

Н.В. Интегративная роль альбумина: эволюционные, биохимические и патофизиологические аспекты // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2021. №12(107). С. 1455–1489.

Belinskaya D.A., Voronina P.A., Goncharov N.V. Integrative role of albumin: evolutionary, biochemical and pathophysiological aspects // Russian Logical Journal named after T.H.E.M. Sechenov. 2021. No. 12(107). P. 1455–1489.

3. Гостищев В.К. Дифференцированный подход к выбору кожно-пластических операций больных с хирургической инфекцией // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2009. № 12. С. 20–23.

Gostishchev V.K. Differentiated approach to the choice of skin-plastic operations for patients with surgical infection // Surgery. Journal named after N.I. Pirogov. 2009. № 12. P. 20–23.

4. Зиновьев Е.В., Солошенко В.В., Коуров А.С., Шаповалов С.Г. К вопросу о тангенциальной некрэтомии в хирургии ожогов (обзор литературы) // Медико-биологический и социально-психологический проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2020. №3. С. 24–35. <https://doi.org/10.25016/2541-7487-2020-0-3-24-35>

Zinoviev E.V., Soloshenko V.V., Kourov A.S., Shapovalov S.G. On the issue of tangential necrectomy in burn surgery (literature review) // Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations. 2020. №3. P. 24–35.

5. Зиновьев Е.В., Солошенко В.В., Юрова Ю.В., Костяков Д.В., Вагнер Д.О., Крылов П.К. Лизис/отторжение рассеченных аутодермотрансплантатов – пути решения // Вестник

Российской военно-медицинской академии. 2020. Т. 22. №3. С. 194–198. <https://doi.org/10.17816/bmma50559>

Zinoviev E.V., Soloshenko V.V., Yurova Y.V., Kostyakov D.V., Vagner D.O., Krylov P.K. Lysis/rejection of split autoderma grafts – solutions // Bulletin of the Russian Military Medical Academy. 2020. Vol. 22. N. 3. P. 194–198.

6. Инфекционные осложнения ожоговой болезни / Кутявин Н.А., Маратканов М.В., Фатыхова Ч.А., Стяжкина С.Н. // Modern science. 2021. №4(2). С. 50–53.

Infectious complications of burn disease / Kutyavin N.A., Maratkanov M.V., Fatykhova Ch.A., Styazhkina S.N. // Modern science. 2021. №4(2). pp. 50–53.

7. Липатов К. В., Комарова Е. А., Кривихин Д. В. Особенности аутодермопластики рассеченным лоскутом в гнойной хирургии // Альманах клинической медицины. 2007. №16. С. 96–99.

Lipatov K.V., Komarova E.A., Krivikhin D.V. Features of autodermaplasty with a split flap in purulent surgery // Almanac of Clinical Medicine. 2007. No. 16. P. 96–99.

8. Проницаемость ожогового струпа для воды и микроорганизмов: обоснование сроков некрэтомии / Рябков М.Г. и др. // Неотложная хирургия им. И.И. Джанелидзе: мат-лы конф. «Актуальные проблемы термической травмы». 2021. №1. С.53–54.

Permeability of a burn scab to water and microorganisms: justification for the timing of necrectomy / Ryabkov M.G. and others // Emergency surgery named after I.I. Dzhanelidze. Collection of materials from the conference "Current

problems of thermal injury". 2021. No. 1. P.53–54.

9. Фаязов А.Д., Туляганов Д.Б., Камилов У.Р., Рузимурадов Д.А. Современные методы местного лечения ожоговых ран // Вестник экстренной медицины. 2019. №1. Т. 12. С. 43–47. <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennyye-metody-mestnogo-lecheniya-ozhogovyh-ran-1>

Fayazov A.D., Tulyaganov D.B., Kamilov U.R., Ruzimuratov D.A. Modern methods of local treatment of burn wounds // Bulletin of emergency medicine. 2019. №1. Vol. 12. P. 43–47.

10. Юрова Ю. В. Диагностика готовности гранулирующих ожоговых ран к свободной аутодермопластике: дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2014. 156 с.

Yurova Yu. V. Diagnosis of readiness of granulating burn wounds for free autodermaplasty. Abstract of thesis of Doctor of Medical Sciences. Saint. Petersburg; 2014. 156 p.

