



## ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ VEGF-A И TGF-β В БИОПТАТАХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЯЗЫКА И СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДНА ПОЛОСТИ РТА ПРИ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ – ЦЕТУКСИМАБОМ

О.И.Кит, Е.М.Франциянц, И.В.Нескубина, Л.Ю.Владимирова, А.А.Льянова, Ю.А.Погорелова, Е.В.Шалашная, М.А.Енгибарян, Ю.С.Сидоренко

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, д. 63

### Резюме

**Цель исследования.** Изучение факторов роста VEGF-A и TGF-β в биоптатах опухолевой ткани у больных плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта в зависимости от эффективности лечения полихимиотерапии с таргетным препаратом — цетуксимабом.

**Пациенты и методы.** В исследование были включены данные от 30 больных плоскоклеточным раком языка и слизистой дна полости рта cT3–4N0–1M0, St III–IV. Всем пациентам проводили 2 курса лечения: цисплатин 100 мг/м<sup>2</sup>, внутривенно, 1-й день, 5-фторурацил 1000 мг/м<sup>2</sup>/сут, внутривенно, 96-часовой непрерывной инфузией в сочетании с таргетной терапией (цетуксимаб 400 мг/м<sup>2</sup> в 1-й день в нагрузочной дозе, затем по 250 мг/м<sup>2</sup> в 8-й и 15-й дни). Были сформированы две подгруппы: с чувствительностью пациентов к полихимиотерапии с цетуксимабом (частичная регрессия и стабилизация) ( $n = 17$ ) и резистентностью соответственно (прогрессирование) ( $n = 13$ ). В биоптатах ткани опухоли больных методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных тест-систем определяли уровень ростовых факторов VEGF-A и TGF-β (Bender Med System, Австрия). Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (Stat-Soft, 2001).

**Результаты.** Проведение полихимиотерапии с цетуксимабом у части больных ( $n = 13$ ) не привело к статистически значимым изменениям уровней VEGF-A, TGF-β и значений коэффициента VEGF-A/TGF-β относительно исходных величин. У другой группы больных ( $n = 17$ ) исследуемые маркеры в биоптатах опухолевой ткани статистически значимо отличались от исходных значений: VEGF-A был снижен в 1,46 раза, TGF-β — в 2,96 раза, а коэффициент VEGF-A/TGF-β, напротив, повышен в 2 раза.

**Заключение.** Полученные результаты по содержанию факторов роста VEGF-A и TGF-β, а также коэффициента VEGF-A/TGF-β имеют определенную прогностическую ценность и могут быть использованы в качестве критериев для оценки эффективности противоопухолевой терапии у больных плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта.

### Ключевые слова:

VEGF-A, TGF-β, плоскоклеточный рак языка и слизистой оболочки дна полости рта, цетуксимаб, резистентность

### Оформление ссылки для цитирования статьи

Кит О.И., Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Владимирова Л.Ю., Льянова А.А., Погорелова Ю.А., Шалашная Е.В., Енгибарян М.А., Сидоренко Ю.С. Изучение содержания VEGF-A и TGF-β в биоптатах плоскоклеточного рака языка и слизистой оболочки дна полости рта при полихимиотерапии с моноклональными антителами – цетуксимабом. Исследования и практика в медицине. 2019; 6(3): 20-28. DOI: 10.17709/2409-2231-2019-6-3-2

### Для корреспонденции

Нескубина Ирина Валерьевна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, д. 63

E-mail: neskubina.irina@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

**Информация о финансировании.** Финансирование данной работы не проводилось.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 21.06.2019 г., принята к печати 08.08.2019 г.

## STUDY OF VEGF-A AND TGF- $\beta$ LEVELS IN BIOPSTATES OF SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE TONGUE AND MOUTH FLOOR MUCOSA IN POLYCHEMOTHERAPY WITH MONOCLONAL ANTIBODIES – CETUXIMAB

O.I.Kit, E.M.Frantsiyants, I.V.Neskubina, L.Yu.Vladimirova, A.A.Lyanova, Yu.A.Pogorelova, E.V.Shalashnaya, M.A.Engibaryan, Yu.S.Sidorenko

Rostov Research Institute of Oncology (RRIO), 63, 14 line, Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

### Abstract

**Aim.** Study of VEGF-A and TGF- $\beta$  growth factors in tumor tissue biopstates in patients with squamous cell carcinoma of the tongue and floor of the oral cavity depending on the effectiveness of polychemotherapy targeted therapy with cetuximab.

**Patients and methods.** The study included 30 patients with squamous cell carcinoma of the tongue and mouth floor mucosa (T3-4N0-1M0). All patients received 2 cycles of therapy: cisplatin 100 mg/m<sup>2</sup>, intravenously, day 1, 5-fluorouracil 1000 mg/m<sup>2</sup>/day, intravenously, 96-hour continuous infusion in combination with targeted therapy (cetuximab 400 mg/m<sup>2</sup> on day 1 in a loading dose, then 250 mg/m<sup>2</sup> on days 8 and 15). Patients were divided into two subgroups: target sensitivity of patients (partial regression and stabilization)  $n = 17$  and target resistance (progression)  $n = 13$ . Levels of growth factors VEGF-A and TGF- $\beta$  were determined in tumor tissue biopstates by ELISA using standard test systems (Bender Med System, Austria). Statistical processing of results was performed using the Statistica 6.0 program (Stat-Soft, 2001). **Results.** Polychemotherapy with cetuximab in some patients ( $n = 13$ ), antitumor therapy with cetuximab did not result in statistically significant changes in levels of VEGF-A, TGF- $\beta$  and the VEGF-A/TGF- $\beta$  ratio compared to the initial values. In other patients ( $n = 17$ ), the studied markers in tumor tissue biopstates were statistically significantly different from the initial values: VEGF-A was decreased by 1.46 times, TGF- $\beta$  by 2.96 times, while the VEGF-A/TGF- $\beta$  ratio was twice elevated.

