



Астрелина Т.А.,
Удалов Ю.Д.,
Паринов О.В.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Москва,
2026

медико-биологическое агентство
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр
имени А.И. Бурназяна»
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИННОВАЦИЙ И НЕПРЕРЫВНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Астрелина Т.А., Удалов Ю.Д., Паринов О.В.

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ
РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОЖНЫХ
ПОКРОВОВ ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ**

Монография

Москва 2026

УДК 616-001.28
ББК 52.57+53.53
А912

Астрелина Т.А., Удалов Ю.Д., Паринов О.В.

Прогнозирование индивидуальной радиочувствительности кожных покровов при лучевой терапии. Монография. — М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2026. — 114 с.

Авторы:

Астрелина Т.А. — заведующая кафедрой регенеративной медицины, гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии МБУ ИНО, руководитель Центра биомедицинских и аддитивных технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, доктор медицинских наук, профессор.

Удалов Ю.Д. — генеральный директор ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, доктор медицинских наук, доцент.

Паринов О.В. — главный врач ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, доктор медицинских наук, доцент.

Рецензенты:

Аклеев А.В. — доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, директор ГБУН ЮУрФНКЦ МБ ФМБА России.

Азова М.М. — доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологии и общей генетики медицинского института РУДН.

Монография посвящена современным представлениям прогнозированию индивидуальной радиочувствительности и развития местных лучевых реакций кожных покровов при лучевой терапии. Постоянно происходит накопление научных знаний об эффектах радиационного облучения на молекулярном, клеточном, тканевом уровнях, а также на уровне всего организма, что указывает на сложность механизмов его воздействия.

Монография предназначена врачам радиологам, онкологам, гематологам, иммунологам, генетикам, педиатрам, клинической лабораторной диагностики, биологам, радиобиологам, трансплантологам, ординаторам, интернам, аспирантам и всем исследователям в области регенеративной медицины для использования в клинической практике. Монография может использоваться для проведения занятий для облегчения процесса обучения.

ISBN 978-5-93064-412-8

© ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, 2026

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	4
РАДИОБИОЛОГИЯ	5
Радиационное воздействие на живые ткани	7
Биологический ответ на радиационное воздействие	8
Патогенез радиационных поражений	10
Местные лучевые поражения	13
Клинические проявления местных лучевых поражений	15
Применение клеточных технологий при лечении радиационных поражений	18
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ	32
Индивидуальная радиочувствительность кожных покровов пациентов, подвергшихся радиационному облучению	32
Системный ответ на ионизирующее облучение (лучевую терапию) ...	54
Прогностические маркеры для ранней диагностики радиационных повреждений кожных покровов	63
Маркер неблагоприятного прогноза при раке молочной железы	79
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	91
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	95

ПРЕДИСЛОВИЕ

Посвящается памяти Маливаной Т.Ф.

Представленная монография посвящена коллеге ученому кандидату медицинских наук Маливаной Татьяне Федоровне. Всю свою научную жизнь Татьяна Федоровна посвятила изучению новых молекулярно-генетических маркеров рака молочной железы одного из самых тяжелых заболеваний в онкологии.

На сегодняшний день особенно важно оценить экстраполяции рисков, развитие эффектов на молекулярном и клеточном уровнях, возникающих вследствие ионизирующего излучения. Данные исследований свидетельствуют о необходимости оценки риска возникновения эффектов после радиационного облучения. Идентификация биологических механизмов, приводящих к развитию эффектов после облучения, определение способности этих механизмов реагировать на дозу и мощность дозы облучения, а также понимание, какие процессы могут влиять на развитие местных лучевых поражений является одной из важных задач радиобиологии. Накопление научных знаний о механизмах действия радиационного облучения на организм указывает на сложность механизмов воздействия ионизирующего излучения.

Представленные результаты исследований в монографии выполнены с участием высокквалифицированных специалистов Маливановой Т.Ф., Кобзевой И.В., Сучковой Ю.Б., Суховой М.Ю., Любаевой Е.С. и др.

Проведенный анализ исследований в данной монографии дает возможность прогнозирования индивидуальной радиочувствительности кожных покровов пациента при лучевой терапии.

Цель подготовки данной монографии — ознакомить читателя с современными представлениями прогнозирования индивидуальной радиочувствительности кожных покровов пациента при лучевой терапии. Понимание биологических основ прогнозирования индивидуальной радиочувствительности кожных покровов пациента при лучевой терапии на молекулярном, клеточном, тканевом уровнях организма может иметь практическое значение. Для удобства восприятия пособие содержит иллюстрации и таблицы.

Авторы

РАДИОБИОЛОГИЯ

В последние десятилетия всё больше возрастает применение радиационных (ионизирующих) излучений в различных сферах человеческой деятельности, в том числе и в медицине. Самое большое применение ионизирующих излучений нашли в лучевой терапии злокачественных новообразований. Однако при облучении опухолей невозможно избежать радиационных поражений здоровых тканей.

Также радиационные излучения сопровождают многие другие виды профессиональной деятельности человека, такие как дефектоскопия, работа на предприятиях ядерно-топливного цикла и на атомных электростанциях, сопровождаемые профессиональным облучением человека. Нередко происходят и радиационные инциденты, в результате которых сотрудники этих предприятий и население могут облучаться различными дозами ионизирующих излучений (ИИ).

Изучением действия радиационных излучений на биологические объекты разной степени организации — от изолированной клетки до организма человека занимается радиобиология. Основная задача, которую ставит перед собой радиобиология — определение общих закономерностей биологического ответа на воздействие ИИ. Эти закономерности являются научной основой гигиенической регламентации радиационного фактора и овладением искусства управления лучевыми реакциями организма.

Вопрос изучения возможности профилактики и лечения радиационно индуцированных повреждений кожи при локальном воздействии ионизирующим излучением на сегодняшний день остается открытым. Трудности терапии местных лучевых поражений (МЛП) обусловлены характерными для лучевых язв нарушениями обменных и пролиферативных процессов в тканях, изменениями в состоянии как тканевой, так и регионарной циркуляции в зоне повреждения [1–14]. На клеточном уровне микроокружение ткани представлено широким спектром субпопуляций, включая ангиогенные сосудистые клетки, фибробласты и иммунные клетки (макрофаги, Т-лимфоциты, нейтрофилы, НК-клетки). Среди иммунных клеток макрофаги представляют собой одну из наиболее распространенных

субпопуляций и связаны с секрецией множества цитокинов и ростовых факторов, таких как эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактор некроза опухоли (TNF, TNF- α) [15]. Являясь важной частью микроокружения ткани, цитокины имеют двустороннюю связь с клетками. Цитокины играют решающую роль в иммунной системе, вызывая специфический ответ.

Одним из наиболее часто упоминаемым цитокином в микроокружении ткани является TNF [16–19]. TNF является плеiotропным про-воспалительным цитокином, продуцируемым многими типами клеток, но в основном клетками моноцитарного ряда, моноцитами и макрофагами. Предполагается, что патогенез радиационных поражений идет через хроническое воспаление, и повышенный уровень этого про-воспалительного цитокина может быть фактором риска развития заболеваний. Ген TNF имеет ряд функциональных одно-нуклеотидных полиморфизмов, влияющих на уровень продукции этого цитокина и ассоциированных с широким спектром аутоиммунных, кардиоваскулярных и онкологических заболеваний [18, 19]. Приоритетные данные о влиянии таких одно-нуклеотидных полиморфизмов гена TNF на прогноз РМЖ будут положены в основу разработки новой панели молекулярных маркеров, которая в дальнейшем позволит выявлять генетически детерминированные группы больных РМЖ с неблагоприятным прогнозом заболевания. Интерес к разработке высокотехнологичных методов, направленных на профилактику и лечение радиационных поражений актуален.

Все больше данных подтверждают, что хроническое воспаление создает условия, которые приводят к злокачественной трансформации. Иммунные клетки, постоянно проникающие в ткани, активно индуцируют окислительный стресс и высвобождают растворимые медиаторы, такие как цитокины, хемокины и факторы роста, влияющие на гены и белки, участвующие в клеточном цикле, репарации ДНК и апоптозе. Удельный вес радиационного облучения (лучевой терапии) как самостоятельного метода радикального лечения увеличивается. Пациенты, получающие идентичный курс лучевой терапии (объем и суммарная очаговая доза) согласно стандартным протоколам имеют заметные различия в характере и степени выраженности лучевых реакций. Очевидные различия радиочувствительности пациентов стали причиной возникновения исследований,

направленных на определение индивидуальной радиочувствительности для прогнозирования риска развития токсичности у онкологических больных, получающих лучевое лечение.

В связи с этим, актуальными являются исследования, направленные на поиск прогностических маркеров для ранней диагностики радиационных повреждений при ионизирующем облучении, направленных на профилактику и лечение радиационных поражений.

Одной из главных составляющих радиобиологии является понимание основного радиобиологического парадокса — несоответствие между ничтожным количеством поглощенной энергии и экстремальными реакциями (вплоть до летального эффекта) облучаемых биологических объектов. Теоретические представления о молекулярных механизмах действия ИИ и результаты экспериментальных исследований, проведенные с использованием собственных радиобиологических методов, позволяют решить задачи радиобиология [1].

Радиационное воздействие на живые ткани

В конце XIX века произошел ряд больших открытий, которые изменили научное представление о физике и биологии того времени. В 1895 г. В. Рентген открыл X-лучи (впоследствии названные рентгеновскими), которые возникали в месте столкновения катодных лучей с преградой внутри катодной трубки. Была опубликована статья о новом виде излучения и разослана в виде отдельной брошюры ведущим физикам Европы. В 1896 г А. Беккерель проводил опыты по фосфоресценции в солях урана и случайно обнаружил явление радиоактивности. В дальнейшем им было замечено, что фотографические пластинки показывали степень облучения чистым ураном в 3–4 раза больше облучения первоначально использовавшейся соли урана. Результаты Беккереля легли в основу исследований Пьера и Марии Кюри, которые впоследствии открыли два элемента — полоний и радий.

В 1896 г. ученый И.Р. Тарханов проводил эксперименты по изучению воздействия рентгеновских лучей на живые объекты, в ходе которых он выявил нарушение физиологических процессов в организме земноводных [2]. В этом же году появились первые данные о возникновении дерматитов после воздействия X-лучей на кожные покровы в процессе рентгенодиагностики. П. Кюри [3] провел эксперимент, в ходе которого в течение 10 часов

испытывал на себе воздействие радия. В результате у него сформировалась язва в области предплечья, которая не заживала в течение двух месяцев. К 1902 г. было зарегистрировано около 172 поражений кожи при воздействии на нее ионизирующего излучения [4].

В XX веке широко распространилось использование радиоактивных веществ в науке, медицине и промышленности, увеличилось число негативных последствий, связанных с неправильным обращением источников ионизирующего излучения [4]. После бомбардировки Хиросимы и Нагасаки, техногенной Кыштымской катастрофы и аварии на Чернобыльской АЭС стали активно изучать процессы патогенеза и особенности течения лучевой болезни [5]. Это послужило развитию исследований в науке, медицине, военной промышленности, геологии, а также космических исследований в области противорадиационной защиты, лучевой терапии, радиофармацевтической и медицинской промышленности, радиоэкологии и других сфер науки.

Биологический ответ на радиационное воздействие

В настоящее время после действия ионизирующего излучения разделяют следующие этапы течения биологического ответа [6]:

1. Ионизация, возбуждение и диссоциация молекул — физический процесс.
2. Распределение поглощенной энергии внутри и между молекул, разрыв слабых химических связей, образование неспаренных электронов — физико-химический процесс.
3. Реакции между свободными радикалами, образование большого числа молекул, приводящие к нарушению структуры и функциональных свойств — химический процесс.
4. Повреждения и их развитие на всех уровнях биологической организации: от проявления биомолекулярных повреждений (микросекунды — часы) до проявления отдаленных биологических последствий (годы) — биологический процесс [7].

Первые три этапа относят к первичным радиационным изменениям молекул. Механизм развития первичных реакций объясняют либо теорией прямого действия ионизирующего излучения, когда повреждение молекулы наступает в результате непосредственного поглощения энергии, либо теорией косвенного воздействия, когда повреждения происходят за счет поглощения энергии от других молекул или в результате взаимодействия с

продуктами радиационного разложения окружающей воды и др. [8].

В процессе изучения основных механизмов радиационного поражения клеток предложено несколько гипотез («принцип попаданий» или «принцип мишеней», гипотеза «выхода ферментов», гипотеза «цепных реакций с разветвляющимися цепями», «эффект свидетеля» и др.), однако, наиболее аргументированной считают структурно-метаболическую гипотезу о радиационно-химических реакциях, которые нарушают состав макромолекул и надмолекулярных структур, приводящие к нарушению механизмов репликации ДНК и транскрипции РНК, процессов клеточного обмена и системы внутриклеточной репарации и повторном воздействии образовавшихся токсических веществ [9].

После облучения в клетке в зависимости от дозы происходит изменение вязкости цитоплазмы, ее вакуолизация, повышение коэффициента лучевого преломления, изменение степени окрашивания; нарушение ядерных структур; происходит смена реакции на изменение рН среды; повышение проницаемости клеточной мембраны для воды и электролитов [10]. Происходящие процессы в клетке могут привести к летальному исходу (репродуктивная и интерфазная клеточная гибель) или к нелетальному исходу (клетка восстанавливается после повреждения за счет собственного репаративного потенциала или за счет стимуляции репаративных процессов при терапии).

Клетки организма различных типов и в пределах одной ткани будут иметь разную чувствительность к радиации. В 1906 г. учеными И. Бергоне и Л. Трибондо был сформулирован основной закон радиочувствительности тканей: «радиочувствительность тканей обратно пропорциональна степени их дифференцировки и прямо пропорциональна пролиферативной активности клеток». Критерием чувствительности к радиации считается зависимость гибели клеток от величины поглощенной дозы: чем ниже поглощенная доза, вызывающая гибель клеток, тем выше радиочувствительность. Наиболее радиочувствительными структурами организма при внешнем облучении являются лимфатическая ткань, костный мозг, селезенка, половые железы, тимус, желудочно-кишечный тракт. Кожа и органы зрения относятся к среднерadiочувствительным, а сердце, легкие, почки, печень, кости, центральная нервная система и мышцы — к низкорadiочувствительным структурам организма.

Патогенез радиационных поражений

В результате разной радиочувствительности отдельных органов и тканей после достижения определенной пороговой дозы, скрытого (латентного) периода (в зависимости от продолжительности обновления клеточного цикла) появляются радиационные поражения. Основная масса (70 %) стволовых клеток содержится в базальном слое эпидермиса, 30 % — клетки, не способные к воспроизводству, которые по мере созревания поднимаются к слою шиповатых клеток [10]. В зависимости от локализации клеток полный цикл обновления эпидермиса колеблется от 4 до 20 дней. Более половины базальных клеток находятся на глубине, превышающей 200 мкм, выстилая каналы волосяных фолликулов (рис. 1).

При радиационном поражении на облученном участке кожи макрофаги и нейтрофилы активируют и модулируют цитокины: MDC (хемокин, получаемый из макрофагов), TIMP1 (тканевый ингибитор металлопротеиназы), экзотаксин, VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), TGF β 1 (трансформирующий ростовой

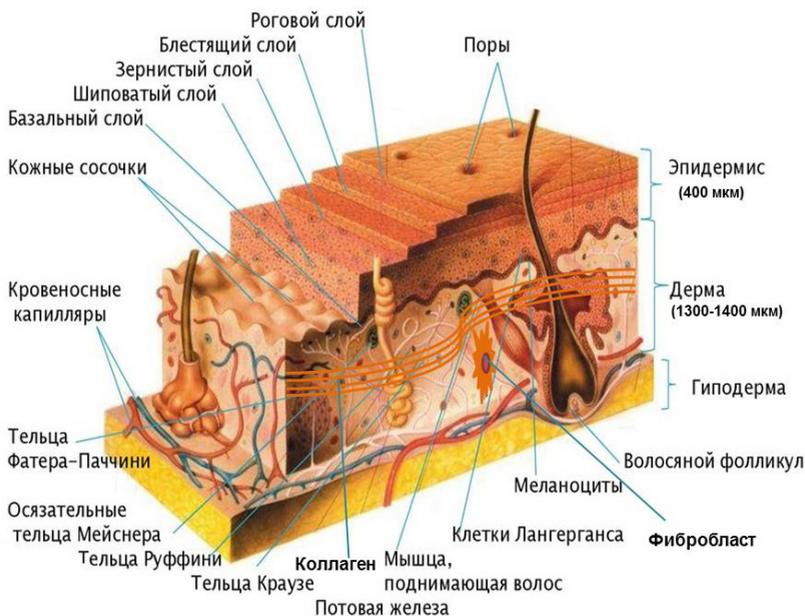


Рис. 1. Строение кожи (<https://ppt-online.org/147325>)

фактор, бета-1) и TGFb2 (трансформирующий ростовой фактор, бета-2) и другие факторы, связанные с тканевыми макрофагами. Местная иммунная среда генерирует свободные радикалы (ROS/RNC), что приводит к стойкому локальному окислительному стрессу и повреждению ДНК в ткани, что в дальнейшем приводит к апоптозу и гибели клетки [10] (рис. 2).

Патогенез радиационного поражения формируется из морфологических эффектов, функциональных повреждений и восстановления их на клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях.

Эффекты, развивающиеся в коже и подкожной клетчатке, в различных сосудах, мышцах, костях и суставах, а иногда и во внутренних органах имеют важное значение для клинических проявлений радиационных поражений.

Патогенетические *ранние* проявления местного радиационного поражения, возникающие в течение первых нескольких суток после облучения, связаны в основном с повреждением эпидермиса,

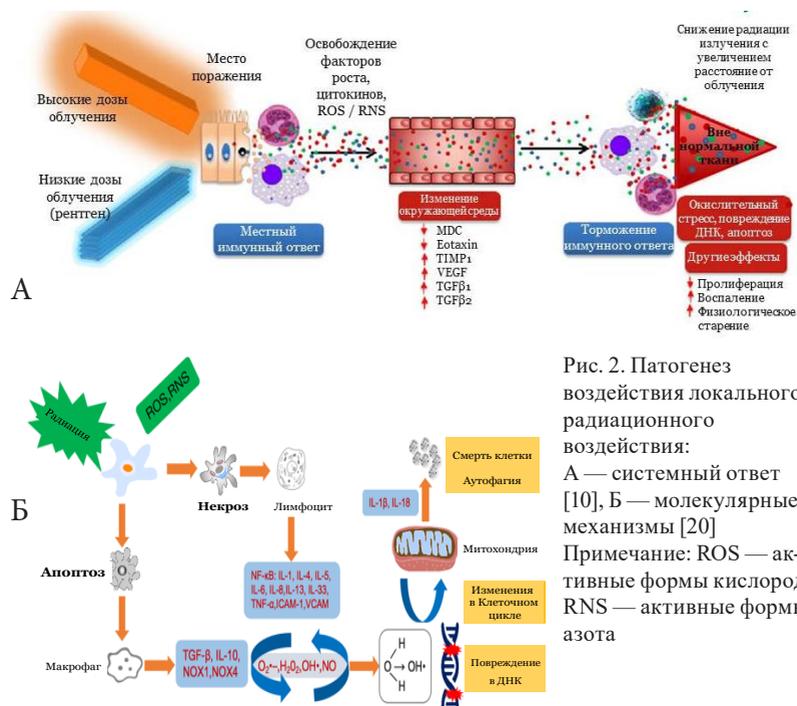


Рис. 2. Патогенез воздействия локального радиационного воздействия:

А — системный ответ [10], Б — молекулярные механизмы [20]

Примечание: ROS — активные формы кислорода, RNS — активные формы азота

поздние — с повреждением дермы. Стволовые клетки базального слоя эпидермиса и эпителия вокруг придатков кожи при облучении являются критическими элементами кожи. Созревающие клетки эпидермиса, а также фибробласты, миоциты и прочие функциональные клетки являются более радиорезистентными. Блокирование деления стволовых клеток эпидермиса, вызванное облучением, играет ведущую роль в развитии ранних лучевых поражений. Прекращение поступления новых клеток из базального слоя в вышележащие слои эпидермиса приводит к отслойке последнего. Прямая (митотическая и интерфазная) гибель клеток базального и других слоев эпидермиса происходит при облучении в высоких дозах. В результате этого некротические и дегенеративные процессы охватывают все слои кожи, постепенно распространяясь на глубоко лежащие ткани при развитии глубоких радиационных поражений [12–14].

Нарушение складчатого строения кожи, снижение продукции коллагена, эластина и глюкозаминогликанов происходит в результате радиационной гибели фибробластов и мезенхимальных стромальных клеток (МСК) [10].

Спустя месяцы и годы после облучения происходит развитие поздних проявлений радиационных поражений без видимого восстановления в результате повреждения стволовых клеток базального слоя эпидермиса и поражения сосудистого эндотелия. При этом на пораженных участках кожи наблюдается прогрессирующая атрофия, изъязвление и некроз с облитерацией капилляров, атрофическая аваскулярная и неэластичная дерма, неспособная питать лежащий поверх нее эпидермис [12].

Степень локального облучения может быть очень велика, но, несмотря на высокую поглощенную дозу, поражения в большинстве случаев оказываются совместимыми с жизнью благодаря ограниченности объема облученных тканей. Причиной смерти пациента, при радиационных поражениях, в отдельных случаях может стать поражение жизненно важных органов или большого объема мягких тканей [12–14].

Гибель клеток базального слоя эпителия проявляется уже при невысоких дозах (3–5 Гр) локального облучения и при отсутствии клинических симптомов повреждения [15]. Когда процесс репарации не в состоянии перекрыть клеточную гибель за время, близкое к длительности периода клеточного обновления, проявляются клинические изменения. После облучения в дозе

15–18 Гр выживает одна из 100 000 клеток поверхностных слоев эпидермиса, но даже в этих условиях возможна эпителизация, чаще неполноценная [15]. Важное значение играют расположенные более глубоко — в каналах волосяных фолликулов базальные клетки, которые подвергаются воздействию ионизирующего излучения в меньшей степени, что способствует восстановлению кожных покровов после облучения [16]. Для повреждения более резистентных сальных и потовых желез необходимо воздействие радиации в дозе 18–20 Гр. Глубокие функциональные и морфологические изменения происходят в меланоцитах после ионизирующего излучения. Поэтому отдаленном периоде участки кожи после облучения приобретают «пёстрый» вид: «зоны гиперпигментации».

Местные лучевые поражения

Существует множество терминов местных лучевых поражений, в литературе можно встретить такие как радиационно-индуцированный дерматит (РД), радиационно-индуцированное поражение кожи, лучевой ожог, лучевой дерматит, радиодермит, лучевое поражение подкожной жировой клетчатки, ранние лучевые поражения кожи (РЛПК).

Местное лучевое поражение (МЛП) — специфическое радиационное поражение кожных покровов и подлежащих тканей, включая внутренние органы, находящихся в проекции действия на тело пучка глубоко проникающего ионизирующего излучения [21–33]. МЛП могут возникать в результате поглощения энергии после острого или хронического воздействия ионизирующего излучения, приводящего к ранним или отсроченным повреждениям [34]. Интенсивность, длительность и тяжесть МЛП зависит от дозы; детерминированной или тканевой реакцией [35]. Повреждение тканей зависит от объема облученной области, дозы, поглощенной этим объемом ткани, качества излучения и внутренних факторов облученных (сопутствующие заболевания) [36, 37].

МЛП кожи часто встречаются при радиационных авариях и инцидентах с источниками ионизирующих излучений. 25 % МЛП у пациентов развивается при внештатных ситуациях и авариях на предприятиях атомной промышленности, а остальные 75 % — в других отраслях, где широко применяется радиационная дефектоскопия, а также у пациентов, подвергавшихся

диагностическому и терапевтическому облучению, что продемонстрировано при анализе отраслевой принадлежности предприятий. Риск возникновения МЛП чаще происходит при неправильном планировании процедуры, ошибках персонала и нарушении техники безопасности при ее проведении, а также при неправильном хранении, эксплуатации, транспортировке источника ионизирующего излучения. В последние годы отмечается увеличение частоты аварий с потерянными источниками и по количеству случаев превосходит производственные [2].

Изолированные МЛП возникают в аварийных ситуациях при эксплуатации рентгеновских аппаратов и ускорителей заряженных частиц. Радиационные аварии с радиоизотопными источниками приводят к развитию МЛП у 70–75 % пострадавших. Радиоизотопные источники ^{137}Cs и ^{92}Ir являются наиболее часто используемыми при дефектоскопии и чаще всего оказываются среди потерянных [9–19].

Ситуации, сопровождающиеся развитием МЛП, фигурируют во всех национальных и международных регистрах. Частота их, как правило, превышает число случаев с общими проявлениями лучевой болезни.

Наиболее частая локализация МЛП — кисти рук и передняя поверхность бедра (в области проекции кармана одежды).

МЛП легкой степени («лучевая реакция») часто наблюдаются в онкологической практике при проведении лучевой терапии и является осложнением у 85–95 % пациентов, проходящих курс стандартной лучевой терапии [38–41].

Развитие МЛП связано прежде всего с тем, что кожа является первой на пути движения ионизирующего излучения в целевую область, что неминуемо приводит к поглощению части энергии излучения.

Как правило, МЛП легкой (I) степени требуют минимальной консервативной терапии и разрешаются без рецидивов, каких-либо других отдаленных последствий, отсутствием снижения качества жизни и трудоспособности пациентов.

Распространенность МЛП средней, тяжелой и крайне тяжелой степени значительно меньше. Развитие МЛП в результате радиационных аварий и инцидентов до 10–12 человек в мире, из них только в 1–2 случаях развивается острая лучевая болезнь (ОЛБ), в остальных случаях — МЛП.

Спустя месяцы и годы после облучения происходит развитие поздних проявлений МЛП без видимого восстановления в результате повреждения стволовых клеток базального слоя эпидермиса и поражения сосудистого эндотелия. При этом на пораженных участках кожи наблюдается прогрессирующая атрофия, изъязвление и некроз с облитерацией капилляров, атрофическая аваскулярная и неэластичная дерма, неспособная питать лежащий поверх нее эпидермис [13].

Клинические проявления местных лучевых поражений

Местные радиационные поражения характеризуются возникновением лучевых ожогов, клиническая картина которых определяется поглощенной дозой, энергией и видом излучения, а также индивидуальными особенностями организма, площадью ожога и его локализацией.

Выделяют четыре степени тяжести лучевого поражения и несколько фаз развития МЛП по клиническим проявлениям и визуальной оценке со стороны кожных покровов [21]. Период длительности клинических фаз и тяжесть поражения после облучения зависит от вида ионизирующего излучения и распределения поглощенной дозы в глубине тканей.

Выделяют следующие фазы МЛП:

- фаза первичной реакции или первичной эритемы;
- латентная фаза;
- фаза разгара;
- фаза непосредственного восстановления и период отдаленных последствий [9, 10].

Острый период:

- 1) первичная реакция — первичная эритема;
- 2) скрытый (латентный) период;
- 3) период разгара:
 - вторичная эритема, отек;
 - последующая сухая или влажная десквамация, первичный некроз;
 - изъязвление, вторичный некроз;
 - третья волна эритемы.

Исходы:

- полное заживление;

- заживление с дефектами (формирование рубцов, атрофия);
- отсутствие заживления (язвы и некроз, инфекционные осложнения).

Последствия:

- нарушение пигментации;
- сухость кожи, гиперкератоз;
- телеангиоэктазии;
- атрофия кожи и подлежащих тканей, клетчатки, мышц;
- лучевой склероз или фиброз;
- поздние лучевые язвы, остеопороз;
- остеонекроз, контрактуры.

Первичная эритема возникает спустя 12–24 ч после воздействия ионизирующего облучения. Сроки и выраженность первичной реакции не имеют прямой зависимости от дозы лучевого воздействия и не являются критериями для определения степени тяжести МЛП [21].

Длительность последующей латентной фазы обратно пропорциональна величине поглощенной дозы и площади пораженного участка кожи. Наличие латентной фазы является одной из основных особенностей лучевых поражений и служит надежным критерием для дифференциальной диагностики с термическими и химическими ожогами.

Фаза разгара сменяет латентную обычно на 2–3 неделе после облучения, что совпадает с длительностью цикла обновления эпидермиса. Клинически фаза разгара проявляется развитием вторичной эритемы и отека с последующей сухой или влажной десквамацией, развитием первичного некроза, формированием изъязвлений. Время возникновения вторичной эритемы зависит не только от величины и мощности поглощенной дозы, но также от характера ее распределения по глубине кожи, от размеров площади поражения и от его локализации. Клиническая картина, выраженность симптомов и длительность фазы разгара зависят от степени тяжести МЛП.

Поражения легкой и средней степеней тяжести под действием консервативной терапии чаще всего успешно разрешаются и заканчиваются полной эпителизацией и выздоровлением пациентов.

МЛП большей степени тяжести характеризуется развитием эрозивных поверхностей или язвенных дефектов кожных покровов. Течение этой фазы различно для разных видов лучевого воздействия. Наиболее тяжело протекают МЛП, вызванные воздействием гамма- или нейтронного излучения. В этом случае заживление язв затягивается на месяцы и завершается образованием грубых рубцов (поражение тяжелой степени). При прогрессировании некротического процесса (поражение крайне тяжелой степени) восстановление тканей невозможно. В этом случае необходимо применение хирургической тактики лечения [1, 9–12].

В отдаленном периоде на месте бывших лучевых язв и эрозий можно наблюдать рубцово-атрофические изменения с выраженной гиперпигментацией, множественными телеангиоэктазиями и гиперкератозом. Последствиями наиболее тяжелых поражений могут стать формирующиеся деформации и контрактуры суставов, мышечные дистрофии, остеопороз и остеонекроз [1, 10, 13].

К наиболее тяжелым отдаленным последствиям МЛП относятся поздние лучевые язвы (рис. 3), обусловленные глубокими трофическими нарушениями и поражением сосудистых структур, снижением оксигенации тканей, интоксикацией и сенсбилизацией продуктами постоянного распада облученных тканей.



Рис. 3. Поздние лучевые язвы МЛП

Они также могут возникать на ампутационных культиях или вокруг пересаженных трансплантатов в тех случаях, когда выполненные ранее хирургические вмешательства были недостаточно радикальными.

Развитие вторичной трофической радиационной язвы часто связано с возникновением кровоизлияния в ткани. На месте бывшего поражения в толще рубца без какой-либо связи с внешним воздействием вдруг возникает точечное кровоизлияние, вокруг которого начинается некроз и распад тканей. Постепенно вокруг язвы нарастает рубцовая ткань, рубцы уплотняются. Признаков активной регенерации нет. Поздние лучевые язвы склонны к инфицированию, крайне плохо поддаются проводимой консервативной терапии, сопровождаются выраженным болевым синдромом, что может привести к инвалидизации пациентов, последующему злокачественному перерождению (особенно при развитии в месте предшествующего поражения массивных гиперкератозов). Малигнизация наиболее характерна для последствий многолетнего хронического переоблучения [1].

Применение клеточных технологий при лечении радиационных поражений

Поздние последствия лучевой терапии представляют собой особенно сложную категорию лечения радиационных поражений. Ежегодно в мире лучевую терапию получают около 7 миллионов пациентов [42, 43]. Воздействие лучевой терапии на ткани сложное и длительное. Патофизиологию повреждения кожи в результате лучевой терапии обычно можно разделить на прямое воздействие ионизирующего излучения на клетки и иммунный ответ организма на повреждение, что приводит к неконтролируемому воспалению, окислительному стрессу и потере или молекулярному повреждению регенеративных и восстановительных клеток кожи.

Существует немного методов лечения, способных восстановить поврежденные ткани. Терапия с отрицательным давлением часто используется для стимуляции образования грануляционной ткани и уменьшения объема раны [44, 45]. Частичная и полная пересадка кожи имеет крайне низкую эффективность из-за плохой васкуляризации облученной ткани и не способна восстановить объем в глубоких ранах. В последние годы применение цитокинов, фибробластов и кератиноцитов в раневое ложе

продемонстрировали эффективность [46–49] Показано, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) способны замещать поврежденные или разрушенные клетки посредством дифференцировки, снижать воспаление и окислительный стресс, модулировать иммунный ответ и способствовать ревазуляризации; однако большая часть этих исследований все еще находится на стадии экспериментов на животных и предварительных клинических испытаний [50, 51].

При применении клеточной терапии происходит взаимодействие с пораженной средой и восстановление тканей, модуляция воспаления, стимуляция ангиогенеза, пролиферация, дифференцировка клеток, замещение утраченной архитектуры и структуры кожи [52, 53].

В настоящее время отсутствует какое-либо радикальное лечение МЛП. Выбор способа и метода лечения зависит от индивидуальных особенностей, связанных с радиочувствительностью, тяжести поражения, диагностики и прогнозирования течения патологического процесса МЛП. Лечение МЛП является сложной задачей и включает в себя как консервативную терапию, так и хирургические методы. Принципы консервативной терапии основываются на необходимости воздействия на отдельные звенья патогенеза лучевого поражения, а также проведении профилактики осложнений и минимизации отдаленных последствий. В настоящее время консервативная терапия направлена на уменьшение воспалительной реакции, ограничение некробиотических процессов, дезинтоксикацию, улучшение микроциркуляции, стимуляцию репаративных процессов, обезболивание и профилактику, а также борьбу с инфекцией. Полное заживление МЛП при консервативной терапии возможно у пациентов со средней степенью поражения (площадь $<2,5 \text{ см}^2$) [54–64].

Заживление радиационных повреждений (на уровне кожи, состоящей из эпидермиса и дермы) происходит за счет клеток, положительно прикрепляющих фибробластов в дерме, формирующие внеклеточный матрикс. Заживление глубоких радиационных повреждений (на уровне фасции, содержащей фибробласты, внеклеточный матрикс, кровеносные сосуды, нервы и макрофаги) происходит за счет миграции фибробластов фасции для закрытия поврежденной поверхности (рис. 4) [55].

Однако при тяжелых МЛП заживления не происходит, лучевые язвы рецидивируют, консервативная терапия не эффективна,

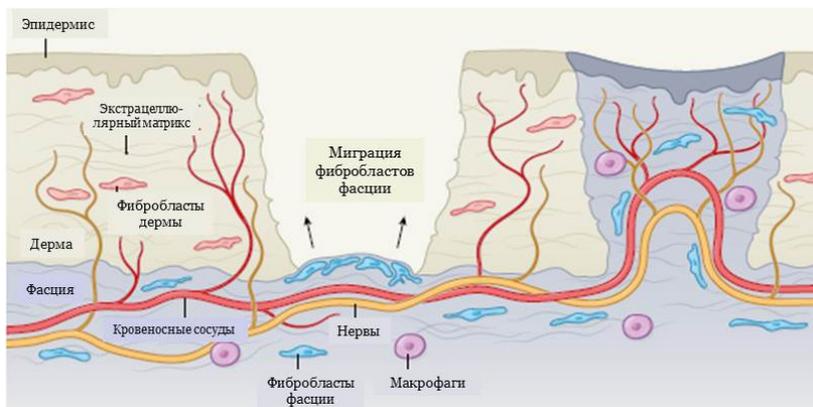


Рис. 4. Механизм заживления повреждений кожи [65]

поэтому необходимо применение хирургических методов лечения.

