

Связь молекулярных маркеров с эффективностью и временем ответа на андрогендепривационную терапию у больных раком предстательной железы

Л. В. Спирина^{1,2}, А. К. Горбунов¹, И. В. Кондакова¹, Е. А. Усынин¹, Е. М. Слонимская^{1,2}

¹НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;
Россия, 634009 Томск, Кооперативный переулок, 5;

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 634050 Томск,
Московский тракт, 2

Контакты: Людмила Викторовна Спирина spirinalvl@mail.ru

Ожидаемый эффект от андрогендепривационной терапии является одним из важных критериев при выборе тактики лечения пациентов с раком предстательной железы. Не менее значимый фактор — время его реализации. В исследовании показано, что высокая экспрессия в ткани опухоли андрогеновых рецепторов (AR) на фоне низкой экспрессии эстрогеновых рецепторов α (ER α) характерна для пациентов, у которых эффект от проводимой андрогендепривационной терапии отмечался в течение 12 мес. Выявлена совокупность параметров, позволяющих спрогнозировать продолжительность ответа на андрогендепривационную терапию у больных раком предстательной железы, к которым относят возраст пациента, уровни тестостерона, простатического специфического антигена, уровень экспрессии AR, ER α в опухоли. Эти данные позволяют рассматривать эти факторы в качестве дополнительных информативных маркеров для прогнозирования не только ожидаемого эффекта, но и его продолжительности.

Ключевые слова: рак предстательной железы, AR, ER, тестостерон, простатический специфический антиген, андрогендепривационная терапия

Для цитирования: Спирина Л. В., Горбунов А. К., Кондакова И. В. и др. Связь молекулярных маркеров с эффективностью и временем ответа на андрогендепривационную терапию у больных раком предстательной железы. *Успехи молекулярной онкологии* 2019;6(1):44–8.

DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-1-44-48

Association between the molecular markers, effect and time of response to the androgen-deprivation therapy in patients with prostate cancer

L. V. Spirina^{1,2}, A. K. Gorbunov¹, I. V. Kondakova¹, E. A. Usynin¹, E. M. Slonimskaya^{1,2}

¹Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;
5 Kooperativny Pereulok, Tomsk 634050, Russia;

²Siberian State Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Moskovskiy Trakt, Tomsk 634050, Russia

The expected effect of androgen-deprivation therapy is one of the important criteria when choosing therapy in patients with prostate cancer. No less significant factor is the time of its implementation. The study showed that high expression of androgen receptors (AR) in the tumor tissue against the background of low estrogen receptor α (ER α) expression is characteristic of patients in whom the effect of androgen-deprivation therapy was observed for 12 months. A set of parameters has been identified that makes it possible to predict the duration of response to androgen-deprivation therapy in patients with prostate cancer, which include the patient's age, testosterone level, prostate specific antigen, expression level of AR, ER α . These data allow us to consider these parameters as additional informative markers, to predict not only the expected effect, but also its duration.

Key words: prostate cancer, AR, ER, testosterone, prostate specific antigen, androgen-deprivation therapy

For citation: Spirina L. V., Gorbunov A. K., Kondakova I. V. et al. Association between the molecular markers, effect and time of response to the androgen-deprivation therapy in patients with prostate cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(1):44–8.

Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) — одна из актуальных проблем современной онкологии. Это обусловлено высокими показателями прироста заболеваемости и отсутствием персонифицированных подходов

к лечению, а соответственно, его недостаточной эффективностью. Согласно современным рекомендациям андрогендепривационная терапия (АДТ) является стандартом в лечении пациентов с местно-распространенным и метастатическим РПЖ. Ответ опухоли

на проводимую терапию регистрируется более чем у 90 % пациентов. Однако длительность ответа составляет в среднем 12–36 мес, в дальнейшем происходят прогрессирование опухолевого процесса и развитие кастрационно-резистентной формы заболевания [1, 2].

На сегодняшний день РПЖ представляет собой гетерогенную группу опухолей, развитие которых может характеризоваться активацией как андрогензависимых, так и андрогеннезависимых путей. Андрогензависимый путь для данной патологии реализуется посредством активации андрогеновых рецепторов (AR) [3, 4] дегидротестостероном, образующийся комплекс транслицируется в ядро и взаимодействует с ключевыми транскрипционными факторами и ДНК. При андрогеннезависимом РПЖ в развитии основного процесса в большей мере принимают участие ростовые и транскрипционные факторы [5].

В ацинарных структурах нормальной ткани предстательной железы определяется, как правило, высокое содержание AR и низкий уровень эстрогеновых рецепторов (ER). При развитии опухолевого процесса отмечается значимое увеличение экспрессии ER вместе с AR. Показано, что в процессах перехода простатической интраэпителиальной неоплазии в рак важную роль играют ER α и ER β [6]. В настоящее время существует представление о наличии соотношения и взаимосвязей между AR и ER, что в значительной мере определяет развитие и прогрессирование РПЖ [7]. Считается, что ER α способны активировать пролиферацию опухолевых клеток при наличии мутации фосфатазы PTEN [8], стимулируя сигнальные пути АКТ/m-TOR, MAPK. ER β чаще рассматривается в качестве онкосупрессора [9, 10]. Можно полагать, что эти молекулярные характеристики опухоли в значительной мере определяют не только ее биологическое поведение, но и ответ на терапию, а также исход заболевания [11].

В настоящее время рассматривается ряд биологических показателей, связанных с рецепторным статусом опухоли, на основании которых возможно было бы прогнозировать не только ожидаемый эффект АДТ, но и его продолжительность. Однако они практически не используются в клинической практике [6]. Имеются единичные данные о связи особенностей метаболизма тестостерона с риском прогрессии опухоли [12], которые не позволяют оценить продолжительность реализации эффекта терапии.