**Conclusions.** The results on levels of growth factors VEGF-A and TGF- $\beta$ , as well as the VEGF-A/TGF- $\beta$  ratio, are of a certain prognostic value and can be used as criteria for evaluating the efficacy of antitumor therapy in patients with squamous cell carcinoma of the tongue and mouth floor mucosa.

### Keywords:

VEGF-A, TGF- $\beta$ , squamous cell carcinoma of the tongue and mouth floor mucosa, cetuximab, resistance

### For citation

Kit O.I., Frantsiyants E.M., Neskubina I.V., Vladimirova L.Yu., Lyanova A.A., Pogorelova Yu.A., Shalashnaya E.V., Engibaryan M.A., Sidorenko Yu.S. Study of VEGF-A and TGF- $\beta$  levels in biopstates of squamous cell carcinoma of the tongue and mouth floor mucosa in polychemotherapy with monoclonal antibodies – cetuximab. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2019; 6(3): 20-28. DOI: 10.17709/2409-2231-2019-6-3-2

### For correspondence

Irina V. Neskubina, PhD (Biology), senior researcher, laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO)  
Address: 63, 14 line, Rostov-on-Don 344037, Russian Federation  
E-mail: nes kubina.irina@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

**Information about funding.** No funding of this work has been held.

**Conflict of interest.** Authors report no conflict of interest.

Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) находится на 6-м месте по распространенности среди всех злокачественных новообразований в мире. Ежегодное число вновь заболевших данной патологией оценивается в 600 тыс. случаев. По данным онкологической базы GLOBOCAN, в мире ежегодно регистрируется 354 864 новых пациента и 177 384 смерти [1]. Плоскоклеточные карциномы головы и шеи возникают за счет генетических нарушений, которые связаны с факторами экологического риска, а также с чрезмерным употреблением алкоголя и табака. Плоскоклеточная карцинома полости рта остается основной причиной заболеваемости и смертности у пациентов с опухолями головы и шеи. Число вновь заболевших в России за 2018 г. составляет 28,5 на 100 тыс. населения в год, а смертность — 34,2 соответственно [2].

Схемы химиотерапии для опухолей головы и шеи включают в себя использование комбинаций химиотерапевтических агентов, таких как цисплатин и доцетаксел (DC), и схемы PF (цисплатин + фторурацил), с использованием препаратов фторпиримидинового ряда 5-фторурацила, которые актуальны по сегодняшний день [3]. Однако эффективность лечения на основе цисплатина может быть снижена, поскольку пациенты приобретают лекарственную устойчивость [4, 5]. Другими исследователями была проведена работа, в результате которой была выявлена связь между отдаленными результатами лечения и клиническими, некоторыми морфологическими и генетическими предикторами у пациентов с ПРГШ, получавших химиолучевое лечение [6].

Чувствительность пациентов к проводимому лечению противоопухолевыми препаратами коррелирует с индивидуальными характеристиками пациентов и генетическими различиями среди опухолевых клеток, принадлежащих к одной и той же опухоли. Этот феномен называется гетерогенностью опухолей. Важно отметить, что взаимодействие между этими факторами создает ограниченную комбинацию генетических изменений, и, следовательно, чувствительность и устойчивость неопластических клеток к лечению могут варьироваться у разных индивидуумов [7, 8].

Цетуксимаб представляет собой химерное моноклональное антитело, которое связывается с внеклеточными доменами рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). Этот препарат блокирует активацию рецептора, предотвращая опосредованное тирозинкиназой фосфорилирование белка, что приводит к антителозависимой клеточной цитотоксичности. Основными противоопухолевыми эффектами цетуксимаба являются активация апоптоза, ингибирование клеточного цикла, блокирование инвазии опухолевых клеток и ангиогенеза

[9]. Несмотря на то что EGFR экспрессируется почти в 100% случаев при ПРГШ, однако не у всех пациентов отмечается эффект на проводимое лечение ингибиторами EGFR [10].

Резистентность к химиотерапии и поиск биомаркеров, способных выявить возможную устойчивость опухоли к той или иной химиотерапии, являются актуальной проблемой. Достигнуты определенные успехи в этом направлении, так, рядом авторов в качестве прогностического фактора было предложено использовать избыточную экспрессию мутантного p53 [11]. Другими исследователями было рекомендовано ориентироваться на полиморфизм металлопротеиназы-3 в реакции на химиотерапию у пациентов с HNSCC [12]. Таким образом, предпринимаются попытки использования биомаркеров для выявления резистентности к противоопухолевому лечению.