На сегодняшний день эффективным методом лечения является некрэктомия с последующей пластикой дефекта аутотрансплантатом или его аналогом. Однако существующие методы пластической и реконструктивной хирургии не всегда позволяют достичь удовлетворительных функциональных и эстетических результатов [4, 8]. Большую часть больных с МЛП составляют пациенты, проходившие лучевую терапию, и имеющие сопутствующие заболевания сердечнососудистой системы, эндокринной, дыхательной системы и др., у которых имеются относительные противопоказания к оперативному вмешательству.

Клеточная терапия мезенхимальными стромальными клетками

Клеточная терапия является одним из перспективных многообещающих методов лечения местных лучевых поражений в клинической практике в комплексной терапии, применение которой может сократить сроки заживления язвенных дефектов и повысить качество жизни пациентов.

Успешное применение мезенхимальных стволовых или стромальных клеток (МСК) при терапии радиационных ожогов обусловлено в основном их секреторной активностью, связанной с выработкой ими широкого спектра цитокинов и ростовых

факторов. Помимо этого, МСК обладают иммуносупрессивным и противовоспалительным действием.

История изучения мезенхимальных стволовых клеток берет свое начало в 1960–70-х гг. с работ А.Я. Фриденштейна, который показал, что некоторые клетки, выделенные из костного мозга, тимуса и селезенки способны к клональному росту в культуре с образованием колоний фибробластов, а также способны к дифференцировке в клетки кости, хряща и кроветворной стромы при аутологичной трансплантации в организм [66]. Позднее, в 1990-х гг., предложена концепция мезенхимальной стволовой клетки как общего предшественника клеточных элементов некровотворных тканей мезенхимального происхождения [66, 67].

С тех пор было проведено множество исследований, направленных на понимание особенностей роста МСК в культуре, фенотипической характеристики популяции, разработку условий индукции дифференцировки. На сегодняшний день существуют методики, позволяющие качественно и полно выделять МСК из тканей и органов, накоплено достаточно знаний относительно работы с мезенхимальными стволовыми клетками в условиях *in vitro*, однако до сих пор остается множество вопросов, связанных с поведением этих клеток в их естественном окружении *in vivo*.

Стремительное изучение МСК привело к необходимости разработки критериев стандартизации выделяемых популяций [68].

МСК представляют собой перспективную и новую платформу для развития методов регенеративной медицины в клинической практике.

Преимуществом МСК является сравнительно низкая иммуногенность, что позволяет проводить их аллогенную трансплантацию любому человеку. Ограниченный пролиферативный потенциал МСК значительно снижает вероятность появления новообразований в организме пациента-реципиента. Отсутствие этических, моральных и правовых норм не ограничивают деятельность с МСК по сравнению с исследованиями эмбриональных стволовых клеток.

Многочисленными исследованиями показана эффективность применения МСК у человека. При системном (внутривенном) введении МСК в организм человека в различные сроки потомство донорских клеток было обнаружено в легких, сердце, костном мозге, селезенке, костной ткани, скелетной мускулатуре,

хрящевой ткани, нервной системе, печени, коже и почках. При наличии поврежденных участков ткани и органов, большая часть клеток МСК мигрировало в пораженную область.

Применение МСК при развитии реакции трансплантат против хозяина при аллогенных трансплантациях для снижения иммунных конфликтов делает практически их перспективным для лечения аутоиммунных и генетических заболеваний.

Способность МСК к дифференцировке в остеобласты, хондробласты и адипоциты *in vitro*, способствуют развитию кости или хрящу после эктопической трансплантации на животных моделях, а также запускает регенерацию костной ткани после травм и при генетических дефектах остеогенеза [69–78]. Помимо прочего, МСК способны дифференцироваться во многие другие типы клеток мезодермального, эктодермального и энтодермального происхождения, включая эндотелиальные клетки, кардиомиоциты, гепатоциты и нейральные клетки [69–72, 79–81].

Немаловажной особенностью МСК является их способность направленно двигаться в поврежденные ткани под влиянием воспалительных цитокинов и хемокинов, и поддерживать в них восстановительные процессы. Процессы репарации, а также гемопоэза определяются секрецией МСК различных колониестимулирующих факторов (Г-КСФ, М-КСФ, ГМ-КСФ), фактора некроза опухолей (TNF α), роста сосудистого эндотелия (VEGF), фактора роста гепатоцитов (HGF), цитокинов и факторов роста (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-11), фактора тромбопоэтина, лейкоингибирующего фактора (LIF) и др. [79].

Успешное эффективное применение МСК для терапии радиационных ожогов обусловлено их секреторной активностью, связанной с выработкой ими широкого спектра цитокинов и ростовых факторов. Механизмы терапии МСК связаны противовоспалительным, иммуносупрессивным и трофическим действиями. В последнее время активно применяется стромально-васкулярная фракция — (регенеративные клетки жировой ткани). Эффект действия этих клеток реализуется за счет замещения поврежденных участков тканей и дифференцировки их в различные направления: выработка паракринных факторов, обеспечивающих иммуномодулирующий эффект, предотвращение клеточной гибели по механизму апоптоза, неоангиогенеза, ремоделирования фиброзной и соединительной тканей.

Исследования в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России показали, что применение МСК и стромально-васкулярной ткани жировой ткани улучшает течение МЛП кожи (уменьшение фиброза, улучшение организации коллагена), ускоряет процессы заживления ран за счет улучшения неоангиогенеза и усиления пролиферации фибробластов после локального рентгеновского облучения у лабораторных животных [82].

Известно, что одним из механизмов реализации терапевтического эффекта МСК является так называемое трофическое действие [83–86], и с каждым годом в литературе встречается все большее количество данных, описывающих трофические эффекты стволовых клеток. Такие эффекты непосредственно связаны с секретируемыми МСК биологически активными веществами различных классов. Показано, что в кондиционированной МСК среде можно идентифицировать ангиопоэтины (Ang-1, Ang-2 и др.), факторы роста эндотелия сосудов (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C и др.), трансформирующие факторы роста β (TGF- β 1, TGF- β 3 и др.), матриксные металлопротеазы (MMP2, MMP3, MMP11 и др.), факторы роста фибробластов (FGF-1, FGF-2 и др.), различные нейротрофические белки (NGF, BDNF, GDNF, NENF), специфические белки матрикса нервной ткани (основной белок миелина, периферический миелиновый белок и др.), адипокины, фактор роста гепатоцитов, гранулоцитарный и макрофагальный колониестимулирующий факторы, интерлейкины (ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17D, ИЛ-18 и др.), простагландин E2 (PGE-2), фактор некроза опухоли- α , белки внеклеточного матрикса (протеогликаны, коллагены, эластиновый матрикс, компоненты базальной мембраны и др.) и пр. [83–86].

Эффективность клинического применения стволовых клеток связана с действием паракринных факторов, которые секретируются в межклеточное пространство в процессе культивирования стволовых клеток.

Продемонстрирована также и способность МСК секретировать широкий спектр цитокинов и ростовых факторов, влияющих на другие клетки и их микроокружение.

Хорошо известно, что продуцируемые медиаторы могут регулировать функциональный статус и активность как тех клеток, которые их синтезируют по принципу обратной связи, так и окружающих клеток (аутокринные и паракринные эффекты) [69, 79–81, 87].

Применение кондиционных сред, полученных в результате культивирования МСК и продуцируемые ими в среду цитокины, выделяемые, играют важную роль в лечении заболеваний.

Кондиционная среда — культуральная среда, жизнедеятельности при культивировании мезенхимальных стромальных клеток в G₀ периоде клеточного цикла. Используется кондиционная среда для лечения повреждений нормальных тканей различной этиологии.

МСК выделяет в среду паракринные факторы, играющие важную роль для пролиферативной и репаративной функции клеточного обновления.

Исследования в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России показали, что применение кондиционных сред (паракринных факторов) снижает уровень воспаления еще на стадии альтерации и способствует правильной смене фаз воспаления МЛП после локального рентгеновского облучения в эксперименте. Так, 5-ти кратное местное подкожное введение паракринных факторов, полученных при культивировании МСК костного мозга после облучения, вызывает сокращение площади МЛП в 8 раз по сравнению с контрольной группой лабораторных животных [44, 88].

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод о том, что основная функция МСК в тканях — регуляция регенерации.

При лечении ожогов различной этиологии МСК, находясь в очаге поражения, вызывают активацию регенерации тканей за счет привлечения в зону поражения стволовых клеток из периферической крови, стимуляции неоангиогенеза, подавления процессов апоптоза, синтеза компонентов внеклеточного матрикса, прорастания нервных волокон, модуляции воспаления и иммунного ответа. Показано, что при комбинированном культивировании МСК и гемопоэтических клеток *in vitro* происходит ингибирование роста Т-клеток, отвечающих за активацию иммунного ответа, модуляцию антиген-представляющих клеток, NK-клеток, при этом гибель МСК не наблюдается. Секреция PGE₂ и ИЛ-10 оказывает ингибирующее влияние на макрофаги, Т-клетки и моноциты, что в конечном итоге останавливает воспалительные реакции, которые происходят в месте ожога. Таким образом, попадая в область поражения, МСК оказывают и иммуномодулирующий эффект [89–94].

Клеточная терапия минимально-манипулированными клеточными продуктами

Несмотря на доказанную высокую эффективность в комплексной терапии МЛП, применение МСК костного мозга в ряде случаев имеет ряд ограничений, связанных со сложной процедурой получения биоматериала и необходимостью последующего длительного культивирования выделенных клеток для наработки достаточного для клинического применения их количества. Вместе с тем множественные манипуляции, связанные как с выделением первичной культуры клеток, так и с дальнейшими этапами их культивирования, таят в себе потенциальный риск возможных цитогенетических изменений. Все это диктует необходимость поиска клеточных продуктов с подобным МСК регенераторным потенциалом, получение и применение которого не имеет вышеуказанных ограничений и рисков.

С развитием клеточных технологий все большее распространение приобретают аутологичные минимально манипулированные клеточные продукты на основе жировой ткани (стромально-васкулярная фракция — аутологичные регенеративные клетки). Жировая ткань состоит в основном из адипоцитов, перицитов, фибробластов, эндотелиальных и гладкомышечных клеток кровеносных сосудов и их предшественников, клеток крови, включая В- и Т-лимфоциты. В настоящее время аутологичные регенеративные клетки жировой ткани успешно применяются во многих областях клинической медицины. Использование аутологичных регенеративных клеток жировой ткани увеличивает доступность и легкость получения клеточного материала, а также объем конечного клеточного продукта. Следует также отметить скорость выделения клеточного продукта — 1,5–2 часа от момента забора жировой ткани.

Стромально-васкулярная фракция (аутологичные регенеративные клетки) жировой ткани представляет собой гетерогенную популяцию клеток различного происхождения и с различной функциональной активностью, что определяет множество механизмов влияния этих клеток на процессы регенерации. В стромально-васкулярной фракции содержатся МСК, способные к дифференцировке в различных направлениях и замещению поврежденных участков тканей. Регенеративные клетки жировой ткани способствуют неоангиогенезу, ремоделированию фиброзной и соединительной тканей, предотвращают

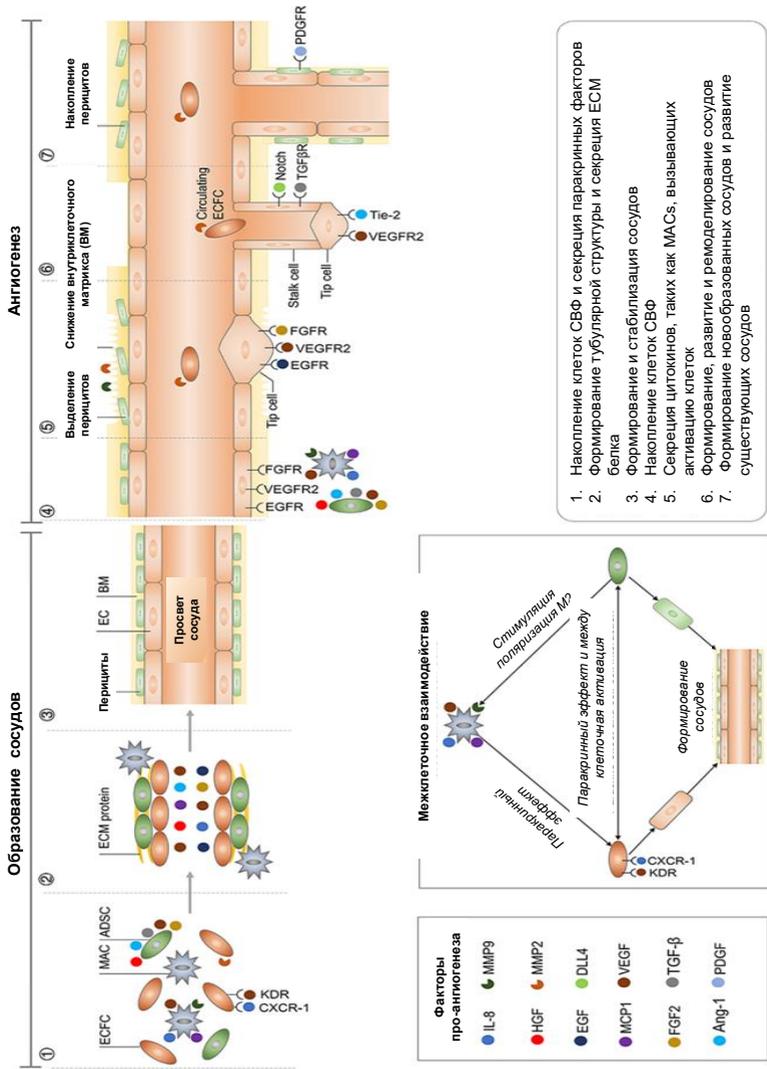
клеточную гибель по механизму апоптоза, вырабатывают большое количество паракринных факторов, которые оказывают иммуномодулирующий эффект. Стволовые клетки жировой ткани продуцируют широкий спектр цитокинов и факторов роста: VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), IL (Интерлейкин) -6, -8, -17, TIMP-1 (эндогенный ингибитор металлопротеиназ — 1) и TIMP-2 (ингибитор металлопротеиназ — 2), FGF (фактор роста фибробластов), HGF (фактор роста гепатоцитов), TGF- β (трансформирующий ростовой фактор бета), NGF (фактор роста нервов), ангиогенин, ангиопоэтин-1, плацентарный фактор роста, GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колоние-стимулирующий фактор) [95–97].

Показано, что содержание МСК в аутологических регенеративных клетках жировой ткани составляет 1–5 %, что существенно выше их содержания в аспирате костного мозга (0,005–0,01 %).

При применении СВФ происходит пролиферация, дифференцировка в эндотелиальные клетки с формированием сосудов. Способность к дифференцировке и пролиферации происходит за счет секреции ECFC, VEGF, HGF, PGF, FGF-2, TGF- β и ангиопоэтин-1 и межклеточного взаимодействия. При взаимодействии СВФ и эндотелиальных клеток происходит выработка белков ЕСМ, дифференцировка в перициты, стабилизация структуры вновь образованных сосудов. МАС усиливают ангиогенез за счет высвобождения IL-8, MCP1, MMP9 и VEGF2, ECFC, экспрессии рецепторов VEGF (KDR) и IL-8 (CXCR-1). Цитокины вызывают агрегацию резидентных или циркулирующих ECFC в области повреждения и способствуют неоваскуляризации, — происходит выброс ангиогенного фактора пролиферации и миграции эндотелиальных клеток (рис. 5) [93].

Международная федерация жировой терапии и науки (IFATS) и Международное общество клеточной терапии (ISCT) опубликовали совместное заявление о том, что гемопоэтические, эндотелиальные и стромальные клетки являются основными субпопуляциями ядерных клеток СВФ [93].

В настоящее время аутологичные регенеративные клетки жировой ткани успешно применяются во многих областях клинической медицины. Так, методика введения жирового трансплантата, обогащенного аутологичными регенеративными клетками жировой ткани, используется в мировой практике с 2003 г. в целях липомоделирования молочных желез, а также



1. Накопление клеток СВФ и секрция паракринных факторов
2. Формирование тубулярной структуры и секрция ECM белка
3. Формирование и стабилизация сосудов
4. Накопление клеток СВФ
5. Секрция цитокинов, таких как MACs, вызывающих активацию клеток
6. Формирование, развитие и ремоделирование сосудов
7. Формирование новообразованных сосудов и развитие существующих сосудов

Рис. 5. Возможные механизмы применения СВФ [93]

восполнения утраченных объемов мягких тканей лица и конечностей, а также при заболеваниях опорно-двигательной системы и эректильной дисфункции [95–97].

На сегодняшний день не существует единого эффективного метода лечения МЛП. В терапии применяют крема и мази, гидрогелевые и гидроколлоидные повязки, прибегают к оперативному вмешательству и физиотерапевтическим процедурам [21]. Стандартная терапия МЛП включает в себя комбинированный подход, сочетающий хирургическую и консервативную тактику лечения пациентов для полноценного восстановления пораженных участков [22]. Однако и эта терапия не всегда эффективна. В последние годы идет активное изучение эффективности комбинированного подхода лечения МЛП в сочетании с применением клеточной терапии, включая мезенхимальные стромальные клетки (МСК), их клеточные продукты, минимально-манипулированные клеточные продукты и др. [100–105].

Из представленных литературных данных источниками МСК были различные ткани человека (костный мозг, жировая ткань, кожа, пупочный канатик, амниотическая мембрана и др.). Известно, что МСК способны к самообновлению и дифференцировке в различные виды ткани (в адипогенном, остеогенном, хондрогенном и миогенном направлениях) [106]. Показано, что применение МСК приводит к заживлению раневой поверхности кожи и ее придатков [107–110], диабетических язв [110], при повреждении скелетных мышц и хряща [111–114], сердца [115, 116]. Внутривенное, местное введение и наружное применение МСК способствует сокращению некротических изменений, уменьшению воспаления, значительному улучшению процессов грануляции [117], реэпителизации, (нео) ангиогенезу [93, 123, 117–123] и восстановлению волосяного покрова [12, 124].

Развитие МЛП может сопровождаться системными реакциями организма, которые будут усугублять процессы заживления. Многочисленные исследования свидетельствуют о перспективе применения клеточных продуктов в терапии местных лучевых ожогов и устранении последствий воздействия ионизирующего излучения. МСК являются мультипотентными соматическими клетками-предшественниками, которые можно выделить из различных источников и размножить до многомиллионного количества, сохраняя фенотип и характеристики. Использование МСК в клинической практике в совокупности с другими видами

терапии приводит к ускоренной регенерации раневых поверхностей, восстановлению кровоснабжения тканей, снижает процессы фиброобразования и, таким образом, помогает пострадавшим вернуться к прежней жизни. МСК обладают противовоспалительным действием и иммуномоделирующими свойствами, благодаря чему их активно используют в регенеративной медицине [125–140].

Для клеточной терапии используются мезенхимальные стромальные клетки (МСК), аутологичные минимально манипулированные клеточные продукты (регенеративные клетки) на основе жировой ткани, паракринные факторы, полученные из культивированных стволовых клеток и др. [112]. Способы введения клеточных продуктов у пациентов с МЛП может быть интрадермальным и аппликационным (рис. 6).

Клинические исследования аутологичных МСК, выделенных из костного мозга, в терапии пациентов с МЛП показали хорошие результаты [98, 99, 112].

Клиническая эффективность и безопасность применения МСК у пациентов с МЛП была доказана в ходе проведения научно-исследовательской работы в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, где был разработан протокол лечения

Местное введение клеточных продуктов



Аппликационное нанесение в фибриновом геле



Рис. 6. Способы введения клеточных продуктов

радиационных ожогов с использованием аутологичных МСК, наносимых на раневую поверхность аппликационно в фибриновом клее, а также путем обкалывания зоны поражения. Все пациенты имели длительный (более 1 года) анамнез заболевания, а также получали традиционную комплексную терапию, направленную на основные патогенетические механизмы МЛП: местная терапия (неадгезивные повязки с антисептиками и антибиотиками), дезагрегационная терапия, стимуляция регенерации, дезинтоксикационная терапия, антибиотикотерапия (в соответствии с результатами исследования чувствительности микрофлоры). Проводимая консервативная терапия не имела выраженного клинического эффекта. Проведение хирургического лечения данным пациентам было противопоказано, т.к. связано с высоким операционным риском ввиду наличия у них тяжелой сопутствующей патологии и связанного с этим высокого анестезиологического риска. Поэтому терапией выбора для таких больных стало проведение клеточной терапии. После применения МСК у всех пациентов было отмечено прогрессивное уменьшение глубины и размера язвенных дефектов, усиление процессов грануляции и эпителизации. Полная эпителизация язвенной поверхности была достигнута через 6–12 мес. после начала лечения. Каких-либо побочных эффектов при применении аутологичных МСК отмечено не было. Качество жизни пациентов существенно улучшилось [21, 22]. Проведенные исследования позволили разработать метод комплексного лечения МЛП с использованием аутологичных МСК совместно с традиционным хирургическим и консервативным лечением, позволяющий достигнуть полной эпителизации радиационных язв II–IV степени [98, 99].

В ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России с 2016 г. по 2019 г. пролечено 7 пациентов (мужского пола, средний возраст составил $54,83 \pm 9,41$ года) с МЛП кожных покровов (язвенно-некротическое поражение кожи и подлежащих тканей) [128, 129]. Пациенты получали общепринятую консервативную терапию МЛП и однократное введение клеточной суспензии аутологичной стромально-васкулярной фракции (СВФ) жировой ткани (ЖТ) (среднее количество клеток составляло $60,33 \times 10^6 \pm 64,04$). У всех пациентов серьезных нежелательных явлений и реакций, связанных с введением аутологичных регенеративных клеток жировой ткани не отмечено. За время все-

го периода наблюдения после введения СВФ ЖТ при осмотре поздние лучевые язвы оставались без признаков воспаления и инфильтрации. Пациенты выписаны из стационара в удовлетворительном состоянии.

Для повышения эффективности заживления язвенной поверхности при МЛП кожных покровов в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России предложено использовать собственные регенеративные клетки СВФ ЖТ во время проведения плановых хирургических обработок язвенной поверхности по разработанному алгоритму.

Показано, что применение СВФ ЖТ при МЛП обеспечивает благоприятные условия для повышения эффективности комплексной терапии, сокращение сроков заживления раневой поверхности, регуляцию и активацию иммунных и репаративных процессов в дерме, восстановление поврежденной сосудистой сети, утраченных кожных покровов без грубых рубцовых изменений, заживление и достижение удовлетворительного результата, достойного качества жизни пациентов.

Терапия местных лучевых поражений клеточными технологиями является многообещающим методом, но до сих пор нельзя дать однозначно точного ответа, что будет играть главную роль — сами клетки или их паракринные факторы.

Таким образом, данные литературных исследований демонстрируют важную роль регенеративной медицины и клеточных технологий в лечении МЛП.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Прогнозирование индивидуальной радиочувствительности при лучевой терапии у пациентов, подвергшихся радиационному облучению проводилась на примере больных с онкологическими заболеваниями (раком молочной железы — РМЖ), получающих ионизирующее облучение терапевтическое лечение — адъювантную лучевую терапию (АДЛТ) с исследованием иммунологического профиля, генетического полиморфизма гена TNF лимфоцитов периферической крови и других показателей до и после лучевой терапии. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом (ЛЭК) (Выписка ЛЭК № 42 от 11.08.2020 г.) и Ученым советом ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна ФМБА России.

Индивидуальная радиочувствительность кожных покровов пациентов, подвергшихся радиационному облучению

В исследование по оценке индивидуальной радиочувствительности клеток у пациентов, подвергшихся радиационному облучению включено 100 пациенток с РМЖ и подписанной формой информированного согласия (информационный лист пациента). Характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Пациенты с РМЖ (женского пола, в возрасте от 28 до 87 лет, средний возраст составил $53,22 \pm 13,31$ лет) были распределены на группы в зависимости от диагноза и результата гистологического исследования. У пациентов был гистологически верифицированный диагноз РМЖ, 0-III стадии.

В группу 1 ПХТ+ были включены 50 пациентов с первично-операбельным раком молочной железы (I–II стадия заболевания) средний возраст составил $52,50 \pm 13,83$ лет, которым проводилось комплексное лечение (комбинация хирургического и лучевого лечения с химио-, или гормоно- и или биотерапией).

В группу 2 без ПХТ были включены 50 пациентов с первично-операбельным раком молочной железы (I–II стадия заболевания)

средний возраст составил $53,0 \pm 13,91$ лет, которым проводилось комбинированное лечение (комбинацию хирургического и лучевого лечения).

Таблица 1.

Характеристика пациенток (n=100)

Показатель	Процент
Возраст ≤ 50 лет	24,0 %
Возраст >50	76,0 %
0-I стадия	30,2 %
II стадия	46,9 %
III стадия	22,9 %
G1	11,2 %
G2	64,0 %
G3	24,7 %
CIS	3,1 %
Lum A	24,0 %
Lum B (her2-)	51,0 %
Lum B (HER2+)	6,3 %
HER2	8,3 %
TNF	7,3 %
неспецифический	79,2 %
дольковый	14,6 %
другие	6,3 %

Во время проведения курса лучевой терапии и при контрольном обследовании врачом исследователем проводились физикальный осмотр области облучения с оценкой развития лучевых повреждений здоровых тканей.

Всем пациентам проводились лабораторные анализы (клинический анализ крови, серологические реакции, биохимический анализ крови, клинический анализ мочи, гистологическое исследование для постановки диагноза) и инструментальные методы исследования. У всех пациентов результаты лабораторных показателей, инструментальных методов исследования были в пределах нормы.

АДЛТ проводили на заключительном этапе комплексного лечения всем пациентам согласно по схеме 25 фракций по разовой очаговой дозе (РОД) 2 Гр на область послеоперационного рубца молочной железы и зон регионарного лимфооттока, суммарная очаговая доза СОД 50 Гр. Лучевая терапия проводилась

на линейном ускорителе VARIAN TRILOGI с использованием фотонного излучения, системы портальной визуализации, индивидуальных фиксирующих устройств методом многопольной статики (VIMAT).

На фоне проведения лучевой терапии оценивали раннюю кожную реакцию на проведенное лечение. Стадирование ранних лучевых повреждений кожи у больных, включенных в исследование, выполнялось согласно международной шкале исследовательской группы по лучевой терапии RTOG/EORTC после проведения завершения курса лучевой терапии.

Лучевые реакции кожи классифицировались следующим образом:

- 0 степень — нет клинических проявлений;
- I степень — легкая эритема, сухой дерматит, эпиляция;
- II степень — выраженная эритема, очаговый влажный дерматит, умеренный отек;
- III степень — сливной влажный дерматит, выраженный отек;
- IV степень — лучевая язва, некроз.

Для оценки динамики показателей иммунного статуса у всех пациентов проводили забор венозной крови до проведения АДЛТ и после завершения курса лучевой терапии. Исследование показателей клеточного иммунитета проводили на проточном цитофлюориметре (BD FACS Canto II) одноплатформенным методом с помощью коммерческого набора моноклональных антител (Multitest IMK kit с пробирками BD Trucount). Анализ полученных результатов осуществляли с помощью программного обеспечения BD FACS Diva 6.0.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0. Данные между группами сравнивали двусторонним критерием Фишера. Средние значения показателей иммунного статуса и качества жизни представляли как $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ и сравнивали непарным t -критерием Стьюдента, для анализа динамики показателей использовали парный t -критерий. При сравнении более двух групп использовали ANOVA, для поправки на множественные сравнения использовали критерий Тьюки. Для оценки риска получения высокой степени лучевых повреждений кожи рассчитывали отношение шансов и представляли как OR [95 % CI]. Для всех критериев различия считали достоверными при достижении $p < 0,05$.

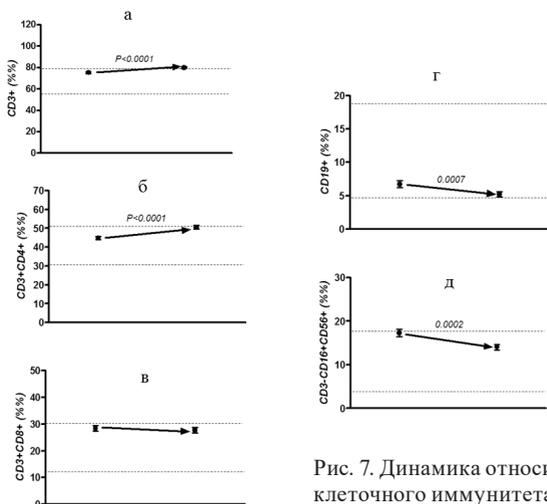


Рис. 7. Динамика относительных показателей клеточного иммунитета у пациенток с РМЖ

При оценке иммунологических показателей в общей группе пациентов с РМЖ на фоне проведенного лечения для всех рассматриваемых показателей наблюдалась достоверная динамика в показателях во всех клеточных популяциях лимфоцитов (парный t-test, $p < 0.05$), кроме Т-супрессоров (CD3+CD8+) (рис. 7, а-д). Процент Т-клеток в общей популяции после проведения АДЛТ достигал верхней границы референсных значений, преимущественно за счет увеличения процента субпопуляции Т-хелперов (CD3+CD4+), показатели которых также достигали верхней границы референсных значений. Относительное количество Т-супрессоров не изменялось в процессе лучевой терапии. Относительное содержание В-лимфоцитов к концу АДЛТ статистически снижалось, но оставалось в пределах референсных значений. Относительные показатели NK-клеток оставались в пределах нормы.

При оценке абсолютных показателей клеточного иммунитета в общей группе пациенток (рис. 8, а-е) выявлена иная ситуация. При анализе иммунологических показателей в общей группе пациенток с РМЖ на фоне проведенного лучевого лечения выявлена достоверная динамика (парный t-test, $p < 0.05$) в изменениях абсолютных показателей всех клеточных субпопуляциях лимфоцитов. Так, к концу АДЛТ выявлено значительное снижение

абсолютного числа В-лимфоцитов в единице объема крови (CD19+). При этом необходимо отметить, что дефицит В-клеточного иммунитета был зарегистрирован в общей группе и до начала лучевой терапии. Также отмечено снижение абсолютного количества натуральных киллеров (NK-клеток) ниже референсных значений после курса АДЛТ. Кроме того, обращает на себя внимание значимое снижение числа Т-лимфоцитов (CD3+) в общей группе больных после АДЛТ, обусловленное снижением субпопуляций как Т-хелперов (CD3+CD4+), так и Т- супрессоров (CD3+CD8+), абсолютное число которых до начала АДЛТ было в пределах нормы. Уровень иммунорегуляторного индекса (ИИ) (CD4+/CD8+) после АДЛТ возрастал, но оставался в пределах нормальных значений (рис. 8,е).

При анализе абсолютных показателей иммунного статуса у пациенток обеих групп (группа 1 ПХТ+ и группа 2 без ПХТ, (рис. 9) для всех исследованных клеточных популяций была получена достоверная отрицательная динамика (парный t-test, $p < 0.05$), с выходом средних значений за нижнюю границу нормы.

До АДЛТ абсолютное количество В-лимфоцитов (CD19+) у пациенток 1-й группы находилось ниже уровня референсных значений, тогда как уровень В-лимфоцитов в группе 2 (без ПХТ) был в пределах нормы на нижней границе, причем это различие

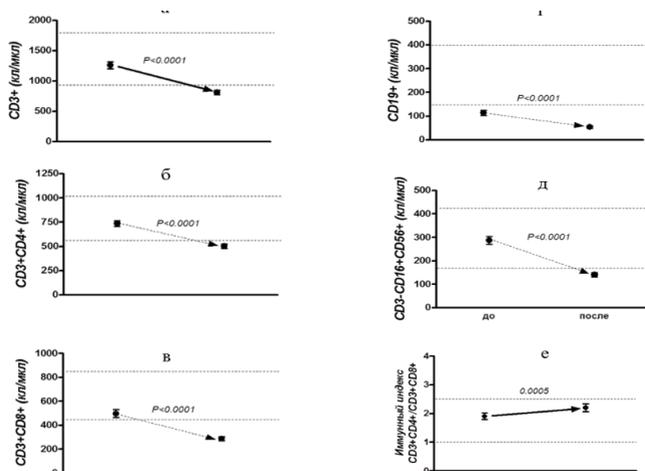


Рис. 8. Абсолютные показатели клеточного иммунитета пациенток с РМЖ

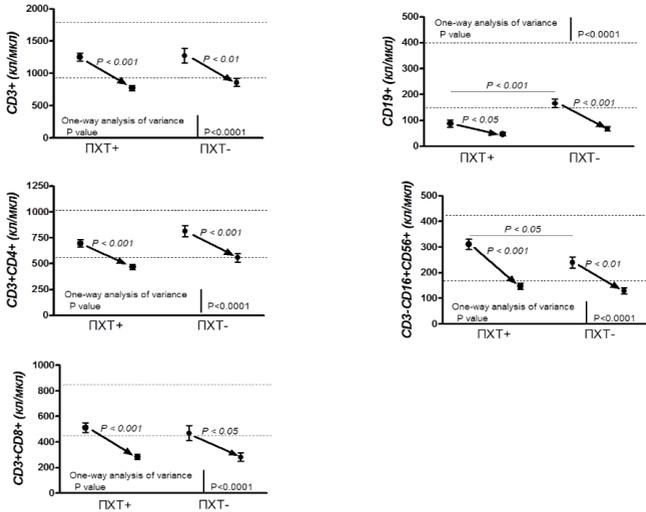


Рис. 9. Динамика абсолютных показателей клеточного иммунитета у пациенток с РМЖ с ПХТ (1-я группа) и без ПХТ (2-я группа)

было статистически значимым ($87,58 \pm 12,85$ кл/мкл и $166,0 \pm 16,43$ кл/мкл соответственно; $p < 0,001$). После АДЛТ зарегистрирована дальнейшая регрессия данного показателя в обеих группах за нижний предел нормы, до сравнимых, статистически незначимых значений ($47,38 \pm 6,38$ кл/мкл для ПХТ+ и $67,81 \pm 7,92$ кл/мкл для без ПХТ; $p > 0,05$).

Аналогично, уровень натуральных киллеров (CD3-CD16+CD56+) (рис. 6) в обеих группах пациенток до начала лучевой терапии находился в пределах референсных значений и достигал статистически значимых значений ($311,5 \pm 21,0$ кл/мкл для ПХТ+ и $240,0 \pm 22,4$ кл/мкл для без ПХТ; $p < 0,05$), после АДЛТ количество клеток снижалось ниже нормальных показателей в обеих группах ($147,5 \pm 12,34$ кл/мкл для ПХТ+ и $129,0 \pm 11,26$ кл/мкл для без ПХТ; $p < 0,05$).

