

Исследование чувствительности клеток интракраниальных неоплазий к химиопрепаратам

А.Н. Чернов¹, Н.Н. Яцков², В.В. Скакун²

¹ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»; Республика Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 28;

²Белорусский государственный университет; Республика Беларусь, 220030, Минск, пр. Независимости, 4

Контактные данные: Александр Николаевич Чернов al.chernov@mail.ru

Введение. Статья посвящена персонализированному подбору химиопрепаратов на культуре клеток интракраниальных опухолей, полученных от пациентов.

Материалы и методы. На первичных культурах клеток интракраниальных опухолей (пилочитарная астроцитомы, анапластическая астроцитомы, глиобластома и медуллобластома), взятых от 98 пациентов в возрасте от 3 месяцев до 17 лет, оценивали их чувствительность к химиопрепаратам (винкристину, карбоплатину, метотрексату, темозоломиду, цитарабину, циклофосфамиду, цисплатину и этопозиду) по окрашиванию клеток трипановым синим в камере Горяева. Применяя метод главных компонент (МГК) и двухфакторного дисперсионного анализа устанавливали зависимости химиочувствительности от фактора «пациент», типа опухоли и механизма действия химиопрепаратов.

Результаты. На основе данных о чувствительности клеток нейроэпителиальных новообразований к химиопрепаратам у конкретного пациента применение статистических методов анализа позволяет выявить в группе пациентов лиц с высокой, умеренной или низкой химиочувствительностью, больных, у которых химиопрепараты действуют односторонне и эффективно или разнонаправленно и обладают слабым цитотоксическим действием на опухоль. Применение метода двухфакторного дисперсионного анализа позволило установить, что главным фактором, влияющим на чувствительность клеток опухолей к химиопрепаратам, является фактор «пациент».

Выводы. Применение МГК создает научную основу для индивидуального подбора схем (протоколов) терапии у данного контингента больных.

Ключевые слова: опухоли головного мозга, химиопрепараты; факторы, влияющие на чувствительность клеток; статистические методы, двухфакторный дисперсионный анализ, метод главных компонент

DOI: 10.17650/2311-1267-2015-2-4-51-57

Research of the intracranial neoplasia cell sensitivity to chemotherapy drugs

A.N. Chernov¹, N.N. Yatskov², V.V. Skakun²

¹Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus; 28 Akademicheskaya St., Minsk,

220072, Republic of Belarus; ²Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus; 4 Prosp. Nezavisimosti,

Minsk, 220030, Republic of Belarus

Introduction. The article is devoted to the personalized selection of chemotherapy for intracranial tumor cell cultures obtained from patients.

Materials and methods. In the primary cell cultures of intracranial tumors (pilocytic astrocytoma, anaplastic astrocytoma, glioblastoma and medulloblastoma), taken from 98 patients aged 3 months to 17 years, were evaluated their sensitivity to chemotherapeutic drugs (vincristine, carboplatin, methotrexate, temozolomide, cytarabine, cyclophosphamide, cisplatin and etoposide) by staining the cells with trypan blue in Goryaev chamber. Using principal component analysis and two-factor analysis of variance was adjusted depending on the chemosensitivity factor "patient", the type of tumor, and the mechanism of action of chemotherapy.

Results. Based on cell sensitivity to chemotherapeutic drugs neuroepithelial tumors particular patient applying statistical methods of analysis allows to identify individual patients at high, moderate or low chemosensitivity, patients with chemotherapy and effectively act unidirectionally or differently and have weak cytotoxic effect on the tumor. Application of the method of two-way analysis of variance revealed that the main factor affecting the sensitivity of tumor cells to chemotherapeutic drugs is a factor of the "patient".

Conclusions. Application of principal component creates a scientific basis for the selection of individual schemes (protocols) therapy in this group of patients.