Известно, что в противоопухолевом лечении у пациентов с ПРГШ используют цетуксимаб, и рядом авторов было показано улучшение у пациентов с рецидивами и метастазами, увеличение выживаемости в сочетании с лучевой терапией и химиотерапией. Однако была отмечена и значительная частота рецидивов после того, как было установлено, что лечение связано с лекарственной устойчивостью, опосредованной EGFR [13–15]. Избыточная экспрессия EGFR коррелирует с плохим прогнозом лечения в 80–90% случаев при ПРГШ. Это указывает на то, что сверхэкспрессия EGFR связана с увеличением пролиферации, миграции и резистентности к апоптозу опухолевых клеток [16]. Цетуксимаб обладает высоким сродством к эпидермальному фактору роста и/или к TGF и, взаимодействуя с экстрацеллюлярным доменом рецептора EGFR, блокирует лиганд-индуцированный процесс фосфорилирования EGFR [17]. Прекращается подача сигнала к ядру клетки и, соответственно, происходит подавление пролиферации клетки, ангиогенеза, опухолевой инвазии, метастазирования с одновременной стимуляцией апоптоза и повышением чувствительности клетки к лучевой терапии и химиотерапии [17].

Плоскоклеточные карциномы головы и шеи представлены различными клеточными популяциями в опухоли, которые отличаются друг от друга, что связано с генетическими особенностями опухоли и метастатическим потенциалом [18]. Опухоли, которые проявляют терапевтическую резистентность, могут происходить из устойчивых раковых стволовых клеток (CSCs) или из опухолевых клеток с фенотипом эпителиально-мезенхимального перехода (EMT), который способствует потере межклеточных контактов, тем самым приобретая фенотип мезенхимы и способность перемещаться к мезенхиме [19–21]. Эпителиально-мезенхимальный переход

представляет собой обратимый клеточный процесс, который индуцируется главным образом паракринным механизмом «малых молекул», связанных с фибробластами и с опухолью, где TGF-β1 является одним из наиболее важных медиаторов в индукции EMT [22]. TGF-β1 взаимодействует с аналогичными рецепторами TGF-β1 типа I и II, тирозинкиназы, которые активируют сигнальные пути Smad-2 и -3, образуя комплексы с Smad-4, а они, в свою очередь, действуют как факторы транскрипции, связанные с активацией EMT [23].

Таким образом, учитывая все вышесказанное, полагаем, что оценка эффективности лечения с привлечением различных биологических факторов, с помощью которых можно было бы судить об изменениях, происходящих непосредственно в самой опухоли до лечения и на его этапах, является весьма актуальной.

**Цель исследования** — изучение факторов роста VEGF-A и TGF-β в биоптатах опухолевой ткани у больных плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта в зависимости от эффективности лечения полихимиотерапии с таргетным препаратом — цетуксимабом.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены данные от 30 больных местнораспространенным плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта (23 мужчины, 7 женщин, T3 – 4N0–1M0, StIII–IV, 42–76 лет). По системе TNM пациенты были распределены следующим образом: с T3N0M0 – 13 пациентов, что составило 43,3%, с T3N1M0 – 7 пациентов (23,3%), с T4N0M0 – 7 пациентов (23,3%), с T4N1M0 – 3 пациента (10,1%). Всем пациентам было проведено 2 курса полихимиотерапии (ПХТ) в сочетании с таргетной терапией цетуксимабом, а именно: цисплатин 100 мг/м<sup>2</sup>, внутривенно, 1-й день, 5-фторурацил 1000 мг/м<sup>2</sup>/сут, внутривенно, 96-часовой непрерывной инфузией в сочетании с таргетной терапией (цетуксимаб 400 мг/м<sup>2</sup> в 1-й день в нагрузочной дозе, затем по 250 мг/м<sup>2</sup> в 8-й и 15-й дни).

В каждом конкретном случае было получено добровольное информированное согласие больных на использование биологических материалов для проведения научных исследований.

По результатам двух курсов противоопухолевого лечения были сформированы две подгруппы: с чувствительностью к полихимиотерапии с цетуксимабом (частичная регрессия и стабилизация) ( $n = 17$ ) и резистентностью к полихимиотерапии с цетуксимабом (прогрессирование) ( $n = 13$ ). По системе TNM

пациенты с чувствительностью к проводимому лечению были распределены следующим образом: с T3N0M0 – 7 пациентов (41,1%), с T3N1M0 – 4 пациента (23,5%), с T4N0M0 – 4 пациента (23,5%), с T4N1M0 – 2 пациента (11,9%). А в случае с резистентностью: с T3N0M0 – 6 пациентов (46,1%), с T3N1M0 – 3 пациента (23,07%), с T4N0M0 – 3 пациента (23,07%), с T4N1M0 – 1 пациент (7,76%).