11. Юрова Ю.В., Зиновьев Е.В. Влияние методов хирургического лечения ожоговой раны на частоту развития патологических рубцов // Неотложная хирургия им. И.И. Джанелидзе: мат-лы конф. «Актуальные проблемы термической травмы». 2021. №1. С.77–78.

Yurova Yu.V., Zinoviev E.V. The influence of methods of surgical treatment of burn wounds on the incidence of pathological scars // Emergency surgery named after I.I. Dzhanelidze. Collection of materials from the conference "Current problems of thermal injury". 2021. No. 1. P.77–78.

12. Thachil, J. The protective rather than prothrombotic fibrinogen in COVID-19 and other inflammatory states // J. Thachil // J Thromb Haemost. 2020. №18. P. 1849–1852.

А.С. Гончарова, Т.М. Кечерюкова, В.С. Трифанов,
А.Ю. Максимов, С.В. Гурова, А.В. Галина, И.В. Головинов,
Д.В. Ходакова

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДОКСОРУБИЦИНА В МОНОТЕРАПИИ И В КОМБИНАЦИИ С ИНГИБИТОРОМ HIF-1α НА МОДЕЛИ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ IN VIVO

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону: **ГОНЧАРОВА Анна Сергеевна** – к.б.н., зав. испытательным лабораторным центром, fateyeva_a_s@list.ru, **КЕЧЕРЮКОВА Тахмина Мажитовна** – врач по рентгенэндоваскулярным методам диагностики и лечения, tkecheryukova@mail.ru, **МАКСИМОВ Алексей Юрьевич** – д.м.н., зам. ген. директора по перспективным научным разработкам, rnioi@list.ru, **ГУРОВА Софья Валерьевна** – м.н.с., gurova.sophie@gmail.com, **ГАЛИНА Анастасия Владимировна** – м.н.с., volkovaav58@mail.ru, **ГОЛОВИНОВ Игорь Викторович** – м.н.с., ivgolovinov@yandex.ru; **ТРИФАНОВ Владимир Сергеевич** – д.м.н., доцент, зав. центром абдоминальной хирургии, врач-хирург, в.н.с. филиала МНИОИ им. П.А. Герцена ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Москва, в.н.с. ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, trifan1975@yandex.ru.

Изучена возможность улучшения противоопухолевой эффективности доксорубина путем комбинирования его с ингибитором HIF-1α на модели гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). В ходе данного исследования было установлено, что наиболее эффективное подавление роста опухолевых узлов происходило в группе 3, у животных с редукцией кровотока и применением доксорубина, где среднее значение объемов опухолевых узлов было статистически значимо меньше, чем в контрольной группе. В группе 2, у животных с редукцией кровотока и применением комбинации доксорубина и бортезомиба, среднее значение объемов опухолевых узлов статистически значимо не отличалось от объемов опухолевых узлов контрольной группы. Полученные нами результаты показали, что редукция кровотока сосудов печени в сочетании с доксорубином оказывает значительное ингибирующее действие на рост внутрипеченочных опухолевых узлов, в то время как добавление бортезомиба к этой схеме не приводит к торможению роста опухоли. Наши результаты дают стимул к более подробному изучению механизмов противоопухолевого ответа или причин его отсутствия, а также альтернативных кандидатов для терапии ГЦК.

Ключевые слова: рак печени, гепатоцеллюлярная карцинома, бортезомиб, HIF-1α, TAXЭ, HepG2.

In our work, we attempted to improve the antitumor efficacy of doxorubicin by combining it with an HIF-1α inhibitor in a model of hepatocellular carcinoma. During this study, it was established that the most effective suppression of tumor growth occurred in group 3, in animals with

reduced blood flow and the administration of doxorubicin, where the mean volume of tumor nodules was significantly smaller than the mean volume in the control group. In Group 2, in animals with reduced blood flow and the use of a combination of doxorubicin and bortezomib, the mean tumor node volume did not differ statistically from the volume of tumor nodes in the control group. Our findings indicate that a reduction in hepatic vascular blood flow in conjunction with doxorubicin exerts a pronounced inhibitory impact on the proliferation of intrahepatic tumor nodes. However, the introduction of bortezomib to this regimen does not result in the inhibition of tumor growth. Our results provide a rationale for a more comprehensive investigation of the mechanisms underlying the antitumor response or the reasons for its absence, as well as alternative candidates for HCC therapy.