В обеих группах абсолютные показатели Т-клеточного иммунитета (CD3+) до начала лучевой терапии находились в пределах нормальных значений. Однако уже к концу курса лучевой терапии у всех пациенток отмечалось их снижение. В группе пациенток с ПХТ показатели снижались ниже референсных значений. Это было обусловлено снижением субпопуляций Т-хелперов CD3+CD4+ клеток в обеих группах (в группе пациенток

с ПХТ показатели находились ниже нормальных значений, в группе без ПХТ — на нижней границе) и выраженным снижением количества Т-супрессоров (CD3+CD8+) в обеих группах — ниже референсных значений.

Динамики изменений уровня показателей ИИ в обеих группах не наблюдалось (рис. 7), при этом показатель ИИ в группе пациенток без ПХТ был достоверно выше, чем в группе пациенток, которым проведена ПХТ, как до АДЛТ ($2,39 \pm 0,25$ кл/мкл и $1,66 \pm 0,12$ кл/мкл соответственно; $p < 0,05$), так и после АДЛТ ($2,70 \pm 0,31$ кл/мкл и $1,93 \pm 0,13$ кл/мкл соответственно; $p < 0,05$).

При анализе относительных показателей иммунного статуса у пациенток из двух групп (рис. 7) получена достоверная динамика (парный t-test, $p < 0,05$) почти всех показателей, кроме содержания CD3+CD8+, CD56+ в группе пациенток без ПХТ, и В-лимфоцитов в группе пациенток с ПХТ.

Так процент В-лимфоцитов (CD19+) у пациенток из группы без ПХТ после АДЛТ снижался от нормальных показателей до уровня нижней границы референсных значений (от $10,17 \pm 0,87$ % до $6,34 \pm 0,61$ %), а в группе с ПХТ процент клеток во время ЛТ не изменялся и находился на уровне нижних значений ($4,95 \pm 0,54$ % до АДЛТ и $4,70 \pm 0,48$ % после АДЛТ). При этом значения процентного содержания В-лимфоцитов до АДЛТ имели достоверные различия между двумя группами ($p < 0,001$).

Уровень натуральных киллеров в первой группе (ПХТ+) до проведения АДЛТ был несколько выше нормальных значений и достоверно снижался до нормы после АДЛТ ($18,94 \pm 1,06$ % и $14,98 \pm 0,87$ %; парный t-test $p < 0,05$), при этом до АДЛТ уровень натуральных киллеров в этой группе достоверно отличался от уровня в группе без ПХТ ($14,23 \pm 1,16$ %; $p < 0,05$) (рис. 10).

Относительные показатели Т-клеток (CD3+) в двух группах как до начала лучевой терапии, так и после нее находились на верхней границе референсных значений. Различий между двумя группами не обнаружено. При оценке относительного содержания субпопуляций Т-лимфоцитов было показано, что уровень Т-супрессоров (CD3+CD8+) в обеих группах в ходе АДЛТ не имел достоверной динамики, оставался практически в пределах референсных значений (для ПХТ+ на верхней границе нормы). Однако до проведения АДЛТ показатели в группе с ПХТ и без ПХТ имели статистически значимые отличия ($30,56 \pm 1,25$ % и $24,62 \pm 1,67$ %; $p < 0,05$). Относительные показатели Т-хелперов

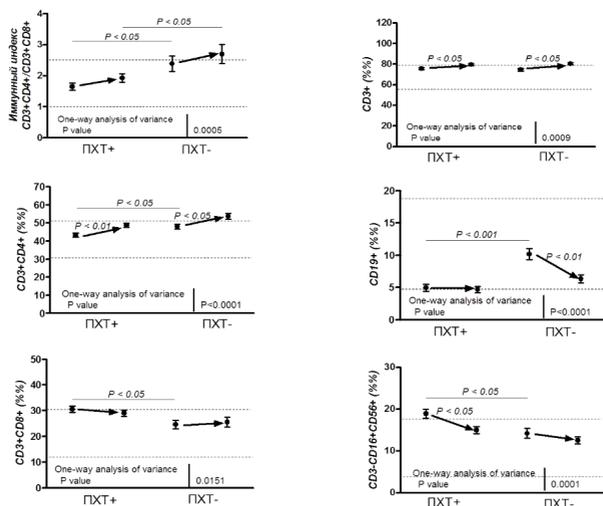


Рис. 10. Динамика абсолютных показателей клеточного иммунитета у пациенток с РМЖ с РХТ (1-я группа) и без РХТ (2-я группа)

(CD3+CD4+) так же достоверно отличались для двух групп до АДЛТ ($43,2 \pm 1,12$ % для РХТ+ и $48,0 \pm 1,36$ % для РХТ-; $p < 0,05$).

Биологическое воздействие ионизирующего излучения на человека зависит не только от физических свойств и поглощенной дозы радиации, но и от индивидуальной восприимчивости организма. Мишенью ионизирующего излучения является ДНК, а реакция на повреждение ДНК является защитным механизмом для поддержания целостности генома в ответ на индуцированный клеточный стресс [141, 142]. Нерепарированные повреждения ДНК приводят к различным мутациям, способствуя неблагоприятным последствиям для организма. Клеточная чувствительность к ионизирующему излучению коррелирует со способностью клеток восстанавливать повреждения ДНК, в частности, кодирующие последовательности генов способствуют сохранению целостности генома. Известно, что доза и мощность облучения, наряду с генетической предрасположенностью и факторами окружающей среды определяют клеточный ответ, однако сигнальные пути недостаточно изучены [143, 144]. Независимая консультативная группа по ионизирующему излучению определила радиочувствительность как — степень реакции клеток или организма вместо гибели клеток,

вызванной ионизирующим излучением-излучением [145]. Радиорезистентность представляет собой сложный процесс, в котором несколько генов участвуют в различных механизмах, предотвращающих возникновение повреждений или восстанавливающих или устраняющих поврежденные клетки. Индуцированная радиорезистентность раковых клеток или нормальных тканей также помогает клеткам адаптироваться к последующим вызовам окружающей среды, а также противодействовать побочным эффектам окислительного метаболизма [146].

На реакцию организма действия ионизирующего излучения влияют различные факторы, такие как возраст, курение, заболевания и генотип [147-148]. Исследование пациентов с раком молочной железы показало, что 81–90 % повреждения нормальных тканей, вызванных лучевой терапией (ЛТ), обусловлены индивидуальными характеристиками пациента [149]. Радиационно-индуцированные повреждения ДНК могут быть различными (модификации оснований, одноцепочечные и двуцепочечные разрывы), радиочувствительность способствует специфической репарации двуцепочечных разрывов ДНК (DSB) клеток [150] за счет нехомологичного соединения концов (NHEJ), которое активируется в клеточном цикле и гомологичной рекомбинации (HRR), которая происходит в поздних фазах S и G2 [151, 152]. Индивидуальные различия в клеточной способности механизмов репарации ДНК в организме исследовались при высоких дозах [153, 154]. Так, носители мутированного гена BRCA1/2 имели высокую радиочувствительность как в нормальных, так и в опухолевых клетках [155, 156].

Радиочувствительность является количественным полигенным признаком, который является продуктом взаимодействия между клеточными путями [157]. Исследования клеточной линии рака молочной железы MDA-MB-231 после ионизирующего излучения и без облучения выявили гетерогенный клеточный ответ на повреждение ДНК и потенциальные биомаркеры чувствительности к облучению — гены MCM3, MCM4 и SLBP, участвующие в репликации ДНК [158]. Исследователи показали, что радиационно-индуцированная экспрессия генов зависит от генотипа каждой клетки [159, 160] на уровне трансляции и вида ткани [161–164].

TNF — провоспалительный цитокин, является ключевой фигурой первичного и адаптивного иммунного ответа, запускающий

и регулирующий иммунные клетки, реакция при передаче клетками потенцируется. Связан как с острым, так и хроническим воспалением, как с системной, так местной реакцией. При онкологии концентрация сывороточного цитокина sTNF повышена, для процесса возникновения опухоли важно хроническое воспаление.

Полиморфизм гена TNF ассоциирован с широким спектром заболеваний, в том числе аутоиммунными и онкологическими заболеваниями. Парадигмой является ассоциация однонуклеотидного гена TNF-308(G/A)TNF (rs1800629) с повышенным уровнем этого цитокина. Минорный аллель -308A входит в наследственный гаплотип AN8.1. Наследственные гаплотипы (Ancestral haplotypes, AN) представляют собой консервативные, но чрезвычайно полиморфные последовательности большой протяженностью, которые передавались без изменений на протяжении сотен поколений, несмотря на миграцию и смешение [165]. РМЖ многофакторное заболевание. Лечение включает оперативное, химиотерапию, лучевую терапию. Несмотря на большие успехи перед медицинской наукой в последнее время ставится повышение эффективности за счет персонализации лечения на всех его этапах. Ранее нами была изучена ассоциация маркерных аллелей AN8.1 с общей выживаемостью больных РМЖ и показано достоверное снижение для носителей аллеля -308A вне этого гаплотипа [166].

Однако точные молекулярные основы индивидуальной радиочувствительности остаются малоизученными, а биомаркеры радиочувствительности неуловимы. Расширяя понимание радиогенетики и механизмов, связанных с клеточной радиочувствительностью, можно идентифицировать гены, которые могут прогнозировать клинические исходы. Патогенез молекулярных событий, лежащих в основе индивидуальной чувствительности, не исследован. Выявление индивидуальных молекулярных маркеров радиочувствительности и радиорезистентности клеток позволит использовать в качестве терапевтических мишеней и персонализированной стратегии лечения, повышающие эффективность терапии и прогноз выживаемости.

10 женщин имели Lum A тип опухоли, 15 — Lum B (HER2 neg), 2 — HER2-позитивные, 1 — TN и 1 женщина имела опухоль ER+ LCIS. Для определения полиморфизмов -308(G/A)TNF и -238(G/A)TNF использовали методы сайт-специфической ПЦР

и ПЦР-ПДРФ соответственно. Клинико-лабораторные характеристики получали из историй болезни. Ранние лучевые поражения кожи оценивали по классификации Бардычева.

Проводилась оценка влияния лучевой терапии на продукцию sTNF, системное воспаление и иммунный статус больных РМЖ носителей полиморфизма гена TNF и наследственного гаплотипа АН8.1.

Из лейкоцитов венозной крови выделяли геномную ДНК (QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN, Нидерланды). Аллели -308(G/A)TNF (rs1800629) и маркерные аллели гаплотипа АН8.1 (HLA-A*1, HLA-B*8 и HLA-DRB1*03) определяли методом аллель-специфической ПЦР как описано ранее [167].

Дополнительно маркерные аллели АН8.1 были определены в 30 архивных образцах ДНК от больных РМЖ носителей аллеля -308(A)TNF с известным уровнем sTNF из ранее описанной выборки [168].

Для анализа уровня sTNF использовали сыворотки крови носителей генотипа -308GG гена TNF (до и после лучевой терапии), носителей аллеля -308A — 17 до лучевой терапии и 18 после лучевой терапии. Выделенную сыворотку крови хранили при -20°C до проведения ИФА. Концентрацию sTNF α в сыворотках крови определяли наборами Human TNF α ELISA Kit по протоколу производителя (BD Biosciences, США). Значение sTNF 87,6 пкг/мл одного из носителей генотипа -308GG оценили как выброс и в анализе не учитывали.

При статистическом анализе клинико-морфологических данных группы сравнивали двусторонним критерием Фишера. Для проверки согласия распределения генотипов полиморфизма -308(G/A)TNF с распределением, равновесным по Харди-Вайнбергу, использовали критерий Пирсона. Распределение гаплотипа АН8.1 определяли прямым подсчетом, «полным гаплотипом» АН8.1 (обозначено в тексте как АН8.1+) в данном исследовании считали наличие одновременно трех маркерных аллелей HLA-A*1, HLA-B*8 и HLA-DRB1*03. Иммунный индекс определяли как отношение процентного содержания клеток CD3+CD4+/CD3+CD8+ в образцах венозной крови. Индекс системного воспалительного ответа (Systemic Inflammation Response Index, SIRI [98]) определяли как $\text{Hf} \cdot \text{Mц} / \text{Лц}$ ($10^9/\text{л}$), учитывая абсолютные значения лейкоцитарной формулы крови. Так же учитывая абсолютные значения лейкоцитарной формулы

крови, вычисляли индексы LMR (Лц/Мц) и NLR (Нф/Лц). Средние значения представляли как Mean±SEM и сравнивали непарным t-критерием Стьюдента; для анализа динамики показателей использовали парный t-критерий. Для всех критериев различия считали достоверными при достижении $p < 0,05$.

В исследованной выборке среди пациенток с РМЖ 24 % оказались носителями аллеля -308A гена TNF, из них одна — носителем гомозиготы этого аллеля; соответственно, остальные пациентки с РМЖ (76 %) являлись носителями гомозиготы -308GG. Распределение генотипов -308(G/A)TNF соответствует теоретическому распределению по Харди-Вайнбергу ($p > 0,05$) [169].

Распределение полного наследственного гаплотипа АН8.1 и его маркерных аллелей у носителей -308А и -308GG представлено в табл. 2.

Таблица 2.

Частоты аллелей HLA-A*1, HLA-B*8 и HLA-DRB1*03 и полного наследственного гаплотипа АН8.1 у носителей полиморфизма -308(G/A)TNF

	A1+	A1-	B8+	B8-	DR3+	DR3-	АН8.1+	АН8.1-
308A	12	12	11	13	13	11	10	14
	50,0 %	50,0 %	45,8 %	54,2 %	54,2 %	45,8 %	41,7 %	58,3 %
308GG	7	69	2	74	3	73	0	76
	9,2 %	90,8 %	2,6 %	97,4 %	3,9 %	96,1 %	0,0 %	100,0 %
pF	4.9D-05		1.03D-06		1.3D-07		1.1D-07	

Примечания: * М+: носители одного или двух маркерных аллелей АН8.1 (HLA-A*1, HLA-B*8, HLA-DRB1*03); АН8.1+: носители полного гаплотипа АН8.1; АН8.1-: отрицательные по трем маркерным аллелям АН8.1.

Группа носителей -308А достоверно отличалась от носителей -308GG по частотам аллелей HLA-A*1, HLA-B*8 и HLA-DRB1*03 (табл. 2). В исследованной выборке было выявлено 10 % носителей полного гаплотипа АН8.1, и только среди носителей -308А гена TNF (41,7 %, по сравнению с 0 % среди носителей -308GG, $p=1.1-7$), что соответствует частоте этого гаплотипа в европейской популяции и его ассоциированности с редким аллелем -308А гена TNF [169]. Соответственно, 14 % больных РМЖ при наличии аллеля -308А гена TNF не имели полного гаплотипа АН8.1, что, по нашему предположению, может быть неблагоприятным прогностическим фактором, и именно эта

группа (обозначенная как АН8.1) является основным предметом настоящего исследования. В группе АН8.1- одна женщина была положительной только по двум маркерам HLA-B*8 и HLA-DRB1*03, две — имели только HLA-DRB1*03, еще две — только HLA-A*01, и 9 женщин не имели ни одного маркерного аллеля АН8.1.

Средние концентрации sTNF в сыворотках крови больных РМЖ были выше для носителей аллеля -308А, по сравнению с носителями -308GG, но не достигали достоверных различий ни до проведения АДЛТ (14,33±3,88 пкг/мл и 9,6±1,78 пкг/мл соответственно; $p > 0,05$), ни после АДЛТ (11,8±4,65 пкг/мл и 6,8±2,18 пкг/мл соответственно; $p > 0,05$).

При анализе влияния маркерных аллелей HLA-A*1, HLA-DRB1*03 и HLA-B*8 на продукцию sTNF у носителей -308А гена TNF оказалось, что средние концентрации этого цитокина у носителей каждого из маркерных аллелей АН8.1 были ниже, по сравнению с концентрациями в отсутствии этих маркеров, но не достигали достоверного уровня значимости в группе больных до АДЛТ (хотя в последнем случае концентрации sTNF отличались в 2,3 раза), при этом достоверно различались в 5,5–8,5 раз после проведения АДЛТ у носителей HLA-A*1 и HLA-DRB1*03 ($p < 0,05$; для HLA-B*8 отмечается подобная тенденция $p = 0,057$) (табл. 3).

Таблица 3.

Концентрации sTNF у больных РМЖ носителей -308А гена TNF

	A1-	A1+	B8-	B8+	DR3-	DR3+
До операции *	17	13	17	13	15	15
Mean±SEM, пкг/мл	5,1±0,29	3,7±0,34	5,0±0,31	3,7±0,32	5,2±0,24	3,7±0,35
<i>p</i> t-test	0,0041		0,0062		0,0013	
До лучевой терапии	6	11	8	9	7	10
Mean±SEM, пкг/мл	22,6±7,16	9,8±4,19	20,3±6,02	9,0±4,61	21,8±6,73	9,1±4,13
<i>p</i> t-test	0,12		0,15		0,11	
После лучевой терапии	7	11	8	10	7	11
Mean±SEM, пкг/мл	25,6±10,06	3,0±1,24	21,6±9,48	3,9±1,50	24,7±10,35	3,6±1,41
<i>p</i> t-test	0,012		0,057		0,022	

Поскольку полученные данные находились в противоречии с представлением о повышенном уровне sTNF у носителей аутоиммунного гаплотипа АН8.1 [170], дополнительно была исследовано 30 образцов архивной ДНК больных РМЖ с известными

дооперационными концентрациями sTNF, описанная ранее [170–180]. Среднее значение sTNF для всех носителей -308A в архивной группе составило $4,47 \pm 0,25$ пкг/мл. Как представлено в табл. 3, для архивной выборки еще более убедительно показано достоверное снижение уровня sTNF в сыворотках крови больных РМЖ носителей маркерных аллелей HLA-A*1, HLA-DRB1*03 и HLA-B*8, по сравнению с группой, у которой такие аллели отсутствуют ($p < 0,01$).

При определении суммарного влияния гаплотипа АН8.1 на продукцию sTNF предварительный анализ показал (данные не представлены), что носители одного или двух маркерных аллелей гаплотипа АН8.1 (в Таблице 3 обозначенные как группа М+) демонстрируют свойства, аналогичные носителям полного гаплотипа (группа АН8.1+), что дало нам основание для их объединения в группу, обозначенную в дальнейшем как М(АН8.1)+, в противоположность АН8.1-. В качестве контроля использовали группу носителей -308GG, среди доступных для исследования образцов которых все были отрицательным по маркерным аллелям АН8.1 (рис. 11).

Средние уровни sTNF в архивной группе (до операции) статистически достоверно различались у носителей -308A при наличии и в отсутствии маркерных аллелей АН8.1- ($3,9 \pm 0,32$ пкг/мл и $5,3 \pm 0,26$ пкг/мл соответственно; $p = 0,0035$), хотя эти значения находились практически в границах нормы (рис. 8).

Для экспериментальной группы статистически достоверные различия носителей аллеля -308A при наличии и в отсутствии

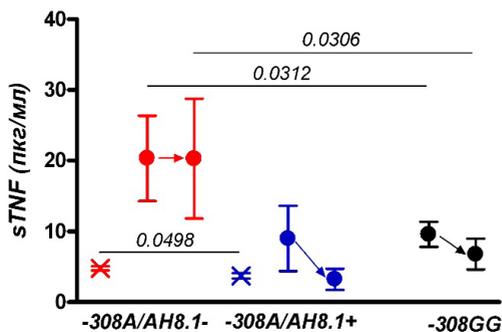


Рис. 11. Динамика среднего уровня sTNF в группах больных РМЖ до операции (архивная группа, отмечено X), до АДЛТ и после АДЛТ (соединены стрелками) в зависимости от носительства маркерных аллелей наследственного гаплотипа АН8.1

маркерных аллелей АН8.1 было обнаружено только после проведения АДЛТ ($3,3 \pm 1,21$ пкг/мл и $33,8 \pm 12,29$ пкг/мл соответственно; $p < 0,001$). По сравнению же с носителями -308GG среднее значение sTNF было достоверно выше в группе -308А/АН8.1-, как до АДЛТ ($9,6 \pm 1,78$ пкг/мл и $25,1 \pm 8,2$ пкг/мл соответственно; $p < 0,05$), так и после АДЛТ ($6,8 \pm 2,18$ пкг/мл и $33,8 \pm 12,29$ пкг/мл соответственно; $p < 0,001$).

Таким образом, на двух независимых выборках были получены данные, подтверждающие нормализующее влияние гаплотипа АН8.1 на продукцию sTNF у носителей полиморфизма -308А гена TNF, по сравнению с носителями распространенного генотипа -308GG.

Клинико-морфологические характеристики больных РМЖ в группах сравнения, выделенных на основании генотипа -308(G/A)TNF и маркерных аллелей гаплотипа АН8.1, не имели статистически достоверных отличий относительно стадии заболевания, степени злокачественности, гистологического типа и рецепторного статуса опухоли (табл. 4).

Клинико-морфологические характеристики больных РМЖ в группах сравнения, выделенных на основании генотипа -308(G/A)TNF и полного гаплотипа АН8.1 (табл. 4), не имели статистически достоверных отличий относительно стадии заболевания, степени злокачественности, гистологического типа и рецепторного статуса опухоли.

Для определения особенностей системного ответа на лучевую терапию у носителей различных генотипов определяли показатели воспалительного и иммунного ответа в динамике. После лучевой терапии у носителей -308А по сравнению с -308GG достоверно различались средние значения системного индекса воспалительной реакции (SIRI) ($2,35 \pm 0,364$ и $1,597 \pm 0,09613$ соответственно; $p = 0,0052$), за счет снижения абсолютного уровня лимфоцитов в крови ($0,9674 \pm 0,07758$ и $1,207 \pm 0,04589$ соответственно; $p = 0,011$) (рис. 12).

Показатели иммунного индекса в динамике представлены на рисунке 13.

Иммунный индекс после лучевой терапии у носителей -308А по сравнению с -308GG не различался ($2,514 \pm 0,3602$ и $2,093 \pm 0,1444$ соответственно; $p > 0,05$).

Степень реакции кожи на лучевую терапию не зависела от гистологического типа опухоли у больных РМЖ, которым до лу-

чевой терапии был проведен курс ПХТ, тогда как для больных РМЖ, которым лучевая терапия проводилась сразу после операции (без предварительного курса ПХТ) гистологический тип опухоли имел значение.

Таблица 4.

Клинико-морфологические характеристики больных РМЖ с различными генотипами

Группы РМЖ	Вся выборка						-308A TNF			
	n=32		-308GG n=24		-308A n=8		АН8.1- n=4		М(АН8.1)+* n=4	
I стадия	31	31,0 %	23	30,3 %	8	33,3 %	3	33,3 %	5	33,3 %
II стадия	47	47,0 %	38	50,0 %	9	37,5 %	3	33,3 %	6	40,0 %
III стадия	22	22,0 %	15	19,7 %	7	29,2 %	3	33,3 %	4	26,7 %
нд	0		0		0		0		0	
G1	10	10,6 %	9	12,5 %	1	4,5 %	0	0,0 %	1	7,1 %
G2	60	63,8 %	44	61,1 %	16	72,7 %	7	87,5 %	9	64,3 %
G3	24	25,5 %	19	26,4 %	5	22,7 %	1	12,5 %	4	28,6 %
нд	6		4		2		1		1	
неспец	81	81,0 %	65	85,5 %	16	66,7 %	6	66,7 %	10	66,7 %
дольк	13	13,0 %	8	10,5 %	5	20,8 %	2	22,2 %	3	20,0 %
другие	6	6,0 %	3	3,9 %	3	12,5 %	1	11,1 %	2	13,3 %
нд	0		0		0		0		0	
ER pos	82	87,2 %	60	84,5 %	22	95,7 %	7	87,5 %	15	100,0 %
ER neg	12	12,8 %	11	15,5 %	1	4,3 %	1	12,5 %	0	0,0 %
нд	6		5		1		1		0	
PR pos	66	71,7 %	48	68,6 %	18	81,8 %	6	75,0 %	12	85,7 %
PR neg	26	28,3 %	22	31,4 %	4	18,2 %	2	25,0 %	2	14,3 %
нд	8		6		2		1		1	
HER2 pos	15	16,0 %	12	16,7 %	3	13,6 %	0	0,0 %	3	21,4 %
HER2 neg	79	84,0 %	60	83,3 %	19	86,4 %	8	100,0 %	11	78,6 %
нд	6		4		2		1		1	
Ki67>30	42	45,7 %	33	47,8 %	9	39,1 %	4	50,0 %	5	33,3 %
[20–30]	27	29,3 %	19	27,5 %	8	34,8 %	3	37,5 %	5	33,3 %
Ki67<20	23	25,0 %	17	24,6 %	6	26,1 %	1	12,5 %	5	33,3 %
нд	8		7		1		1		0	

Примечание: *М(АН8.1)+: носители одного и более маркерных аллелей HLA-A*1, HLA-B*8 и HLA-DRB1*03 гаплотипа АН8.1

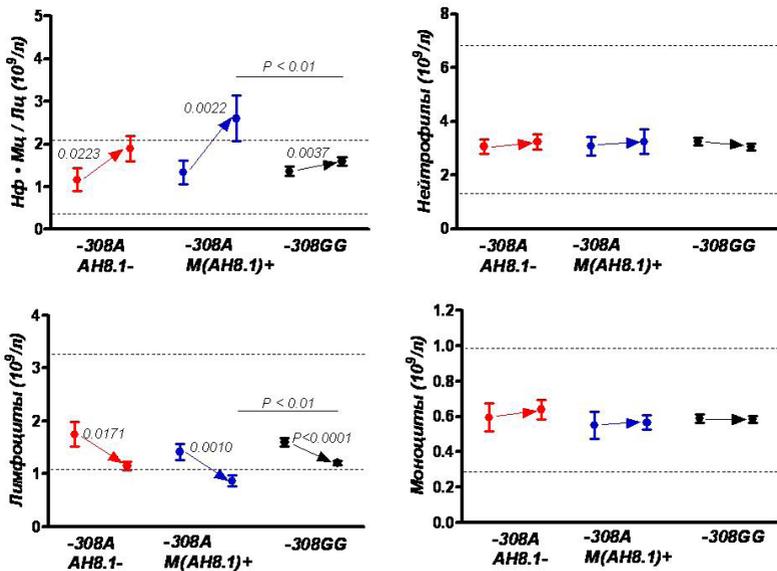


Рис. 12. Показатели системного воспалительного ответа в динамике

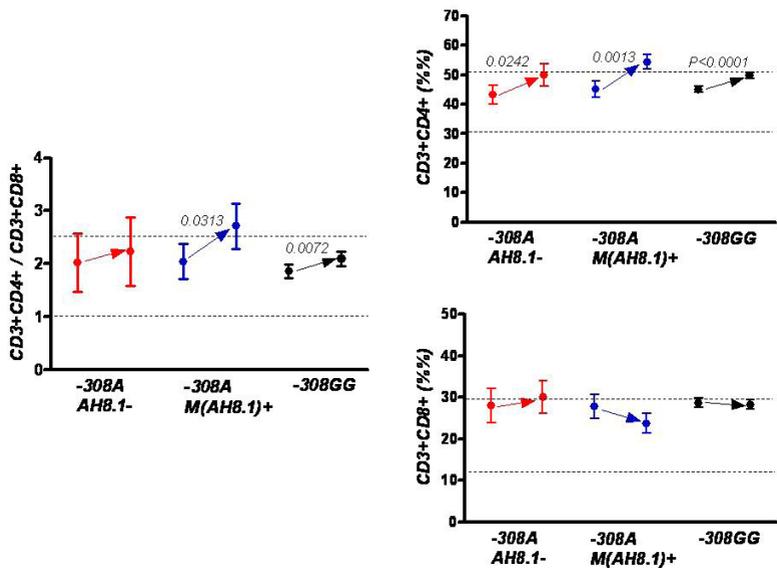


Рис. 13. Показатели иммунного индекса в динамике

Среди больных с II–III степенью РЛПК неспецифический тип РМЖ был только у 55 % больных, по сравнению со 100 % больных получившим I степень РЛПК ($p=0,005$) соответственно, дольковый рак был у 40 % больных, получившим II–III степень РЛПК, тогда у больных с I степенью реакции кожи на лучевую терапию такого гистологического типа РМЖ не было 0 % ($p=0,012$). Степень реакции кожи на лучевую терапию не зависела от показателей иммунного статуса

У всех пациенток с РМЖ, включенных в исследование, были зарегистрированы ранние лучевые повреждения кожи (РЛПК): I степени — 48 % пациенток, II степень — 41 % пациентки и III степени — 7 % пациенток. Случаев с IV степенью лучевого повреждения в исследованной выборке не наблюдалось (рис. 14. Примеры РЛПК при АДЛТ).

Для дальнейшего анализа все пациентки были распределены на 2 группы: 1-я группа 48 % с I степенью лучевых повреждений, 2-я группа 48 % — со II–III степенью лучевых повреждений. Далее внутри групп пациентки были разделены на две подгруппы: пациентки, которым была проведена системная ПХТ как этап комплексного лечения и пациентки после радикального хирургического лечения.

Характеристика пациенток в каждой группе и развитие реакции на лучевую терапию (радиочувствительность): системное — системный воспалительный ответ, изменение иммунного статуса, местное — ранние лучевые поражения кожи представлено в табл. 5.



Рис. 14. Ранняя кожная лучевая реакция (РЛПК) III степени у пациентки

Таблица 5.
Характеристика пациентов с РМЖ в зависимости от степени лучевых повреждений кожных покровов и предшествующего лечения

Ранние лучевые поражения кожи	Вся выборка				ПХТ				нет ПХТ				
	всего	I степень	II-III степень	pF									
≤50 лет	24,0 %	25,0 %	22,9 %	sns	25,7 %	32,1 %	sns	23,1 %	10,0 %	sns	23,1 %	10,0 %	sns
>50	76,0 %	75,0 %	77,1 %	sns	74,3 %	67,9 %	sns	76,9 %	90,0 %	sns	76,9 %	90,0 %	sns
нд	0	0	0		0	0		0	0		0	0	
0-I стадия	30,2 %	22,9 %	37,5 %	sns	8,6 %	25,0 %	sns	61,5 %	55,0 %	sns	61,5 %	55,0 %	sns
II стадия	46,9 %	52,1 %	41,7 %	sns	60,0 %	39,3 %	sns	30,8 %	45,0 %	sns	30,8 %	45,0 %	sns
III стадия	22,9 %	25,0 %	20,8 %	sns	31,4 %	35,7 %	sns	7,7 %	0,0 %	sns	7,7 %	0,0 %	sns
нд	0	0	0		0	0		0	0		0	0	
G1	11,2 %	11,4 %	11,1 %	sns	3,1 %	10,7 %	sns	33,3 %	11,8 %	sns	33,3 %	11,8 %	sns
G2	64,0 %	63,6 %	64,4 %	sns	65,6 %	60,7 %	sns	58,3 %	70,6 %	sns	58,3 %	70,6 %	sns
G3	24,7 %	25,0 %	24,4 %	sns	31,3 %	28,6 %	sns	8,3 %	17,6 %	sns	8,3 %	17,6 %	sns
нд	7	4	3		3	0		1	3		1	3	
CIS	3,1 %	0,0 %	6,3 %	sns	0,0 %	0,0 %	sns	0,0 %	15,0 %	sns	0,0 %	15,0 %	sns
Lum A	24,0 %	22,9 %	25,0 %	sns	8,6 %	14,3 %	sns	61,5 %	40,0 %	sns	61,5 %	40,0 %	sns
Lum B (her2-)	51,0 %	45,8 %	56,3 %	sns	54,3 %	64,3 %	sns	23,1 %	45,0 %	sns	23,1 %	45,0 %	sns
Lum B (HER2+)	6,3 %	12,5 %	0,0 %	sns	14,3 %	0,0 %	sns	0,046	0,0 %	sns	7,7 %	0,0 %	sns
HER2	8,3 %	8,3 %	8,3 %	sns	11,4 %	14,3 %	sns	0,0 %	0,0 %	sns	0,0 %	0,0 %	sns
TN	7,3 %	10,4 %	4,2 %	sns	11,4 %	7,1 %	sns	7,7 %	0,0 %	sns	7,7 %	0,0 %	sns
нд	0	0	0		0	0		0	0		0	0	
неслещ	79,2 %	85,4 %	72,9 %	sns	80,0 %	85,7 %	sns	100,0 %	55,0 %	sns	100,0 %	55,0 %	0,005
долька	14,6 %	8,3 %	20,8 %	sns	11,4 %	7,1 %	sns	0,0 %	40,0 %	sns	0,0 %	40,0 %	0,012
другие	6,3 %	6,3 %	6,3 %	sns	8,6 %	7,1 %	sns	0,0 %	5,0 %	sns	0,0 %	5,0 %	sns
нд	0	0	0		0	0		0	0		0	0	
ИИ баз N	60,4 %	64,4 %	56,5 %	sns	60,6 %	65,4 %	sns	75,0 %	45,0 %	sns	75,0 %	45,0 %	sns
ИИ баз <I	18,7 %	20,0 %	17,4 %	sns	21,2 %	23,1 %	sns	16,7 %	10,0 %	sns	16,7 %	10,0 %	sns
ИИ баз >2,5	20,9 %	15,6 %	26,1 %	sns	18,2 %	11,5 %	sns	8,3 %	45,0 %	sns	8,3 %	45,0 %	0,049
нд	5	3	2		2	2		0	0		0	0	
TNF -308A	25,3 %	16,7 %	34,0 %	sns	17,1 %	28,6 %	sns	15,4 %	42,1 %	sns	15,4 %	42,1 %	sns
TNF -308GG	74,7 %	83,3 %	66,0 %	sns	82,9 %	71,4 %	sns	84,6 %	57,9 %	sns	84,6 %	57,9 %	sns
нд	13	0	1		0	0		0	1		0	1	

Был проведен анализ зависимости развития ранних лучевых повреждений кожи от возраста пациенток, стадии злокачественного процесса, гистологического типа опухоли, степени дифференцировки опухолевых клеток, показателей иммунного статуса.

Исходя из полученных данных, были получены следующие результаты: зависимости развития лучевых повреждений кожи от гистологического типа опухоли у больных РМЖ, которым до АДЛТ был проведен курс ПХТ, выявлено не было. Тогда как для пациенток с РМЖ, которым АДЛТ проводилась после радикального хирургического лечения гистологический тип опухоли имел значение. Было получено, что среди больных с II–III степенью РЛПК неспецифический тип РМЖ был только у 55 % больных, по сравнению со 100 % больных получившим I степень РЛПК ($pF=0,005$) соответственно, дольковый гистологический тип опухоли был у 40 % больных, получившим II–III степень РЛПК, тогда у больных с I степенью РЛПК такого гистологического типа РМЖ не было 0 % ($pF=0,012$) (табл. 5).

Так же для группы пациенток после радикального хирургического лечения (без проведения курса ПХТ) при исследовании зависимости развития кожных лучевых повреждений от иммунорегуляторного индекса (ИИ) зафиксировано статистически значимое повышение (более чем в 5 раз) случаев с повышенным базовым ИИ среди пациентов, получивших в результате АДЛТ лучевые повреждения кожных покровов II–III степени (45 %) по сравнению с I степенью (8,3 %; $pF=0,049$).