Всем больным до и после лечения производилась биопсия опухоли. Из биоптатов ткани опухоли получали 1% цитозольные фракции, приготовленные на 0,1 М калий-фосфатном буфере pH 7.4, содержащем 0,1% Твин-20 и 1% БСА, в которых с помощью стандартных тест-систем методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровень ростовых факторов VEGF-A (пг/мл) и TGF-β (пг/мл) (Bender Med System, Австрия).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (Stat-Soft, 2001). Полученные данные подвергали анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка (для малых выборок). Сравнение выборочных средних проводили по t-критерию Стьюдента и считали статистически значимым при  $p < 0,05$ . Данные таблиц представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — арифметическое среднее значение, а  $m$  — стандартная ошибка среднего.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У всех больных ( $n = 30$ ) до начала лечения была выполнена биопсия опухоли с количественным определением VEGF-A и TGF-β. В ходе статистической обработки полученных данных принципиальных различий выявлено не было, несмотря на то, что определяемые маркеры больше предназначены для индивидуального прогнозирования. Так, min–max значения уровня VEGF-A находились в диапазоне 654,9–768 пг/мл, TGF-β — 1578–1819 пг/мл, значения коэффициента соотношения VEGF-A/TGF-β — 0,392–0,446. В связи с чем было принято решение при описании результатов не разделять фоновые значения исследуемых маркеров по группам больных в зависимости от чувствительности к химиотерапии, а рассматривать в единой группе как фоновые. После проведенного лечения (2 курса полихимиотерапии с цетуксимабом) у больных плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта была произведена повторная биопсия ткани опухоли с определением уровня VEGF-A, TGF-β и получены разнородные данные по их содержанию. В связи с этим был проведен анализ результатов лечения больных

по ответу на проводимое лечение согласно критериям RECIST 1.1 и сопоставлен с уровнем факторов роста — VEGF-A, TGF- $\beta$ , значениями коэффициента соотношения VEGF-A/TGF- $\beta$  по каждому больному. Как оказалось, у части больных ( $n = 13$ ) после лечения содержание VEGF-A, TGF- $\beta$  и значения коэффициента VEGF-A/TGF- $\beta$  статистически значимо не отличались от значений до начала лечения (таблица). При сопоставлении уровня исследуемых маркеров с клиническим ответом после лечения по каждому больному оказалось, что у этих больных было прогрессирование злокачественного процесса, т.е. состояние резистентности к проводимой противоопухолевой терапии.

Совершенно другая реакция на ПХТ с цетуксимабом наблюдалась у пациентов в том случае, когда исследуемые маркеры в биоптатах опухолевой ткани больных ( $n = 17$ ) статистически значимо отличались от фоновых значений. В этом случае уровень VEGF-A был снижен в 1,46 раза, TGF- $\beta$  — в 2,96 раза, а коэффициент VEGF-A/TGF- $\beta$ , напротив, повышен в 2 раза. По отношению к значениям в группе больных с резистентностью к ПХТ с цетуксимабом у больных с чувствительностью к ПХТ с цетуксимабом уровень VEGF-A был ниже в 1,39 раза, TGF- $\beta$  — в 3 раза, а коэффициент VEGF-A/TGF- $\beta$  — увеличен в 2,2 раза. У больных с такими изменениями VEGF-A, TGF- $\beta$  и соотношения VEGF-A/TGF- $\beta$  было зафиксировано уменьшение размеров опухоли по критериям RECIST 1.1, что соответствовало частичной регрессии и стабилизации опухолевого очага, а значит, и чувствительности к ПХТ с цетуксимабом.

Отдельно хотелось бы остановиться на анализе содержания VEGF-A, TGF- $\beta$  в биоптатах опухолевой ткани и клинического ответа пациентов на ПХТ с цетуксимабом. Зафиксированные различия в со-

держании факторов роста VEGF-A — 1,39 раза и TGF- $\beta$  — 3 раза между двумя группами больных (резистентность к ПХТ с цетуксимабом и чувствительность к ПХТ с цетуксимабом) с местнораспространенным злокачественным процессом, по всей видимости, являются существенными для того, чтобы ответ пациента на проводимое лечение имел положительный клинический результат. Несмотря на то что цетуксимаб в применяемой схеме ПХТ влияет на EGFR-сигнальный путь [9, 10], полагаем, что опосредованно происходит снижение и VEGF-A, даже не столь ощутимо, но, по всей видимости, оно соотносится с уменьшением размеров опухоли или стабилизацией. Основанием для такого предположения послужили работа D. Zepeda-Orozco et al. [24], в которой авторы на культуре клеток определили механизм сигнализации, связанный с EGФ-опосредованной секрецией VEGF-A, а также работа R. S. Herbst, W. K. Hong [25], в данном исследовании на этапе доклинических испытаний цетуксимаба (моноклональное антитело — IMC-C225) не исключается его эффективность в ингибировании ангиогенеза. Применяемая ПХТ с цетуксимабом более существенно повлияла и на уровень TGF- $\beta$ . Согласно представленным результатам, на данном этапе работы мы не можем дифференцировать, изменения какого из исследуемых маркеров в ткани опухоли влияют на уменьшение размеров опухолевого узла, или какой из препаратов в схеме лечения подействовал на изучаемые факторы роста. Предпринятая попытка представить объективные результаты по ответу организма на включение цетуксимаба в схему противоопухолевой терапии у больных местнораспространенным плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта является сигналом о существующей опасно-

**Таблица. Содержание факторов роста в биоптатах опухолевой ткани до и после двух курсов полихимиотерапии с цетуксимабом**

**Table. The content of growth factors in tumor tissue bioplates before and after two courses of polychemotherapy with cetuximab**