Key words: brain tumor, chemotherapy, factors affecting the sensitivity of cells, statistical methods, two-factor analysis of variance, principal component analysis

Введение

В настоящее время злокачественные новообразования по распространенности, инвалидизации и смертности вышли на 2-е место вслед за патологией сердечно-сосудистой системы [1]. Однако онкологическая ситуация продолжает ухудшаться. По прогнозам Всемирной организации здравоохранения, число новых случаев рака в ближайшие 20 лет (к 2032 г.) увеличится на 70 % и составит около 25 млн в год, а смертность от рака достигнет 13,2 млн пациентов в год [2]. Среди онкологических заболеваний 1,9 % приходится на опухоли центральной нервной системы. Данные неоплазии являются наиболее трудно излечиваемыми при самой высокой смертности пациентов – 73,9 % среди онкологических заболеваний [3]. Еще более сложная ситуация среди детского и подросткового контингента пациентов. К наиболее частым нейроэпителиальным новообразованиям у данной группы лиц относятся медуллобластома, эпендимомы и высокозлокачественные глиомы [4]. Операционное удаление интракраниальных неоплазий не всегда возможно из-за опасности повреждения жизненно важных центров или диффузной их локализации, что делает актуальным совершенствование методов лучевой и химиотерапии. Наиболее эффективными для лечения нейроэпителиальных опухолей признаны следующие химиопрепараты: цисплатин, карбоплатин, темозоломид, этопозид, метотрексат, цитарабин [5–8].

Одним из подходов к повышению эффективности химиотерапии служит определение *in vitro* чувствительности клеток опухолей, взятых от конкретного пациента, к цитостатическим средствам. Реализация этого направления строится с привлечением ряда методических приемов: [3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н тетразолия бромид]ного теста – МТТ [7, 9–11], дифференциального окрашивания на цитотоксичность (differential staining cytotoxicity assay – DiSC) [9], колониформующего метода (colonic formation assay – CFA) [12], пролиферативного теста [7, 13], оценки лекарственной чувствительности стволовых опухолевых клеток человека (human tumor stem cell drug sensitivity assay – HTDA) [12]. Указанные варианты требуют дорогостоящей аппаратуры, реактивов, относительно сложных расчетов либо продолжительны по времени, что констатирует отсутствие простого способа оценки химиочувствительности опухолевых клеток. Поэтому авторы применили простой вариант метода оценки гибели неопластических клеток по окрашиванию трипановым синим при воздействии химиопрепаратов. Такая модификация метода обладает достаточно высокой чувствительностью (65,6 %), специфичностью (56,8 %) и прогностической значимостью (78 %), что позволяет прогнозировать эффективность терапии у пациентов [14].

Применение статистических методов анализа, дисперсионного анализа и метода главных компонент (МГК) (principle component analysis – PCA) к данным, констатирующим индивидуальную чувствительность клеток опухолей пациентов к химиопрепаратам, позволяет выявить общие закономерности и факторы, от которых зависит химиочувствительность. В литературе найдено несколько работ, посвященных оценке чувствительности клеток неоплазий к химиопрепаратам с привлечением МГК [8, 15]. В указанных работах химиочувствительность опухолевых клеток определялась на основании уровня экспрессии генов, связанных с прогнозом пациентов. Однако применение МГК для определения восприимчивости клеток неоплазий к цитостатическим препаратам на основании данных о персонифицированной чувствительности культур клеток, полученных из образцов опухолей больных, авторами выполнено впервые.

Цель работы – с помощью методов двухфакторного дисперсионного анализа и МГК выявить факторы, влияющие на чувствительность клеток нейроэпителиальных опухолей к химиопрепаратам.

Материалы и методы

Группы пациентов

Эксперименты выполнены на первичных культурах клеток интракраниальных неоплазий, взятых у 98 пациентов в возрасте от 3 месяцев до 17 лет (медиана – $8,1 \pm 0,9$ года, 63 мальчика и 35 девочек), находившихся на лечении в ГКБ скорой медицинской помощи г. Минска в 2008–2012 гг. Больных разделили на 4 группы в соответствии с гистологическим типом опухоли. В 1-ю вошли 42 пациента с пилоцитарной астроцитомой (GrI; 22 мальчика и 20 девочек; медиана возраста – $7,9 \pm 0,7$ года). Вторая группа включала 9 больных анапластической астроцитомой (GrII; 5 мальчиков и 4 девочки; медиана возраста – $8,6 \pm 1,6$ года). Третья группа включала 9 пациентов с глиобластомой (GrIV; 9 мальчиков; медиана возраста – $10,3 \pm 1,9$ года). Четвертую группу составили 38 детей с медуллобластомой (GrIV; 27 мальчиков и 11 девочек; медиана возраста – $5,7 \pm 0,6$ года).