Keywords: liver cancer, hepatocellular carcinoma, bortezomib, HIF-1 α , TACE, HepG2.

Введение. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) является третьей наиболее распространенной причиной смертности от рака во всем мире [12]. Несмотря на появление многообещающих стратегий лечения, прогноз для пациентов с ГЦК крайне неоднороден из-за сложности диагностики на ранней стадии заболевания.

За последние десятилетия исследования пролили свет на эпидемиологию, факторы риска, а также генетические профили ГЦК, способствуя развитию стратегий профилактики, наблюдения, ранней диагностики и лечения [3,12]. Варианты лечения гепатоцеллюлярной карциномы зависят от стадии заболевания, общего состояния пациента и сопутствующих заболеваний.

Хирургическое вмешательство, включая резекцию опухоли или трансплантацию печени, является основным методом при ранних стадиях рака, когда возможно полное удаление опухоли. Другие варианты лечения включают местную терапию, например, радиочастотную абляцию или трансартериальные подходы и системную терапию сорафенибом, регорафенибом и ниволумабом [11]. Для пациентов с неоперабельной ГЦК основными методами лечения являются трансартериальные подходы и системная химиотерапия [11].

Одним из стандартных методов лечения нерезектабельной ГЦК является трансартериальная химиоэмболизация (ТАХЭ), которая основана на двух взаимодополняющих механизмах: цитотоксической химиотерапии и эмболизации артерий, питающих опухоль. Ограничение роста опухоли в данной процедуре достигается как за счет воздействия цитостатического препарата доxorубицина, так и за счет гипоксии, которая возникает в результате блокады кровоснабжения опухоли [11,14]. Раковые клетки в свою очередь по-разному реагируют на снижение оксигенации. С одной стороны, гипоксия вызывает остановку роста, гибель раковых клеток, снижение их подвижности, за счет чего и реализуется противоопухолевый эффект эмболизации артерий. С другой стороны, известно,

что в целом ряде публикаций гипоксия описана как фактор, связанный с клинически агрессивным фенотипом, повышенной инвазивной способностью, перифокальным распространением опухолевых клеток, региональным и отдаленным распространением и устойчивостью к различным методам лечения [14].

Таким образом, предполагается, что гипоксия может способствовать отбору популяции опухолевых клеток, способных адаптироваться к гипоксии за счет активации сигнального HIF-1 α . В связи с этим ингибирование сигнального HIF-1 α можно рассматривать как потенциально эффективный способ преодоления негативных эффектов гипоксии [2, 6].

По многим литературным данным, бортезомиб (БТЗ), являющийся первым одобренным FDA ингибитором протеасом, способен также блокировать биологические эффекты сигнального HIF-1 α [13]. Некоторые доклинические исследования свидетельствуют о том, что терапевтическое преимущество БТЗ при лечении солидных опухолей может быть связано с ингибированием HIF-1 α [13].

Также БТЗ реализует свое противоопухолевое действие через механизм ингибирования протеасомы — клеточного комплекса, ответственного за деградацию белков, что приводит к накоплению проапоптотических факторов и угнетению клеточного цикла, что в конечном итоге способствует гибели раковых клеток [8].

В исследовании *in vitro* Baiz D. et al. изучали воздействие бортезомиба на такие клеточные линии, как HepG2 и JHH6. Авторы работы пришли к выводу, что в зависимости от заданной дозировки заметно снижается количество живых опухолевых клеток [4].

Исследования *in vitro* показали, что БТЗ отдельно или в сочетании с другими препаратами оказывает сильное цитотоксическое действие против широкого спектра видов рака, включая рак молочной железы, легких, простаты и печени [7].

В связи с этим целью работы было изучение возможности улучшить противоопухолевую эффективность док-

сорубицина путем комбинирования его с ингибитором HIF-1 α на модели гепатоцеллюлярной карциномы.