Показатели/ Indices	До начала лечения/ Before treatment, $n = 30$	Резистентность к полихимиотерапии с цетуксимабом/Resistance to polychemotherapy with cetuximab, $n = 13$	Чувствительность к полихимиотерапии с цетуксимабом/Sensitivity to polychemotherapy with cetuximab, $n = 17$
VEGF-A, пг/мл	711,4 $\pm$ 56,3	680,3 $\pm$ 41,2	487,7 $\pm$ 26,11,2
TGF- $\beta$ , пг/мл	1697,8 $\pm$ 120,1	1773,7 $\pm$ 111,4	572,3 $\pm$ 34,71,2
VEGF-A/TGF- $\beta$	0,419 $\pm$ 0,027	0,384 $\pm$ 0,021	0,85 $\pm$ 0,0431,2

Примечание: <sup>1</sup> – статистически значимые различия  $p < 0,05$  по сравнению со значениями до лечения; <sup>2</sup> – статистически значимые различия  $p < 0,05$  между группами «резистентность к полихимиотерапии с цетуксимабом» и «чувствительность к полихимиотерапии с цетуксимабом».

Note: 1 – statistically significant differences  $p < 0.05$  compared with the values before treatment; 2 – statistically significant differences  $p < 0.05$  between the groups “resistance to polychemotherapy with cetuximab” and “sensitivity to polychemotherapy with cetuximab”.

сти возникновения резистентности к химиотерапии с применением цетуксимаба и своевременном изменении тактики противоопухолевого лечения.

Приведенный в работе коэффициент соотношения VEGF-A/TGF-β позволяет определить, по какому из путей сигнализации происходит торможение или прогрессирование злокачественного процесса: EMT или ангиогенному. VEGF-A является ключевым регулятором ангиогенеза [26]. Кроме того, VEGF-A опосредует проницаемость сосудов и связан с неоваскуляризацией в предметастатических нишах, т.е. участвует в процессе метастазирования [27]. Известно, что клетки плоскоклеточного рака полости рта могут напрямую индуцировать миофибробластный фенотип посредством секреции TGF-β. В свою очередь опухолевые клетки, подвергающиеся EMT, становятся инвазивными и развивают устойчивость к противоопухолевым агентам [28]. Рядом авторов было установлено, что клеточные линии рака легкого, подвергшиеся EMT, были нечувствительны к ингибиторам EGFR, таким как гефитиниб и цетуксимаб [29]. Другими авторами было выдвинуто предположение о том, что ингибирование EMT через TGF-β способно снизить возникновение устойчивости к противоопухолевым препаратам и повысить их

эффективность [28]. Полагаем, что под действием ПХТ с цетуксимабом подавляется не столько ангиогенез, сколько изменяется TGF-индуцированное состояние EMT опухолевой клетки. По нашему мнению, использование коэффициента соотношения VEGF-A/TGF-β может помочь клиницистам с выбором оптимального противоопухолевого лечения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основываясь на всем вышесказанном, полагаем, что определение уровней VEGF-A и TGF-β непосредственно в самой опухоли дает возможность адекватной оценки реакции опухоли на противоопухолевую терапию с возможностью мониторинга на этапах лечения, а выявленные различия являются тому подтверждением. Полученные результаты по содержанию факторов роста VEGF-A и TGF-β, а также коэффициента VEGF-A/TGF-β в опухолевой ткани имеют определенную прогностическую ценность [30] и могут быть использованы в качестве критериев для оценки эффективности противоопухолевой лекарственной терапии у больных плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта.

## Список литературы

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2018 Nov;68 (6):394–424. DOI: 10.3322/caac.21492
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. Под редакцией А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2019. 236 с. Доступно по: <http://www.oncology.ru/service/statistics/condition/2018.pdf>
3. Karabajakian A, Gau M, Reverdy T, Neidhardt EM, Fayette J. Induction Chemotherapy in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Question of Belief. *Cancers (Basel).* 2018 Dec 22;11 (1). pii: E15. DOI: 10.3390/cancers11010015.
4. Umeda M, Komatsubara H, Ojima Y, Minamikawa T, Shigeta T, Shibuya Y, et al. Lack of survival advantage in patients with advanced, resectable squamous cell carcinoma of the oral cavity receiving induction chemotherapy with cisplatin (CDDP), docetaxel (TXT) and 5-fluorouracil (5FU). *Kobe J Med Sci.* 2004;50 (5–6):189–96.
5. Higuchi E, Oridate N, Furuta Y, Suzuki S, Hatakeyama H, Sawa H, et al. Differentially expressed genes associated with CIS-diamminedichloroplatinum (II) resistance in head and neck cancer using differential display and cDNA microarray. *Head Neck.* 2003 Mar;25 (3):187–93. DOI: 10.1002/hed.10204
6. Бойко А.В., Геворков А.Р., Завалишина Л.Э., Носова Е.А., Плавник Р.Н. Прогностическая ценность клинических и морфологических характеристик в лучевом и комбинированном