Получение *in vitro* первичной культуры клеток нейроэпителиальных неоплазий

Поступавший из клиники опухолевый материал в условиях ламинарного бокса (Lobconco, США) механически измельчали до мелких частиц в растворе Хэнкса (Sigma-Aldrich, США), содержащим 4 % сульфат гентамицина (Белмедпрепараты, Республика Беларусь (РБ)). Клетки подвергали 10 мин трипсинизации 0,25 % раствором трипсина (Sigma-Aldrich, США) при 37 °С. Обработанный таким способом материал подсчитывали в камере Горяева и переносили в количестве 500 тыс. кл/мл в чашки Петри (d = 35 мм, Nunc, Дания) с 2 мл среды

Игла в модификации Дульбекко (ДМЕМ, Sigma-Aldrich, США), содержащей 10 % эмбриональную телячью сыворотку. Опухолевые клетки культивировали в стандартных условиях CO₂-инкубатора (37 °С, 95 % влажности и 5 % CO₂) в течение 2 сут.

Обработка культур опухолевых клеток химиопрепаратами

Спустя 2 сут после посева в чашки с культурой внесли химиопрепараты: винкристин (Vegopharm, РФ; 2,4 × 10⁻⁹ М) [10], цисплатин (Vegopharm, РФ; 3,3 × 10⁻⁶ М) [10], карбоплатин (Vegopharm, РФ; 10,8 × 10⁻⁶ М), метотрексат (Ebewe Pharma, Австрия; 11,0 × 10⁻⁵ М), темозоломид (Orion Pharma, Финляндия; 10,3 × 10⁻⁶ М), цитарабин (Белмедпрепараты, РБ; 4,1 × 10⁻⁶ М), этопозид (Ebewe Pharma, Австрия; 1,6 × 10⁻⁶ М) [10] и циклофосфамид (Белмедпрепараты, РБ; 30,6 × 10⁻⁶ М) [10]. Приведенные концентрации цитостатических средств были пересчитаны из терапевтических на площадь чашки Петри (10 см²).

Оценка чувствительности клеток к химиопрепаратам

По прошествии 1 сут после воздействия химиопрепаратов на посевах неопластических клеток оценивали их чувствительность к цитостатическим средствам на основе изучения гибели клеток, визуализируемой по поглощению 0,2 % раствора трипанового синего (Alta Aesar, Германия) в камере Горяева (Минимед, РФ) [16]. Общее количество посевов составило 3144.

С целью сравнительного анализа чувствительности клеток к химиопрепаратам и учета спонтанной их гибели в необработанных посевах рассчитывали индекс цитотоксичности (ИЦ) химиопрепаратов по формуле:

$$N_{\%} = (1 - \text{Опыт/Контроль}) \times 100$$

где N_% – ИЦ препаратов, опыт – выживаемость клеток при действии химиопрепаратов, контроль – выживаемость клеток в контроле [17].

Статистическая обработка данных

Каждый эксперимент проводили не менее чем в 3 (3–5) независимых повторах. Результаты представляли как среднее арифметическое ± стандартная ошибка среднего для выборки объема *n* ($M \pm m$). Для сравнения 2 групп со сравнительно большим объемом выборки (*n* > 50) по выраженности количественных признаков применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA one-way) и F-критерий (Фишера) [18]. Предварительно каждую выборку проверяли на нормальность (распределение Гаусса) по критерию Колмогорова–Смирнова/Лиллифора и на однородность дисперсий по F-критерию. Вариабельность признаков оценивали по величине стандартного квадратического отклонения (σ, «сигма»). Достоверность различий по указанному параметру оценивали с помощью относительного стандартного отклонения и F-критерия. Используя двухфакторный дисперсионный анализ с повторениями (ANOVA two-way) попарно оценивали достоверность зависимости между фактором «пациент» и ИЦ химиопрепаратов. Применяя двухфакторный дисперсионный анализ без повторений (ANOVA two-way) попарно оценивали достоверность между ИЦ химиопрепаратов и такими факторами, как гистологический тип. С помощью МГК установлены профили цитотоксичности химиопрепаратов у групп пациентов с нейроэпителиальными новообразованиями. Исходные данные представлены в виде двумерной таблицы значений ИЦ, где строки содержат результаты для пациентов, а колонки – для химиопрепаратов. Для оценки целесообразности применения МГК использовался критерий правдоподобия для проверки гипотезы о диагональном виде ковариационной матрицы исходных данных [19]. Перед применением МГК выполнена процедура стандартизации данных (центрирование и шкалирование). Анализ данных с использованием МГК выполнен в MatLab.