Материалы и методы. В ходе эксперимента использовали 15 самок мышей линии Balb/c Nude в возрасте 12-14 недель, средний вес которых составлял 27-30 г. Животные были получены из собственного разведения вивария Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Мышей содержали в индивидуальных вентилируемых клетках, корм и вода были предоставлены без ограничений. Все манипуляции, проводимые в рамках исследования, были выполнены согласно этическим принципам, установленным Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г). Протокол исследования был одобрен локальным биоэтическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Все хирургические вмешательства проводили с использованием внутримышечной инъекционной анестезии «Ксила» в дозе 20 мг/кг, «Золелил-100» в дозе 50 мг/кг. Для создания ортотопической модели ГЦК предварительно четырем самкам мышей линии Balb/c Nude вводили культуру клеток линии HepG2 в количестве 5 млн клеток в 200 мкл питательной среды DMEM без сыворотки и антибиотиков подкожно в правый бок. Когда опухолевые узлы достигли диаметра 1,5 см, животных эвтаназировали, новообразование извлекали и делили на небольшие фрагменты размером 2x2x2 мм для дальнейшей имплантации.

По достижении необходимой глубины наркоза производили иссечение кожи и брюшной стенки по белой линии живота, двенадцатиперстную кишку и желудок смещали каудально, обнажая левую долю печени. Фрагменты опухоли, полученной от подкожной модели ГЦК, трансплантировали животным-реципиентам в предварительно созданный печеночный карман. По окончании манипуляции органы возвращали в брюшину согласно их анатомическому расположению. Опера-

ционную рану ушивали непрерывным хирургическим швом.

Измерение линейных размеров опухолевых узлов осуществляли в ходе диагностической лапаротомии при помощи штангенциркуля на 14-е сут после проведения хирургического вмешательства по поводу создания ортотопической модели ГЦК.

Определение объема опухолевого узла производили по формуле:

$$V=LW^2/2,$$

где L, W – линейные размеры опухоли.

В качестве критерия распределения животных по группам использовали размер опухолевого узла на 14-е сут после внутривенной имплантации опухолевого фрагмента. Животные были распределены по группам так, чтобы разброс средних значений объема опухолевых узлов между группами был минимальным. Животные были распределены по группам согласно данным, приведенным в таблице.

Результаты и обсуждение. Учитывая ограниченную эффективность современной химиотерапии для неоперабельной ГЦК, представляется актуальным рассмотреть возможность улучшить результаты лечения путем применения терапевтической схемы с использованием БТЗ. Наше исследование было направлено на оценку противоопухолевой эффективности доксорубина в монотерапии и в комбинации с бортезомибом, ингибитором HIF-1α, на модели гепатоцеллюлярной карциномы.

В ходе данного исследования было установлено, что наиболее эффективное подавление роста опухолевых узлов происходило в группе 3, у животных с редукцией кровотока и применением доксорубина, среднее значение объемов опухолевых узлов составило $395,33 \pm 95,70 \text{ мм}^3$ ($p < 0,05$), что было в 2,1 раза меньше среднего значения объемов контрольной группы, равного $830,56 \pm 144,86 \text{ мм}^3$. В группе 2, у животных с редукцией кровотока и

применением комбинации доксорубина и бортезомиба, среднее значение объемов опухолевых узлов составило $761,48 \pm 117,95 \text{ мм}^3$, что статистически не отличалось от объемов опухолевых узлов контрольной группы 1 (рисунок).

Согласно данным литературы применение комбинации бортезомиба и доксорубина позволяет надеяться на достижение выраженного противоопухолевого эффекта: в эксперименте на клеточных линиях был продемонстрирован синергическое действие этих препаратов в каждой протестированной последовательности [10]. Было также показано, что бортезомиб обеспечивает возобновление чувствительности к доксорубину в клеточных линиях, которые ранее выработали устойчивость к его цитотоксическим эффектам [10].

