоопухолевый эффект на различных опухолевых моделях. Исследования новых ингибиторов CYP17A1 позволят повысить эффективность терапии рака предстательной железы, в том числе кастрационно-резистентного рака предстательной железы.

В результате реализации проекта создана лабораторная технология синтеза субстанции адамантинового производного – соединения BEL400, имеющего выраженный противоопухолевый эффект по оригинальному иммунотерапевтическому механизму действия. Прототип субстанции получен путем химического синтеза, охарактеризован разработанными методами контроля качества. Методами исследований на клеточных культурах и животных моделях мышей и крыс изучены параметры эффективности препарата на примере нескольких типов опухолей. Определен ряд опухолей, отвечающих на лечение.

В области фундаментальной онкологии

Продемонстрировано распространение гормональной резистентности от резистентных к чувствительным клеткам рака молочной железы в условиях совместного культивирования *in vitro* и установлено непосредственное участие экзосом в этом процессе. Показано, что экзосомы резистентных клеток вызывают существенное подавление эстрогенового сигналинга в клетках-реципиентах и идентифицировали микроРНК, гиперэкспрессированные в экзосомах резистентных клеток и являющиеся ингибиторами рецептора эстрогенов ER alpha. Полученные результаты свидетельствуют о ключевой роли подавления эстрогенового сигналинга в распространении экзосом-индуцированной резистентности и об участии экзосомальных микроРНК в негативной регуляции ER alpha.

Продемонстрирована способность 5 растительных полифенолов (кемпферола, сангвинарина, тимохинона, кверцетина и галлата эпигаллокатехина (EGCG) стабилизировать G-квадруплексы, образуемые 8 гуанин-богатыми последовательностями, находящимися в промоторах онкогенов (сMYC, KRAS, BCL2, WNT1, HRAS1, HRAS2, cKIT, VEGF). Изучено влияние кемпферола, сангвинарина, тимохинона, кверцетина на экспрессию гена сMYC. С помощью люциферазного репортерного анализа на клетках HeLa продемонстрировано, что эти соединения вызывают снижение экспрессии репортерного гена, находящегося под промотором гена сMYC, за счет стабилизации G-квадруплексов. Статистически значимое уменьшение экспрессии гена сMYC в клетках HeLa вызывали лишь кверцетин и тимохенон, а в клетках HT1080 – кемпферол, что, вероятно, связано с особенностями сигналинга в этих клетках и мультитаргетностью действия полифенолов. Во всех экспериментах обычно наблюдалась тенденция к уменьшению экспрессии гена сMYC в опухолевых клетках и отсутствие эффекта в условно нормальных immortalized клетках NKE и HaCaT, что хорошо согласуется с тем, что в опухолевых клетках экспрессия гена сMYC повышена.

Наиболее значимым полученным результатом является доказательство молекулярных механизмов действия новых низкомолекулярных химических соединений – производных гетероциклов: установлено уникальное многообразие противоопухолевых свойств антрахинонов с модифицированной боковой цепью (патентованы совместно с НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе). Установлена способность новых гетероциклических соединений блокировать активный транспорт противоопухолевых лекарств из клеток и преодолевать множественную лекарственную устойчивость.

Выявлено два новых прогностических маркера немелкоклеточного рака легкого. Впервые показано, что CHID1, традиционно считающийся маркером макрофагов, экспрессируется опухолевыми клетками легкого, и его экспрессия является фактором хорошего прогноза. Новым прогностическим маркером для НМРЛ оказался транскрипционный фактор PU.1. Показано, что в целом для опухолей НМРЛ PU.1 не является прогностическим маркером. Однако анализ с учетом гистологического типа опухоли показал, что низкое количество PU.1+ клеток в опухоли является фактором плохого прогноза для аденокарцином, в то время как для плоскоклеточных опухолей такое обстоятельство является фактором хорошего прогноза. Впервые показано, что анализ общей бактериальной нагрузки опухолей совместно с фенотипом опухолевой стромы может иметь прогностическую значимость. Высокая экспрессия iNOS в совокупности с повышенной бактериальной нагрузкой является маркером хорошего прогноза, а высокая бактериальная нагрузка опухоли с иммуносупрессией является маркером плохого прогноза НМРЛ.