Таблица 1. ИЦ обособленного односуточного действия химиопрепаратов на клетки нейроэпителиальных опухолей

Серия экспериментов	Пилоцитарная астроцитома	Анапластическая астроцитома	Глиобластома	Медуллобластома
Винкристин	39,2 ± 19,7	36,8 ± 16,7	38,1 ± 19,7	37,8 ± 19,2
Карбоплатин	46,6 ± 25,6	55,0 ± 26,0	33,8 ± 18,2	39,9 ± 19,9
Метотрексат	46,4 ± 21,4	29,7 ± 17,7	43,2 ± 22,8	41,6 ± 19,5
Темозоломид	52,5 ± 13,8	46,0 ± 18,2	33,6 ± 19,0	34,2 ± 18,5
Циклофосфамид	46,0 ± 20,5	44,2 ± 23,9	37,7 ± 24,4	45,7 ± 21,3
Цисплатин	51,0 ± 23,8	44,0 ± 23,9	45,8 ± 15,7	47,3 ± 23,4
Цитарабин	46,1 ± 22,0	45,3 ± 17,3	41,0 ± 21,4	41,1 ± 21,6
Этопозид	46,8 ± 19,3	49,7 ± 23,0	51,1 ± 18,3	39,2 ± 21,3

Примечание. Здесь результаты представлены как среднее арифметическое ИЦ ± среднее квадратическое отклонение.

Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$. Для проведения описательной статистики и оценки достоверности различий между 2 группами данных использовали программу StatPlus 2005 пакета Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Чувствительность к химиопрепаратам изучена на первичных культурах клеток пилоцитарной и анапластической астроцитом, глио- и медуллобластом. Табл. 1 документирует индивидуальную чувствительность клеток интракраниальных неоплазий к химиопрепаратам, которая представлена величиной среднего квадратического отклонения и вариабельностью ИЦ химиопрепаратов, значения которого находились в широком диапазоне.

Применение двухфакторного дисперсионного анализа с повторениями (ANOVA two-way) позволило выявить, что основным фактором, оказывающим влияние на химиочувствительность, является фактор «пациент» (табл. 2).

Из данных табл. 2 следует, что наибольшее достоверное воздействие на ИЦ химиопрепаратов фактор «пациент» оказывал для лиц, страдающих пилоцитарной астроцитомой ($p = 1,4 \times 10^{-140}$), наименьшее – для пациентов с глиобластомой ($p = 7,4 \times 10^{-13}$) и анапластической астроцитомой ($p = 7,6 \times 10^{-13}$), промежуточное – для пациентов с медуллобластомой. Данные табл. 2 позволяют установить зависимость степени

влияния механизма действия цитостатических средств от фактора «пациент». Показано, что действие химиопрепаратов, принадлежащих к группе I (цисплатин, карбоплатин, циклофосфамид), в наибольшей мере зависело от фактора «пациент». Среди типов новообразований действие цитостатических средств группы I зависело от фактора «пациент» в наибольшей степени – у лиц с пилоцитарной астроцитомой, в наименьшей – у больных глиобластомой.

Применение МГК позволило определить координаты химиочувствительности опухолевых клеток всех пациентов в Z-мерном пространстве главных компонент. Матрица диаграмм рассеяния для ИЦ, построенная на основе исходных данных, представлена на рис. 1.

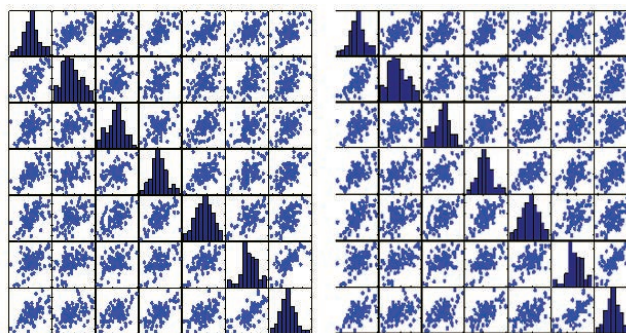


Рис. 1. Матрица диаграмм рассеяния для ИЦ химиопрепаратов (слева направо и сверху вниз: диаграммы/гистограммы (по диагонали) ИЦ для цисплатина, карбоплатина, метотрексата, цитарабина, этопозид, циклофосфамида, винкристина)

Таблица 2. Зависимость ИЦ химиопрепаратов от фактора «пациент» и гистологического типа опухоли