Несмотря на тот факт, что имеются данные, свидетельствующие об аддитивной активности бортезомиба по отношению к другим химиопрепаратам, в нашем исследовании мы не наблюда-

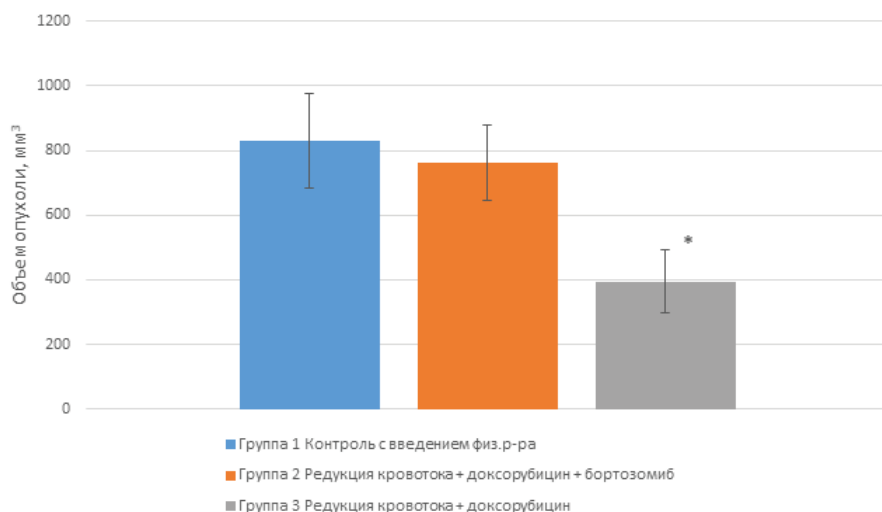
Дизайн исследования

Номер группы	Количество животных (мыши nude), пол	Имплантация клеток/фрагмента гцк	Манипуляция	Терапия	Способ введения, дозировки и сроки введения препарата
1 (контроль)	5 ♀	Имплантация фрагмента	Без воздействия	Физиологический раствор	Внутрибрюшинно, 200 мкл, 3 раза в неделю
2	5 ♀	Имплантация фрагмента	Редукция кровотока	БТЗ + доксорубин	Внутрибрюшинно, 5 мг/кг + 5 мг/кг, 3 раза в неделю
3	5 ♀	Имплантация фрагмента	Редукция кровотока	Доксорубин	Внутрибрюшинно 5 мг/кг, 3 раза в неделю

Редукцию кровотока печени путем окклюзии портальной триады выполняли при помощи отработанной методики для создания гипоксического воздействия [1]. Редукцию кровотока печени у лабораторных мышей в данном исследовании выполняли для имитации биологических эффектов процедуры трансартериальной эмболизации, выполняемой в отношении больных с ГЦК.

Полученные данные анализировали при помощи пакета программ STATISTICA 10.0. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка среднего, сравнение выполняли с использованием критерия Стьюдента, статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Эвтаназию выполняли на 21-е сут от начала введения исследуемых препаратов при помощи декапитации, после чего выполняли замеры выделенных опухолевых узлов.



Размеры опухолевых узлов на 21-е сут после начала введения препаратов

* Статистически значимые различия по отношению к контрольной группе ($p < 0,05$)

ли улучшения противоопухолевой эффективности при применении комбинации бортезомиба с доксорубицином. Полученные нами результаты соответствуют данным Y. J. Lee с соавт. (2022), где было также продемонстрирована ограниченная эффективность комбинации бортезомиба с доксорубицином при лечении рака яичников, только у 2 из 23 пациентов наблюдался частичный ответ [9]. Далее NGS анализ образцов опухолей установил, что у двух ответивших на терапию пациентов были соматические мутации в генах *BRCA2*, *ATM* и *CDK12*, что, возможно, и было причиной чувствительности к данной терапии, однако авторы подчеркивают, что это объяснение является только гипотезой и необходимы дальнейшие исследования для изучения прогностических биомаркеров терапевтического ответа на терапию комбинацией бортезомиба с доксорубицином.

Также Ciombor K.K. et al. в своем эксперименте применяли данную комбинацию при ГЦК, где также была продемонстрирована ограниченная эффективность этого подхода, что, вероятно, связано с небольшим размером выборки [5]. Авторы также предлагают оценивать уровни цитокинов и хемокинов (IL-6, IL-8, MGSA/Gro- α , MIP-1 α , VEGF и т.д.) в качестве биомаркеров терапевтического ответа на комбинацию бортезомиба с доксорубицином и указывают на необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

Заключение. Полученные нами результаты показали, что редукция кро-

вотока сосудов печени в сочетании с доксорубицином оказывает значительное ингибирующее действие на рост внутрипеченочных опухолевых узлов, в то время как добавление бортезомиба к этой схеме не приводит к торможению роста опухоли. Тем не менее наши результаты дают стимул к более подробному изучению механизмов противоопухолевого ответа или причин его отсутствия, а также альтернативных кандидатов для терапии ГЦК.