- лечении рака языка. *Вопросы онкологии.* 2015;61 (1):90–5.
7. Suzuki M, Ishikawa H, Tanaka A, Mataga I. Heterogeneity of anticancer drug sensitivity in squamous cell carcinoma of the tongue. *Hum Cell.* 2011 Mar;24 (1):21–9. DOI: 10.1007/s13577-010-0004-x
8. Rai NP, Divakar DD, Al Kheraif AA, Ramakrishnaiah R, Mustafa SM, Durgesh BH, et al. Outcome of Palliative and Radical Radiotherapy in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma — A Retrospective Study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16 (16):6919–22. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.16.6919
9. Ohnishi Y, Minamino Y, Kakudo K, Nozaki M. Resistance of oral squamous cell carcinoma cells to cetuximab is associated with EGFR insensitivity and enhanced stem cell-like potency. *Oncol Rep.* 2014 Aug;32 (2):780–6. DOI: 10.3892/or.2014.3258
10. Ansell A, Jedlinski A, Johansson AC, Roberg K. Epidermal growth factor is a potential biomarker for poor cetuximab response in tongue cancer cells. *J Oral Pathol Med.* 2016 Jan; 45 (1):9–16. DOI: 10.1111/jop.12310.
11. Cutilli T, Leocata P, Dolo V, Altobelli E. Evaluation of p53 as a prognostic factor for oral cancer surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2013 Dec;51 (8):922–7. DOI: 10.1016/j.bjoms.2013.05.150
12. Blons H, Gad S, Zinzindohoue F, Maniere I, Beauregard J, Tregouet D, et al. Matrix Metalloproteinase 3 polymorphism: A predictive factor of response to neoadjuvant chemotherapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2004 Apr 15;10 (8):2594–9.

13. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Azarnia N, Shin DM, Cohen RB, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med.* 2006 Feb 9;354 (6):567–78. DOI: 10.1056/NEJMoa053422
14. Merlano M, Occelli M. Review of cetuximab in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ther Clin Risk Manag.* 2007 Oct;3 (5):871–6.
15. Ohnishi Y, Minamino Y, Kakudo K, Nozaki M. Resistance of oral squamous cell carcinoma cells to cetuximab is associated with EGFR insensitivity and enhanced stem cell-like potency. *Oncol Rep.* 2014 Aug;32 (2):780–6. DOI: 10.3892/or.2014.3258
16. Ma W, Concha-Benavente F, Santegoets SJAM, Welters MJP, Ehsan I, Ferris RL, van der Burg SH. EGFR signaling suppresses type 1 cytokine-induced T-cell attracting chemokine secretion in head and neck cancer. *PLoS One.* 2018 Sep 7;13 (9): e0203402. DOI: 10.1371/journal.pone.0203402
17. Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res.* 2001 Oct;7 (10):2958–70.
18. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis.* 2010 Jan;31 (1):27–36. DOI: 10.1093/carcin/bgp220.
19. La Fleur L, Johansson AC, Roberg K. A CD44<sup>high</sup>/EGFR<sup>low</sup> subpopulation within head and neck cancer cell lines shows an epithelial-mesenchymal transition phenotype and resistance to treatment. *PLoS One.* 2012;7 (9): e44071. DOI: 10.1371/journal.pone.0044071
20. Masui T, Ota I, Yook JI, Mikami S, Yane K, Yamanaka T, Hosoi H. Snail-induced epithelial-mesenchymal transition promotes cancer stem cell-like phenotype in head and neck cancer cells. *Int J Oncol.* 2014 Mar;44 (3):693–9. DOI: 10.3892/ijo.2013.2225.
21. Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF- $\beta$ -induced epithelial to mesenchymal transition. *Cell Res.* 2009 Feb;19 (2):156–72. DOI: 10.1038/cr.2009.5.
22. Xu LN, Xu BN, Cai J, Yang JB, Lin N. Tumor-associated fibroblast-conditioned medium promotes tumor cell proliferation and angiogenesis. *Genet Mol Res.* 2013 Nov 22;12 (4):5863–71. DOI: 10.4238/2013.November.22.14.
23. Katsuno Y, Lamouille S, Derynck R. TGF- $\beta$  signaling and epithelial-mesenchymal transition in cancer progression. *Curr Opin Oncol.* 2013 Jan;25 (1):76–84. DOI: 10.1097/CCO.0b013e32835b6371
24. Zepeda-Orozco D, Wen HM, Hamilton BA, Raikwar NS, Thomas CP. EGF regulation of proximal tubule cell proliferation and VEGF-A secretion. *Physiol Rep.* 2017 Sep;5 (18). pii: e13453. DOI: 10.14814/phy2.13453
25. Herbst RS, Hong WK. IMC-C225, an anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody for treatment of head and neck cancer. *Semin Oncol.* 2002 Oct;29 (5 Suppl 14):18–30. DOI: 10.1053/sonc.2002.35644
26. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol.* 2005 Feb 10;23 (5):1011–27. DOI: 10.1200/JCO.2005.06.081
27. Chen LT, Oh DY, Ryu MH, Yeh KH, Yeo W, Carlesi R, et al. Anti-angiogenic Therapy in Patients with Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: A Systematic Review. *Cancer Res Treat.* 2017 Oct;49 (4):851–868. DOI: 10.4143/crt.2016.176
28. Iwatsuki M, Mimori K, Yokobori T, Ishi H, Beppu T, Nakamori S, et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance. *Cancer Sci.* 2010 Feb;101 (2):293–9. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01419.x
29. Frederick BA, Helfrich BA, Coldren CD et al. Epithelial to mesenchymal transition predicts gefitinib resistance in cell lines of head and neck squamous cell carcinoma and non small cell lung carcinoma. *Mol Cancer Ther.* 2007 Jun;6 (6):1683–91. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-07-0138
30. Kit OI, Frantsiyants EM, Neskubina IV, Vladimirova LYu, L'yanova AA, Engibaryan MA, Shalashnaya EV, Volkova VL. Method of prognosing the efficacy of targeted cetuximab therapy in patients with squamous cell carcinoma of the tongue and mouth floor mucosa. *Ruspatent.* Patent application № 2019108624 from 25.03.2019, acknowledgements of receipt has been received. (In Russian).