Тип опухоли	df	ИЦ химиопрепаратов, уровень значимости, p	Группы химиопрепаратов в зависимости от механизма действия, уровень значимости, p		
			I	II	III, IV
Фактор «пациент» и гистологический тип	679	$4,4 \times 10^{-187}$	$2,3 \times 10^{-66}$ (194)	$5,0 \times 10^{-44}$ (97)	$1,7 \times 10^{-41}$ (97)
Пилоцитарная астроцитом	287	$1,4 \times 10^{-140}$	$7,1 \times 10^{-58}$ (82)	$1,8 \times 10^{-35}$ (41)	$3,2 \times 10^{-34}$ (41)
Анапластическая астроцитом	56	$7,6 \times 10^{-13}$	$2,4 \times 10^{-6}$ (16)	$4,8 \times 10^{-2}$ (8)	$1,7 \times 10^{-3}$ (8)
Глиобластома	56	$7,4 \times 10^{-13}$	$3,6 \times 10^{-5}$ (16)	$2,0 \times 10^{-3}$ (8)	$1,9 \times 10^{-5}$ (8)
Медуллобластома	259	$6,8 \times 10^{-45}$	$2,0 \times 10^{-12}$ (74)	$3,9 \times 10^{-12}$ (37)	$2,3 \times 10^{-9}$ (37)

Примечание. Жирным шрифтом обозначены достоверные значения уровня значимости $p < 0,05$. В столбце df и в скобках – число степеней свободы для посевов опухолей пациентов, подвергнутых воздействию химиопрепаратов. Цифры в столбцах, например, $4,4 \times 10^{-187}$ указывают на достоверность фактора «пациент». Цифры I, II, III и IV означают группы химиопрепаратов в зависимости от фазы клеточного цикла и механизма действия. К группе I были отнесены цисплатин, карбоплатин и циклофосфамид – эти препараты алкилируют дезоксирибонуклеиновую кислоту и действие их не зависит от фазы клеточного цикла. К группе II отнесены метотрексат и цитарабин, действие которых реализуется в S-фазе цикла. К группам III и IV отнесены этопозид и винкристин соответственно, действие которых зависит от G2- и M-фаз цикла.

Пример расположения пациентов в пространстве первых 3 главных компонент представлен на рис. 2.

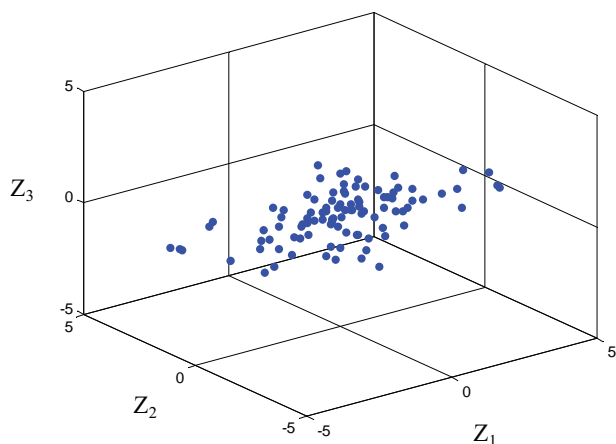


Рис. 2. Диаграмма рассеяния для пациентов в пространстве первых 3 главных компонент

Относительная доля разброса, приходящаяся на первую главную компоненту, — 62,4 %, на 2-ю — 9,1 % и на 3-ю — 8,3 %. Для определения профилей кластеров данных в направлениях осей главных компонент выделены пороговые значения $T_1 = g(Z_1)$ и $T_2 = g(Z_i)$, $i = 1, 2, 3$, $g(Z_i)$ — среднеквадратическое отклонение по главной компоненте i . Пороговые значения выбраны из условия примерного разбиения данных на равные группы. Результаты анализа данных в терминах первых 3 главных компонент представлены на рис. 3.