Литература

1. Влияние гипоксии на пролиферативную активность клеток ортотопического ксенографта гепатоцеллюлярной карциномы печени в эксперименте / Т.М. Кечерюкова [и др.] // Южно-российский онкологический журнал. 2024. Vol. 5, №. 2. P. 35-42.
2. Influence of hypoxia on the proliferative activity of cells of orthotopic xenografts of hepatocellular carcinoma of liver in experiment / T.M. Kecheryukova [et al.] // South Russian Cancer Journal. 2024. Vol. 5, No. 2. P. 35-42.
3. Метахронный первично-множественный рак головки поджелудочной железы и печени: случай развития гепатоцеллюлярной карциномы 10 лет спустя после панкреатодуоденальной резекции / О.И. Кит [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021. №. 11 (195). С. 79-83.
4. Metachronous primary multiple cancer of the head of the pancreas and liver: a case of development of hepatocellular carcinoma 10 years later after pancreatoduodenal resection / Kit O. I. et al. // Experimental and clinical gastroenterology. 2021. No. 11 (195). P. 79-83.
5. Моделирование гипоксии печени в эксперименте in vivo / А.С. Гончарова [и др.] // Якутский медицинский журнал. 2023. № 2.
6. Simulation of liver hypoxia in an experiment in vivo / A. S. Goncharov [et al.] // Yakut medical journal. 2023. No. 2.
7. Baiz D. et al. Bortezomib arrests the proliferation of hepatocellular carcinoma cells HepG2

and JHH6 by differentially affecting E2F1, p21 and p27 levels // Biochimie. 2009. Vol. 91. No. 3. P. 373-382.

5. Ciombor K. K. et al. Phase II trial of bortezomib plus doxorubicin in hepatocellular carcinoma (E6202): a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group // Investigational new drugs. 2014. T. 32. P. 1017-1027.

6. Deng F. et al. Development and validation of a prognostic classifier based on HIF-1 signaling for hepatocellular carcinoma // Aging (Albany NY). 2020. Vol. 12. No. 4. P. 3431.

7. Farshbaf M. et al. Enhanced BBB and BBTB penetration and improved anti-glioma behavior of Bortezomib through dual-targeting nanostructured lipid carriers // Journal of Controlled Release. 2022. Vol. 345. P. 371-384.

8. Farshbaf M. et al. Enhanced BBB and BBTB penetration and improved anti-glioma behavior of Bortezomib through dual-targeting nanostructured lipid carriers // Journal of Controlled Release. 2022. Vol. 345. P. 371-384.

9. Lee Y. J. et al. A phase II trial to evaluate the efficacy of Bortezomib and liposomal doxorubicin in patients with BRCA Wild-type platinum-resistant recurrent ovarian cancer (KGOG 3044/EBLIN) // in vivo. 2022. Vol. 36. No. 4. P. 1949-1958.

10. Mitsiades N. et al. The proteasome inhibitor PS-341 potentiates sensitivity of multiple myeloma cells to conventional chemotherapeutic agents: therapeutic applications // Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2003. Vol. 101. No. 6. P. 2377-2380.

11. Petrillo M. et al. Hypoxia and tumor angiogenesis in the era of hepatocellular carcinoma transarterial loco-regional treatments // Future oncology. 2018. Vol. 14. No. 28. P. 2957-2967.

12. Sidali S. et al. New concepts in the treatment of hepatocellular carcinoma // United European gastroenterology journal. 2022. Vol. 10. No. 7. P. 765-774.

13. Sun X. et al. Visualizing the antivascular effect of bortezomib on the hypoxic tumor microenvironment // Oncotarget. 2015. Vol. 6. No. 33. P. 34732.

14. Wong C. C. L., Kai A. K. L., Ng I. O. L. The impact of hypoxia in hepatocellular carcinoma metastasis // Frontiers of medicine. 2014. Vol. 8. P. 33-41.