Если рассматривать базовый ИИ (до начала проведения АДЛТ) как фактора риска получения высокой степени лучевых повреждений кожи, то в исследованной выборке пациенты, имеющие $ИИ > 2,5$ (превышающий референсные значения) и не прошедшие ПХТ до АДЛТ, имеют достоверно больший шанс в ходе АДЛТ получить РЛПК II–III степени $OR=4,99$; 95 % CI [1,58; 15,75], $p < 0,05$.

Учитывая, что АДЛТ свойственны проявления системных эффектов со стороны иммунной системы, мы проанализировали зависимость между степенью лучевых повреждений кожных покровов у пациенток с РМЖ и показателями Т-клеточного иммунитета в динамике, до и после проведения АДЛТ (рис. 15, 16).

АДЛТ оказывала значимое влияние на показатели ИИ в группе пациентов после ПХТ, получивших II–III степень РЛПК в

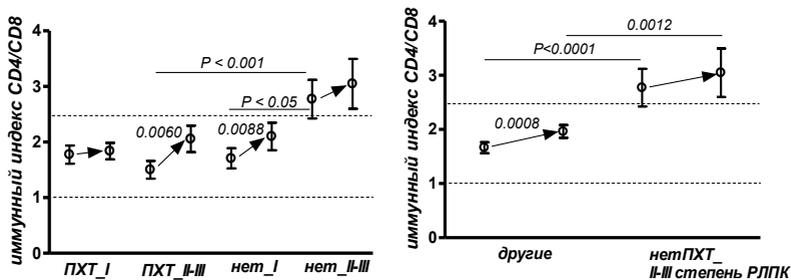


Рис. 15. Средние значения иммунного индекса в динамике в зависимости от радиочувствительности в группах в ответ на АДЛТ

ходе АДЛТ (парный t-test $p=0,006$) и пациентов без предварительной ПХТ, получивших при проведении АДЛТ I степень РЛПК (парный t-test $p=0,0088$). Для группы пациенток без предварительной ПХТ статистически значимых изменений ИИ в ходе АДЛТ не наблюдалось, ИИ был выше референсных значений как до, так и после АДЛТ. При этом базовый уровень ИИ был достоверно выше в этой группе ($2,77 \pm 0,35$), по сравнению как с пациентами, имеющими I степень РЛПК также без предварительной ПХТ ($1,71 \pm 0,18$; $p < 0,05$), так и по сравнению с пациентами после ПХТ, получившими при АДЛТ II–III степень РЛПК ($1,5 \pm 0,16$; $p < 0,001$).

Таким образом, при проведении АДЛТ после радикального оперативного вмешательства без предшествующей ПХТ пациентки со специфическими гистологическими типами РМЖ (главным образом с дольковым РМЖ), а также с ИИ более 2,5, относятся в группе риска по развитию II–III степени лучевых повреждений кожных покровов, что диктует необходимость применения дополнительного контроля за данной группой пациенток.

В проведенном исследовании мы проанализировали изменение состава клеточного иммунитета у пациенток с РМЖ в зависимости от предшествующего лечения и степени лучевых повреждений кожи [179].

В общей группе больные РМЖ с ИИ > 2,5 Гр до лучевой терапии почти в 2 раза больше шансов получить реакцию кожи на лучевую терапию II–III степени OR=1,92; 95 % CI [0,67; 5,50], $p < 0,05$.

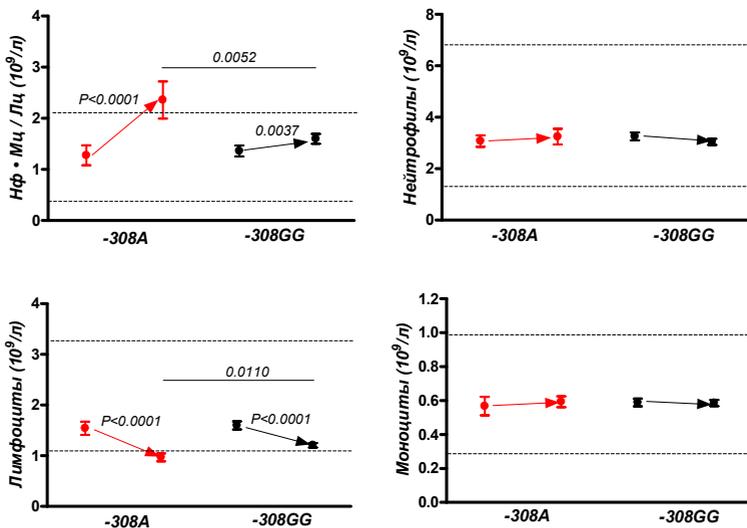


Рис. 16. Показатели системного воспалительного ответа в динамике в зависимости от радиочувствительности

В группе без ПХТ больные РМЖ с ИИ>2,5Гр до лучевой терапии в 9 раз больше шанса после лучевой терапии получить реакции кожи на лучевую терапию II–III степени OR=9,00; 95 % CI [0,89; 91,23], $p < 0,05$.

В группе с ПХТ больные РМЖ с ИИ>2,5 Гр до лучевой терапии OR=0,59; 95 % CI [0,13; 2,69].

Среди всех исследованных (вся выборка) больные РМЖ имеющие ИИ>2,5Гр (превышающий референсные значения) и не прошедшие ПХТ до лучевой терапии достоверно имеют больший шанс после лучевой терапии получить реакцию кожи на лучевую терапию II–III степени ОШ=4,99; 95 % CI [1,58; 15,75], $p < 0,05$.

Таким образом, при проведении лучевой терапии после операции (без предварительной ПХТ) больные с РМЖ со специфическими гистологическими типами рака (главным образом с дольковым РМЖ), а также с повышенным ИИ, должны в ходе лучевой терапии наблюдаться и им могут быть дополнительно рекомендованы специальные средства для ухода за кожей.

Индекс системного воспалительного ответа (Systemic Inflammation Response Index, SIRI [180]) определяли по нейтрофилам (Нф), моноцитам (Мф) и лимфоцитам, как $\text{Нф} \times \text{Мф} / \text{Лц}$ ($10^9/l$),

учитывая абсолютные значения лейкоцитарной формулы крови (рис. 13). Суммарно, у носителей -308А по сравнению с -308GG после лучевой терапии также достоверно различались средние значения SIRI ($2,35 \pm 0,364$ ($10^9/\text{л}$) и $1,597 \pm 0,09613$ ($10^9/\text{л}$) соответственно; $p=0,0052$), за счет снижения абсолютного уровня лимфоцитов ниже референсного значения ($0,9674 \pm 0,07758$ ($10^9/\text{л}$) и $1,207 \pm 0,04589$ ($10^9/\text{л}$) соответственно; $p=0,011$). При анализе содержания моноцитов и нейтрофилов в крови средние показатели во всех группах находились в пределах референсных значений без значимой динамики. На иммунный индекс полиморфизм гена TNF не оказывал влияния.

Подбор индивидуальной схемы лучевой терапии для пациентов, больных онкологическими заболеваниями, в частности, женщин с РМЖ остается открытым. Коррекция доз и интенсивности радиационного облучения на основании оценки индивидуальной радиочувствительности могла бы позволить существенно снизить нагрузку на здоровые ткани, окружающие очаг поражения, а также степень выраженности лучевых реакций в отсроченной перспективе.

Системный ответ на ионизирующее облучение (лучевую терапию)

АДЛТ является неотъемлемой частью локорегиональной терапии онкологических заболеваний. Наряду с основным механизмом воздействия ионизирующего излучения на опухолевые клетки — повреждением ДНК, активно изучается радиационно-индуцированный иммунный ответ на повреждение тканей и последующее воспаление [181]. Предполагается, что иммуногенная гибель клеток обеспечивает механистическую связь между местным и системным воздействием ионизирующего излучения и абскопальный эффект может объяснить вклад лучевой терапии в снижении смертности от онкологических заболеваний [182]. АДЛТ, действуя не только местно, но и системно, приводит к сдвигу гомеостаза, что отражается в рутинных общеклинических тестах. Рак молочной железы (РМЖ) — это одна из наиболее распространенных форм злокачественных новообразований. При РМЖ показатели формулы крови, которые характеризуют изменение гомеостаза и являются маркерами системной воспалительной реакции, могут иметь прогностическое значение [183].

Фактор некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF) — это про-воспалительный цитокин, секретируется преимущественно моноцитами и макрофагами (системно и локально в пораженных тканях), также лимфоцитами, НК- клетками, нейтрофилами, клетками эндотелия, нейроглией. TNF имеет два рецептора, активация которых приводит либо к гибели клетки, либо её активации и пролиферации. В низких концентрациях TNF выполняет гомеостатические функции, такие как защита от внутриклеточных патогенов, тогда как в высоких концентрациях TNF способствует избыточному воспалению и повреждению органов [184].

Известно, что на уровень продукции TNF способны влиять функциональные одно-нуклеотидные замены в регуляторной области гена, а полиморфизм -308(G/A)TNF(rs1800629) в экспериментах *in vitro* увеличивает продукцию цитокина [185]. Ген TNF расположен в области генов HLA III класса (6p21.3) и минорный аллель -308A может входить в стабильный наследуемый гаплотип АН8.1, ассоциированный с предрасположенностью к аутоиммунным заболеваниям [186]. Ранее нами было показано, что при РМЖ носительство аллеля -308A вне гаплотипа АН8.1 ассоциировано с существенным снижением общей выживаемости больных [187]. Определение особенностей течения заболевания для этой прогностически неблагоприятной группы больных РМЖ поможет в поиске специфических терапевтических мишеней.

Оценка особенностей системной воспалительной реакции у носителей *TNF*-ассоциированных генотипов на фоне проведения курса АДЛТ при РМЖ является актуальной.

Исследована выборка 147 пациентов с РМЖ без отдаленных метастазов после хирургического лечения, проходивших курс АДЛТ (РОД 2Гр до СОД 50Гр) в ФМБЦ имени А. И. Бурназяна ФМБА России в 2021–2022 гг. (средний возраст 58,0; от 33 до 87 лет). Клинико-морфологические характеристики и данные общего клинического анализа крови получали из историй болезни. До начала исследования от каждого из участников получено информированное добровольное согласие, в соответствии с этическими стандартами нашего центра и национального комитета по исследовательской этике.

Образцы венозной крови для исследования получали в начале и в конце курса АДЛТ (на 1-й и на 5-й неделе). Из лейкоцитов

венозной крови выделяли геномную ДНК набором QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Нидерланды). Методом аллель-специфической ПЦР определяли аллели *-308(G/A)TNF* и маркерные аллели гаплотипа *AH8.1* (*HLA-A*01*, *HLA-B*08* и *HLA-DRB1*03*) как ранее [186]. Плазма крови до проведения ИФА хранилась при -20°C . Концентрации sTNF определяли набором альфа-ФНО-И-ФА-БЕСТ по протоколу производителя (ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», Россия).

Группы сравнения выделяли на основе результатов генетического анализа. Средние значения представляли как Mean [95 % CI]. При статистической обработке данных использовали критерий согласия Пирсона χ^2 , парный/непарный t-критерий Стьюдента, ANOVA с поправкой на множественные сравнения по Тьюки, корреляционный и линейный регрессионный анализ. Для всех критериев различия считали достоверными при достижении $p < 0,05$.

В полученной выборке 33 из 147 больных РМЖ (22,5 %) являлись носителями аллеля *-308A* (2 из них — в виде гомозиготы) и распределение генотипов *-308(G/A)TNF* соответствовало распределению Харди-Вайнберга. На основе полученных данных о полиморфизме *-308(G/A)TNF* и маркерных аллелей гаплотипа *AH8.1* были выделены три *TNF*-ассоциированные группы сравнения: (1) 114 носителей дикого типа *-308GG* гена *TNF* независимо от гаплотипа *AH8.1* (77,6 %); (2) 23 носителя *-308A(AH8.Ipos)* имели хотя бы один маркерный аллель гаплотипа *AH8.1* (15,6 %) (3) 10 носителей *-308A(AH8.Ineg)* не имели ни одного маркерного аллеля *AH8.1* (6,8 %).

Клинико-морфологические характеристики больных РМЖ в группах сравнения не имели статистически значимых отличий относительно возраста, стадии заболевания, гистологического типа, степени злокачественности, молекулярного подтипа опухоли и числа пациентов, получавших полихимиотерапию (ПХТ) до проведения курса АДЛТ (табл. 6).

Для определения особенностей системной реакции на АДЛТ в выделенных генетических группах была проанализирована динамика абсолютных показателей формулы крови и концентраций sTNF (рис. 17).

Для всех генетических групп сравнения было отмечено статистически значимое снижение количества лимфоцитов, для носителей генотипа *-308GG* статистически значимым было

Таблица 6.

Клинико-морфологические характеристики больных РМЖ

Клинико-морфологические характеристики	-308GG	-308A (АН8.1pos)	-308A (АН8.1neg)	Всего
Возраст	n=114	n=23	n=10	n=147
Mean [95 % CI]	57,3 [55,3; 59,3]	60,5 [56,4; 64,6]	60,5 [52,6; 68,4]	58,0 [56,3; 59,8]
Стадия РМЖ	n=114	n=23	n=10	n=147
0	3 (2,6 %)	1 (4,3 %)	1 (10,0 %)	5 (3,4 %)
I	39 (34,2 %)	6 (26,1 %)	3 (30,0 %)	48 (32,7 %)
II	51 (44,7 %)	10 (43,5 %)	3 (30,0 %)	64 (43,5 %)
III	21 (18,4 %)	6 (26,1 %)	3 (30,0 %)	30 (20,4 %)
Гистологический тип	n=114	n=23	n=10	n=147
Неспецифический	94 (82,5 %)	16 (69,6 %)	8 (80,0 %)	118 (80,3 %)
Дольковый	15 (13,2 %)	5 (21,7 %)	2 (20,0 %)	22 (15,0 %)
Другие	5 (4,4 %)	2 (8,7 %)	0 (0,0 %)	7 (4,8 %)
Степень злокачественности	n=105	n=21	n=9	n=135
G1	14 (13,3 %)	2 (9,5 %)	0 (0,0 %)	16 (11,9 %)
G2	61 (58,1 %)	14 (66,7 %)	8 (88,9 %)	83 (61,5 %)
G3	30 (28,6 %)	5 (23,8 %)	1 (11,1 %)	36 (26,7 %)
Молекулярный подтип	n=109	n=23	n=10	n=142
Lum A	30 (27,5 %)	7 (30,4 %)	2 (20,0 %)	39 (27,5 %)
Lum B	61 (56,0 %)	12 (52,2 %)	6 (60,0 %)	79 (55,6 %)
HER2	5 (4,6 %)	3 (13,0 %)	1 (10,0 %)	9 (6,3 %)
TN	13 (11,9 %)	1 (4,3 %)	1 (10,0 %)	15 (10,6 %)
Проведенное лечение	n=114	n=23	n=10	n=147
ПХТ	74 (64,9 %)	13 (56,5 %)	5 (50,0 %)	92 (62,6 %)
Не проводилось	40 (35,1 %)	10 (43,5 %)	5 (50,0 %)	55 (37,4 %)

также снижение лейкоцитов и тромбоцитов, для носителей *-308A(АН8.1pos)* — снижение тромбоцитов.

Вместе с тем все средние показатели оставались в пределах референсных значений, за исключением абсолютных показателей лимфоцитарной фракции для группы *-308A(АН8.1pos)* в конце курса АДЛТ (рис. 17 а-в). Для нейтрофилов, моноцитов, базофилов и эозинофилов средние показатели во всех группах находились так же в пределах референсных значений, но без статистически значимой динамики (рис. 14 г-ж). Для 102 больных РМЖ (71 носитель генотипа *-308GG*, 21 носитель *-308A(АН8.1pos)* и 10 носителей *-308A(АН8.1neg)*) в плазме крови

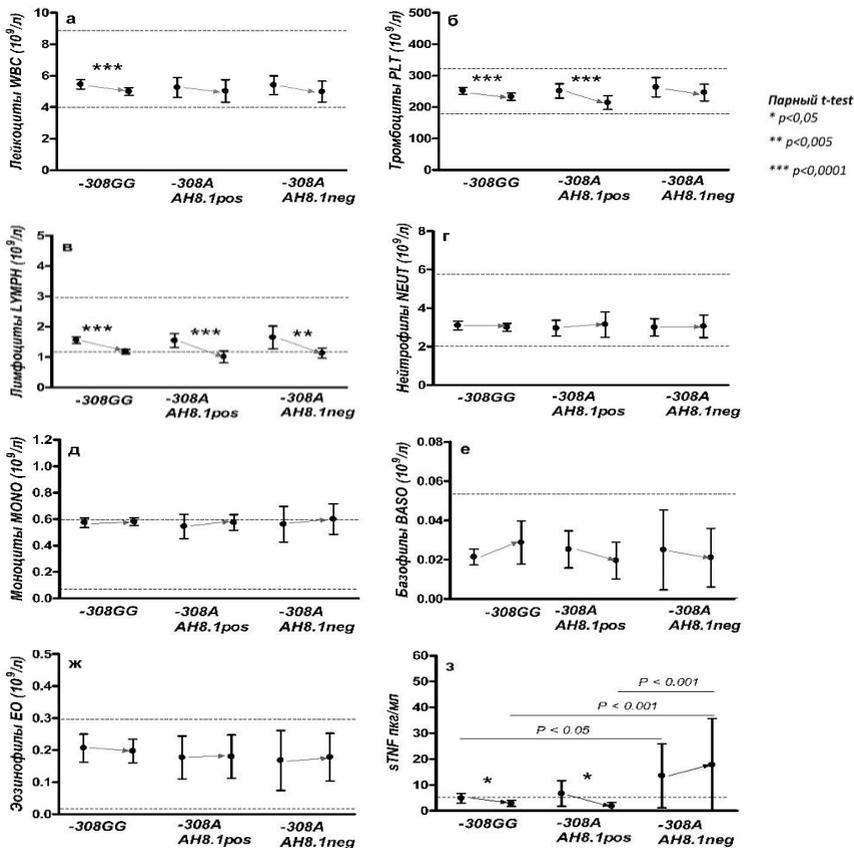


Рис. 17. Абсолютные показатели формулы крови и концентраций sTNF в начале и в конце курса АДЛТ

были 1определены концентрации sTNF. Средние значения концентраций sTNF в группе носителей -308A(AH8.1neg) были достоверно выше в начале и в конце АДЛТ (13,6 [1,3; 25,9] пкг/мл и 17,8 [-0,1; 35,6] пкг/мл соответственно), по сравнению с носителями генотипа -308GG (4,9 [3,0; 6,7] пкг/мл в начале АДЛТ и 2,9 [1,8; 4,1] пкг/мл в конце АДЛТ) и -308A(AH8.1pos) (6,7 [1,8; 11,6] пкг/мл в начале АДЛТ и 1,9 [0,49; 3,39] пкг/мл в конце АДЛТ) (рис. 17з).

В трех генетических группах сравнения до и после проведения курса АДЛТ были построены тепловые карты значений коэффициента корреляции Спирмена (рис. 18). Нужно отметить, что все статистически значимые корреляционные связи оказались положительными. В целом, для носителей генотипов *-308GG* и *-308A(AH8.Ipos)* корреляционные связи были довольно слабыми и относительно стабильными — незначительно изменялись после курса АДЛТ (рис. 18а и 18б), тогда как для носителей *-308A(AH8.Ineg)* — довольно сильными и с выраженной динамикой при проведении АДЛТ (рис. 18в). При анализе корреляционных связей sTNF статистически значимая слабая корреляция была выявлена для носителей генотипа *-308GG* между sTNF и базофилами ($r_s=0,28$; $p=0,020$), моноцитами ($r_s=0,30$; $p=0,014$) — в начале АДЛТ, и лейкоцитами ($r_s=0,25$; $p=0,036$), эозинофилами ($r_s=0,27$; $p=0,022$) — в конце АДЛТ (рис. 18а). Линейный характер корреляции sTNF с базофилами был подтвержден в начале АДЛТ ($r_p=0,27$; $p=0,027$) (рис. 18г) и с эозинофилами в конце АДЛТ ($r_p=0,34$; $p=0,0034$) (рис. 18д). В группе *-308A(AH8.Ineg)* статистически значимые положительные сильные корреляционные связи были выявлены только после АДЛТ между sTNF и лейкоцитами ($r_s=0,71$; $p=0,027$), тромбоцитами ($r_s=0,67$; $p=0,04$), нейтрофилами ($r_s=0,70$; $p=0,027$) (рис. 5в) с подтвержденной линейностью связи sTNF с лейкоцитами ($r_p=0,63$; $p=0,049$; 40 % объясненной вариабельности) и тромбоцитами ($r_p=0,67$; $p=0,034$; 45 % объясненной вариабельности) (рис. 18е и 5ж).

TNF играет существенную роль на всех этапах канцерогенеза, при прогрессировании и метастазировании РМЖ. Эксперименты *in vitro* и результаты немногочисленных доклинических и клинических испытаний, систематизированные Cruciger с соавторами [188], говорят о том, что при различных подходах к лечению РМЖ TNF может быть как мишенью, так и лекарственным средством, и потенциал TNF в терапии рака молочной железы представляет большой интерес.

Полиморфизм *-308(G/A) TNF* широко изучается как маркер предрасположенности к заболеванию раком молочной железы и в гораздо меньшей степени как маркер прогноза РМЖ. Ранее было показано, что группа носителей аллеля *-308A* гетерогенна и прогноз РМЖ зависит от геномного окружения, а именно от наследуемого гаплотипа генов *HLA*, в котором находится этот аллель [187].

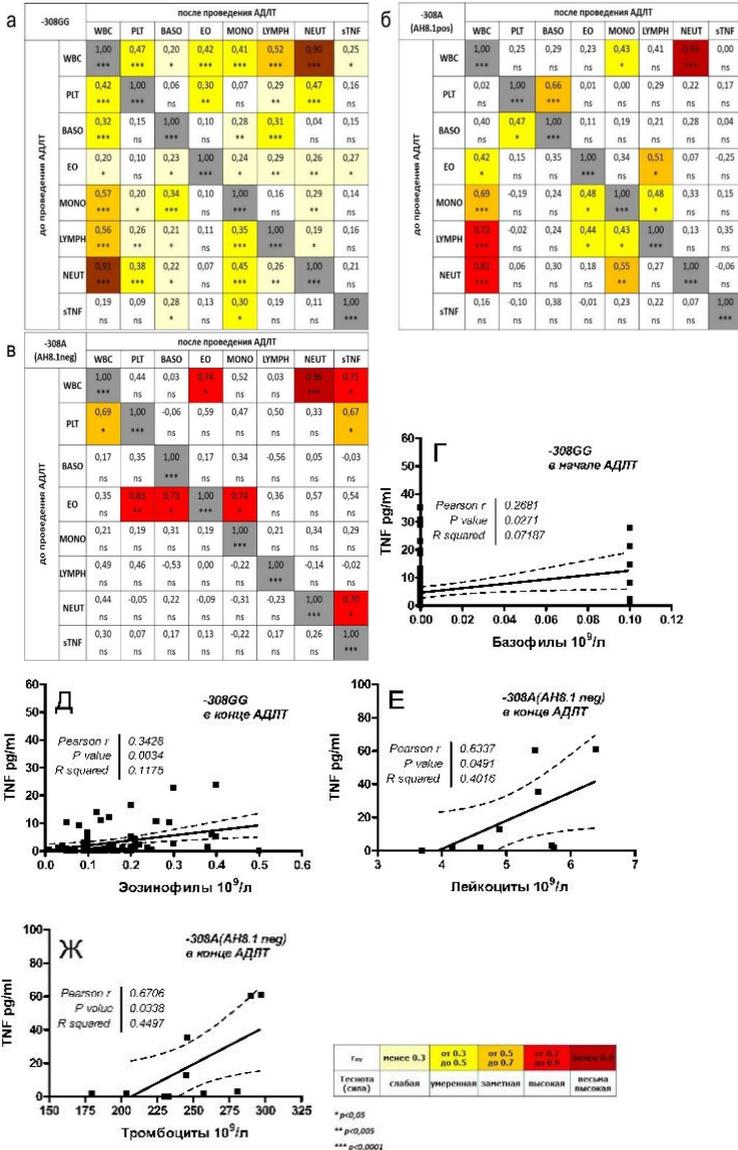


Рис. 18. Анализ корреляционных связей между показателями периферической крови в TNF-ассоциированных генетических группах до и после проведения курса АДЛТ (а-в, коэффициент корреляции Спирмена rs) и подтверждением линейного характера связи (г-ж, коэффициент корреляции Пирсона rP)

Исследование подтвердило полученные ранее данные [189], что группа больных РМЖ носителей прогностически неблагоприятного генотипа *-308A(AH8.Ineg)* отличается высоким уровнем sTNF от носителей как распространенного генотипа *-308GG*, так и от носителей аллеля *-308A* при наличии хотя бы одного дополнительного аллеля гаплотипа *AH8.1* (группа *-308A(AH8.Ipos)*). Примечательно, что в то время, как другие группы реагируют на АДЛТ статистически значимым снижением уровня цитокина, для носителей *-308A(AH8.Ineg)* уровень sTNF повышался, хотя и статистически недостоверно. В нашем исследовании АДЛТ угнетающе действовала на уровень TNF у более чем 90 % больных РМЖ, тогда как у носителей *-308A(AH8.Ineg)* уровень TNF после радиотерапии был почти на порядок выше (рис. 17з). Подобное исследование проводилось впервые, в публикациях представлены лишь данные об отсутствии статистически значимых отличий между абсолютными значениями уровня sTNF до и после стандартного курса радиотерапии в общей группе больных РМЖ (без учета генотипических различий) [190].

Известно, что АДЛТ оказывает угнетающее действие на лимфоциты [41], абсолютное число которых в нашем исследовании также достоверно снижалось во всех генетических группах, однако снижение ниже референсных значений было отмечено только для носителей *-308A(AH8.Ipos)* (рис. 17в). Известно, что при инфекции вирусом иммунодефицита человека аллель *-308A* гена *TNF* ассоциирован с усиленным апоптозом лимфоцитов [191]. С другой стороны, аутоиммунные реакции усиливают иммунологический надзор за счет повышения общего иммунного тонуса, способствуют уничтожению циркулирующих опухолевых клеток и, вероятно, могут давать преимущества в общей выживаемости, что объясняет благоприятное влияние аутоиммунного гаплотипа *AH8.1* на общую выживаемость больных РМЖ [192].

Основными продуцентами TNF считаются моноциты и тканевые макрофаги [193]. Мы не обнаружили достоверных изменений абсолютных показателей для моноцитов периферической крови при проведении АДЛТ. Слабая положительная корреляция между количеством моноцитов и концентрацией sTNF была отмечена для носителей генотипа *-308GG*, но не для других генетических групп, и только до проведения АДЛТ (рис. 18а). Это

еще раз подчеркивает отличие минорных групп носителей полиморфного аллеля -308A от основной группы носителей дикого типа -308GG.

По данным литературы АДЛТ снижает абсолютное количество тромбоцитов [194], что соответствует нашим результатам для носителей генотипов -308GG и -308A(AH8.Ipos). Наиболее интересно, что для прогностически неблагоприятной группы носителей генотипа -308A(AH8.Ineg) при проведении АДЛТ достоверно не изменялись абсолютные показатели тромбоцитов, при этом обнаруживалась весьма высокая положительная линейная корреляция с sTNF после АДЛТ (рисунки 17б, 17в и 17ж). Также высокая корреляция с sTNF после АДЛТ отмечается для нейтрофилов и лейкоцитов (вероятно за счет фракции нейтрофилов).

Тромбоциты, в дополнение к гемостазу и тромбозу, играют важную роль при воспалении, заживлении ран, опухолевом росте и метастазировании. Опухоль-активированные тромбоциты способны агрегироваться вокруг циркулирующих опухолевых клеток, защищая их от атак иммунной системы [195]. При некоторых патологиях было показано, что высокие уровни sTNF в плазме крови могут вызывать активацию тромбоцитов и служить фактором риска тромбофилии [196]. При таком аутоиммунном заболевании как анкилозирующий спондилит, анти-TNF-терапия снижала количество тромбоцитов [197]. С другой стороны, на модели РМЖ *in vivo* было показано, что нановезикулы активированных тромбоцитов значительно повышают уровни нейтрофилов, лимфоцитов и цитокинов, в том числе TNF, в опухолевых тканях [198]. Можно предположить, что в ходе АДЛТ в прогностически неблагоприятной группе носителей -308A(AH8.Ineg), отличительной особенностью которой является высокий уровень sTNF, активируются тромбоциты, которые, взаимодействуя с нейтрофилами «спасают» циркулирующие опухолевые клетки, способствуя метастазированию и прогрессии заболевания. Нейтрофилы составляют большую часть лейкоцитов периферической крови и являются передовым отрядом врожденного иммунитета. Не так давно была обнаружена способность нейтрофилов образовывать нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs) –экстрацеллюлярные сети ДНК и белков. Было показано, что при хроническом воспалении передача ауто- и паракринных сигналов TNF индуцирует образование

NETs [199]. В онкологии NETs связаны с опухоль-ассоциированным тромбозом, образованием про-метастатических ниш и метастазированием и рассматриваются как новая мишень в терапии злокачественных новообразований [200].

Таким образом по результатам исследования и данным литературы у пациентов, получающих АДЛТ с РМЖ носителей прогностически неблагоприятного генотипа -308A(AH8.1neg) выявлены особенности системного ответа на АДЛТ — высокая концентрация sTNF и положительная корреляция с содержанием лейкоцитов (вероятно, за счет нейтрофилов) и тромбоцитов, поэтому носители -308A(AH8.1neg) — могут рассматриваться как мишени индивидуализированной терапии с применением анти-TNF и анти-тромботических препаратов.

Прогностические маркеры для ранней диагностики радиационных повреждений кожных покровов

РЛПК развивается в течение нескольких недель после воздействия ионизирующего излучения, поздние проявления могут возникать через месяцы и годы после лечения. Первая доза облучения вызывает острое повреждение базальных кератиноцитов, стволовых и эндотелиальных клеток, клеток эпидермиса, при этом высвобождаются цитокины и хемокины, происходит рекрутинг иммунных клеток, запускаются механизмы заживления и восстановления ткани. При длительном воздействии ионизирующего излучения процесс продолжается, истощение и дисбаланс регуляторных факторов может приводить к структурным изменениям кожи и соединительной ткани [200, 201]. Несмотря на значительный прогресс в изучении цитокиновой сети, ее роль в патофизиологии лучевого поражения кожи остается недостаточно изученной. Центральным звеном цитокинового каскада в ответ на повреждающее воздействие является про-воспалительный цитокин фактор некроза опухоли (TNF, Tumor Necrosis Factor), который продуцируется клетками иммунной системы во всех фазах заживления [202, 203].

Ген *TNF* расположен на 6-й хромосоме (6p21.3) и занимает центральное положение в комплексе генов гистосовместимости *HLA* III класса, где также находятся гены, кодирующие компоненты системы комплемента, белков теплового шока *HSP*, участвующих в реакции на стресс, иммуно-регуляторный фактор *IKBL*, другие модуляторы иммунной системы (рис. 19). Гены

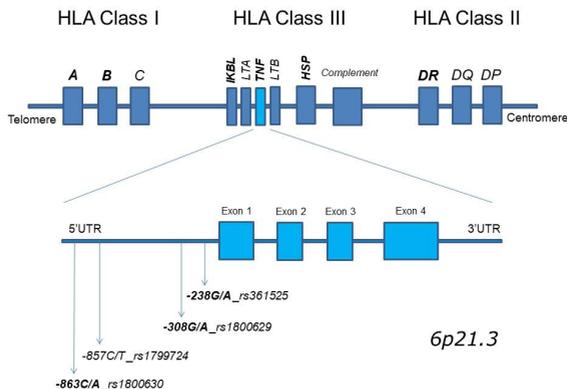


Рис. 19. Гены комплекса гистосовместимости HLA и полиморфизмы области гена TNF

HLA на всем протяжении комплекса могут формировать высоко консервативные наследуемые гаплотипы (АН, ancestral haplotype) [205]. *AH8.1* — один из наиболее распространенных гаплотипов (встречается примерно у 10 % европейцев) — связан с аутоиммунными состояниями. *AH8.1* охватывает всю протяженность комплекса *HLA*, содержит аллели *HLA-A*01*, *HLA-B*08*, *HLA-DRB1*03*, а также регуляторной области гена *TNF* расположено еще несколько функциональных полиморфизмов [204] (рис. 19).

Изучению влияния полиморфизмов гена *TNF* на ранние проявления радиочувствительности при АДЛТ РМЖ до сих пор было посвящено лишь несколько исследований. Так, на выборке 2036 больных РМЖ при анализе полиморфизмов 35 генов только для *TNF-308A/G* удалось обнаружить ассоциацию с такими ранними клиническими проявлениями радиочувствительности, как телеангиэктазия и общая токсичность [206]. В другом исследовании на выборке 125 больных РМЖ взаимодействие двух полиморфизмов *TNF-308A/G* и *IL6-174C/G* было ассоциировано с повышенным риском развития тяжелой степени радиодерматита [207]. Таким образом, кажется привлекательной возможность использовать полиморфизм гена *TNF-308A/G* в качестве прогностического маркера ранней радиочувствительности.

В нашей предыдущей работе мы показали, что только половина носителей аллеля *TNF-308A*, а именно, не несущие маркерные

аллели гаплотипа *AH8.1*, имеет предрасположенность к повышенному содержанию цитокина в сыворотке крови больных РМЖ до операции, до начала и по окончании курса АДЛТ [208].

Было сделано предположение, что у носителей *TNF-308A* реакция на различные воздействия может отличаться в зависимости от включения или не включения этого аллеля в гаплотип *AH8.1*. В настоящем исследовании проведена оценка влияния полиморфизмов гена *TNF* и генов комплекса *HLA* на степень РЛПК у больных РМЖ при проведении курса АДЛТ.

В исследование включено 145 женщин с подтвержденным патологическим диагнозом РМЖ без отдаленных метастазов. Все пациенты после хирургического лечения проходили курс АДЛТ (РОД 2Гр до СОД 50Гр). Степень РЛПК определялась врачом-радиологом: I степень — очаговая слабовыраженная эритема, сухое шелушение; II степень — яркая эритема, очаговое влажное шелушение, умеренный отек; III степень — сливной влажный эпидермит; IV степень — некроз. Данные о возрасте, стадии заболевания, степени злокачественности, гистологическом типе и молекулярном подтипе опухоли получали из медицинской карты пациента. До начала исследования от каждого из участников получено информированное добровольное согласие, в соответствии с этическими стандартами нашего центра и национально-го комитета по исследовательской этике.

Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов венозной крови. Интересующие полиморфизмы определяли методом аллель-специфической ПЦР и ПЦР-ПДРФ (табл. 7).