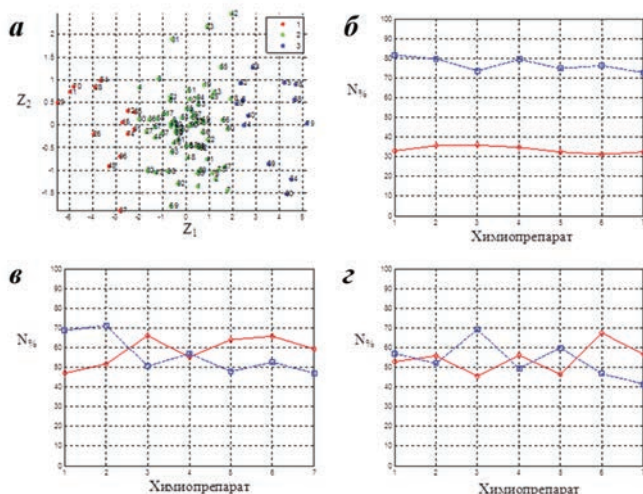


Рис. 3. Диаграмма расположения групп пациентов в пространстве первых 2 главных компонент (а) и средние профили ИЦ химиопрепаратов в положительном (—□—) и отрицательном (—◇—) направлениях осей главных компонент Z_1 (б), Z_2 (в) и Z_3 (г). Цифрами на рис. а обозначены номера пациентов; на рис. б–г химиопрепараты: 1 — цисплатин, 2 — карбоплатин, 3 — метотрексат, 4 — цитарабин, 5 — этопозид, 6 — циклофосфамид, 7 — винкристин

МГК позволяет выявить главные компоненты (факторы), от которых в наибольшей степени зависит чувствительность клеток опухолей к химиопрепаратам у пациентов и сформировать в соответствии этим компонентам группы пациентов. Данные по первой главной компоненте (рис. 3б) констатируют наличие групп пациентов в зависимости от чувствительности клеток их опухолей к применению *in vitro* химиопрепаратов: клетки пациентов с «высоким» профилем (ИЦ — 70–80 %) оказались в наибольшей степени чувствительны ко всем цитостатическим средствам; клетки лиц «среднего» профиля (ИЦ — 50–60 %) проявляли одинаково умеренную чувствительность к химиопрепаратам за исключением винкристина; клетки пациентов «низкого» профиля (ИЦ — 30–40 %) в наибольшей степени были чувствительны к карбоплатину, в наименьшей — к цитарабину. Применение статистических методов анализа позволило сгруппировать пациентов в зависимости от чувствительности клеток их опухолей к линейке используемых препаратов и на основании этого выявить общие закономерности химиочувствительности для каждой из указанных групп. Использование МГК даст возможность клиницистам выявлять группы пациентов с различным уровнем химиочувствительности, а в пределах каждой группы — наиболее и наименее эффективные химиопрепараты, основываясь на персонализированной чувствительности клеток неоплазий. Эти данные помогут клиницистам не назначать один и тот же препарат больным, попавшим в разные группы по эффективности, а подбирать для каждой группы пациентов наиболее эффективные химиопрепараты и избегать назначения заведомо неэффективных.

Анализ данных в координатах главной компоненты Z_2 позволил выделить другие кластеры данных (рис. 3в). Анализ данных по 2-й главной компоненте (рис. 3в) позволяет выявить группы пациентов с антагонистическим характером воздействия химиопрепаратов. Это даст возможность клиницистам в случае одинакового диагноза (например, у всех лиц — медуллобластома) подобрать или скорректировать протоколы химиотерапии: выбрать такие химиопрепараты, которые оказывают наибольший цитотоксический эффект на опухоль у конкретного пациента, и исключить из терапии препараты с низкой эффективностью или комбинации химиопрепаратов, проявляющих взаимоиингибирующий эффект на клетки опухоли. Анализ групп больных в координатах главной компоненты Z_3 также выявляет кластеры пациентов с диаметрально противоположной чувствительностью к химиопрепаратам (рис. 3г). В этом случае наибольшие различия в ИЦ между группами больных наблюдали не для цисплатина и карбоплатина, как на рис. 3в, а для циклофосфамида и винкристина (рис. 3г).