## References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2018 Nov;68 (6):394–424. DOI: 10.3322/caac.21492
2. The status of cancer care for the population of Russia in 2018. Edited by Kaprin AD, Starinskii VV, Petrova GV. Moscow, 2019, 236 p. Available at: <http://www.oncology.ru/service/statistics/condition/2018.pdf> (In Russian).
3. Karabajakian A, Gau M, Reverdy T, Neidhardt EM, Fayette J. Induction Chemotherapy in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Question of Belief. *Cancers (Basel).* 2018 Dec 22;11 (1). pii: E15. DOI: 10.3390/cancers11010015.
4. Umeda M, Komatsubara H, Ojima Y, Minamikawa T, Shigeta T, Shibuya Y, et al. Lack of survival advantage in patients with advanced, resectable squamous cell carcinoma of the oral cavity receiving induction chemotherapy with cisplatin (CDDP), docetaxel (TXT) and 5-fluorouracil (5FU). *Kobe J Med Sci.* 2004;50 (5–6):189–96.
5. Higuchi E, Oridate N, Furuta Y, Suzuki S, Hatakeyama H, Sawa H, et al. Differentially expressed genes associated with CIS-diamminedichloroplatinum (II) resistance in head and neck cancer using differential display and cDNA microarray. *Head Neck.* 2003 Mar;25 (3):187–93. DOI: 10.1002/hed.10204
6. Boiko AV, Gevorkov AR, Zavalishina LE, Nosova EA, Plavnik RN. The prognostic value of clinical and morphological characteristics in radiation and combined treatment for tongue cancer. *Voprosy onkologii (Problems in Oncology).* 2015;61 (1):90–5. (In Russian).
7. Suzuki M, Ishikawa H, Tanaka A, Mataga I. Heterogeneity of anticancer drug sensitivity in squamous cell carcinoma of the