Для проверки согласия распределения генотипов с распределением, равновесным по Харди-Вайнбергу, использовали критерий согласия χ^2 Пирсона. При анализе генетических групп использовали доминантную модель. При статистическом анализе группы сравнивали критерием χ^2 Пирсона или точным двусторонним критерием Фишера, для всех критериев различия считали достоверными при достижении $p < 0,05$. Показатель относительного риска исхода представляли как RR [95 % CI]. В полученной выборке ($n=145$) у всех больных РМЖ в течение курса АДЛТ были выявлены РЛПК: I степени — 84 (57,9 %), II степени — 52 (35,9 %), III степени — 9 больных РМЖ (6,2 %). Для дальнейшего анализа использовали объединенную группу — 61 женщина со II–III степенью РЛПК (42,1 %). Случаев IV степени лучевого поражения в исследованной выборке не

Таблица 7.

Праймеры для аллель-специфической ПЦР и ПЦР-ПДФФ

Полимор-физм	Праймеры	ПЦР-про-дукт	Рестрик-таза	Фрагмен-ты
TNF-863(C/A)	C_F: 5'-CgAgTATggggACCCCC-3'	263 bp		
	A_F: 5'-gAgTATggggACCCCCA-3'		-	-
	R: 5'-CCgggAATTCACAgACCCC-3'			
TNF-308(G/A)	A_F: 5'-AATAggTTTgAggggCATgA-3'	184 bp		
	G_F: 5'-ATAggTTTgAggggCATgg-3'		-	-
	R: 5'-TCTCggTTTCTTCCATCg-3'			
TNF-238(G/A)	F: 5'-AAACAgACCACAgACCTggTC-3'	155 bp	BamH I	155 A
	R: 5'-CTCACACTCCCCATCCTCCCggATC-3'			135+20 G
IKBL-62(T/A)	F: 5'-AgTTCACTTCCgTCCTCCAg-3'	301 bp	Pvu II	301 A
	R: 5'-CggATggggAAAAATTTT-3'			281+20 T
HSPA1B+1267(A/G)	F: 5'-CATCgACTTACACgTCC-3'	428 bp	PstI	428 A
	R: 5'-CggAgTAggTggTgAAgATC-3'			247+181 G
HLA-A*01	F: 5'-ggACCAGgAgACACggAATA-3'	577 bp	-	-
	R: 5'-AggTATCTgCggAgCCCg-3'			
HLA-B*08	F: 5'-gACCggAACACACAgATCTT-3'	606 bp	-	-
	R: 5'-CCgCgCgCTCCAgCgTg-3'			
HLA-DRB1*03	F: 5'-TACTTCCATAACCAggAggAgA-3'	151 bp	-	-
	R: 5'-TgCAGTAGTTgTCCACCCg-3'			

наблюдалось. По клинико-морфологическим характеристикам группы больных РМЖ с I степенью РЛПК и со II–III степенью РЛПК статистически значимо не отличались (табл. 8).

Вся выборка была протестирована на полиморфизмы генов *TNF* (-863C/A, -308G/A, -238G/A), *HSPA1B+1267A/G* и *IKBL-62T/A* и маркерные аллели гаплотипа *AH8.1* (*HLA-A*01*, *HLA-B*08*, *HLA-DRB1*03*) (табл. 9). Распределение полученных генотипов для всех полиморфизмов не отличалось от теоретического распределения по Харди-Вайнбергу ($p > 0,05$). Так же по распределению генотипов статистически значимо не отличались группы больных РМЖ с I степенью РЛПК и со II–III степенью РЛПК. В то же время можно отметить двукратное превышение встречаемости генотипа *TNF-863 AA+CA* у больных с I степенью РЛПК, по сравнению со II–III степенью РЛПК (23,8 % и 11,5 % соответственно; $p = 0,083$).

Для дальнейшего анализа были выделены три генетические группы сравнения, ключевым признаком которых является полиморфизм *TNF -308G/A* и гаплотип *AH8.1*. Группу носителей

Таблица 8.

**Клинико-морфологические характеристики больных РМЖ
в группах с I и II–III степенью РЛПК**

Клинико-морфологические характеристики	Всего n=145	I степень РЛПК n=84	II–III степень РЛПК n=61
Средний возраст	58,2 (от 33 до 87)	58,0 (от 34 до 78)	58,5 (от 33 до 87)
95 %CI	[56,5; 59,9]	[55,6; 60,3]	[55,9; 61,1]
0–I стадия	53 (36,6 %)	25 (29,8 %)	28 (45,9 %)
II стадия	62 (42,8 %)	38 (45,2 %)	24 (39,3 %)
III стадия	30 (20,7 %)	21 (25,0 %)	9 (14,8 %)
G1	15 (11,3 %)	8 (10,7 %)	7 (12,1 %)
G2	82 (61,7 %)	45 (60,0 %)	37 (63,8 %)
G3	36 (27,1 %)	22 (29,3 %)	14 (24,1 %)
нет данных	12	9	3
Lum A	43 (29,7 %)	23 (27,4 %)	20 (32,8 %)
Lum B	78 (53,8 %)	46 (54,8 %)	32 (52,5 %)
HER2 pos	9 (6,2 %)	4 (4,8 %)	5 (8,2 %)
TN	15 (10,3 %)	11 (13,1 %)	4 (6,6 %)
Неспецифический	116 (80,0 %)	69 (82,1 %)	47 (77,0 %)
Дольковый тип	22 (15,2 %)	11 (13,1 %)	11 (18,0 %)
Другие	7 (4,8 %)	4 (4,8 %)	3 (4,9 %)

аллеля *TNF-308A* и одновременно трех маркерных аллелей *AH8.1* (*HLA-A*01*, *HLA-B*08*, *HLA-DRB1*03*) — «полный» гаплотип — обозначили как *AH8.Ipos*. Встречаемость этой генетической группы в исследованной выборке составила 11,7 % (17 из 145). Остальная выборка была представлена 112 носителями гомозиготы дикого аллеля *TNF-308GG* (77,3 %) и 16 носителями аллеля *TNF-308A* вне гаплотипа *AH8.1* (11,0 %).

Распределение трех групп сравнения статистически значимо различалось для больных с I степенью и II–III степенью РЛПК ($\chi^2=8,061$; $df=2$; $p=0,018$). Носители аллеля *TNF-308A* вне гаплотипа *AH8.1* достоверно чаще встречались среди больных со II–III степенью РЛПК, по сравнению с I степенью РЛПК (19,7 % и 4,8 % соответственно; $p=0,0065$) (рис. 20). Следует отметить, что «неполный» гаплотип — 1 или 2 маркерных аллеля *AH8.1* — встречался чаще у носителей аллеля *TNF-308A* вне гаплотипа *AH8.1*, чем в группе *TNF-308GG* (в 37,5 % и 15,2 % случаев соответственно; $p=0,041$), но не влиял на степень РЛПК.

Таблица 9.

Распределение генотипов у больных РМЖ в группах с I и II–III степенью РЛПК

Генотипы	Всего, n=145	I степень РЛПК, n=84	II–III степень РЛПК, n=61
TNF-238 AG	11 (7,6 %)	6 (7,1 %)	5 (8,2 %)
TNF-238 GG	134 (92,4 %)	78 (92,9 %)	56 (91,8 %)
TNF-308 AA+AG	33 (22,8 %)	15 (17,9 %)	18 (29,5 %)
TNF-308 GG	112 (77,2 %)	69 (82,1 %)	43 (70,5 %)
TNF-863 AA+CA	27 (18,6 %)	20 (23,8 %)	7 (11,5 %)
TNF-863 CC	118 (81,4 %)	64 (76,2 %)	54 (88,5 %)
HSPA1B+1267 GG+AG	86 (59,3 %)	47 (56,0 %)	39 (63,9 %)
HSPA1B+1267 AA	59 (40,7 %)	37 (44,05 %)	22 (36,1 %)
IKBL -62 AA+AT	69 (47,6 %)	43 (51,2 %)	26 (42,6 %)
IKBL -62 TT	76 (52,4 %)	41 (48,8 %)	35 (57,4 %)
HLA-A1 pos	31 (21,4 %)	21 (25,0 %)	10 (16,4 %)
HLA-A1 neg	114 (78,6 %)	63 (75,0 %)	51 (83,6 %)
HLA-B8 pos	20 (13,8 %)	11 (13,1 %)	9 (14,8 %)
HLA-B8 neg	125 (86,2 %)	73 (86,9 %)	52 (85,2 %)
HLA-DR3 pos	26 (17,9 %)	15 (17,9 %)	11 (18,0 %)
HLA-DR3 neg	119 (82,1 %)	69 (82,1 %)	50 (82,0 %)

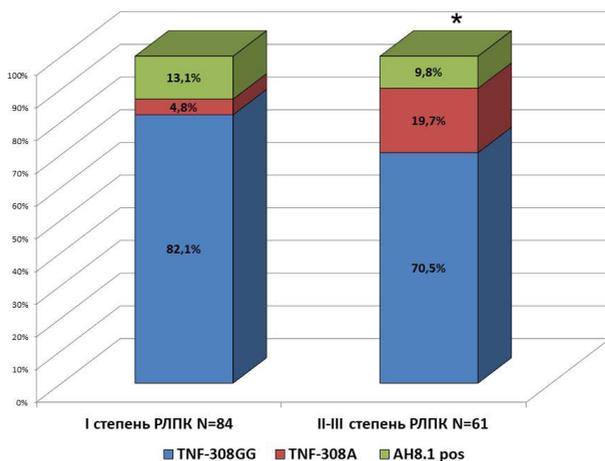


Рис. 20. Распределение генетических групп, ключевым признаком которых является полиморфизм TNF -308G/A и гаплотип AN8.1, у больных РМЖ с I и II–III степенью РЛПК

Для определения ассоциации полиморфизмов в рамках HLA III класса рассматривали распределение полиморфизмов генов *TNF*, *IKBL* и *HSPA1B* в выделенных генетических группах *TNF-308GG*, *TNF-308A* и *AH8.1pos* (табл. 10). Из таблицы видно, что относительно *TNF-308G/A* полиморфизмы *TNF-863C/A* и *TNF-238G/A* являются независимыми маркерами. Аллель *IKBL -62A* ассоциирован с аллелем *TNF-308A*, а аллель *HSPA1B +1267G* ассоциирован с гаплотипом *AH8.1*, что соответствует представлению о сцепленности генов на всей протяженности комплекса *HLA*.

Таблица 10.

Распределение генотипов в генетических группах сравнения

Генотипы	Всего N=145	<i>TNF-308GG</i> N=112	<i>TNF-308A</i> N=16	<i>AH8.1pos</i> N=17
AH8.1 pos	17 (11,7 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	17 (100,0 %)
AH8.1 neg	128 (88,3 %)	112 (100,0 %)	16 (100,0 %)	0 (0,0 %)
		$\chi^2=145,000; df=2; p<0,001$		
TNF-863 AA+CA	27 (18,6 %)	23 (20,5 %)	2 (12,5 %)	2 (11,8 %)
TNF-863 CC	118 (81,4 %)	89 (79,5 %)	14 (87,5 %)	15 (88,2 %)
		$\chi^2=1,194; df=2; p=0,551$		
TNF-238 AG	11 (7,6 %)	9 (8,0 %)	1 (6,25 %)	1 (5,9 %)
TNF-238 GG	134 (92,4 %)	103 (92,0 %)	15 (93,75 %)	16 (94,1 %)
		$\chi^2=0,143; df=2; p=0,931$		
IKBL -62 AA+AT	69 (47,6 %)	37 (33,0 %)	15 (93,75 %)	17 (100,0 %)
IKBL -62 TT	76 (52,4 %)	75 (67,0 %)	1 (6,25 %)	0 (0,0 %)
		$\chi^2=41,903; df=2; p<0,001$		
HSPA1B+1267 AG+GG	86 (59,3 %)	60 (53,6 %)	9 (56,25 %)	17 (100,0 %)
HSPA1B+1267 AA	59 (40,7 %)	52 (46,4 %)	7 (43,75 %)	0 (0,0 %)
		$\chi^2=13,253; df=2; p=0,002$		

На рис. 21 представлены процентные доли больных РМЖ со II–III степенью РЛПК в генетических группах с двойными полиморфизмами из табл. 9 (данные для групп менее 7 человек на рисунке не представлены). Для всей выборки II–III степень РЛПК развивалась достоверно чаще у носителей аллеля *TNF-308A* вне гаплотипа *AH8.1*, чем у остальных больных РМЖ (12 из 16 — 75,0 % и 49 из 129 — 38,0 % соответственно, $p=0,0065$; RR=1,97, 95 % CI [1,38; 2,83]), независимо от второго включенного в анализ полиморфизма. Таким образом, только носительство *TNF-308A* вне гаплотипа *AH8.1* почти в два раза увеличивает

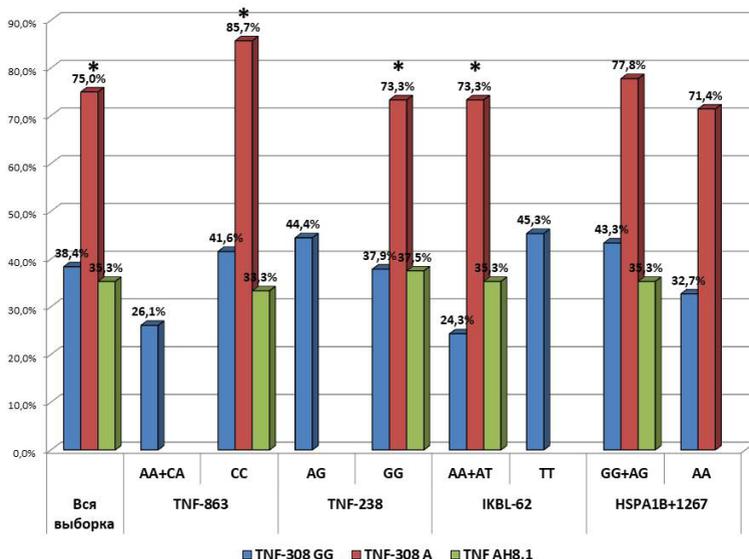


Рис. 21. Процентные доли больных РМЖ с II–III степенью РЛПК в выделенных генетических группах

риск развития более тяжелой степени РЛПК при проведении АДЛТ. При этом, увеличение доли больных РМЖ со II–III степенью РЛПК при дополнительном носительстве гомозиготы *TNF-863CC* до 85,7 % (12 из 14), по сравнению с 37,4 % (49 из 131) для остальных больных РМЖ ($p=0,0009$), дополнительно увеличивает относительный риск до $RR=2,92$, 95 % CI [1,68; 3,12], что может указывать на кумулятивный эффект двух полиморфизмов гена *TNF*.

В своей работе мы впервые продемонстрировали гетерогенность реакции носителей аллеля *-308A* гена *TNF* на лучевую терапию, которая проявляется в зависимости от включения или не включения этого аллеля в наследуемый гаплотип *AN8.1*. При проведении стандартного курса АДЛТ у больных РМЖ достоверно большее число носителей *TNF-308A* вне гаплотипа *AN8.1* имело высокую степень РЛПК, тогда как число носителей *TNF-308A*, включенного в гаплотип *AN8.1*, соответствовало этому показателю у большинства больных РМЖ носителей распространенного генотипа *TNF-308GG*. В совокупности с нашими

предыдущими исследованиями, которые показали, что носители аллеля *-308A* гена *TNF* только вне гаплотипа *AH8.1* имеют повышенный уровень цитокина [209], можно объяснить индивидуальную радиочувствительность ассоциацией именно с этим высоко-экспрессирующим аллелем, но не гаплотипом *AH8.1*. Включение в исследование полиморфизмов *HSPA1B+1267A/G* и *IKBL-62T/A* не выявило дополнительной связи генов области *HLA* III класса со степенью РЛПК.

В публикациях, посвященных влиянию гаплотипа *AH8.1* на предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям, напротив, ключевым механизмом считают хроническое воспаление и повышенный уровень цитокина, связанный с наличием *TNF-308A* в составе гаплотипа *AH8.1* [201–211]. Объяснение противоречия между нашими данными и данными, касающимися аутоиммунных заболеваний, возможно, лежит в области крайне мало изученных механизмов отрицательной корреляции между РМЖ и такими аутоиммунными заболеваниями, как ревматоидный артрит и системная красная волчанка [212, 213].

Обнаруженная ассоциация II–III степени РЛПК с аллелем *TNF-308A* вне гаплотипа *AH8.1* в перспективе может быть использована для прогноза индивидуальной радиочувствительности больных РМЖ. Фактически наш тест основан на исключении генетической группы с «нормальной» реакцией на облучение, характерной для 89 % больных РМЖ (из них 77 % — носители *TNF-308GG*, 12 % — носители *AH8.1*), тогда как радиочувствительная группа представлена 11 % больных РМЖ — носителей аллеля *TNF-308A* без идентифицированного *HLA*-генотипа.

Генетическое тестирование индивидуальной радиочувствительности критически необходимо для разработки протоколов персонализированной лучевой терапии. Отсутствие прогностических тестов при наблюдающейся повышенной реакцией на АДЛТ у небольшого числа пациентов приводит к ограничению стандартной дозы облучения, что, из-за прямой зависимости между дозой облучения и контролем над опухолью, может снижать эффективность лучевой терапии у большинства пациентов. В результате поиска вариаций в генах-кандидатах, участвующих в репарации ДНК (*ATM*, *BRCA1/2* и *TP53*), антиоксидантных ферментах (*SOD2*), цитокинах (*TGFBI*, *IL1*, *IL6*), в клинической практике только такие редкие моногенные заболевания, как

носительство гомозиготы мутантного гена *ATM*, связывают с повышенной радиочувствительностью [214, 215].

Триггеры ранней радиочувствительности, помимо прочих факторов, могут оказывать существенное влияние и на поздние эффекты лучевой терапии — хронические незаживающие язвы, сосудистый фиброз. Кроме того, последнее время появились публикации, с позиций доказательной медицины связывающие АДЛТ молочной железы с такими отдаленными последствиями лечения, как вторые первичные опухоли [215]. Анализ 875880 случаев РМЖ показал, что проведение лучевой терапии достоверно связано с риском развития различных типов рака кожи (меланомы, карциномы Меркеля, гемангиосаркомы и др.). Однако, поскольку частота второго рака кожи в целом для выборки оказалась невелика, авторы не нашли целесообразным изменение рекомендаций по лечению [215].

Предрасположенность к повышенной продукции цитокина *TNF* в выявленной нами группе носителей аллеля *-308A* гена *TNF* вне гаплотипа *AN8.1* может быть биологической основой повышенного риска как ранних, так и поздних осложнений АДЛТ, наряду с другими факторами, неблагоприятно влияющими на общую выживаемость больных РМЖ. Ранее, на независимой выборке из 278 российских больных РМЖ, именно для этой генетической группы было показано существенное снижение 10-летней общей выживаемости [216].

Таким образом, необходимо индивидуализировать и наблюдение за генетической группой, которая была нами идентифицирована как радиочувствительная. Возможно, превентивное использование препаратов, направленных на снижение местной воспалительной реакции [217, 218], сможет остановить развитие тяжелой степени РЛПК у больных РМЖ, предрасположенных к осложнениям при проведении курса АДЛТ.

Впервые выявлена гетерогенность реакции носителей аллеля *-308A* гена *TNF* на лучевую терапию, которая проявляется в зависимости от включения или не включения этого аллеля в наследуемый гаплотип *AN8.1* генов комплекса *HLA*. Относительный риск развития более высокой степени РЛПК при ионизирующем облучении (лучевой терапии) для носителей аллеля *TNF-308A* вне гаплотипа *AN8.1* в два раза выше, а при дополнительном носительстве гомозиготы *TNF-863CC* в три раза выше, чем для остальных больных РМЖ.

Гетерогенность развития раннего лучевого повреждения кожи при ионизирующем облучении

Местные лучевые реакции могут проявляться в виде кожного покраснения, отека, облучения, язвенных поражений, что существенно ухудшает качество жизни пациентов. Эти изменения связаны с повреждением ДНК клеток кожи, нарушением клеточного цикла, дисбалансом провоспалительных и профибротических цитокинов. Основными цитокинами, участвующими в воспалительных и стимулирующих фиброз процессах, являются фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа), фактор роста опухоли-бета (ТФР-бета), интерлейкины 6 и 1 (ИЛ-6 и ИЛ-1), фактор роста соединительной ткани и тромбоцитарный фактор роста (PDGF).

Однако частота и тяжесть МЛП у пациенток с РМЖ при одинаковых протоколах лучевой терапии имеют определенные различия, что связывают с индивидуальными факторами радиочувствительности. Определение прогностических маркеров, которые возможно использовать в клинической практике для ранней диагностики радиационных повреждений у лиц при ионизирующем облучении во многом определяет направления исследований в современной радиобиологии. На сегодняшний день генетический полиморфизм в генах кандидатах, ответственных за регуляцию клеточного цикла, репарации ДНК, апоптоза, антиоксидантной защиты, воспаления и других реакций, происходящих на молекулярно-клеточном уровне, считают существенным фактором, обуславливающим индивидуальную радиочувствительность организма.

Ген TNF, кодирующий мультифункциональный провоспалительный цитокин — фактор некроза опухоли, который является центральным звеном цитокинового каскада в ответ на повреждающее воздействие, в том числе и в ответ на ИИ. Участвует в пролиферации и дифференцировке клеток, а также в регуляции иммунного ответа организма.

Гены HLA на всем протяжении комплекса могут формировать высоко консервативные наследуемые гаплотипы (АН, ancestral haplotype). АН8.1 — один из наиболее распространенных гаплотипов (встречается примерно у 10 % европейцев) — связан с повышенным уровнем цитокина TNF. АН8.1 охватывает всю протяженность комплекса HLA, его

маркерными аллелями являются TNF -308A, HLA-A*01, HLA-B*08, HLA-DRB1*03.

Использование прогноза развития кожных лучевых реакций у пациенток с раком молочной железы после проведения дистанционной лучевой терапии является важным для совершенствования системы диагностики и оказания медицинской помощи и актуальным в современной медицине.

Известных прогностических маркеров для ранней диагностики радиационных повреждений у лиц при ионизирующем облучении немного.

В наших исследованиях [189,218] показано, что только половина носителей аллеля TNF -308A, а именно, не несущие маркерные аллели гаплотипа АН8.1, имеет предрасположенность к повышенному содержанию цитокина в сыворотке крови больных РМЖ до операции, до начала и по окончании курса АДЛТ. Было сделано предположение, что у носителей TNF -308A реакция на различные воздействия может отличаться в зависимости от включения или не включения этого аллеля в гаплотип АН8.1.

Определение индивидуальной радиочувствительности у больных злокачественными заболеваниями при помощи хромосомного анализа облученных *in vitro* лимфоцитов [219], в котором проводили регистрацию хромосомных aberrаций в среднем на 100 метафазных пластинках. Однако, данный способ описывает уже непосредственное влияние ИИ на ДНК клетки, не учитывает индивидуальные генетические особенности пациенток в основных регуляторных белках, участвующих в патогенезе лучевых поражений кожи, а так же описывает сложный методологический процесс в лабораторных условиях, воспроизводимый только специализированным медицинским персоналом.

Оценка индивидуальной радиочувствительности больных с местно-распространенным раком молочной железы и опухолями головы и шеи при лучевой терапии [220], также основан на определении среднего уровня флуоресцентных фокусов гистона γ H2AX в лимфоцитах пациентов. Но данный способ вновь проводится лишь в лабораторных условиях на оборудовании, отличном от клинического, и не учитывает индивидуальный генетический статус больных. Таким образом, вопрос о правомочности переноса данных по генотипическим ассоциациям, получаемых при воздействии *in vitro*, на экспонированные *in vivo* на контингент пока остается открытым.

Определение прогностических маркеров для ранней диагностики радиационных повреждений у лиц при ионизирующем облучении является обеспечение прогноза индивидуальной радиочувствительности кожных покровов — определение повышенного риска развития более тяжелых кожных лучевых реакций (II– III степени) при проведении адъювантной дистанционной лучевой терапии, за счет определения полиморфизма гена TNF и маркерных аллелей гаплотипа AN8.1 в лейкоцитах периферической крови пациенток молекулярно-генетическим методом двухэтапной аллель-специфической полимеразной цепной реакции.

У пациенток с до адъювантной дистанционной лучевой терапии проводят забор периферической крови для проведения молекулярно-генетического метода двухэтапной аллель-специфической полимеразной цепной реакции, выявляют аллель -308A в гене TNF вне гаплотипа AN8.1 для прогноза индивидуальной радиочувствительности кожных покровов определяют повышенный риск развития более тяжелых кожных лучевых реакций (II– III степени) при проведении адъювантной дистанционной лучевой терапии на основе анализа полиморфизма гена TNF вне гаплотипа AN8.1.

Образцы периферической крови пациенток с РМЖ, которым запланировано проведение АДЛТ, забирали в пробирки с ЭДТА. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови методом сорбции на колонках коммерческими наборами для выделения суммарной ДНК из цельной крови. Качество и количество ДНК осуществляли на флуориметре Qubit 4. Проводили генотипирование методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с дальнейшим разделением полученных фрагментов ПЦР в 2 % агарозном геле, для определения наличия в геноме пациента аллелей *TNF-308A*, *HLA-A*01*, *HLA-B*08* и *HLA-DRB1*03*. Положительным контролем служила ранее типированная ДНК *TNF-308GG⁺* и *TNF-308A⁺HLA-A*01⁺HLA-B*08⁺HLA-DRB1*03⁺*, отрицательным контролем — реакция в отсутствии матрицы ДНК (контроль на воду).

Генотипирование проводили методом ПЦР с аллель-специфическими праймерами (табл. 11).

Таблица 11.

Праймеры для аллель-специфической ПЦР

Полиморфизм	Праймеры	ПЦР-продукт
<i>TNF-308(G/A)</i>	A F: 5'-AATAggTTTTgAggggCATgA-3'	184 bp
	G F: 5'-ATAggTTTTgAggggCATgg-3'	
	R: 5'-TCTCggTTTCTTCTCCATCg-3'	
<i>HLA-A*01</i>	F: 5'- ggACCaggAgACACggAATA-3'	577 bp
	R: 5'- AggTATCTgCggAgCCCg-3'	
<i>HLA-B*08</i>	F: 5'- gACCggAACACACAgATCTT-3'	606 bp
	R: 5'- CCgCgCgCTCCAgCgTg-3'	
<i>HLA-DRB1*03</i>	F: 5'- TACTTCCATAACCAggAggAgA-3'	151 bp
	R: 5'- TgCAgTAgTTgTCCACCCg-3'	

Генотипирование проводили методом ПЦР с аллель-специфическими праймерами в 2 этапа: 1) определение полиморфизма *TNF -308(G/A)* (rs1800629); 2) для носителей аллеля *TNF -308A* определение трех маркерных аллелей гаплотипа *АН8.1* (*HLA-A*01*, *HLA-B*08*, *HLA-DRB1*03*) (табл. 11). Тест основан на исключении генетической группы носителей гомозиготы распространенного аллеля *TNF -308GG* и носителей аллеля *TNF -308A* и одновременно трех маркерных аллелей *АН8.1*, с последующим выделением радиочувствительной группы *TNF -308A* без идентифицированного *HLA*-генотипа.

У пациенток (103 женщины) с подтвержденным патологическим диагнозом РМЖ без отдаленных метастазов после проведения хирургического лечения и химиотерапевтического лечения до прохождения курса АДЛТ проводили забор периферической крови в пробирки, содержащие ЭДТА. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови. Интересующие полиморфизмы определяли методом аллель-специфической ПЦР. Прогноз развития ЛРК осуществляли исключением носителей гомозиготы *TNF -308GG* и носителей аллеля *TNF -308A* и трех маркерных аллелей *АН8.1*, с последующим выделением радиочувствительной группы *TNF -308A* без идентифицированного *HLA*-генотипа.

Генетические группы (табл. 12): (1) носители аллеля *TNF -308A* и одновременно трех маркерных аллелей *АН8.1* (*HLA-A*01*, *HLA-B*08*, *HLA-DRB1*03*) — *TNF -308A/АН8.1*; (2) носители аллеля *TNF -308A* вне гаплотипа *АН8.1* — *TNF -308A*; (3) носители гомозиготы распространенного аллеля *TNF -308G* — *NF -308GG*

(две контрольные группы *TNF -308GG #1* и *TNF -308GG #2*). Генетические группы сравнения статистически значимо не отличались по распределению клинико-морфологических характеристик (критерий $\chi^2 p \geq 0,05$).

В базу данных вносили сведения о возрасте, стадии заболевания, степени злокачественности, гистологическом типе и молекулярном подтипе опухоли, которые получали из медицинской карты пациента (рис. 22).

Таблица 12.

Сравнение клинико-морфологических характеристик больных РМЖ в выделенных генетических группах

Генетическая группа	<i>TNF -308A</i> (n=16)	<i>TNF -308A/</i> <i>AH8.1</i> (n=17)	<i>TNF -308GG</i> <i>#1</i> (n=35)	<i>TNF -308GG</i> <i>#2</i> (n=35)
Возраст, среднее	58,9 (от 42 до 87)	61,9 (от 38 до 73)	60,3 (от 38 до 75)	56,7 (от 34 до 78)
I стадия РМЖ	8 (50,0 %)	3 (17,6 %)	6 (17,1 %)	17 (48,6 %)
II стадия РМЖ	5 (31,3 %)	8 (47,1 %)	19 (54,3 %)	12 (34,3 %)
III стадия РМЖ	3 (18,8 %)	6 (35,3 %)	10 (28,6 %)	6 (17,1 %)
G1	1 (7,1 %)	1 (6,3 %)	3 (9,7 %)	3 (9,4 %)
G2	11 (78,6 %)	11 (68,8 %)	20 (64,5 %)	17 (53,1 %)
G3	2 (14,3 %)	4 (25,0 %)	8 (25,8 %)	12 (37,5 %)
нет данных	2	1	4	3
Lum A	4 (25,0 %)	5 (29,4 %)	6 (17,1 %)	9 (25,7 %)
Lum B	9 (56,3 %)	9 (52,9 %)	22 (62,9 %)	20 (57,1 %)
HER2	2 (12,5 %)	2 (11,8 %)	2 (5,7 %)	0 (0,0 %)
TN	1 (6,3 %)	1 (5,9 %)	5 (14,3 %)	6 (17,1 %)
неспециализированный	10 (62,5 %)	14 (82,4 %)	29 (82,9 %)	28 (80,0 %)
дольковый	5 (31,3 %)	2 (11,8 %)	4 (11,4 %)	5 (14,3 %)
другие	1 (6,3 %)	1 (5,9 %)	2 (5,7 %)	2 (5,7 %)

Группу носителей аллеля *TNF -308A* и одновременно трех маркерных аллелей *AH8.1* (*HLA-A*01*, *HLA-B*08*, *HLA-DRB1*03*) обозначили как *TNF -308A/AH8.1pos*. Встречаемость этой генетической группы в исследованной выборке составила 16,5 % (17 из 103). Остальные носители аллеля *TNF -308A* обнаружены в 15,5 % случаев (16 из 103). Носители гомозиготы дикого аллеля *TNF -308GG* (две контрольные группы) — в 68 % (70 из 103).

II–III степень РЛПК развивалась достоверно чаще у носителей аллеля *TNF -308A* вне гаплотипа *AH8.1*, чем у остальных

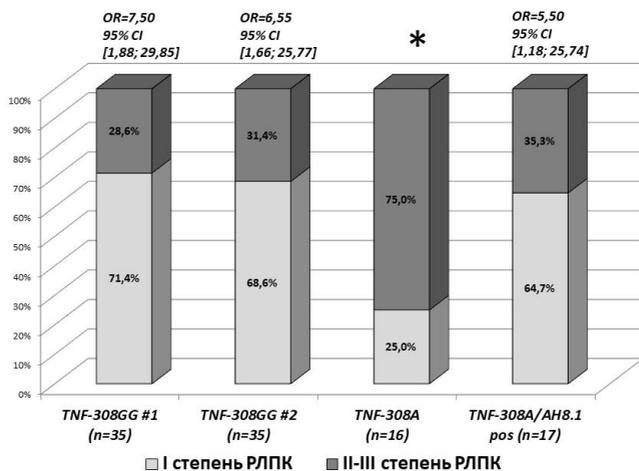


Рис. 22. Процентные доли больных РМЖ с II–III степенью РЛПК в выделенных генетических группах

больных РМЖ в исследованной выборке (12 из 16 — 75,0 % и 27 из 87 — 31,0 % соответственно, $p=0,0015$; $OR=6,67$, 95 %CI [1,94; 22,895]) и чем в других генетических группах (рис. 22). Таким образом, носительство *TNF* -308*A* вне гаплотипа *AH8.1* значительно увеличивает шанс развития более тяжелой степени РЛПК при проведении АДЛТ.

Таким образом, определены прогностические маркеры для ранней диагностики радиационных повреждений у лиц при ионизирующем облучении на примере пациенток с раком молочной железы: полиморфизм гена *TNF* и маркерные аллели гаплотипа *AH8.1* в лейкоцитах периферической крови молекулярно-генетическим методом двухэтапной аллель-специфической полимеразной цепной реакции. Впервые выявлена гетерогенность реакции носителей аллеля -308*A* гена *TNF* на лучевую терапию, которая проявляется в зависимости от включения или не включения этого аллеля в наследуемый гаплотип *AH8.1* генов комплекса *HLA*. Относительный риск развития более высокой степени местных лучевых поражений при ионизирующем облучении (лучевой терапии) для носителей аллеля *TNF*-308*A* вне гаплотипа *AH8.1* в два раза выше, а при дополнительном носительстве гомозиготы *TNF*-863*CC* в три раза выше,

чем для остальных больных РМЖ. Так, выявление аллеля -308A в гене TNF вне гаплотипа AN8.1 определяет индивидуальную радиочувствительность кожных покровов и является прогностическим маркером повышенного риска развития кожных местных лучевых поражений II–III степени при проведении адьювантной дистанционной лучевой терапии.

Маркер неблагоприятного прогноза при раке молочной железы

Главный комплекс гистосовместимости, или комплекс лейкоцитарных антигенов человека (HLA), представляет собой крайне полиморфную область генома на коротком плече хромосомы 6 (p21.3). Молекулы, экспрессируемые различными классическими генами HLA класса I и класса II, играют решающую роль в регуляции врожденных и адаптивных иммунных реакций, связанных с отторжением трансплантата, патогенезом инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний. Лocus HLA состоит из последовательности тесно связанных генов, реализующихся в различных реакциях, в основном связанных с иммунным ответом. Это одна из самых сложных и разнообразных областей генома с сегментами, известными как консервативные расширенные или наследуемые гаплотипы (Ancestral Haplotypes, ANs) [221, 222]. Наследуемые гаплотипы HLA представляют собой кластеры функциональных генетических элементов, охватывающих значительную протяженность генома, которые контролируют сложные сбалансированные фенотипы и являются наследуемой единицей вследствие ограничения или отсутствия рекомбинации внутри них, т.е. исполняют роль «супергенов» [223]. ANs могут нести аллели генов всех трёх классов комплекса HLA. Например, один из наиболее известных консервативных гаплотипов AN8.1 включает аллели A*0101-C*0701-B*0801-TNF-308A-DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201 и является одним из 5 наиболее часто встречающихся (с частотой 7,5 %) гаплотипов европейской популяции. К другим часто встречающимся гаплотипам европейской популяции относятся AN7.1 (3,0 %), AN44.1 (3 %), AN7.x (1,8 %) и AN44.2 (1,8 %) [125]. Наборы наиболее часто встречающихся гаплотипов в разных этнических популяциях значительно отличаются [225].