В последние годы МГК находит применение в онкологии, главным образом для оценки общей или безрецидивной выживаемости онкологических пациентов в зависимости от экспрессии маркерных генов [15, 20, 21] или предсказания чувствительности, устойчивости неопластических клеток к химиопрепаратам [8]. J.M. Grunda et al. использовали МГК для выявления 2 групп среди 19 пациентов с глиобластомой, существенно отличающихся по продолжительности безрецидивного периода ($p = 0,005$) и общей выживаемости ($p = 0,015$) в зависимости от экспрессии 24 генов. Экспрессия восьми из которых (*RAD54B*, *mTOR*, *DCTD*, *APEX2*, *TK1*, *RRM2*, *SLC29A1*, *ERCC6*) коррелировала с исходом пациентов со 100 % частотой. Высокий уровень экспрессии указанных генов коррелировал с плохим прогнозом пациентов, а низкий — с благоприятным [20]. Применение МГК позволяет выявить из группы тех онкологических пациентов, которые оказались чувствительными или резистентными к проводимой химиотерапии на основании ряда признаков. Например, в работе M. Bredel et al. [15] использование МГК позволило разделить 31 пациента с глиобластомой на группы «чувствительных» и «устойчивых» к темозоломиду и нитрозомочевине в зависимости от экспрессии 186 генов, отвечающих за гибель (36), развитие (35), движение и морфологию (35) клеток, клеточный цикл (35), рост, пролиферацию (35) и межклеточные взаимодействия (10). В другом исследовании [8] МГК в сочетании с преобразованием Фурье для инфракрасной спектроскопии (FTIR) применяли для выявления групп чувствительных и резистентных клеток, устойчивых к цисплатину в клеточных линиях A2780 карциномы яичников человека. По мнению авторов, такая технология может стать новым инструментом в диагнозе опухолей и определении стадий

злокачественности раковых тканей [8]. Результаты авторов статьи согласуются и дополняют исследования выше цитируемых авторов и показывают возможность определения пациентов по группам в зависимости от ответа *in vitro* клеток их опухолей на применяемые химиопрепараты. Впервые для анализа МГК были использованы культуры клеток, полученные от пациентов детского и подросткового возраста, страдающих опухолями головного мозга (медуллобластомой, глиобластомой, анапластической астроцитомой), а в качестве основного показателя для анализа применили профиль цитотоксической эффективности всех тестируемых химиопрепаратов для конкретного пациента.

Выводы

Применение МГК к данным о персонализированной чувствительности клеток нейроэпителиальных опухолей к химиопрепаратам позволяет выявить: 1) группы пациентов с высокой, средней и низкой восприимчивостью клеток неоплазий к цитостатическим препаратам; 2) препараты с противоположно направленной цитотоксической эффективностью в группе больных. Это даст возможность клиницистам использовать индивидуальный подход к выбору наиболее эффективных химиопрепаратов для конкретного пациента, заблаговременно удаляя из протоколов низкоэффективные цитостатические средства или их комбинации. Использование методов двухфакторного дисперсионного анализа статистически подтверждает, что основным фактором, влияющим на химиочувствительность клеток неоплазий, является фактор «пациент». Дополнительно восприимчивость клеток опухолей к химиопрепаратам зависит от гистологического типа новообразования.

ЛИТЕРАТУРА

- Rutkowski S., von Bueren A., von Hoff K. et al. Prognostic relevance of clinical and biological risk factors in childhood medulloblastoma: results of patients treated in the prospective multicenter trial HIT'91. *Clin Cancer Res* 2007;13(9):2651–7.
- The World of Health Organization [Electronic resource], 2012. Mode of access: <http://www.who.int/cancer/about/facts/ru>. Data of access: 23.03.2015.
- International agency for research of cancer, Globocan, the World of Health Organization [Electronic resource], 2012. Mode of access: www.globocan.iarc.fr. Data of access: 23.03.2015.
- Safdie F., Brandhorst S., Wei M. et al. Fasting enhances the response of glioma to chemo- and radiotherapy. *PLoS One* 2012;7(9):e44603.
- Konoplia N.E., Strongin Iu.S., Talabaev M.V., Aleinikova O.V. Effectiveness of intensive chemotherapy in the treatment of medulloblastoma/primitive neuroectodermal tumor in children. *Vopr Onkol* 2008;54(2):157–63.
- Tomlinson F.H., Lihou M.G., Smith P.J. Comparison of *in vitro* activity of epipodophyllotoxins with other chemotherapeutic agents in human medulloblastomas. *Brit J Cancer* 1991;64(6):1051–9.
- Yung W.K. *In vitro* chemosensitivity testing and its clinical application in human gliomas. *Neurosurg Rev* 1989;12(3):197–203.
- Zendehdel R., Masoudi-Nejad A., Mohammadzadeh J. et al. Cisplatin resistant patterns in ovarian cell line using FTIR and principle component analysis. *Iranian J Pharmaceutical Res* 2012;11(1):235–40.
- Иншаков А.Н. Фармакодинамическое моделирование чувствительности опухолевых клеток хронического лимфолейкоза и множественной миеломы к химиопрепаратам *in vitro*. Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.12. ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. М., 2012. [Inshakov A.N. Pharmacodynamic modeling of the sensitivity of tumor cell chronic lymphocytic leukemia and multiple myeloma to chemotherapy drugs *in vitro*. Dissert. PhD: 14.01.12. N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center. M., 2012. (In Russ.)].
- Свирновский А.И., Сергиенко Т.Ф., Пасюков В.В. и др. Разработка принципов создания диагностического набора