В рамках разработки малоинвазивных подходов для диагностики гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) идентифицирована не имеющая аналогов в России и в мире панель диагностических маркерных сайтов, гиперметилированных в ГЦК, разработан метод их выявления в образцах плазмы крови. На основании полученных результатов создан экспериментальный образец тест-системы для диагностики *in vitro*, продемонстрировавший высокую чувствительность и специфичность при валидации на клинических образцах циркулирующей ДНК из плазмы крови пациентов с ГЦК. Ведутся работы по производству, подготовке к испытаниям и регистрации в Росздравнадзоре серийных образцов медицинского изделия «Тест-система для выявления диагностических маркеров метилирования в циркулирующей ДНК плазмы крови пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой».

В рамках поиска новых опухоль-специфических маркеров метилирования для диагностики опухолей впервые описано aberrантное метилирование геномного локуса длинной некодирующей РНК DLX6-AS1 в опухолях печени, поджелудочной железы и

яичников. При экспериментальной валидации полученных результатов на собственных выборках клинического материала методом бисульфитного пиросеквенирования выявлено статистически достоверное повышение уровня метилирования маркерного сайта в опухолевых тканях всех перечисленных нозологий по сравнению с неопухолевыми образцами. Это открывает возможность для дальнейшего исследования перспектив использования выявленного маркера для неинвазивной диагностики методом жидкостной биопсии.

Разработан метод SLAM-MS (Stem-Loop AMplicon Mutation Scanning), для мутационного сканирования клинически значимых генов в опухолевой ткани и плазме крови онкологических больных. SLAM-MS является модификацией асимметричной ПЦР с TaqMan зондами и позволяет оценить как число копий последовательности-мишени в исследуемом образце ДНК, так и соотношение в нем мутантных и нормальных аллелей в обеих нитях ампликона, пригоден для сканирования мутаций в ДНК тканей и парафиновых блоков. Метод апробирован для сканирования мутаций в онкогене KRAS и может быть адаптирован для анализа генетических нарушений в других клинически значимых генах.

В рамках разработки метода выявления экспрессируемых соматических мутаций в циркулирующей ДНК пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой для мониторинга течения заболевания проведен анализ результатов транскриптного секвенирования для определения спектра потенциально драйверных мутаций для 40 случаев гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Оказалось, что количество функционально значимых нарушений, выявляемых таким способом, не превышает нескольких десятков, что существенно облегчает анализ данных. Продемонстрирована высокая межопухолевая гетерогенность мутаций, идентифицирован ряд новых нарушений при ГЦК, в том числе повторяющихся у разных пациентов. Разработано несколько методов детекции выявленных мутаций как в опухолевой ткани, так и в небольших количествах циркулирующей ДНК из плазмы крови тех же пациентов. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности выбранного подхода и позволяют перейти к исследованию возможности его использования для персонализированного мониторинга опухолевого роста методом жидкостной биопсии.

Показано, что ВЭБ-специфические антитела, будучи повышенными при любой стадии рака носоглотки, позитивно реагируют на проведенную терапию, и в группе больных после проведения терапии их значения были статистически достоверно ниже, чем в группе первичных больных. Информативность вирусной ДНК в качестве маркера РНГ была подтверждена при изучении больных, находящихся в состоянии ремиссии и

рецидива. Медиана чисел копий ДНК ВЭБ в плазме больных, позитивно отреагировавших на проведенное лечение и находящихся в стадии ремиссии, существенно и статистически высоко достоверно отличалась от таковой у больных, в состоянии рецидива. Проведенные исследования показали, что биологические маркеры ВЭБ, титры вирус-специфических антител и концентрация циркулирующей вирусной ДНК, могут быть эффективным инструментом для уточнения диагноза и прогноза, определения состояния ремиссии или рецидива в странах, не эндемичных для РНГ. Кроме того, показано, что циркулирующая ДНК ВЭБ по сравнению с серологическим ответом к вирусу является более чувствительным маркером, однако оптимальный диагностический эффект может быть достигнут только при совместном их использовании.