- tongue. *Hum Cell.* 2011 Mar;24 (1):21–9. DOI: 10.1007/s13577-010-0004-x
8. Rai NP, Divakar DD, Al Kheraif AA, Ramakrishnaiah R, Mustafa SM, Durgesh BH, et al. Outcome of Palliative and Radical Radiotherapy in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma — A Retrospective Study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16 (16):6919–22. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.16.6919
  9. Ohnishi Y, Minamino Y, Kakudo K, Nozaki M. Resistance of oral squamous cell carcinoma cells to cetuximab is associated with EGFR insensitivity and enhanced stem cell-like potency. *Oncol Rep.* 2014 Aug;32 (2):780–6. DOI: 10.3892/or.2014.3258
  10. Ansell A, Jedlinski A, Johansson AC, Roberg K. Epidermal growth factor is a potential biomarker for poor cetuximab response in tongue cancer cells. *J Oral Pathol Med.* 2016 Jan;45 (1):9–16. DOI: 10.1111/jop.12310.
  11. Cutilli T, Leocata P, Dolo V, Altobelli E. Evaluation of p53 as a prognostic factor for oral cancer surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2013 Dec;51 (8):922–7. DOI: 10.1016/j.bjoms.2013.05.150
  12. Blons H, Gad S, Zinzindohoue F, Maniere I, Beauregard J, Tregouet D, et al. Matrix Metalloproteinase 3 polymorphism: A predictive factor of response to neoadjuvant chemotherapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2004 Apr 15;10 (8):2594–9.
  13. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Azarnia N, Shin DM, Cohen RB, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med.* 2006 Feb 9;354 (6):567–78. DOI: 10.1056/NEJMoa053422
  14. Merlano M, Occelli M. Review of cetuximab in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ther Clin Risk Manag.* 2007 Oct;3 (5):871–6.
  15. Ohnishi Y, Minamino Y, Kakudo K, Nozaki M. Resistance of oral squamous cell carcinoma cells to cetuximab is associated with EGFR insensitivity and enhanced stem cell-like potency. *Oncol Rep.* 2014 Aug;32 (2):780–6. DOI: 10.3892/or.2014.3258
  16. Ma W, Concha-Benavente F, Santegoets SJAM, Welters MJP, Ehsan I, Ferris RL, van der Burg SH. EGFR signaling suppresses type 1 cytokine-induced T-cell attracting chemokine secretion in head and neck cancer. *PLoS One.* 2018 Sep 7;13 (9): e0203402. DOI: 10.1371/journal.pone.0203402
  17. Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res.* 2001 Oct;7 (10):2958–70.
  18. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis.* 2010 Jan;31 (1):27–36. DOI: 10.1093/carcin/bgp220.
  19. La Fleur L, Johansson AC, Roberg K. A CD44<sup>high</sup>/EGFR<sup>low</sup> subpopulation within head and neck cancer cell lines shows an epithelial-mesenchymal transition phenotype and resistance to treatment. *PLoS One.* 2012;7 (9): e44071. DOI: 10.1371/journal.pone.0044071
  20. Masui T, Ota I, Yook JI, Mikami S, Yane K, Yamanaka T, Hosoi H. Snail-induced epithelial-mesenchymal transition promotes cancer stem cell-like phenotype in head and neck cancer cells. *Int J Oncol.* 2014 Mar;44 (3):693–9. DOI: 10.3892/ijo.2013.2225.
  21. Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition. *Cell Res.* 2009 Feb;19 (2):156–72. DOI: 10.1038/cr.2009.5.
  22. Xu LN, Xu BN, Cai J, Yang JB, Lin N. Tumor-associated fibroblast-conditioned medium promotes tumor cell proliferation and angiogenesis. *Genet Mol Res.* 2013 Nov 22;12 (4):5863–71. DOI: 10.4238/2013.November.22.14.
  23. Katsuno Y, Lamouille S, Derynck R. TGF-β signaling and epithelial-mesenchymal transition in cancer progression. *Curr Opin Oncol.* 2013 Jan;25 (1):76–84. DOI: 10.1097/CCO.0b013e32835b6371
  24. Zepeda-Orozco D, Wen HM, Hamilton BA, Raikwar NS, Thomas CP. EGF regulation of proximal tubule cell proliferation and VEGF-A secretion. *Physiol Rep.* 2017 Sep;5 (18). pii: e13453. DOI: 10.14814/phy2.13453
  25. Herbst RS, Hong WK. IMC-C225, an anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody for treatment of head and neck cancer. *Semin Oncol.* 2002 Oct;29 (5 Suppl 14):18–30. DOI: 10.1053/sonc.2002.35644
  26. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol.* 2005 Feb 10;23 (5):1011–27. DOI: 10.1200/JCO.2005.06.081
  27. Chen LT, Oh DY, Ryu MH, Yeh KH, Yeo W, Carlesi R, et al. Anti-angiogenic Therapy in Patients with Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: A Systematic Review. *Cancer Res Treat.* 2017 Oct;49 (4):851–868. DOI: 10.4143/crt.2016.176
  28. Iwatsuki M, Mimori K, Yokobori T, Ishi H, Beppu T, Nakamori S, et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance. *Cancer Sci.* 2010 Feb;101 (2):293–9. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01419.x
  29. Frederick BA, Helfrich BA, Coldren CD et al. Epithelial to mesenchymal transition predicts gefitinib resistance in cell lines of head and neck squamous cell carcinoma and non small cell lung carcinoma. *Mol Cancer Ther.* 2007 Jun;6 (6):1683–91. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-07-0138
  30. Кит ОИ, Францьянц ЕМ, Нескубина ИВ, Владимирова ЛЮ, Лянова АА, Енгибарян МА, Шалашная ЕВ, Волкова ВЛ. «А method of predicting the effectiveness of targeted therapy with cetuximab in patients with squamous cell carcinoma of the tongue and oral mucosa». Priority information is obtained, the application № 2019108624 от 25.03.2019. (In Russian).

#### Информация об авторах:

Кит Олег Иванович, член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор, генеральный директор ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>

Франциянц Елена Михайловна, д. б. н., профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Нескубина Ирина Валерьевна, к. б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>  
Владимирова Любовь Юрьевна, д. м.н., профессор, руководитель отдела лекарственного лечения опухолей, руководитель отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 1 ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-6476>

Льянова Аза Ахмедовна, врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 1 ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8723-5897>

Погорелова Юлия Александровна, к. б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2674-9832>

Шалашая Елена Владимировна, к. б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7742-4918>

Енгигбарян Марина Александровна, к. м.н., заведующая отделением опухолей головы и шеи ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7293-2358>

Сидоренко Юрий Сергеевич, академик РАН, д. м.н., профессор, руководитель отдела опухолей репродуктивной системы ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт» Минздрава России. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8511-7280>

#### Information about authors:

Oleg I. Kit, Member Russian Academy of Sciences, MD, PhD, DSc, professor, general director Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>

Elena M. Frantsiyants, PhD, DSc (Biology), professor, deputy director general for science, head of laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID <https://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Irina V. Neskubina, PhD (Biology), senior researcher, laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

Lyubov Yu. Vladimirova, MD, PhD, DSc, professor, head of the department of drug treatment of tumors, head of the department of anticancer drug therapy No. 1, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-6476>

Aza A. Lyanova, oncologist, department of anticancer drug therapy No. 1, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8723-5897>

Yuliya A. Pogorelova, PhD (Biology), senior researcher, laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2674-9832>

Elena V. Shalashnaya, PhD (Biology), senior researcher, laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7742-4918>

Marina A. Engibaryan, MD, PhD, head of the head and neck tumors department, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7293-2358>

Yurij S. Sidorenko, Academician Russian Academy of Sciences, MD, PhD, DSc, professor, head of the department of reproductive system tumors, Rostov Research Institute of Oncology (RRIO). ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8511-7280>