- для оценки лекарственной чувствительности лейкозных клеток. Проблемы здоровья и экологии 2011;3:94–100. [Svirnovskiy A.I., Sergienko T.F., Pasyukov V.V. et al. Development of guidelines for creating a diagnostic kit for evaluating drug sensitivity of leukemic cells. *Problemy zdoroviya i ekologii* = *Problems of Health and Environment* 2011;3:94–100. (In Russ.)].
11. Jordan J.P., Hand C.M., Markowitz R.S. et al. Test for chemotherapeutic sensitivity of cerebral gliomas: use of colorimetric MTT assay. *J Neurooncol* 1992;14(1):19–35.
12. Fiebig H.H., Maier A., Burger A.M. Clonogenic assay with established human tumour xenografts. *Eur J Cancer* 2004;40(6):802–20.
13. Апшкальные Д.Л., Круминия Г.А., Кикут Р.П. и др. Результаты клинического применения методов индивидуальной чувствительности химиотерапевтических препаратов для лечения глиом. *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко* 1980;6:7–12. [Apshkalne D.L., Kruminiya G.A., Kikut R.P. et al. The clinical application of individual sensitivity of chemotherapeutic agents for the treatment of gliomas. *Voprosy neurokhirurgii im. N.N. Burdenko* = *Problems of Neurosurgery* named after N.N. Burdenko 1980;6:7–12. (In Russ.)].
14. Чернов А.Н., Калюнов В.Н. Оценка индивидуальной чувствительности клеток нейроэпителиальных опухолей к химиопрепаратам *in vitro*. *Евразийский онкологический журнал* 2015;1:84–96. [Chernov A.N., Kalyunov V.N. Evaluation of the sensitivity of individual cell neuroepithelial tumors to chemotherapy drugs *in vitro*. *Yevraziyskiy onkologicheskiy zhurnal* = *Eurasian Journal of Oncology* 2015;1:84–96. (In Russ.)].
15. Bredel M., Bredel C., Juric D. et al. Tumor necrosis factor- α -induced protein 3 as a putative regulator of nuclear factor- κ B-mediated resistance to O₆-alkylating agents in human glioblastomas. *J Clin Oncol* 2006;24:274–87.
16. Божкова В.П., Викторов И.В., Брежестовский Л.А. и др. Руководство по культивированию нервной ткани. Методы. Техника. Проблемы. М.: Наука, 1988. [Bozhkova V.P., Viktorov I.V., Brezhestovskiy L.A. et al. Guide culturing neural tissue. *Methods. Equipment. Problems*. М.: Nauka, 1988. (In Russ.)].
17. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под редакцией А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. [Guidelines for conducting pre-clinical studies of drugs. Part one. Ed.: A.N. Mironov. М.: Grif & K, 2012. (In Russ.)].
18. *Biostatistics: A Methodology for the Health Sciences* (G. van Belle, P.J. Heagerty, L.D. Fisher, T.S. Lumley, eds.). John Wiley and Sons Inc., 2004.
19. Айвазян С.А., Бухштабер В.М., Енюков И.С. и др. *Прикладная статистика. Классификация и снижение размерности*. М.: Финансы и статистика, 1989. [Ayvazyan S.A., Bukhshtaber V.M., Yenyukov I.S. et al. *Applied statistics. Classification and dimension reduction*. М.: Finansy i statistika, 1989. (In Russ.)].
20. Grunda J.M., Fiveash J., Palmer Ch.A. et al. Rationally designed pharmacogenomic treatment using concurrent capecitabine and radiotherapy for glioblastoma; gene expression profiles associated with outcome. *Clin Cancer Res* 2010;16:2890–2.
21. Watanabe T., Suzuki T., Natsume M. et al. Discrimination of genotoxic and non-genotoxic hepatocarcinogens by statistical analysis based on gene expression profiling in the mouse liver as determined by quantitative real-time PCR. *Mutation Res* 2012;747:164–75.