Доказана возможность восстановления чувствительности гастроинтестинальных опухолей (ГИСО) к действию таргетного препарата первой линии – иматиниба, а также доказана нецелесообразность увеличения дозировки иматиниба при возникновении резистентности к его действию при монотерапии, вследствие того, что подобная терапия приводит к приобретению клетками ГИСО более агрессивного фенотипа.

Показано, что одним из молекулярных механизмов приобретения гастроинтестинальных опухолей (ГИСО) резистентности к действию иматиниба является активация в них FGF2-зависимого сигналинга, подавление которого при помощи специфичных ингибиторов рецептора FGFR2 (ингибирующими антителами или малой молекулой BGJ398 (инфигратиниб) – ингибитор FGFR1/2/3) приводит к восстановлению чувствительности ГИСО к иматинибу при их совместном использовании. Полученные результаты говорят о необходимости внедрения в практику дополнительного анализа FGF2-зависимого сигналинга в клиническом материале для корректировки схем химиотерапевтического лечения пациентов с ГИСО с первичной или приобретенной резистентностью к действию иматиниба.

На основании анализа данных секвенирования полного транскриптома клинических образцов гепатоцеллюлярной карциномы разработан и экспериментально верифицирован алгоритм выявления потенциально патогенных наследственных полиморфизмов и изменений транскрипционной программы, которые могут вносить вклад в злокачественную трансформацию клеток печени.

Впервые разработана методика выделения секретлируемых экстраклеточных нановезикул (экзосом) из аспирационного материала из полости матки. Предварительные данные секвенирования малых некодирующих РНК показывают наличие достоверных отличий профилей микроРНК в экзосомах, полученных из аспириатов пациентов с онкогинекологическими заболеваниями (прежде всего рак яичника) и здоровых доноров.

Дальнейшее исследования в этом направлении позволят определить панель экзосомальных микроРНК, ассоциированных с патогенезом рака яичника, для разработки маркеров ранней неинвазивной диагностики данного заболевания.

На экспериментальных моделях цервикальных клеток идентифицированы четыре клеточные микроРНК и две вирусные микроРНК, способные подавлять экспрессию онкогенов вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ 16-го типа). Данные о противовирусной активности клеточных и вирусных микроРНК могут лечь в основу для разработки новых подходов к диагностике и терапии ВПЧ-ассоциированных опухолей.

Показано, что устойчивость клеток множественной миеломы человека к препаратам – ингибиторам протеасомы (карфилзомиб, иксазомиб) может быть вызвана не только химиопрепаратом этого же класса (бортезомиб), но и при воздействии ретиноидами. На сегодняшний день бортезомиб и другие протеасомные ингибиторы показали наибольшую клиническую активность при лечении гематологических злокачественных новообразований, особенно множественной миеломы и лимфомы мантийных клеток. Полученные результаты указывают на возможность формирования устойчивости к протеасомным ингибиторам в результате предыдущего воздействия препаратами другого класса соединений.

Впервые получены и охарактеризованы первичные культуры клеток глиобластомы. Полученные первичные культуры глиобластом могут быть использованы в качестве новых модельных систем как для исследования чувствительности клеток глиобластом к уже применяющимся и новым химиопрепаратам, так и для исследования механизмов формирования и прогрессии этого новообразования.

Показано, что вновь синтезированное производное индокарбазолов ЛХС1269, проявившее токсическую активность в опытах *in vivo* на перевиваемых штаммах опухолевых клеток и на культурах опухолевых клеток *in vitro* блокирует переход клеток из стадии синтеза ДНК (G2) в стадию митоза (M), тем самым приводя к подавлению их пролиферации. Полученные данные свидетельствуют в пользу перспективности дальнейшей разработки ЛХС1269 в качестве нового противоопухолевого препарата.