Центральная часть ANs представлена одним из двух аллелей гена фактора некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF),

TNF-308(G/A) rs1800629, который расположен в HLA класса III. TNF — это воспалительный цитокин, играющий значительную роль в регуляции иммунного ответа. Альтернативный аллель TNF-308A, ассоциированный с повышенной продукцией цитокина, входит в состав АН8.1. С этим гаплотипом связывают предрасположенность к различным аутоиммунным заболеваниям, причем в их терапии широко используются ингибиторы TNF [226,227].

Полученная к настоящему времени информация о ключевой роли TNF и его рецепторов в инициации, прогрессии и метастазировании большинства онкологических заболеваний, в частности рака молочной железы, говорит о возможности использования двух альтернативных подходов — TNF в качестве терапевтического средства и TNF как мишень терапии. Однако, требуются дальнейшие исследования, которые позволят определить прогностические факторы и наиболее подходящий метод лечения для каждого типа/подтипа злокачественной опухоли персонализированным образом [228].

Ранее нами было сделано предположение, что носительство гаплотипа АН8.1 может способствовать более эффективному лечению и соответственно, более благоприятному прогнозу при раке молочной железы (РМЖ). Было проведено тестирование носителей аллеля TNF-308A по трем маркерным аллелям гаплотипа АН8.1 (HLA-A*01, HLA-B*08 и HLA-DRB1*03) и определены генетические группы больных РМЖ, максимально отличающиеся по уровню общей выживаемости: группа с высокой общей выживаемостью (вОВ) — носители хотя бы одного из маркерных аллелей гаплотипа АН8.1, и группа с низкой общей выживаемостью (нОВ) — в отсутствии трёх маркерных аллелей АН8.1. При этом не рассматривался вопрос, какие аллели или гаплотипы в группе нОВ могут быть ассоциированы с плохим прогнозом для больных РМЖ [187].

Поэтому целью настоящего исследования было определение аллельного профиля генов HLA класса I (HLA-A и HLA-B) и класса II (HLA-DRB1) в группе больных РМЖ с низкой общей выживаемостью и поиск маркеров прогноза РМЖ среди возможных гаплотипов HLA.

На основании данных о полиморфизме TNF-308A/G и трёх маркерных аллелях гаплотипа АН8.1 (HLA-A*01, HLA-B*08 и HLA-DRB1*03), из коллекции геномной ДНК первичных

больных РМЖ I–III стадии, частично описанной ранее [187, 189, 229–231], было отобрано 82 образца ДНК для проведения HLA-типирования: 41 образец от носителей альтернативного аллеля A (гетерозиготы TNF-308AG), из которых 20 — имели также хотя бы один маркерный аллель AN8.1 (TNF-308AG/AN8.1pos, группа BOB) и 21 — не имели маркерных аллелей гаплотипа AN8.1 (TNF-308AG/AN8.1neg, группа BOB). В референсную группу включили 41 образец ДНК от носителей гомозиготы распространенного аллеля G (TNF-308GG). Средний возраст носителей TNF-308AG составил 53,5 года (от 36 до 75 лет), носителей TNF-308GG — 54,2 года (от 33 до 73 лет). Информация о состоянии здоровья с момента проведения операции имелась для 75 больных РМЖ, из них для 67 — информация о состоянии за период не менее 84 месяцев, в течение которых умерло носителей TNF-308AG — 33,3 % (9 из 27), носителей TNF-308GG — 37,5 % (15 из 40).

HLA-типирование проводили методом ПЦР с использованием наборов Low Resolution Kit HLA-A и Low Resolution Kit HLA-B (Olerup SSP, Швеция) с последующим разделением ПЦР-продуктов в 2 % агарозном геле и анализом в программе Helmsberg SCORE™ Version 5. Определение аллелей HLA-DRB1 проводили с применением набора реагентов HLA-ДНК-ТЕХ для типирования гена DRB1 на детектирующем амплификаторе ДТлайт (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). По результатам HLA-типирования частоты аллелей и теоретических гаплотипов определяли с учетом общего числа аллелей и гаплотипов в группах. Сравнение частот аллелей и генотипов, положительных по соответствующим аллелям генов HLA, в группах сравнения проводили с помощью точного двустороннего критерия Фишера. Уровень значимости p , при котором различия считали достоверными, устанавливали в зависимости от числа аллелей. Для оценки прогностической значимости генетических маркеров проводили анализ общей выживаемости (Overall Survival Rate) по Kaplan–Meier и представляли, как Mean % \pm SEM %. Медиану общей выживаемости представляли в месяцах. Для сравнения общей выживаемости в группах больных РМЖ использовали Logrank Test и оценку отношения рисков (Hazard Ratios) — HR [95 % CI].

Анализ общей выживаемости для трёх исследованных групп сравнения больных РМЖ представлен на рис. 23. 7-летняя ОВ

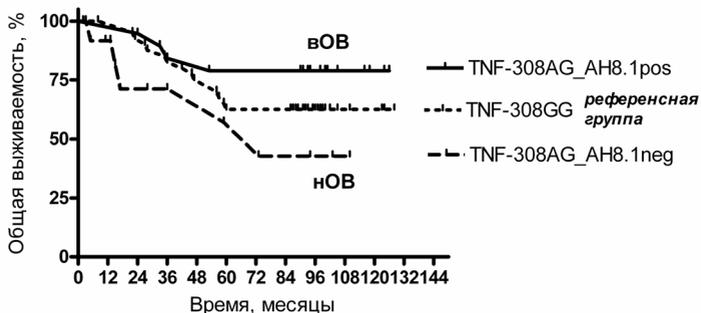


Рис. 23. Кривые общей выживаемости больных РМЖ в группах сравнения (по Kaplan–Meier)

(84 месяца) составила $78,9 \pm 9,4 \%$ для группы vOB (TNF-308AG AH8.1pos), $42,8 \pm 17,8 \%$ для группы nOB (TNF-308AG AH8.1neg), $62,5 \pm 7,7 \%$ для референсной группы (TNF-308GG). Статистически значимых отличий в 7-летней ОВ между группами vOB и nOB для этой выборки не было достигнуто ($p_{LT}=0,059$).

Результаты генотипирования HLA-A, HLA-B и HLA-DRB1 в группах сравнения представлены на рис. 24. Распределение частот аллелей в двух группах носителей генотипа TNF-308AG (nOB и vOB) в целом соответствовало распределению частот аллелей в референсной группе TNF-308GG. Исключение ожидаемо составили маркерные аллели гаплотипа AH8.1 (HLA-A*01, HLA-B*08 и HLA-DRB1*03), которые не встречались в группе с nOB (как принцип разделения носителей аллеля TNF-308A на группы nOB и vOB), и достоверно реже встречались в референсной группе TNF-308GG. При этом в группе nOB достоверно чаще встречался аллель HLA-A*02 (45,2 % по сравнению с 12,5 % в группе vOB, $pF=0,0015$) и HLA-B*44 (42,9 % по сравнению с 6,1 % в референсной группе $pF=0,0000016$).

В группах сравнения были сформированы теоретические двух- и трёхлокусные гаплотипы *HLA A/B, B/DRB1* и *A/B/DRB1*. С частотой более 10 % встречались следующие двухлокусные гаплотипы: A*01/B*08 и B*08/DRB1*03 в группе vOB, и A*02/B*44, A*03/B*44 в группе nOB. Среди трёхлокусных

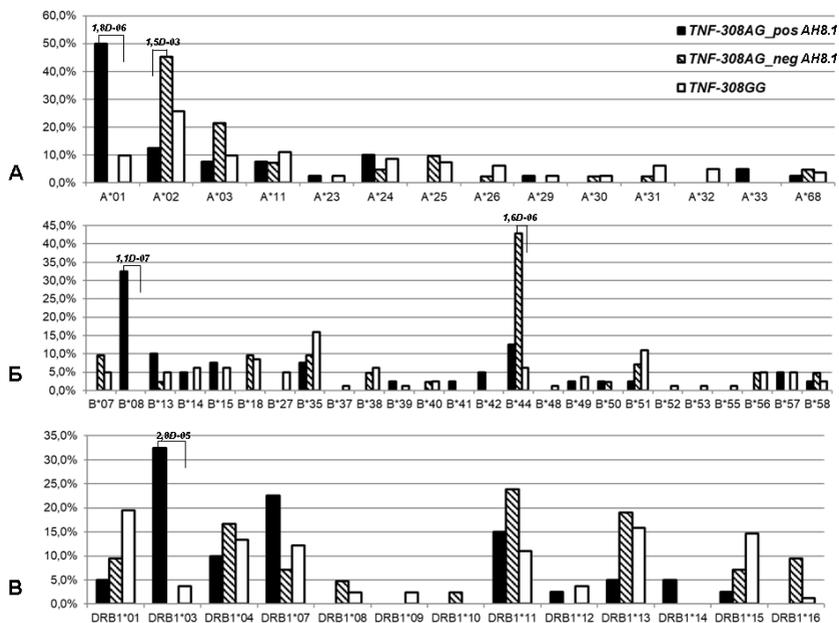


Рис. 24. Распределение частот аллелей генов *HLA-A* (А), *HLA-B* (Б) и *HLA-DRB1* (В) в группах сравнения

гаплотипов с частотой более 5 % были обнаружены два гаплотипа, *A*01/B*08/DRB1*03* и *A*02/B*44/DRB1*13*, в группе *ВОВ* и в группе *НОВ* соответственно (табл. 13).

На основании наиболее часто встречающихся двух- и трёхкусных гаплотипов в группах сравнения были определены большие РМЖ с генотипами, положительными по соответствующим аллелям генов *HLA* (табл. 14).

Носители *A*01+B*08+*, *B*08+DRB1*03+* и *A*01+B*08+DRB1*03+* встречались только в группе *ВОВ*, что соответствует принципу разделения на группы сравнения. Среди больных РМЖ в группе *НОВ* наиболее часто обнаруживались носители *A*02+B*44+* и *A*03+B*44+* (47,6 % и 38,1 % случаев соответственно) и *A*02+B*44+DRB1*13+* (с частотой 19,0 %) (таб.14). Для этих вариантов были построены кривые общей выживаемости больных РМЖ (рис. 25). Сравнение проводили между группой носителей *TNF-308AG* положительной по аллелям

Таблица 13.

Число обнаруженных двух- и трёхлокусных теоретических гаплотипов *HLA A/B, B/DRB1* и *A/B/DRB1* в группах сравнения

Частота теоретического гаплотипа	<i>TNF-308AG</i>		<i>TNF-308GG</i> (референсная группа)
	<i>AH8.1pos</i> (<i>еОВ</i>)	<i>AH8.1neg</i> (<i>нОВ</i>)	
HLA-A/B	n¹=40	n=35	n=91
≥10 %	n=1 (A*01/B*08)	n=2 (A*02/B*44; A*03/B*44)	n=0
]10 %; 5 %]	n=3 (A*01/B*35; A*01/B*42; A*01/B*44)	n=1 (A*02/B*51)	n=1 (A*03/B*35)
]5 %; 1 %]	n=36	n=32	n=34
<1 %	n=0	n=0	n=56
HLA-B/DRB1	N=44	N=41	N=89
≥10 %	n=1 (B*08/DRB1*03)	n=0	n=0
]10 %; 5 %]	n=3 (B*08/DRB1*07; B*08/DRB1*11; B*13/DRB1*07)	n=3 (B*44/DRB1*04; B*44/DRB1*11; B*44/DRB1*13)	n=1 (B*35/ DRB1*01)
]5 %; 1 %]	n=40	n=38	n=34
<1 %	n=0	n=0	n=54
HLA-A/B/DRB1	N=101	N=95	N=203
≥10 %	n=0	n=0	n=0
]10 %; 5 %]	n=1 (A*01/B*08/ DRB1*03)	n=1 (A*02/B*44/ DRB1*13)	n=0
]5 %; 1 %]	n=28	n=41	n=13
<1 %	n=72	n=53	n=190

Примечание. ¹N — обнаружено теоретических гаплотипов в группе

соответствующего гаплотипа (из соответствующей группы вОВ или нОВ) и отрицательной по аллелям соответствующего гаплотипа (другие носители *TNF-308AG*, включая случаи из групп и вОВ и нОВ) и референсной группой носителей *TNF-308GG*. Достоверные отличия при сравнении кривых выживаемости были обнаружены для носителей *A*02+B*44+* ($pLT=0,0005$) (рис. 25Г) и *A*02+B*44+DRB1*13+* ($pLT<0,0001$) (рис. 25Е). Только для этих

Таблица 14.

Число больных РМЖ с генотипами, положительными по аллелям, соответствующим наиболее частым двух- и трёхлокусным теоретическим гаплотипам *HLA*, в группах сравнения

Аллели генов <i>HLA</i> в генотипе больных РМЖ	<i>TNF-308AG</i>		<i>AG AN8.Iprovs AN8.Ineg</i>		<i>TNF-308GG (референсная группа)</i>		<i>GG vs AG AN8.Iprovs</i>		<i>GG vs AG AN8.Ineg</i>	
	<i>AN8.Iprovs (сOB)</i>	<i>AN8.Ineg (пOB)</i>	<i>pF</i>	<i>pF</i>	<i>%</i>	<i>%</i>	<i>pF</i>	<i>pF</i>	<i>%</i>	<i>%</i>
	20	21	<i>%</i>	<i>%</i>	41	<i>%</i>	<i>pF</i>	<i>pF</i>	<i>%</i>	<i>pF</i>
Всего п (%) генотипов	20	21	<i>%</i>	<i>%</i>	41	<i>%</i>	<i>pF</i>	<i>pF</i>	<i>%</i>	<i>pF</i>
A*01+B*08+	11	0	55,0 %	0,0 %	5,0D-05	0,0 %	4,0D-07	4,0D-07	0,0 %	I
A*01+B*35+	3	0	15,0 %	0,0 %	0,11	0,0 %	0,67	0,67	9,8 %	0,29
A*01+B*42+	1	0	5,0 %	0,0 %	0,49	0,0 %	0,33	0,33	0,0 %	I
A*01+B*44+	4	0	20,0 %	0,0 %	0,048	0,0 %	0,036	0,036	2,4 %	I
A*02+B*44+	1	10	5,0 %	47,6 %	0,0036	1	0,55	0,55	2,4 %	2,9D-05
A*02+B*51+	0	3	0,0 %	14,3 %	0,23	3	0,54	0,54	7,3 %	0,32
A*03+B*35+	0	2	0,0 %	9,5 %	0,49	6	0,16	0,16	14,6 %	0,71
A*03+B*44+	0	8	0,0 %	38,1 %	0,0035	0	I	I	0,0 %	6,02D-05
B*08+DRB1*03+	10	0	50,0 %	0,0 %	1,6D-04	0	2,05D-06	2,05D-06	0,0 %	I
B*08+DRB1*07+	5	0	25,0 %	0,0 %	0,021	0	0,0026	0,0026	0,0 %	I
B*08+DRB1*11+	4	0	20,0 %	0,0 %	0,048	0	0,0093	0,0093	0,0 %	I
B*13+DRB1*07+	4	1	20,0 %	4,8 %	0,18	2	0,084	0,084	4,9 %	0,72
B*44+DRB1*04+	0	5	0,0 %	23,8 %	0,059	3	0,54	0,54	7,3 %	0,079
B*44+DRB1*11+	1	5	5,0 %	28,6 %	0,093	0	0,33	0,33	0,0 %	0,0031
B*44+DRB1*13+	0	5	0,0 %	28,6 %	0,021	0	I	I	0,0 %	0,0031
B*35+DRB1*01+	0	2	0,0 %	9,5 %	0,49	9	0,024	0,024	22,0 %	0,31
A*01+B*08+DRB1*03+	9	0	45,0 %	0,0 %	4,8D-04	0	9,7D-06	9,7D-06	0,0 %	I
A*02+B*44+DRB1*13+	0	4	0,0 %	19,0 %	0,11	0	I	I	0,0 %	0,011

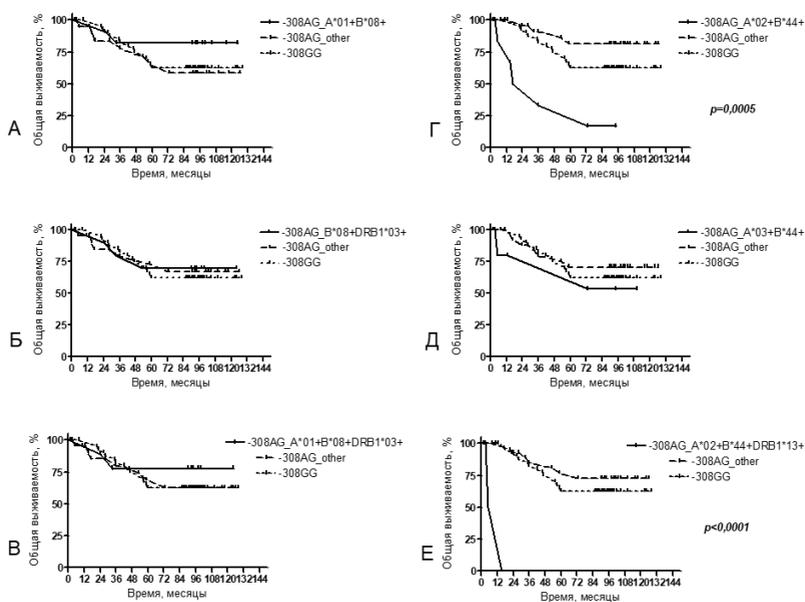


Рис. 25. Кривые общей выживаемости больных РМЖ носителей *TNF-308AG*, положительных и отрицательных по аллелям наиболее частых двух- и трёхлуксных гаплотипов, и референсной группы носителей *TNF-308GG* (по Kaplan–Meier)

двух групп была достигнута медиана общей выживаемости — 26,5 и 10 месяцев соответственно.

Таким образом, для носителей альтернативного аллеля *TNF-308A* были выделены 3 генетические подгруппы (рис. 26). Носители *A*02+B*44+* имели существенно более низкую 7-летнюю ОВ (16,7 %±15,2 %), как по сравнению с носителями *A*01+B*08+* (7-летняя ОВ 81,8 %±11,6 %), так и остальными носителями *TNF-308AG* (7-летняя ОВ 80,0 %±12,6 %) (*p*_{LT}=0,0009). При объединении двух последних групп, статистический анализ показал, что генотип *A*02+B*44+* оказывает существенное негативное влияние на общую выживаемость больных РМЖ, носителей -308AG (*HR*=8,19 [5,94; 285,8]; *p*_{LT}=0,0002). При сравнении с референсной группой *TNF-308GG* (7-летняя ОВ 62,5 %± 7,7 %) для носителей альтернативного аллеля -308A достоверный негативный эффект имел только генотип *A*02+B*44+* (*HR*=4,06

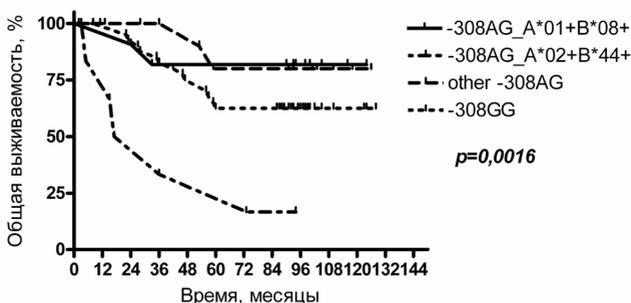


Рис. 26. Кривые общей выживаемости больных РМЖ в выделенных генетических группах (по Kaplan–Meier)

[2,33; 65,14]; $pLT=0,0031$), тогда как для носителей $A*01+B*08+$ и остальных носителей $-308AG$ суммарно было выявлено протективное, однако, статистически незначимое влияние этих генотипов на общую выживаемость больных РМЖ ($HR=0,46$ [0,17; 1,69], $pLT=0,29$, и $HR=0,42$ [0,17; 1,55], $pLT=0,23$ соответственно).

Рак молочной железы является наиболее частой онкологической патологией среди женского населения России (22,5 % в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями), при этом прирост заболеваемости РМЖ за последнее десятилетие составил 22,94 % [232]. РМЖ — это многофакторное и гетерогенное онкологическое заболевание. Классическое стадирование и определение молекулярных подтипов РМЖ, выявление герминальных (наследуемых) мутаций, соматических мутаций в опухолевых клетках, направленные на выбор стратегии лечения и прогнозирование течения заболевания, привело к значительному улучшению результатов лечения, однако, поиск новых прогностических маркеров остается актуальной задачей медицинской науки.

Про-воспалительный цитокин TNF участвует в патогенезе широкого спектра онкологических заболеваний, а однонуклеотидные замены в гене *TNF*, из которых наиболее известен полиморфизм *TNF-308(G/A)*, широко изучаются как факторы предрасположенности, в том числе к заболеванию РМЖ [233–

235]. В то же время, литература относительно прогностических возможностей полиморфизма *TNF-308(G/A)* при РМЖ довольно ограничена, исследованные кагорты различаются по этническим и клиническим параметрам, а представленные результаты исследований — противоречивы [234–238].

Преыдущее исследование, проведенное на российской выборке 442 первичных больных РМЖ и 327 женщин без онкологических и аутоиммунных заболеваний [239], не выявило влияния полиморфизма *TNF-308(G/A)* на предрасположенность к заболеванию РМЖ, при этом показало, что больные РМЖ носители маркерных аллелей гаплотипа АН8.1 имеют преимущество в общей выживаемости (проиллюстрировано рис. 23). Результаты, полученные в настоящем исследовании, дают основание уточнить и иным образом интерпретировать ассоциацию полиморфизма *TNF-308(G/A)* с прогнозом РМЖ за счет снижения общей выживаемости носителей *A*02+B*44+TNF-308A+* (рис. 26).

Ранее рядом авторов было выявлено влияние аллелей *HLA-A*02* и *HLA-B*44* (но не двухлокусного генотипа *A*02+B*44+*) на прогноз некоторых онкологических заболеваний. Так, при эпителиальном раке яичников была описана ассоциация *HLA-A*02* с потерей экспрессии гена в опухолевых тканях больных III–IV стадии, что является механизмом ухода от иммунологического надзора (immunological escape). Однако, в многофакторном анализе было показано, что негативное влияние на общую выживаемость обусловлено генетическим кодом аллеля *HLA-A*02*, но не экспрессией его белковых продуктов [240]. При первичном метастатическом раке предстательной железы наличие аллеля *HLA-A*02:01* было достоверно и независимо связано с неблагоприятным клиническим исходом [241]. При остром миелоидном лейкозе было показано, что аллель *HLA-B*44* ассоциирован с низкой безрецидивной и общей выживаемостью. Поскольку аллели *HLA-B*44* содержат мотив Ww4-80T с низким сродством к KIR3DL1, NK-клетки KIR3DL1+ с таким вариантом Ww4 демонстрировали более низкую реакцию дегрануляции и высвобождения цитокинов в ответ на лейкозные клетки, что могло способствовать более низкой выживаемости после иммунотерапии острого миелоидного лейкоза [242]. С другой стороны, с более низкой безрецидивной выживаемостью у пациентов с аденокарциномой поджелудочной железы коррелировал

генотип *HLA-A02+B62+B44-*, который ассоциировался с более низкой экспрессией гена *HLA-A* и меньшей воспалительной инфильтрацией Т-клетками [144]. Подобных сообщений о влиянии аллелей *HLA-A*02* и *HLA-B*44* на выживаемость больных РМЖ мы не обнаружили. Ряд работ описывает ассоциации таких аллельных вариантов, как *HLA-A*01*, *HLA-B*07*, *HLA-DRB1*07:01*, *KIR3DL2/HLA-A*03* или *A*11*, с клиническими факторами прогноза РМЖ [145,146,147,148]. Таким образом, полученные нами результаты находятся в соответствии с литературными данными о влиянии аллелей *HLA-A*02* и *HLA-B*44* на выживаемость онкологических больных со злокачественными новообразованиями других локализаций и не имеют аналогов относительно РМЖ.

В настоящее время гаплотипы, а не отдельные гены, рассматриваются как основная единица наследования полигенных признаков [248]. Однако, тотальное HLA-типирование довольно дорогостоящая процедура применительно к скринингу РМЖ, а определение реального гаплотипа — это отдельная задача популяционной генетики. Для определения расширенных гаплотипов используются методы высокопроизводительного секвенирования, типирование нескольких десятков генов комплекса HLA, типирование гомозиготных культур клеток [248].

Теоретический аспект изучения расширенных гаплотипов *HLA* во многом относится к гаплотипу *AH8.1*, в состав которого стабильно входят 4 маркерных аллеля (включая *TNF-308A*), которые использовались в данной работе. В свою очередь, сочетание аллелей *HLA-A*02* и *HLA-B*44* представлено в европейских (британских) гаплотипах *A*0201/B*4402/DRB1*0401* (АН В44.1), *A*020101/B*440201/DRB1*110101*(АН В44.х), *A*020101/B*440201/DRB1*145401* (АН В44.х) [150]. При изучении российской популяции (русские Челябинской области) наиболее часто обнаруживался гаплотип *A*01/B*08/DRB1*03* — в 4,292 % случаев (первое место), а частота встречаемости трёхлокусных гаплотипов *A*02/B*44/DRB1*04* составила 0,981 %, *A*02/B*44/DRB1*16* — 0,857 %, *A*02/B*44/DRB1*13* — 0,751 % (двадцать второе место по распространенности гаплотипа в популяции) [250].

В представленной работе [251], ориентированной на выявление генетических маркеров нОВ больных РМЖ, удалось вы-

делить прогностически неблагоприятную группу носителей генотипа *HLA-A*02+HLA-B*44+HLA-DRB1*13+*, который встречался только в группе нОВ (таб.14). Однако, малое число таких случаев, не позволяет окончательно интерпретировать данные, полученные относительно такого генетического маркера, и требует подтверждения в расширенном исследовании.

В практическом приложении, на настоящий момент, изучение клинических характеристик и особенностей течения заболевания РМЖ у носителей генотипа *HLA-A*02+HLA-B*44+TNF-308A+* в дальнейшем поможет скорректировать тактику лечения, возможно, с учетом особенностей реакций иммунной системы и уровня продукции цитокина TNF у этих больных [153].

Таким образом, в группе нОВ носителей аллеля *TNF-308A* больных РМЖ аллельный профиль генов комплекса лейкоцитарных антигенов человека достоверно отличался высокой частотой аллелей *HLA-A*02* и *HLA-B*44*. Генотип, положительный по соответствующим аллелям *HLA-A*02+HLA-B*44+TNF-308A+*, был определен как маркер неблагоприятного прогноза при РМЖ. Подтверждение негативного влияния генотипа *A*02+B*44+DRB1*13+TNF-308A+* на общую выживаемость больных РМЖ необходимо для сужения группы прогностически неблагоприятных генетических вариантов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ионизирующее излучение может вызывать повреждение ДНК и клеток, приводящее к повреждению тканей. Клетки иммунной системы могут восстанавливать большую часть повреждений; однако процесс восстановления может быть неполным и приводить к дополнительному повреждению тканей, вызывая гибель клеток, воспаление, повреждение органов или рак. Иммунная система играет центральную роль в защите организма от различных патогенов и удалении некротических клеток, а также способствует заживлению ран и восстановлению тканей. Радиационно-индуцированное повреждение приводит к прогрессирующей воспалительной реакции, которая может вызывать дальнейшее повреждение, поскольку организм реагирует на стресс и восстанавливает поврежденные ткани [253,254]. Такой дисбаланс иммунной системы нарушает гомеостаз организма и приводит к острой и долгосрочной дисрегуляции с нарушением восстановления. Воспаление, вызванное повреждением тканей, также может привести к дополнительному локальному или распространенному повреждению тканей. Иммунная система отвечает за восстановление и регенерацию тканей. При потере иммунных клеток ослабевают сигналы к регенерирующим стволовым клеткам, что приводит к ухудшению восстановления. Восстановление зависит от способности предшественников восстанавливать пролиферацию клеток и микроокружение, способствующее межклеточному взаимодействию и состоянию сосудистой системы. После облучения происходит быстрое истощение лимфоцитов, а восстановление лимфоцитов характеризуется экспансией В-клеток. Воспаление в поврежденных тканях после облучения прогрессирует на фоне снижения количества иммунных клеток.

После облучения происходит резкое увеличение высвобождения цитокинов, включая провоспалительные. Повреждение тканей дополнительно вызывает высвобождение активных форм кислорода (АФК), взаимодействие которых с эндотелиальными клетками приводит к дальнейшему высвобождению АФК этими клетками, за которым следует каскадный эффект «свидетелей». Этот механизм предполагает, что если эндотелиальные клетки можно защитить от АФК, дальнейшее повреждение может быть ослаблено.

Стволовые клетки (СК) уникальны тем, что они самообновляются и являются единственными клетками, которые поддерживаются своими дочерними клетками. Многие клетки в организме защищают себя от запрограммированного удаления клеток, опосредованного макрофагами, за счет экспрессии CD47.

Острая воспалительная реакция со временем переходит в противовоспалительную фазу, где провоспалительные, прооксидантные медиаторы, такие как NO или SO₂ удаляются макрофагами типа M2, которые продуцируют противовоспалительные цитокины, приводящие к разрешению поражения. Одним из факторов, приводящих к хроническому воспалению, могут быть микроядра или другие неразрешенные повреждения ДНК, которые активируют иммунный ответ.

Врачи радиологи-онкологи используют радиационное повреждение для активации иммунной системы и стимуляции противоопухолевого иммунитета, хотя иммунный ответ может привести к фиброзу. Оценка облученных циркулирующих клеток крови выявила частое смещение миелоидного состава, характеризующееся увеличением количества моноцитов и уменьшением количества лимфоцитов и тромбоцитов, а также высвобождением воспалительных цитокинов. После облучения увеличилось количество Treg-клеток и CD4 + клеток, а количество CD8 + клеток уменьшилось, наблюдалось значительное увеличение провоспалительного цитокина IL6.

Воздействие ионизирующего излучения приводит к иммунологическому старению. У переживших атомную бомбардировку наблюдались аналогичные изменения, включая фенотип старения Т-клеток с уменьшением популяции наивных клеток, увеличением количества клеток памяти, клональной абберацией и миелоидным уклоном [252, 253]. Подобно изменениям после облучения, старение связано со снижением наивных Т-клеток, способности к развитию антительного ответа (особенно на новые антигены), функционального снижения врожденных иммунных клеток, фагоцитоза и презентации антигенов, отмечается смещение Т-клеток в сторону дифференцированных эффекторных клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины, провоспалительная среда, миелоидная дифференцировка, повышенная частота микроядер.

В представленной монографии при проведении лучевой терапии после операции без предварительной ПХТ пациенты с РМЖ со специфическими гистологическими типами рака (с дольковым

типом), с повышенным ИИ>2,5 должны наблюдаться при проведении курса лучевой терапии и им могут быть дополнительно рекомендованы специальные средства для ухода за кожей [25, 187, 189].

Подбор индивидуальной схемы лучевой терапии для пациентов, больных онкологическими заболеваниями, в частности, женщин с РМЖ остается открытым. Коррекция доз и интенсивности радиационного облучения на основании оценки индивидуальной радиочувствительности могла бы позволить существенно снизить нагрузку на здоровые ткани, окружающие очаг поражения, а также степень выраженности лучевых реакций в отсроченной перспективе.

По результатам исследования и данным литературы, у пациентов, получающих адъювантную лучевую терапию с раком молочной железы носителей прогностически неблагоприятного генотипа -308A(AN8.1neg) выявлены особенности системного ответа на АДЛТ — высокая концентрация sTNF и положительная корреляция с содержанием лейкоцитов (вероятно, за счет нейтрофилов) и тромбоцитов, поэтому носители -308A(AN8.1neg) — могут рассматриваться как мишени индивидуализированной терапии с применением анти-TNF и анти-тромботических препаратов [187, 189, 218].

Предрасположенность к повышенной продукции цитокина TNF в выявленной нами группе носителей аллеля -308A гена TNF вне гаплотипа AN8.1 может быть биологической основой повышенного риска как ранних, так и поздних осложнений АДЛТ, наряду с другими факторами, неблагоприятно влияющими на общую выживаемость больных РМЖ. Ранее, на независимой выборке из 278 российских больных РМЖ, именно для этой генетической группы было показано существенное снижение 10-летней общей выживаемости [216].

Впервые выявлена гетерогенность реакции носителей аллеля -308A гена TNF на лучевую терапию, которая проявляется в зависимости от включения или не включения этого аллеля в наследуемый гаплотип AN8.1 генов комплекса HLA. Относительный риск развития II–III степени тяжести РЛПК при лучевой терапии для носителей аллеля TNF-308A вне гаплотипа AN8.1 в 2 раза выше, а при дополнительном носительстве гомозиготы TNF-863CC в 3 раза выше, чем для остальных пациентов РМЖ. Выявление аллеля -308A в гене TNF вне гаплотипа AN8.1 определяет индивидуальную радиочувствительность кожных покровов и является

прогностическим маркером повышенного риска развития кожных поражений II–III степени при проведении адьювантной дистанционной лучевой терапии [229, 230].

Поэтому, необходимо индивидуализировать и наблюдение за группой пациентов, которая нами идентифицирована как радиочувствительная. Необходимо превентивное использование препаратов, направленных на снижение местной воспалительной реакции для снижения развития II–III степени тяжести РЛПК у пациентов РМЖ.

Выявление генетических маркеров низкой общей выживаемостью пациентов РМЖ, удалось выделить прогностически неблагоприятную группу носителей генотипа HLA-A*02+HLA-B*44+HLA-DRB1*13+, который встречался только в группе высокой общей выживаемостью. Однако, небольшое число таких случаев, не позволяет окончательно интерпретировать данные и требует подтверждения в расширенном исследовании [251].

Изучение клинических характеристик и особенностей течения заболевания РМЖ у носителей генотипа HLA-A*02+HLA-B*44+TNF-308A+ в дальнейшем поможет скорректировать тактику лечения, возможно, с учетом особенностей реакций иммунной системы и уровня продукции цитокина TNF [251].

В группе пациентов РМЖ низкой общей выживаемостью носителей аллеля TNF-308A аллельный профиль генов комплекса лейкоцитарных антигенов человека достоверно отличался высокой частотой аллелей HLA-A*02 и HLA-B*44. Генотип, положительный по соответствующим аллелям HLA-A*02+HLA-B*44+TNF-308A+, определен как маркер неблагоприятного прогноза заболевания РМЖ. Подтверждение негативного влияния генотипа A*02+B*44+DRB1*13+TNF-308A+ на общую выживаемость пациентов РМЖ необходимо для сужения группы прогностически неблагоприятных генетических вариантов [251].

Таким образом, происходит постоянное накопление научных знаний о влиянии ионизирующего облучения на молекулярном, клеточном, тканевом уровнях, а также на уровне всего организма. На сегодняшний день, невозможно обойтись без молекулярных и клеточных исследований, в результате которых изучаются механизмы действия радиационного облучения, а также на уровне всего организма, что указывает на сложность механизмов воздействия ионизирующего излучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ильин, Л.А. Ближайшие медицинские последствия радиационных инцидентов на территории бывшего СССР / Л.А. Ильин, В.Ю. Соловьев // Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2004. — Т. 49, № 6. — С. 37-48.
2. Тарханов, И.Р. Опыты над действием рентгеновских лучей на животный организм / И.Р. Тарханов // Избранные Сочинения / И.Р. Тархнишвили. — Тбилиси: Сабчота Сакартвело, 1961. — С. 324-331.
3. Капустинская, К.А. Анри Беккерель / К.А. Капустинская. — М.: Атомиздат, 1965. — С. 59-60.
4. Баюров, Л.И. Радиобиология: учебное пособие / Л.И. Баюров. — Краснодар: КубГАУ, 2008. — 331 с.
5. Sources and effects of ionizing radiation: UNSCEAR 2008, Report to the General assembly with scientific annexes. — Vienna: United Nations, 2011. — 220 p.
6. Основы радиобиологии и радиационной медицины: учебное пособие / А.Н. Гребенюк, О.Ю. Стрелова, В.И. Легеза, Е.Н. Степанова. — СПб.: Изд-во ФОЛИАНТ, 2012. — 232 с.
7. Радиобиология: учебник / Н.П. Лысенко, В.В. Пак, Л.В. Рогожина, З.Г. Кусурова; под ред. Н.П. Лысенко и В.В. Пака. — СПб.: Изд-во Лань, 2017. — 4-е изд., стер. — 572 с.
8. Храменкова, О.М. Основы радиобиологии: учебное пособие для студентов биологических специальностей высших учебных заведений / О.М. Храменкова. — Гомель: УО «ГГУ им. Ф. Скорины», 2003. — 238 с.
9. Кожа: (Строение, функция, общая патология и терапия) / А.М. Чернух, И.Н. Михайлов, Е.В. Виноградов и др.; под ред. А.М. Чернуха, Е.П. Фролова. — М.: Медицина, 1982. — 336 с.
10. Localized Synchrotron Irradiation of Mouse Skin Induces Persistent Systemic Genotoxic and Immune Responses / J. Ventura, P.N. Lobachevsky, J.S. Palazzolo et al. // American Association for Cancer Research. — 2017. — V. 77 (22). — P. 6389-6399. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1066.
11. Надежина, Н.М. Лечение местных лучевых поражений / Н.М. Надежина, И.А. Галстян; под ред. проф. К.В. Котенко и проф. А.Ю. Бушманова. — М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, 2013. — 99 с.
12. Отчет МКРЗ по тканевым реакциям, ранним и отдаленным эффектам в нормальных тканях и органах — пороговые дозы для тканевых реакций в контексте радиационной защиты / Ф.А. Стюарт, А.В. Аклеев, М. Хауэр-Дженсен и др. // Публикация 118 МКРЗ. — Челябинск, 2012. — С. 101-109.
13. Давыдовская, Т.И. Динамика морфологических изменений кожи и подлежащих тканей при тяжелых местных поражениях от внешнего гамма-излучения / Т.И. Давыдовская, Т.Г. Протасова, А.В. Барабанова // Бюллетень радиационной медицины. — 1988. - № 3. — С. 26-30.

14. Бардычев, М.С. Местные лучевые поражения / М.С. Бардычев // Медицинская радиология. — 1987. — № 9. — С. 85-89.
15. Withers, H.R. The dose-survival relationship for irradiation of epithelial cells of mouse skin / H.R. Withers // Brit. J. Radiology. — 1967. — V. 40. — P. 187-194.
16. Барабанова, А.В. Местные лучевые поражения / А.В. Барабанова // Радиационные поражения человека / под ред. А.Ю. Бушманова, В.Д. Ревы. — М.: Слово, 2007. — 121-136 с.
17. Paul, G. The adult human brain harbors multipotent perivascular mesenchymal stem cells. / Paul, G.; Ozen, I.; Christophersen, N.S.; Reinbothe, T.; Bengzon, J.; Visse, E.; Jansson, K.; Dannaeus, K.; Henriques-Oliveira, C.; Roybon, L.; et al. // PLoS One.- 2012.- V.7.- P. e35577.
18. Dominici, M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. / Dominici, M.; Le Blanc, K.; Mueller, I.; Slaper-Cortenbach, I.; Marini, F.; Krause, D.; Deans, R.; Keating, A.; Prockop, D.; Horwitz, E. // The International Society for Cellular Therapy position statement. — Cytotherapy. — 2006. - V. 8. — P. 315–317.
19. Crisan, M. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. / Crisan, M.; Yap, S.; Casteilla, L.; Chen, C.W.; Corselli, M.; Park, T.S.; Andriolo, G.; Sun, B.; Zheng, B.; Zhang, L.; et al. // Cell Stem Cell. — 2008. - V. 3. — P. 301–313.
20. Zhuoqun Fang, Will mesenchymal stem cells be future directions for treating radiation-induced skin injury? / Zhuoqun Fang, Penghong Chen, Shijie Tang, Aizhen Chen, Chaoyu Zhang, Guohao Peng, Ming L , Xiaosong Chen // Stem Cell Res Ther. — 2021. -V. 12(1). — P.179. doi: 10.1186/s13287-021-02261-5.
21. Диагностика, лечение местных лучевых поражений и их отдаленных последствий: федеральные клинические рекомендации. — М.: ФМБА России, 2015. — 62 с.
22. Местные лучевые поражения // Радиационная медицина / под ред. Л.А. Ильина. — М.: ИздАТ, 2001. — Т. 2. — С. 161-202.
23. The acute effects of different energy beta-emitters on pig and mouse skin / J.W. Hopewell, J.E. Coggle, J. Wells et al. // Brit. J. Radiology. — 1986. — Suppl. 19. — P. 47-51/
24. Hopewell, J.W. The skin: Its structure and response to ionizing radiation / J.W. Hopewell. // Int. J. Radiat. Biol. — 1990. — V. 57. — P. 751-773.
25. Kobzeva, I.; Astrelina, T.; Suchkova, Y.; Malivanova, T.; Usupzhanova, D.; Brunchukov, V.; Rastorgueva, A.; Nikitina, V.; Lubaeva, E.; Sukhova, M.; et al. Effect of Radiation Therapy on Composition of Lymphocyte Populations in Patients with Primary Breast Cancer. J. Pers. Med. 2023, 13, 1399. <https://doi.org/10.3390/jpm13091399>
26. Отчет МКРЗ по тканевым реакциям, ранним и отдаленным эффектам в нормальных тканях и органах — пороговые дозы для тканевых реакций в контексте радиационной защиты / Ф.А. Стюарт, А.В. Аклеев, М. Хазуэр-Дженсен и др. // Публикация 118 МКРЗ. — Челябинск, 2012. — С. 101-109.
27. Withers, H.R. The dose-survival relationship for irradiation of epithelial cells of mouse skin / H.R. Withers // Brit. J. Radiology. — 1967. — V. 40. — P. 187-194.

28. Африканова, Л.А. Острая лучевая травма кожи / Л.А. Африканова. - М.: Медицина, 1975. — 192 с.
29. Давыдовская, Т.И. Динамика морфологических изменений кожи и подлежащих тканей при тяжелых местных поражениях от внешнего гамма-излучения / Т.И. Давыдовская, Т.Г. Протасова, А.В. Барабанова // Бюллетень радиационной медицины. — 1988. - № 3. — С. 26-30.
30. Петушков, В.Н. Местная лучевая травма / В.Н. Петушков // Радиационная медицина / под ред. П.Д. Горизонтова. — М.: Медицина, 1968. — 363 с.
31. Барабанова, А.В. Местные лучевые поражения / А.В. Барабанова // Радиационные поражения человека / под ред. А.Ю. Бушманова, В.Д. Ревы. — М.: Слово, 2007. — 121-136 с.
32. Бардычев, М.С. Местные лучевые поражения / М.С. Бардычев // Медицинская радиология. — 1987. — № 9. — С. 85-89.
33. Вечканов, Е.М. Основы радиационной биофизики: учебное пособие / Е.М. Вечканов, В.В. Внуков. — Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ, 2009. — 50 с.
34. International Atomic Energy Agency. Medical Management of Radiation Injuries, Safety Reports. In: IAEA (ed). Series No 101. Vienna, Austria, 2020.
35. Fliedner TM. Medical management of radiation accidents-manual on the acute radiation syndrome. London: British Institute of Radiology, 2001.
36. Carol J Iddins, Andrea L DiCarlo, Mark D Ervin, Eduardo Herrera-Reyes, Ronald E Goans4 Cutaneous and local radiation injuries. J Radiol Prot. 2022 Jan 12;42(1):10.1088/1361-6498/ac241a. doi: 10.1088/1361-6498/ac241a.
37. Benderitter M, Gourmelon P, Bey E et al. New emerging concepts in the medical management of local radiation injury Health Phys 2010;98:851–857. 10.1097/HP.0b013e3181c9f79a.
38. Попова Н.Р., Сорокина С.С. Радиационный дерматит: современные подходы к лечению. Радиация и риск. 2024. Том 33. № 3 стр. 80-97. DOI: 10.21870/0131-3878-2024-33-3-80-97.
39. Maddocks-Jennings W., Wilkinson J.M., Shillington D. Novel approaches to radiotherapy-induced skin reactions: a literature review //Complement. Ther. Clin. Pract. 2005. V. 11, N 4. P. 224-231.
40. Salvo N., Barnes E., van Draanen J., Stacey E., Mitera G., Breen D., Giotis A., Czarnota G., Pang J., De Angelis C. Prophylaxis and management of acute radiation-induced skin reactions: a systematic review of the literature //Curr. Oncol. 2010. V. 17, N 4. P. 94-112.
41. Ryan J.L. Ionizing radiation: the good, the bad, and the ugly //J. Invest. Dermatol. 2012. V. 132 (3 Pt 2). P. 985-993.
42. Majeed H, Gupta V. Adverse Effects Of Radiation Therapy. StatPearls. Published online 2022. Accessed March 28, 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33085406>.
43. Bryant AK, Banegas MP, Martinez ME, Mell LK, Murphy JD. Trends in Radiation Therapy among Cancer Survivors in the United States, 2000-2030. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 2017;26(6):963-970. doi:10.1158/1055-9965.EPI-16-1023
44. 44 Астрелина, Т.А. Применение клеточных технологий для лечения местных лучевых поражений.: Монография / Астрелина Т.А., Самойлов

- А.С. // - Москва: «ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России». - 2021. — 130с. - ISBN 978-5-6046269-1-7.
45. Diana Burgueno-Vega, Dilip Shahani, Walter Conlan, Melodie Blakely Use of an Autologous Heterogenous Skin Construct in the Treatment of Intractable Late-Effect Radiation Wounds: Case Series. *Eplasty*. 2023 Jun 14;23: e34. eCollection 2023.
 46. Yang X, Ren H, Guo X, Hu C, Fu J. Radiation-induced skin injury: pathogenesis, treatment, and management. *Aging*. Published online November 16, 2020. doi:10.18632/aging.103932,
 47. Kim JH, Jenrow KA, Brown SL. Mechanisms of radiation-induced normal tissue toxicity and implications for future clinical trials. *Radiat Oncol J*. 2014;32(3):103-115. doi:10.3857/roj.2014.32.3.103
 48. Rodgers K, Jadhav SS. The application of mesenchymal stem cells to treat thermal and radiation burns. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018; 123:75-81. doi:10.1016/j.addr.2017.10.003
 49. Ryu JS, Jeong EJ, Kim JY, et al. Application of mesenchymal stem cells in inflammatory and fibrotic diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):1-26. doi:10.3390/ijms21218366
 50. Fang Z, Chen P, Tang S, et al. Will mesenchymal stem cells be future directions for treating radiation-induced skin injury? *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):179. doi:10.1186/s13287-021-02261-5 10.1186/s13287-021-02261-5
 51. Kiang JG. Adult mesenchymal stem cells and radiation injury. *Health Phys*. 2016;111(2):198. doi:10.1097/HP.0000000000000459
 52. Mundinger GS, Mundinger GS, Armstrong DG, et al. Autologous Homologous Skin Constructs Allow Safe Closure of Wounds: A Retrospective, Noncontrolled, Multicentered Case Series. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. Published online 2020. doi:10.1097/GOX.0000000000002840
 53. Isbester K, Wee C, Boas S, Sopko N, Kumar A. Regeneration of Functional, FullThickness Skin With Minimal Donor Site Contribution Using Autologous Homologous Skin Construct. *Plastic Surgery Case Studies*. 2020;6:2513826X1989881. doi:10.1177/2513826x19898810.
 54. Миланов, Н.О. Пластическая хирургия лучевых повреждений / Н.О. Миланов, Б.Л. Шилов; Науч. центр хирургии, Рос. акад. мед. наук. — М.: АИР-АРТ, 1996. — 78 с.
 55. Шилов, Б.Л. Современные методы реконструктивной пластической хирургии в лечении лучевых повреждений тканей: автореферат дис. ... док.-ра мед. наук: 14.00.27. — М.: НЦХ РАМН, 1993. — 20 с.
 56. Петушков, В.Н. Методические указания и рекомендации по диагностике и лечению острой местной и сочетанной радиационной травмы / М-во здравоохранения СССР; В.Н. Петушков, А.В. Барабанова, В.М. Крылов. — М., 1978. — 25 с.
 57. Кижасев, Е.В. Клиника и лечение местных лучевых поражений / Е.В. Кижасев // Военно-медицинский журнал. — 1993. — № 6. — С. 57-61.
 58. Гуськова, А.К. Местное лечение острых лучевых повреждений / А.К. Гуськова // Клиническая медицина. — 1986. — № 11. — С. 113-118.
 59. Раннее хирургическое лечение местных лучевых поражений / С.В. Филин, А.В. Сачков, Е.Ю. Иванова, Т.Г. Протасова, Г.Д. Селидовкин // Медицина катастроф. — 2003. — Т. 42, № 2. — С. 42-45.

60. Varabanova, A. Treatment of late radiation injury of skin / A. Varabanova // *Advances in the Bioscience*. — 1994. — V. 94. — P. 241-247.
61. Гуськова, А.К. Основные принципы лечения местных лучевых поражений / А.К. Гуськова // *Клиническая Медицина*. — 1986. — № 11. — С. 113-119.
62. Evaluation of Hyperbaric Oxygen Therapy for Chronic Wounds / T. Ueno, T. Omi, E. Uchida et al. // *J Nippon Med Sch*. — 2014. — V. 81 (1). — P. 4-11.
63. Billings, E. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery / E. Billings, J. May // *Plast. Reconstr. Surg*. — 1989. — № 83. — P. 368-381.
64. Экспериментальная модель тяжелых местных лучевых поражений кожи после действия рентгеновского излучения / К.В. Котенко, Б.Б. Мороз, Т.А. Насонова и др. // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. — 2013. — № 4. — С. 120-124.
65. Coles, M.C. Ready-made cellular plugs heal skin wounds // M.C. Coles, C.D. Buckley // *Nature*. — 2019. — V. 576 (7786). — P. 215-216. doi.org/10.1038/d41586-019-03602-4.
66. Фриденштейн, А.Я. О фибробластоподобных клетках в культурах кровяных тканей морских свинок / А.Я. Фриденштейн, Р.К. Чайлахян, К.С. Лалыкина // *Цитология*. — 1970. — № 12. — С. 1147-1155.
67. Системный подход к обеспечению качества мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для клинического применения / Н.К. Шахпазян, И.В. Кобзева, Т.А. Астрелина и др. // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. — 2011. — Т. 4, № 2. — С. 51-54.
68. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K.L. Blanc, I. Mueller et al. // *Cytherapy*. — 2006. — V. 8 (4). — P. 315-317.
69. Liver-derived human mesenchymal stem cells: a novel therapeutic source for liver diseases / Y. Wang, X. Yu, E. Chen, L. Li // *Stem Cell Res Ther*. — 2016. — V. 7 (1). — P. 71.
70. Development of mesenchymal stem cells partially originate from the neural crest / S. Morikawa, Y. Mabuchi, K. Niibe et al. // *Biochem Biophys Res Commun*. — 2009. — V. 379 (4). — P. 1114-1119.
71. Identification and specification of the mouse skeletal stem cell / C.K. Chan, E.Y. Seo, J.Y. Chen et al. // *Cell*. — 2015. — V. 160 (1-2). — P. 285-298.
72. Preclinical efficacy and mechanisms of mesenchymal stem cells in animal models of autoimmune diseases / H.K. Lee, S.H. Lim, I.S. Chung et al. // *Immune Netw*. — 2014. — V. 14 (2). — P. 81-88.
73. Andrzejewska, A. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: From Roots to Boost / A. Andrzejewska, B. Lukomska, M. Janowski // *Stem Cells*. — 2019. — V. 37 (7). — P. 855-864. doi: 10.1002/stem.3016.
74. Андреева, Е.Р. Паракринная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и ее особенности в условиях гипоксии / Е.Р. Андреева, Л.Б. Буравкова // *Физиология человека*. — 2013. — Т. 39, № 3. — С. 104-113.
75. Дешевой Ю.Б., Лебедев В.Г., Насонова Т.А., Добрынина О.А., Брунчуков В.А., Кобзева И.В., Астрелина Т.А., Самойлов А.С. Исследование

- эффективности клеточной терапии тяжелых местных лучевых поражений в условиях применения лекарственных средств, влияющих на состояние облученных тканей перед трансплантацией клеток // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2025. Т. 70. № 3. С. 5–10. DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-3-5-10.
76. Akita, S. Treatment of Radiation Injury / S. Akita // *Advances in wound care*. — 2012. — V. 3 (1). — P. 1-11. DOI: 10.1089/wound.2012.0403.
 77. Comparison of Treatments With Local Mesenchymal Stem Cells and Mesenchymal Stem Cells With Increased Vascular Endothelial Growth Factor Expression on Irradiation Injury of Expanded Skin / S. Öksüz, M.Ş. Alagöz, H. Karagö et al. // *Ann Plast Surg*. — 2015. — V. 75 (2). — P. 219-230.
 78. Bone marrow mesenchymal stem cell implantation for the treatment of radioactivity induced acute skin damage in rats / K. Zheng, W. Wu, S. Yang et al. // *Mol Med Rep*. — 2015. — V. 12 (5). — P. 7065-7071. doi: 10.3892/mmr.2015.4270.
 79. Ullah, I. Human mesenchymal stem cells — current trends and future prospective / I. Ullah, R.B. Subbarao, G.J. Rho // *Biosci Rep*. — 2015. — V. 35 (2). — Article: e001991. doi: 10.1042/BSR20150025.
 80. Efficiently differentiating vascular endothelial cells from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in serum-free culture / M. Konno, T.S. Hamazaki, S. Fukuda et al. // *Biochem Biophys Res Commun*. — 2010. — V. 400 (4). — P. 461-465.
 81. Stem Cells: Microenvironment, Micro/Nanotechnology, and Application / H. Liu, Z. Zhang, W.S. Toh et al. // *Stem Cells Int*. — 2015. — V. 2015. — Article: 398510. doi: 10.1155/2015/398510.
 82. Лырщикова и др. // Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2017. — Трансплантация аутологичных клеток стромально-вазкулярной фракции жировой ткани при тяжелых местных лучевых поражениях, вызванных действием рентгеновского излучения / В.Г. Лебедев, Т.А. Насонова, Ю.Б. Дешевой и др. // Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2017. — Т. 62, № 1. — С. 5-11.
 83. Caplan, A.I. Mesenchymal stem cells as trophic mediators / A.I. Caplan, J.E. Dennis // *Cell Biochem*. — 2006. — V. 98 (5). — P. 1076-1084.
 84. Hardy, S.A. Mesenchymal stem cells as mediators of neural differentiation / S.A. Hardy, D.J. Maltman, S.A. Przyborski // *Curr. Stem Cell Res. Ther*. — 2008. — V. 3 (1). — P. 43-52.
 85. Maria, O.M. Mesenchymal stromal cells therapy in radiation oncology regenerative medicine / O.M. Maria // *J Stem Cell Res Med*. — 2016. — V. 1 (2). — P. 48-58.
 86. Prockop, D.J. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation / D.J. Prockop, J.Y. Oh // *Mol. Ther*. — 2012. — V. 20 (1). — P. 14-20.
 87. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K.L. Blanc, I. Mueller et al. // *Cytotherapy*. — 2006. — V. 8 (4). — P. 315-317.
 88. Исследование влияния факторов кондиционной среды, полученной при культивировании мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, на течение тяжелых местных лучевых поражений у крыс / А.А. Темнов,

- Т.А. Астрелина, К.А. Рогов и др. // Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2018. — Т. 63, № 1. — С. 35-43.
89. Akita, S. Treatment of Radiation Injury / S. Akita // *Advances in wound care*. — 2012. — V. 3 (1). — P. 1-11. DOI: 10.1089/wound.2012.0403.
 90. Comparison of Treatments With Local Mesenchymal Stem Cells and Mesenchymal Stem Cells With Increased Vascular Endothelial Growth Factor Expression on Irradiation Injury of Expanded Skin / S. Öksüz, M.Ş. Alagöz, H. Karagö et al. // *Ann Plast Surg*. — 2015. — V. 75 (2). — P. 219-230.
 91. Bone marrow mesenchymal stem cell implantation for the treatment of radioactivity induced acute skin damage in rats / K. Zheng, W. Wu, S. Yang et al. // *Mol Med Rep*. — 2015. — V. 12 (5). — P. 7065-7071. doi: 10.3892/mmr.2015.4270.
 92. Development of a Combined Radiation and Full Thickness Burn Injury Minipig Model to Study the Effects of Uncultured Adipose-Derived Regenerative Cell Therapy in Wound Healing / P. Foubert, M. Doyle-Eisele, A. Gonzalez et al. // *International Journal of Radiation Biology*. — 2017. — V. 93 (3). — P. 340-350. doi:10.1080/09553002.2017.1242814.
 93. Significance of Cellular Cross-Talk in Stromal Vascular Fraction of Adipose Tissue in Neovascularization / Y. Sun, S. Chen, X. Zhang, M. Pei // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. — 2019. — V. 39 (6). — P. 1034-1044. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.312425.
 94. Брунчуков В.А. Анализ эффективности применения клеточной терапии при МЛП / В.А. Брунчуков, Т.А. Астрелина, А.С. Самойлов // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. — 2021. — Т. 66, № 1. — С. 5-12.
 95. Adipose tissue derived stem cells secretome: soluble factors and their roles in regenerative medicine / A.J. Salgado, R.L. Reis, N. Sousa et al. // *Curr. Stem Cell Res. Ther*. — 2010. — V. 5 (2). — P. 103-110.
 96. Autologous fat transplantation versus adipose derived stem cell? enriched lipografts: A study / A. Sterodimas J. Faria, B. Nicaretta et al. // *Aesth. Surg. J*. — 2011. — № 31. — P. 682-693.
 97. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани как альтернативный источник клеточного материала для регенеративной медицины / А.В. Веремеев, Р.Н. Болгарин, М.А. Петкова и др. // *Гены & клетки*. — 2016. — Т. XI, № 1. — С. 1-8.
 98. Клеточные технологии в лечении радиационных ожогов: опыт ФМБЦ им. А.И. Бурназяна / К.В. Котенко, И.И. Еремин, Б.Б. Мороз и др. // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. — 2012. — Т. VII, № 2. — С. 97-102.
 99. Исследование эффективности применения аутологичных клеточных продуктов на основе жировой ткани для терапии тяжелых местных лучевых повреждений / П.С. Еремин, Н.А. Пигалева, М.Б. Мурзабеков и др. // *Саратовский научно-медицинский журнал*. — 2014. — Т. 10 (4). — С. 838-844.
 100. McQuestion, M. Evidence-based skin care management in radiation therapy: clinical update / McQuestion M. // *Semin Oncol Nurs*. — 2011. — V. 27 (2). Article: e1-17.

101. Use of Human Cadaveric Mesenchymal Stem Cells for Cell Therapy of a Chronic Radiation-Induced Skin Lesion: A Case Report / M. Portas, E. Mansilla, H. Drago et al. // *Radiat Prot Dosimetry*. — 2016. — V. 171 (1). — P. 99-106. doi: 10.1093/rpd/ncw206.
102. Case Report: Industrial X-Ray Injury Treated With Non-Cultured Autologous Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction (SVF) / C.J. Iddins, S.R. Cohen, R.E. Goans et al. // *Health Phys*. — 2016. — V. 111 (2). — P. 112-116. doi: 10.1097/HP.0000000000000483.
103. Дешевой Ю.Б., Лебедев В.Г., Насонова Т.А., Добрынина О.А., Умников А.С, Астрелина Т.А., Самойлов А.С., Соловьев В.Ю. Сравнение эффективности различных способов лечения тяжелых местных лучевых поражений в эксперименте // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2024. Т. 69. № 6. С. 5–11. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-6-5-11
104. Local Radiolesion in X-Ray Inspection Specialists / A.S. Samoylov, A.Y. Bushmanov, I.A. Galstyan et al. // *Radiat Prot Dosimetry*. — 2016. — V. 171 (1). — P. 117-120. doi: 10.1093/rpd/ncw203.
105. First-in-man mesenchymal stem cells for radiation-induced xerostomia (MESRIX): study protocol for a randomized controlled trial / C. Grønhoj, D.H. Jensen, P.V. Glovinski et al. // *Trials*. — 2017. — V. 18 (1). — Article: 108. doi: 10.1186/s13063-017-1856-0.
106. Identification and specification of the mouse skeletal stem cell / C.K. Chan, E.Y. Seo, J.Y. Chen et al. // *Cell*. — 2015. — V. 160 (1-2). — P. 285-298.
107. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type / M. Sasaki, R. Abe, Y. Fujita et al. // *J Immunol*. — 2008. — V. 180 (4). — P. 2581-2587. doi: 10.4049/jimmunol.180.4.2581.
108. Human mesenchymal stem cells successfully improve skin-substitute wound healing / H. Nakagawa, S. Akita, M. Fukui et al. // *Br J Dermatol*. — 2005. — V. 153 (1). — P. 29-36. doi: 10.1111/j.1365-2133.2005.06554.x.
109. Transplanted mesenchymal stem cells are effective for skin regeneration in acute cutaneous wounds / H. Satoh, K. Kishi, T. Tanaka et al. // *Cell Transplant*. — 2004. — V. 13 (4). — P. 405-412. doi: 10.3727/000000004783983765.
110. Promotion of incisional wound repair by human mesenchymal stem cell transplantation / A. Stoff, A.A. Rivera, N.S. Banerjee et al. // *Exp Dermatol*. — 2009. — V. 18 (4). — P. 362-369. doi: 10.1111/j.1600-0625.2008.00792.x.
111. Adipose-derived mesenchymal stem cells accelerate diabetic wound healing in a similar fashion as bone marrow-derived cells / J. Guo, H. Hu, J. Gorecka et al. // *Am J Physiol Cell Physiol*. — 2018. — V. 315 (6). — P. 885-896. doi: 10.1152/ajpcell.00120.2018.
112. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: Focus on articular cartilage and intervertebral disc regeneration / S.M. Richardson, G. Kalamegam, P.N. Pushparaj et al. // *Methods*. — 2016. — V. 99. — P. 69-80. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.09.015.
113. Biomaterial and stem cell-based strategies for skeletal muscle regeneration / A. Dunn, M. Talovic, K. Patel et al. // *J Orthop Res*. — 2019. — V. 37 (6). — P. 1246-1262. doi: 10.1002/jor.24212.

114. Muscle Stem/Progenitor Cells and Mesenchymal Stem Cells of Bone Marrow Origin for Skeletal Muscle Regeneration in Muscular Dystrophies / A. Klimczak, U. Kozłowska, M. Kurpisz // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. — 2018. — V. 66 (5). — P. 341-354. doi: 10.1007/s00005-018-0509-7.
115. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Cardiovascular Disease: Progress and Challenges / L. Bagno, K.E. Hatzistergos, W. Balkan, J.M. Hare // *Mol Ther*. — 2018. — V. 26 (7). — P. 1610-1623. doi: 10.1016/j.yymthe.2018.05.009.
116. Mesenchymal stem cells as the near future of cardiology medicine — truth or wish? / M. Brychtova, J.A. Thiele, D. Lysak et al. // *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. — 2019. — V. 163 (1). — P. 8-18. doi: 10.5507/bp.2018.071.
117. Topical application of hPDGF-A-modified porcine BMSC and keratinocytes loaded on acellular HAM promotes the healing of combined radiation-wound skin injury in minipigs / G. Yan, H. Sun, F. Wang et al. // *Int J Radiat Biol*. — 2011. — V. 87 (6). — P. 591-600. doi: 10.3109/09553002.2011.570854.
118. Bone Marrow Stem Cell and Decellularized Human Amniotic Membrane for the Treatment of Nonhealing Wound After Radiation Therapy / Z. Kakabadze, D. Chakhunashvili, K. Gogilashvili et al. // *Exp Clin Transplant*. — 2019. — V. 17 (Suppl 1). — P. 92-98. doi: 10.6002/ect.MESOT2018.O29.
119. Multi-therapeutic effects of human adipose-derived mesenchymal stem cells on radiation-induced intestinal injury / P. Chang, Y. Qu, Y. Liu et al. // *Cell Death Dis*. — 2013. — V. 4 (6). — Article: e685. doi: 10.1038/cddis.2013.178.
120. Marrow-derived stromal cell delivery on fibrin microbeads can correct radiation-induced wound-healing deficits / M.W. Xie, R. Gorodetsky, E.D. Micewicz et al. // *J Invest Dermatol*. — 2013. — V. 133 (2). — P. 553-561. doi: 10.1038/jid.2012.326; Erratum in: *J Invest Dermatol*. — 2013. — V. 133 (3). — Article: 859.
121. McQuestion, M. Evidence-based skin care management in radiation therapy: clinical update / McQuestion M. // *Semin Oncol Nurs*. — 2011. — V. 27 (2). Article: e1-17.
122. Use of Human Cadaveric Mesenchymal Stem Cells for Cell Therapy of a Chronic Radiation-Induced Skin Lesion: A Case Report / M. Portas, E. Mansilla, H. Drago et al. // *Radiat Prot Dosimetry*. — 2016. — V. 171 (1). — P. 99-106. doi: 10.1093/rpd/ncw206.
123. Капустинская, К.А. Анри Беккерель / К.А. Капустинская. — М.: Атомиздат, 1965. — С. 59-60.
124. Местные лучевые поражения у населения: диагностика и лечение / под ред. член-корр. РАМН, проф. А.К. Гуськовой. — М.: ВЦМК «Защита», 2001. — 76 с.
125. Mesenchymal stem cells: immunobiology and role in immunomodulation and tissue regeneration / J.A. Kode, S. Mukherjee, M.V. Joglekar, A.A. Hardikar // *Cytotherapy*. — 2009. — V. 11 (4). — P. 377-391. doi: 10.1080/14653240903080367.
126. Angiogenic Effects of Human Dental Pulp and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells and their Extracellular Vesicles / G. Merckx, B. Hosseinkhani, S. Kuypers et al. // *Cells*. — 2020. — V. 9 (2). — Article: 312. doi: 10.3390/cells9020312.

127. The Effect of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and Their Conditioned Media Topically Delivered in Fibrin Glue on Chronic Wound Healing in Rats / R.A. Mehanna, I. Nabil, N. Attia et al. // *Biomed Res Int.* — 2015. — V. 2015. — Article: 846062. doi: 10.1155/2015/846062.
128. The neck burn scar contracture: a concept of effective treatment / S. Akita, K. Hayashida, S. Takaki et al. // *Burns Trauma.* — 2017. — V. 5. — Article: 22. doi: 10.1186/s41038-017-0086-8.
129. Астрелина, Т.А. Клеточные технологии при лечении местных лучевых поражений / Т.А. Астрелина // *Материалы I Международной научно-практической конференции «Ядерная медицина и лучевая терапия».* — М., 2017. — С. 7.
130. Самойлов А.С., Астрелина Т.А., Кобзева И.В., Сучкова Ю.Б., Аксененко А.В., Брунчуков В.А., Усупжанова Д.Ю., Удалов Ю.Д. Способ повышения эффективности комплексной терапии при местных лучевых поражениях. Патент № 2744519, зарегистрирован 11.03.2021.
131. Puncher, M.R.B. Autoradiography and density gradient separation of technetium-99m-exametazime (HMPAO) labeled leucocytes reveals selectivity for eosinophils / M.R.B. Puncher, P.J. Blower // *Eur J Nucl Med.* — 1994. — V. 21. — P. 1175-1182.
132. Real-time differential tracking of human neutrophil and eosinophil migration in vivo / J.J. Lukawska, L. Livieratos, B.M. Sawyer et al. // *J Allergy Clin Immunol.* — 2014. — V. 133 (1). — P. 233-239.
133. In vivo SPECT reporter gene imaging of regulatory T-cells / E. Sharif-Paghaleh, K. Sunassee, R. Tavaré et al. // *PLoS One.* — 2011. — V. 6 (10). — Article: e25857. doi:10.1371/journal.pone.0025857.
134. In vivo tracking of Th1 cells by PET reveals quantitative and temporal distribution and specific homing in lymphatic tissue / C.M. Griessinger, R. Kehlbach, D. Bukala et al. // *J Nucl Med.* — 2014. — V. 55. — P. 301-307.
135. Quantification of neutrophil migration into the lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease / K.R. Ruparelia, C. Szczepura, C.K. Summers et al. // *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* — 2011. — V. 38. — P. 911-912.
136. Monitoring of in vivo function of superparamagnetic iron oxide labelled murine dendritic cells during anti-tumour vaccination / R. Tavaré, P. Sagoo, G. Varama et al. // *PLoS One.* — 2011. — V. 6. — Article: e19662. doi:10.1371/journal.pone.0019662.
137. Whole-body imaging of adoptively transferred T-cells using magnetic resonance imaging, single photon emission computed tomography and positron emission tomography techniques, with a focus on regulatory T cells / J.M. Leech, E. Sharif-Paghaleh, J. Maher et al. // *Clin Exp Immunol.* — 2013. — V. 172. — P. 169-177.
138. FIAU labeling of genetically transduced, tumourreactive lymphocytes: cell-level dosimetry and dose-dependent toxicity / P. Zanzonico, G. Koehne, H.F. Gallardo et al. // *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* — 2006. — V. 33. — P. 988-997.
139. Palucka, K. Cancer immunotherapy via dendritic cells / K. Palucka, J. Banchereau // *Nat Rev Cancer.* — 2012. — V. 12 (4). — P. 265-277.

140. O'Neill, D.W. Manipulating dendritic cell biology for the active immunotherapy of cancer /D.W. O'Neill, S. Adams, N. Bhardwaj // *Blood*. — 2004. — V. 104 (8). — P. 2235-2246.
141. Oosterwijk, A.M.; Mouton, L.J.; Schouten, H.; Disseldorp, L.M.; Van der Schans, C.P.; Nieuwenhuis, M.K. Prevalence of scar contractures after burn: A systematic review. // *Burns*. — 2017. — 43. — P. 41–49.
142. Jackson, D.M. The diagnosis of the depth of burning. // *Br. J. Surg.* — 1953. — 40. - P. 588–596.
143. Tiwari, V.K. Burn wound: How it differs from other wounds? // *Indian J. Plast. Surg.* — 2012 — 45. P. 364–373.
144. Arbuthnot, M.K.; Garcia, A.V. Early resuscitation and management of severe pediatric burns. // *Semin. Pediatr. Surg.* — 2019. — 28. — P. 73–78.
145. Kaukonen, K.M.; Bailey, M.; Pilcher, D.; Cooper, D.J.; Bellomo, R. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. // *N. Engl. J. Med.* 2015 - 372 — P. 1629–1638.
146. Singh, M.; Nuutila, K.; Kruse, C.; Robson, M.C.; Caterson, E.; Eriksson, E. Challenging the Conventional Therapy: Emerging Skin Graft Techniques for Wound Healing. // *Plast. Reconstr. Surg.* 2015. — 136. — P. 524e–530e.
147. Johnson, R.M.; Richard, R. Partial-thickness burns: Identification and management. // *Adv. Skin Wound Care* 2003. — 16. — P. 178–187. *
148. Singer, A.J.; Clark, R.A. Cutaneous wound healing. // *New Engl. J. Med.* - 1999. — 341. - P. 738–746.
149. Pastar, I.; Stojadinovic, O.; Yin, N.C.; Ramirez, H.; Nusbaum, A.G.; Sawaya, A.; Patel, S.B.; Khalid, L.; Isseroff, R.R.; Tomic-Canic, M. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. // *Adv. Wound Care.* - 2014. — 3. — P. 445–464.
150. Werner, S.; Grose, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. // *Physiol. Rev.* — 2003. — 83. — P. 835–870.
151. Stone Ii.R.; Natesan, S.; Kowalczewski, C.J.; Mangum, L.H.; Clay, N.E.; Clohessy, R.M.; Carlsson, A.H.; Tassin, D.H.; Chan, R.K.; Rizzo, J.A.; et al. Advancements in Regenerative Strategies Through the Continuum of Burn Care. *Front. Pharmacol.* — 2018. — 9. — P. 672.
152. Piiipponen, M.; Li, D.; Landén, N.X. The Immune Functions of Keratinocytes in Skin Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* — 2020. — 21. — P. 8790.
153. Yang, R.; Liu, F.; Wang, J.; Chen, X.; Xie, J.; Xiong, K. Epidermal stem cells in wound healing and their clinical applications. // *Stem Cell Res. Ther.* — 2019. — 10. — P. 229.
154. Xue, M.; Jackson, C.J. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Adv. // Wound Care.* — 2015. -4. - P. 119–136.
155. Nuutila, K.; Laukkanen, A.; Lindford, A.; Juteau, S.; Nuopponen, M.; Vuola, J.; Kankuri, E. Inhibition of Skin Wound Contraction by Nanofibrillar Cellulose Hydrogel. *Plast. // Reconstr. Surg.* - 2018. — 141.- P. 357e–366e.
156. Sarrazy, V.; Billet, F.; Micallef, L.; Coulomb, B.; Desmouliere, A. Mechanisms of pathological scarring: Role of myofibroblasts and current developments. // *Wound Repair Regen.*- 2011. - 19 (Suppl. 1). — P. s10–s15.
157. Wang, Z.; Jinnin, M.; Nakamura, K.; Harada, M.; Kudo, H.; Nakayama, W.; Inoue, K.; Nakashima, T.; Honda, N.; Fukushima, S.; et al. Long non-coding

- RNA TSIX is upregulated in scleroderma dermal fibroblasts and controls collagen mRNA stabilization. // *Exp. Dermatol.* — 2016. — 25. — P. 131–136.
158. Rabello, F.B.; Souza, C.D.; Farina Júnior, J.A. Update on hypertrophic scar treatment. // *Clinics.* - 2014. — 69.- P. 565–573.
 159. Finnerty, C.C.; Jeschke, M.G.; Branski, L.K.; Barret, J.P.; Dziewulski, P.; Herndon, D.N. Hypertrophic scarring: The greatest unmet challenge after burn injury. // *Lancet.* - 2016. - 388. - 1427–1436.
 160. Gomes, A.; Teixeira, C.; Ferraz, R.; Prudêncio, C.; Gomes, P. Wound-healing peptides for treatment of chronic diabetic foot ulcers and other infected skin injuries. // *Molecules.* — 2017. — 22. — P. 1743.
 161. Verhaegen, P.D.; Van Zuijlen, P.P.; Pennings, N.M.; Van Marle, J.; Niessen, F.B.; Van der Horst, C.M.; Middelkoop, E. Differences in collagen architecture between keloid, hypertrophic scar, normotrophic scar, and normal skin: An objective histopathological analysis. // *Wound Repair Regen.*- 2009. — 1. — P. 649.
 162. Colwell, A.S.; Phan, T.T.; Kong, W.; Longaker, M.T.; Lorenz, P.H. Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor-beta stimulation. // *Plast. Reconstr. Surg.* - 2005. — 116. — P. 1387–1390.
 163. Ильин Л.А., Кириллов В.Ф., Коренков И.П. Радиационная гигиена: Учебник для вузов. - М.: ГЭОТАР Медиа - 2010.
 164. Higashi Y., Yusoff F.M., Kishimoto S., Maruhashi T. Regenerative Medicine for Radiation Emergencies // *J. Radiat Res.* 2021. -No. 5. - P. 62.
 165. Fang Z., Chen P., Tang S., Chen A., Zhang C., Peng G., Li M., Chen X. Will Mesenchymal Stem Cells Be Future Directions for Treating Radiation-Induced Skin Injury? // *Stem. Cell. Res. Ther.* - 2021. -12. - 12(1). — P.179.
 166. Kim J.H., Jenrow K.A., Brown S.L. Mechanisms of Radiation-Induced Normal Tissue Toxicity and Implications for Future Clinical Trials // *Radiat. Oncol. J.* - 2014. - V.32. - No. 3.- P. 103-115.
 167. Myung H., Jang H., Myung J.K., Lee C., Lee J., Kang J.H. Platelet-Rich Plasma Improves the Therapeutic Efficacy of Mesenchymal Stem Cells by Enhancing their Secretion of Angiogenic Factors in a Combined Radiation and Wound Injury Model // *Exp. Dermatol.*- 2020.- No. 29. -P. 158-167.
 168. Sun J, Zhang Y, Song X, Zhu J, Zhu Q. The Healing Effects of Conditioned Medium Derived from Mesenchymal Stem Cells on Radiation-Induced Skin Wounds in Rats. // *Cell Transplant.* - 2019, - 28(1). — P.105-115.
 169. Brunchukov V., Astrelina T., Usupzhanova D., Rastorgueva A., Kobzeva I., Nikitina V., Lishchuk S., Dubova E., Pavlov K., Brumberg V., et al. Evaluation of the Effectiveness of Mesenchymal Stem Cells of the Placenta and Their Conditioned Medium in Local Radiation Injuries // *Cells.* - 2020.- V.9. -No.12. - P. 2558.
 170. Astrelina T.A., Brunchukov V.A., Kodina G.E.; Bubenshchikov V.B.; Larenkov A.A., Lunev A.S.; Petrosova K.A., Rastorgueva A.A., Kobzeva, I.V., Usupzhanova D.Y., Nikitina V.A., Malsagova K.A., Kulikova L.I., Samoilo A.S., Pustovoyt V.I. Biodistribution of Mesenchymal Stromal Cells Labeled with [89 Zr] Zr-Oxine in Local Radiation Injuries in Laboratory Animals.// *Molecules.* - 2023. — 28. — P. 7169. <https://doi.org/10.3390/molecules28207169>.

171. Xu, X.; Nakano, T.; Tsuda, M.; Kanamoto, R.; Hirayama, R.; Uzawa, A.; Ide, H. Direct observation of damage clustering in irradiated DNA with atomic force microscopy. // *Nucleic Acids Res.* — 2019. — 48. —P. e18.
172. Hymes SR, Strom EA, Fife C. Radiation dermatitis: clinical presentation, pathophysiology, and treatment 2006.// *J Am Acad Dermatol.* -2006. — 54. — P. 28–46. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2005.08.054>.
173. Smith AO, Ju W, Adzraku SY, Wenyi L, Yuting C, Qiao J, et al. Gamma Radiation Induce Inflammasome Signaling and Pyroptosis in Microvascular endothelial cells. // *J Inflamm Res.* — 2021. — 14. —P.3277–88. <https://doi.org/10.2147/jir.S318812>.
174. Scott, D.; Barber, J.B.; Levine, E.L.; Burrill, W.; Roberts, S.A. Radiation-induced micronucleus induction in lymphocytes identifies a high frequency of ra-diosensitive cases among breast cancer patients: A test for predisposition? // *Br. J. Cancer.* - 1998. — 77. — P. 614–620.
175. Palumbo, E.; Piotto, C.; Calura, E.; Fasanaro, E.; Groff, E.; Busato, F.; El Khouzai, B.; Rigo, M.; Baggio, L.; Romualdi, C.; et al. Individual Radiosensitivity in Oncological Patients: Linking Adverse Normal Tissue Reactions and Genetic Features. // *Front. Oncol.* — 2019. — 9. — P. 987.
176. Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S., Jemal A. Cancer statistics, CA. // *Cancer J Clin.* -2023. -73. — P.17–48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>.
177. McGale P, Taylor C., Correa C., Cutter D., Duane F., Ewertz M., et al. Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality: meta-analysis of individual patient data for 8135 women in 22 randomised trials. // *Lancet.* — 2014. — 383. — P.2127–35. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)60488-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)60488-8).
178. Darby S., McGale P., Correa C., Taylor C., Arriagada R., Clarke M., et al. Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. // *Lancet.* — 2011. — 378. — P. 1707–16. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(11\)61629-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(11)61629-2).
179. Singh M., Alavi A., Wong R., Akita S., Radiodermatitis. A review of our current understanding. // *Am. J. Clin. Dermatol.* — 2016. — 17. — P.277–92. <https://doi.org/10.1007/s40257-016-0186-4>.
180. Ramadan M., Hetta H.F., Saleh M.M., Ali M.E., Ahmed A.A., Salah M. Alterations in skin microbiome mediated by radiotherapy and their potential roles in the prognosis of radiotherapy-induced dermatitis: a pilot study. // *Sci Rep.* 2021. — 11. — P. 5179. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84529-7>.
181. Brandmaier A, Formenti SC. The Impact of Radiation Therapy on Innate and Adaptive Tumor Immunity. // *Semin Radiat Oncol.* - 2020. - 30(2). —P.139-144 <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2019.12.005>
182. Jatoi I., Benson J.R., Kunkler I. Hypothesis: can the abscopal effect explain the impact of adjuvant radiotherapy on breast cancer mortality? // *NPJ Breast Cancer.* - 2018. — 4. —P.8. <https://doi.org/10.1038/s41523-018-0061-y>
183. Cho U., Park H.S., Im S.Y., Yoo C.Y., Jung J.H., Suh Y.J., et al. (2018) Prognostic value of systemic inflammatory markers and development of a nomogram in breast cancer. // *PLoS ONE.* - 13(7). - e0200936. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200936>.

184. Holbrook J., Lara-Reyna S., Jarosz-Griffiths H. and McDermott M.F. Tumour necrosis factor signalling in health and disease F1000. // *Research*. - 2019. — P. 8(F1000 Faculty Rev):111 <https://doi.org/10.12688/f1000research.17023.1>.
185. Karimi M., Goldie L.C., Cruickshank M.N., Moses E.K., Abraham L.J. A critical assessment of the factors affecting reporter gene assays for promoter SNP function: a reassessment of -308 TNF polymorphism function using a novel integrated reporter system. // *Eur J Hum Genet*. -2009. - 17(11). — P. 454-62. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.80>.
186. Aly T.A., Eller E., Ide A., Gowan K., Babu S.R., Erlich H.A., Rewers M.J., Eisenbarth G.S., Fain P.R. Multi-SNP analysis of MHC region: remarkable conservation of HLA-A1-B8-DR3 haplotype. // *Diabetes*. 2006. - 55(5). — P.1265-9. <https://doi.org/10.2337/db05-1276>.
187. Malivanova T.F., Alferova E.V., Ostashkin A.S., Astrelina T.A., Mazurenko N.N. The Overall Survival of Breast Cancer Patients Depends on a Combination of Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor Gene and HLA Haplotypes. *Mol. Genet. Microbiol. Virol.* 2020; 35: 38–46. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.3103/S0891416820010061>.
188. Cruceriu D, Baldasici O, Balacescu O, Berindan-Neagoe I. The dual role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches. *Review Cell Oncol (Dordr)*. 2020.- 43(1). — P.1-18. <https://doi.org/10.1007/s13402-019-00489-1>.
189. Malivanova T.F., Astrelina T.A., Kobzeva I.V., Nikitina V.A., Suchkova Yu.B., Ostashkin A.S., Usupzhanova D.Yu., Brunchukov V.A., Dobrovolskaya E.I., Rastorgueva A.A., Lomonosova E.E., Lubaeva E.S., Kretova E.Yu., Stepanyants N.G., Sukhova M.Yu., Samoylov A.S. Autoimmune haplotype AH8.1 normalizes the level of tumor necrosis factor in the blood sera of breast cancer patients. // *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. - 2023. - 41(1). — P.38-45. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/molgen20234101138>.
190. Bower J.E., Ganz P.A., Irwin M.R., Cole S.W. et al. Acute and Chronic Effects of Adjuvant Therapy on Inflammatory Markers in Breast Cancer Patients. // *JNCI Cancer Spectr.* 2022. - 6(4). —P.pkac052. <https://doi.org/10.1093/jncics/pkac052>.
191. Chen F., Jin J-Y., Hui T.S.K., Jing H., Zhang H., Nong Y., Han Y., Wang W., Ma L., Yi .F., Chen Q., Zhang Y., Fu P., Yang L., Xu Z. and Kong F-MS. Radiation Induced Lymphopenia Is Associated With the Effective Dose to the Circulating Immune Cells in Breast Cancer. // *Front. Oncol.* - 2022. — 12. — P. 768956. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.768956>.
192. Singh S., Sharma A., Arora S.K. High Producer Haplotype (CAG) of -863C/A, -308G/A and -238G/A Polymorphisms in the Promoter Region of TNF- α Gene Associate with Enhanced Apoptosis of Lymphocytes in HIV-1 Subtype C Infected Individuals from North India. // *PLoS ONE*. - 2020. -9(5). — P.e98020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098020>.
193. Shirmohammadi E., Ebrahimi S.S., Farshchi A., Salimi M. The efficacy of etanercept as anti-breast cancer treatment is attenuated by residing macrophages. *BMC // Cancer*. 2020. - 20(1). — P.836 <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07228-y>.
194. Lewin N.L., Luetragoon T., Shamoun L., Oliva D. et al. The Influence of Adjuvant Radiotherapy and Single Nucleotide Polymorphisms on Circulating

- Immune Response Cell Numbers and Phenotypes of Patients With Breast Cancer. // *Anticancer Res.* 2019. - 39(9). — P. 4957-4963. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13684>.
195. Kaur S., Singh A., Kaur J., Verma N. et al. Upregulation of cytokine signalling in platelets increases risk of thrombophilia in severe COVID-19 patients. // *Blood Cells Mol Dis.* 2022. — 94. — P. 102653. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2022.102653>.
 196. Wang L., Wang X., Guo E., Mao X. and Miao S. Emerging roles of platelets in cancer biology and their potential as therapeutic targets. // *Front. Oncol.* — 2022.-12. — P. 939089. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.939089>.
 197. Qian H., Chen R., Wang B., Yuan X., Chen S., Liu Y. and Shi G. Associations of Platelet Count with Inflammation and Response to Anti TNF- α Therapy in Patients with Ankylosing Spondylitis. // *Front. Pharmacol.* — 2020. — 11. — P.:559593. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.559593>.
 198. Shang Y., Sun J., Wu X. and Wang Q. Activated platelet membrane nanovesicles recruit neutrophils to exert the antitumor efficiency. // *Front. Chem.* — 2022.- 10. —P.955995. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.955995>.
 199. Neuenfeldt F., Schumacher J.C., Grieshaber-Bouyer R., Habicht J. et al. Inflammation induces pro-NETotic neutrophils via TNFR2 signaling. // *Cell Rep.* 2022. - 39(3). —P.110710 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110710>.
 200. Snoderly H.T., Boone B.A., Bennewitz M.F. Neutrophil extracellular traps in breast cancer and beyond: current perspectives on NET stimuli, thrombosis and metastasis, and clinical utility for diagnosis and treatment. // *Breast Cancer Res.* 2019. -21(1). — P.145 <https://doi.org/10.1186/s13058-019-1237-6>.
 201. Bennardo L., Passante M., Cameli N., Cristaudo A., Patruno C., Nistico S.P., Silvestri M. Skin Manifestations after Ionizing Radiation Exposure: A Systematic Review. // *Bioengineering.* - 2021. — 8. — P.153. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8110153>.
 202. Smith A.O., Ju W., Adzraku S.Y. Wenyi L., Yuting C., Qiao J., Xu K., Zeng L. Gamma Radiation Induce Inflammasome Signaling and Pyroptosis in Microvascular Endothelial Cells. *J Inflamm Res.* 2021. — 14. —P. 3277-3288. <https://doi.org/10.2147/JIR.S318812>
 203. De Sanctis V.D, Agolli L., Visco V., Monaco F., Muni R., Spagnoli A., Campanella B., Valeriani M., Minniti G., Osti M.F., Amanti C., Pellegrini P., Brunetti S., Costantini A., Alfo M., Torrissi M.R., Marchetti P., Enrici R.M. Cytokines, fatigue, and cutaneous erythema in early stage breast cancer patients receiving adjuvant radiation therapy. // *Biomed Res Int.* 2014.- P.523568. <https://doi.org/10.1155/2014/523568>
 204. Canedo-Dorantes L., Canedo-Ayala M. Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review. // *Int J Inflamm.* 2019. — P.3706315. <https://doi.org/10.1155/2019/3706315>
 205. Kulski J.K., Suzuki S., Shiina T. Human leukocyte antigen super-locus: nexus of genomic supergenes, SNPs, indels, transcripts, and haplotypes. // *Hum Genome Var.* — 2022. - 9(1). —P.49. <https://doi.org/10.1038/s41439-022-00226-5>
 206. Talbot C.J., Tanteles G.A., Barnett G.C., Burnet N.G., Chang-Claude J., Coles C.E., Davidson S., Dunning A.M., Mills J., Murray R.J.S. Popanda O., Seibold P., West C.M.L., Yarnold J.R., Symonds R.P. A replicated association between

- polymorphisms near TNF α and risk for adverse reactions to radiotherapy. // *Br. J. Cancer.* — 2012. - 107(4). — P.748-53. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.290>
207. Cordoba E.E., Lacunza E., Abba M.C., Fernandez E., Guerci A.M. Single nucleotide polymorphisms in ATM, TNF- α and IL6 genes and risk of radiotoxicity in breast cancer patients. // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* — 2018. -P. 836(Pt B):84-89. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.06.005>
 208. Elahi M.M., Asotra K., Matata B.M., Mastana S.S. Tumor necrosis factor alpha -308 gene locus promoter polymorphism: an analysis of association with health and disease. // *Biochim Biophys Acta.* — 2009.- 1792(3). — P.163-72. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.01.007>
 209. Pol J, Paillet J, Plantureux C, Kroemer G. Beneficial autoimmunity and maladaptive inflammation shape epidemiological links between cancer and immune-inflammatory diseases. // *Oncoimmunology.* — 2022. - 11(1). — P.2029299. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2022.2029299>
 210. Shah A.A., Igusa T., Goldman D., Li J., Casciola-Rosen L., Rosen A., Petri M. Association of systemic lupus erythematosus autoantibody diversity with breast cancer protection. // *Arthritis Res Ther.* — 2021. - 23(1). — P.64. <https://doi.org/10.1186/s13075-021-02449-3>
 211. Barnett G.C., West C.M.L., Dunning A.M., Elliott R.M., Coles C.E., Pharoah P.D.P., Burnet N.G. *Nat Rev Cancer.* -0 2009. - 9(2). — P.134-42. <https://doi.org/10.1038/nrc2587>
 212. Pereira S., Orlandi E., Deneuve S., Barcellini A., Chalaszczyk A., Behm-Ansmant I., Hettal L., Rancati T., Vogin G., Thariat J. The Normal, the Radiosensitive, and the Ataxic in the Era of Precision Radiotherapy: A Narrative Review. // *Cancers.* — 2022. — 14. — P.6252. <https://doi.org/10.3390/cancers14246252>
 213. Xia C., Qin L., Wang Y., Yao L., Shia B., Wu S-Y. Risk factors and specific cancer types of second primary malignancies in patients with breast cancer receiving adjuvant radiotherapy: a case-control cohort study based on the SEER database. // *Am. J. Cancer Res.* — 2022 - 12(6). — P.2744-2756. www.ajcr.us/ISSN:2156-6976/ajcr0142447
 214. Rezaei S.J., Eid E., Tang J.Y. Kurian A.W., Kwong B.Y., Linos E. Incidence of Nonkeratinocyte Skin Cancer After Breast Cancer Radiation Therapy. // *JAMA Network Open.*- 2024. - 7(3). — P. e241632. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2024.1632>
 215. Simman R., Bach K., Abbas F., Klomparens K., Brickman B.J. Management of Radiation-induced Tissue Injuries: A Review of Current Treatment Strategies. // *Plast Reconstr Surg Glob Open.* - 2023. — 16 - 11(6). — P. e5043. <https://doi.org/10.1097/GOX.00000000000005043>
 216. Karimi M., Goldie L.C., Cruickshank M.N., Moses E.K., Abraham L.J. A critical assessment of the factors affecting reporter gene assays for promoter SNP function: a reassessment of -308 TNF polymorphism function using a novel integrated reporter system. // *Eur J Hum Genet.* -2009. - 17(11). — P. 454-62. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.80>
 217. Simman R., Bach K., Abbas F., Klomparens K., Brickman B.J. Management of Radiation-induced Tissue Injuries: A Review of Current Treatment Strategies.

- // *Plast Reconstr Surg Glob Open*. - 2023. — 16 - 11(6). — P. e5043. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000005043>.
218. Маливанова Т.Ф., Астрелина Т.А., Кобзева И.В., Никитина В.А., Сучкова Ю.Б., Головкова А.И., Осташкин А.С., Усупжанова Д.Ю., Брунчуков В.А., Расторгуева А.А., Добровольская Е.И., Кирильчев А.П., Сухова М.Ю., Соколова Н.В., Михадаркина О.Г., Самойлов А.С. Особенности системного ответа на адьювантную лучевую терапию у носителей полиморфизма -308(G/A)TNF больных раком молочной железы // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2023. Т. 68. № 6. С. 92–98. DOI:10.33266/1024-6177-2023-68-6-92-98.
 219. Hoeller U., Borgmann K., Bonacker M., Kuhlmei A., Bajrovic A., Jung H., Alberti W., Dikomey E. Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may be used to predict the risk of fibrosis after radiotherapy for breast cancer. // *Radiother Oncol*. — 2003. - 69(2). — P. 137-44. doi: 10.1016/j.radonc.2003.10.001. PMID: 14643950.cc
 220. Способ определения индивидуальной радиочувствительности больных злокачественными новообразованиями при проведении лучевой терапии. Васильев С.А., Лебедев И.Н., Мельников А.А. № RU (11) 2 522 507 (13) C1 от 11.12.2012.
 221. Merino A.M., Zhang K., Kaslow R.A., Aissani B. Structure of tumor necrosis factor-alpha haploblocks in European populations. *Immunogenetics*. 2013; 65(7): 543-52. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00251-013-0700-2>
 222. Kulski J.K., Suzuki S., Shiina T. Human leukocyte antigen super-locus: nexus of genomic supergenes, SNPs, indels, transcripts, and haplotypes. *Hum Genome Var*. 2022; 9(1): 49. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41439-022-00226-5>
 223. Campoy E., Puig M., Yakymenko I., Lerga-Jaso J., Cáceres M. Genomic architecture and functional effects of potential human inversion supergenes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2022; 377(1856): 20210209. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0209>
 224. Neville M.J., Lee W., Humburg P., Wong D., Barnardo M., Karpe F., Knight J.C. High resolution HLA haplotyping by imputation for a British population bioresource. *Hum Immunol*. 2017; 78(3): 242-251. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.01.006>
 225. Shiina T., Kulski J.K. HLA Genetics for the Human Diseases. *Adv Exp Med Biol*. 2024; 1444: 237-258. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-99-9781-7_16
 226. Gambino C.M., Aiello A., Accardi G., Caruso C., Candore G. Autoimmune diseases and 8.1 ancestral haplotype: An update. *HLA*; 92(3): 137-143. DOI: <https://doi.org/10.1111/tan.13305>
 227. Al-Sofi R.F., Bergmann M.S., Nielsen C.H., Andersen V., Skov L., Loft N. The Association between Genetics and Response to Treatment with Biologics in Patients with Psoriasis, Psoriatic Arthritis, Rheumatoid Arthritis, and Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*. 2024; 25(11): 5793. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25115793>
 228. Ben-Baruch A. Tumor Necrosis Factor α : Taking a Personalized Road in Cancer Therapy. *Front Immunol*. 2022; 18:13:903679. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.903679>
 229. Головкова А.И., Маливанова Т.Ф., Астрелина Т.А., Кобзева И.В., Никитина В.А., Сучкова Ю.Б., Усупжанова Д.Ю., Брунчуков В.А., Михадаркина

- О.Г., Любаева Е. С., Сухова М.Ю., Самойлов А.С. Влияние клинко-морфологических и генетических маркеров на степень ранних лучевых поражений кожи при адьювантной лучевой терапии больных раком молочной железы. Сборник статей VI научно-практической конференции и межвузовской олимпиады ординаторов и аспирантов «Научный авангард 2023». — М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2024. — С.99-105.
230. Т.Ф. Маливанова, Т.А. Астрелина, И.В. Кобзева, Ю.Б. Сучкова, Д.Ю. Усупжанова, В.А. Брунчуков, В.А. Никитина, А.И. Головкова, А.С. Осташкин, Е.С. Любаева, М.Ю. Сухова, А.С. Самойлов Гетерогенность раннего лучевого повреждения кожи при адьювантной лучевой терапии у больных раком молочной железы, носителей аллеля TNF-308A. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2025. Т. 70. № 5. С. 05–11. DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-5-98-103.
 231. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. Malignant neoplasms in Russia in 2023 (morbidity and mortality). Moscow: P. A. Herzen Moscow Oncology Research Institute - branch of the Federal State Budgetary Institution «NMITs of Radiology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2024. 276 p. (In Russ.). ISBN 978-5-85502-298-8
 232. Fang F., Yao L., Yu X.J., Yu L., Wu Q., Yu L. TNFalpha -308 G/A polymorphism is associated with breast cancer risk: a meta-analysis involving 10,184 cases and 12,911 controls.
 233. Breast Cancer Res Treat. 2010; 122(1): 267-71. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0698-1>
 234. Li H.H., Zhu H., Liu L.S., Huang Y., Guo J., Li J., Sun X.-P., Chang C.-X., Wang Z.-H., Zhai K. Tumour Necrosis Factor- α Gene Polymorphism Is Associated with Metastasis in Patients with Triple Negative Breast Cancer. Sci Rep. 2015; 5: 10244. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep10244>
 235. Farbod M., Karimi M.Z., Heiranizadeh N., Seifi N. S., Akbarian J.B.M., Jarahzadeh H.M., Neamatzadeh H. Association of TNF-a -308G>A Polymorphism with Susceptibility to Cervical Cancer and Breast Cancer - a Systematic Review and Meta-analysis. Klin Onkol. 2019; 32(3): 170-180. DOI: <https://doi.org/10.14735/amko2019170>
 236. Mestiri S., Bouaouina N., Ahmed S.B., Khedhaier A., Jrad B.B., Remadi S., Chouchane L. Genetic variation in the tumor necrosis factor-alpha promoter region and in the stress protein hsp70-2: susceptibility and prognostic implications in breast carcinoma. Cancer. 2001; 91(4): 672-8. DOI: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20010215\)91:4<672::aid-cncl1050>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010215)91:4<672::aid-cncl1050>3.0.co;2-j)
 237. DeMichele A., Martin A.-M., Mick R., Gor P., Wray L., Klein-Cabral M., Athanasiadis G., Colligan T., Stadtmauer E., Weber B. Interleukin-6 -174G->C polymorphism is associated with improved outcome in high-risk breast cancer. Cancer Res. 2003; 63(22): 8051-6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14633738/>
 238. Korobeinikova E., Myrzaliyeva D., Ugenskiene R., Raulinaityte D., Gedminaitė J., Smigelskas K., Juozaityte E. The prognostic value of IL10 and TNF alpha functional polymorphisms in premenopausal early-stage breast cancer patients. BMC Genet. 2015; 16:70. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12863-015-0234-8>

239. Duggan C., Baumgartner R.N., Baumgartner K.B., Bernstein L., George S., Ballard R., Neuhouser M.L., McTiernan A. Genetic variation in TNF α , PPAR γ , and IRS-1 genes, and their association with breast-cancer survival in the HEAL cohort. *Breast Cancer Res Treat.* 2018; 168(2): 567-576. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4621-x>
240. Yi F., Shi X., Pei X., Wu X. Tumor necrosis factor-alpha-308 gene promoter polymorphism associates with survival of cancer patients: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(45): e13160. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000013160>
241. Andersson E., Villabona L., Bergfeldt K., Carlson J.W., Ferrone S., Kiessling R., Seliger B., Masucci G.V. Correlation of HLA-A02* genotype and HLA class I antigen down-regulation with the prognosis of epithelial ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2012; 61(8): 1243-53. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-012-1201-0>
242. Stokidis S., Baxevanis C.N., Fortis S.P. The Prognostic Significance of Selected HLA Alleles on Prostate Cancer Outcome. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(19): 14454. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241914454>
243. Komic H., Alexander Hallner # 1, Brwa Ali Hussein 1 2, Chiara Badami 1 2, Anne Wöhr 1 2, Kristoffer Hellstrand 1 3, Elin Bernson 1 4, Fredrik B Thorén 5 6 HLA-B*44 and the Bw4-80T motif are associated with poor outcome of relapse-preventive immunotherapy in acute myeloid leukemia. *Cancer Immunol Immunother.* 2023; 72(11): 3559-3566. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-023-03506-3>
244. Wen C., Zhang L., Yang Y., Jin Y., Ren D., Zhang Z., Zou S., Li F., Sun H., Jin J., Lu X., Xie J., Cheng D., Xu Z., Chen H., Mao B., Zhang J., Wang J., Deng X., Peng C., Li H., Jiang C., Lin L., Zhang H., Chen H., Shen B., Zhan Q. Specific human leukocyte antigen class I genotypes predict prognosis in resected pancreatic adenocarcinoma: a retrospective cohort study. *Int J Surg.* 2023; 109(7): 1941-1952. DOI: <https://doi.org/10.1097/JS9.0000000000000264>
245. Gourley C., Thornton C., Massie C., Prescott R.J., Turner M., Leonard R.C.F., Kilpatrick D.C. Is there a relationship between HLA type and prognostic factors in breast cancer? *Anticancer Res.* 2003; 23(1B): 633-8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12680159/>
246. Spraggs C.F., Parham L.R., Briley L.P., Warren L., Williams L.S., Fraser D.J., Jiang Z., Aziz Z., Ahmed S., Demetriou G., Mehta A., Jackson N., Byrne J., Andersson M., Toi M., Harris L., Gralow J., Zujewski J.A., Crescenzo R., Armour A., Perez E., Piccart M.Characterisation of the HLA-DRB1*07:01 biomarker for lapatinib-induced liver toxicity during treatment of early-stage breast cancer patients with lapatinib in combination with trastuzumab and/or taxanes. *Pharmacogenomics J.* 2018; 18(3): 480-486. DOI: <https://doi.org/10.1038/tpj.2017.39>
247. Muraro E., De Zorzi M., Miolo G., Lombardi D., Scalone S., Spazzapan S., Massarut S., Perin T., Dolcetti R., Steffan A., De Re V. KIR-HLA Functional Repertoire Influences Trastuzumab Efficiency in Patients With HER2-Positive Breast Cancer. *Clinical Trial Front Immunol.* 2022; 12: 791958. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.791958>

248. Dawkins R.L., Lloyd S.S. Commentary: Conserved polymorphic sequences protect themselves for future challenges. *Front Genet.* 2022; 13: 993944. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.993944>
249. Dawkins R.L., Lloyd S.S. MHC Genomics and Disease: Looking Back to Go Forward. *Cells.* 2019; 8(9): 944. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells8090944>
250. Suslova T.A., Vavilov M.N., Khromova E.B., Belyaeva S.V., Stashkevich D.S., Gorelova A.K., Evdokimov A.V., Rudakova G.A., Burmistrova A.L. Typical and unique haplotypes of HLA: A-B-DRB1 in the Russian population of the Chelyabinsk region. *Bulletin of Hematology* 2015; (11) 2: 32-35. (In Russ.). <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46211105>
251. Маливанова Т.Ф., Астрелина Т.А., Кобзева И.В., Осташкин А.С., Головова А.И., Сучкова Ю.Б., Никитина В.А., Усупжанова Д.Ю., Брунчуков В.А., Михадаркина О.Г., Булычева Ю.И., Любаева Е.С., Сухова М.Ю. Маркер неблагоприятного прогноза при раке молочной железы HLA-A*02+HLA-B*44+TNF-308A+. *Иммунология.* 2025; 46 (5): 574–585. DOI: <http://doi.org/10.33029/0206-4952-2025-46-5-574-585>.
252. Mercogliano M.F., Bruni S., Elizalde P.V., Schillaci R. Tumor Necrosis Factor α Blockade: An Opportunity to Tackle Breast Cancer. *Front Oncol.* 2020; 10:584. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00584>.
253. Dainiak N., Hematologic consequences of exposure to ionizing radiation. *Exp Hematol* 2002; 30, 513–28.
254. Schae D., Micewicz E.D., Ratican J.A., Xie M.W., Cheng G., McBride W.H. Radiation and inflammation. *Semin Radiat Oncol* 2015; 25, 4–10.

Формат 60x90/16, объем 7,125 усл. печ. л.
Бумага 80 г/м². Офсетная. Гарнитура Times New Roman.
Тираж 1000 Заказ № 2026-10-н
Отпечатано в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России 123098,
Москва, ул. Живописная, 46
Тел. +7 (499) 190-93-90
rcdm@mail.ru, lochin59@mail.ru
www.fmbafmbc.ru