Цель исследования – изучение роли молекулярных маркеров в прогнозировании ожидаемой продолжительности эффекта от АДТ у пациентов с местно-распространенным и диссеминированным РПЖ.

Материалы и методы

В исследование включены 48 больных местно-распространенным и метастатическим РПЖ, которые были разделены на 2 группы в зависимости от длительности проведения АДТ (бикалутамид 50 мг, бусерелин 3,6 мг). Эффект терапии, реализующийся в сроки до

12 мес от ее начала, был отмечен у 23 пациентов (1-я группа) и более 12 мес – у 25 больных (2-я группа). Стандартное обследование пациентов включало проведение биопсии для верификации диагноза, определение уровней простатического специфического антигена (ПСА) и тестостерона в сыворотке крови, остеосцинтиграфию. В дальнейшем всем пациентам, согласно рекомендациям, выполнялась терапия антиандрогенами (гозелерин 4 мг) и аналогами лютеинизирующего рилизинг-гормона, пациентам с метастатическим поражением костных структур дополнительно проводилась терапия бисфосфонатами. Лечение рассматривали как эффективное при достижении кастрационных значений тестостерона крови (до 0,2 нмоль/л) и снижении уровня ПСА.

Объемы диагностики и лечения больных соответствовали рекомендуемым алгоритмам, утвержденным Министерством здравоохранения и социального развития России. Проведение данной работы одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании (протокол № 1 от 20.02.2017).

Материалом для исследования явились образцы опухолевой ткани, полученные при проведении диагностической биопсии. Нормальная ткань предстательной железы для изучения экспрессии молекулярных показателей (группа контроля) была получена при выполнении радикальной цистэктомии у пациентов, не имеющих опухолевых поражений предстательной железы и не включенных в исследование.

Выделение мРНК образцов тканей. Ткани помещали в раствор RNeasyLysis (Qiagen, США) и сохраняли при температуре -80°C (после 24-часовой инкубации при температуре $+4^{\circ}\text{C}$). РНК выделяли с помощью набора RNeasyMiniKit, содержащего ДНКазу I (Qiagen, Германия). Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (ThermoScientific, США) оценивали концентрацию и чистоту выделения РНК. Концентрация РНК составила 80–250 нг/мкл ($A_{260}/A_{280} = 1,95\text{--}2,05$; $A_{260}/A_{230} = 1,90\text{--}2,31$). Целостность РНК оценивали с помощью капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, США) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, США). RIN составил 5,6–7,8.

Исследование экспрессии молекулярных показателей. Уровень экспрессии генов оценивали с помощью количественной обратной-транскриптазной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler (Bio-Rad, США). Для получения комплементарной ДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТm-MuLV-RN (БиоЛабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией производителя. Полимеразную цепную реакцию ставили в 3 репликах в объеме

25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК. Двухшаговая программа амплификации включала: 1 цикл – 94 °С, 10 мин, – предварительная денатурация; 40 циклов – 1-й шаг 94 °С, 10 с, и 2-й шаг 60 °С, 20 с. Праймеры были подобраны с использованием программы VectorNTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore>) (табл. 1). В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), и уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH. Количественный анализ экспрессии проводили по 2ΔΔСТ по отношению к конститутивно-экспрессируемому референсному гену фермента GAPDH. Результаты выражали в условных единицах (усл. ед.).

Таблица 1. Последовательность праймеров проб исследованных генов
Table 1. Primer sequences for the studied genes

Ген Gene	Ампликон Amplicon	Последовательность Sequence
AR NM_000044	190 п.н. 190 bs	F 5'-GAGGGACAGCAG GCAGA-3' R 5'-GCTATCAGAACA CACACACACT-3'
ESR1 NM_000125	386 п.н. 386 bs	F 5'-TCCTGATGATTG GTCTCGTCT-3' R 5'-GATGTGGGAGAG GATGAGGA-3'
GAPDH NM_001256799.2	138 п.н. 138 bs	F 5'-GGAAGTCAG GTGGAGCGA-3' R 5'-GCAACAATATCCA CTTTACCAGA-3'

Примечание. NM – номер последовательности РНК в NCBI Nucleotide Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore>); п.н. – пары нуклеотидов; F – прямой праймер; R – обратный праймер.

Note. NM – the number of a RNA sequence in the NCBI Nucleotide Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore>); bs – base pairs; F – forward primer; R – reverse primer.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета программ Statistica 8.0. Проверку предположения о нормальности распределения признаков выполняли с применением критерия Колмогорова–Смирнова. Значимость различий оценивали по критерию Манна–Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как Me (Q1; Q3). При построении статистической модели был использован дискриминантный анализ.

Результаты

В результате проведенного исследования отмечено, что пациенты в группах различались по возрасту, уровню тестостерона и содержанию ПСА (табл. 2).

Таблица 2. Клинико-морфологические характеристики пациентов с раком предстательной железы в зависимости от продолжительности эффекта андрогендепривационной терапии

Table 2. Clinical and morphological characteristics of patients with prostate cancer depending on the duration of effect of androgen deprivation therapy

Показатель Characteristic	Эффект андрогендепривационной терапии до 1 года, Me (Q1; Q3) Effect of androgen deprivation therapy under 1 year, Me (Q1; Q3)	Эффект андрогендепривационной терапии более 1 года, Me (Q1; Q3) Effect of androgen deprivation therapy over 1 year, Me (Q1; Q3)
Возраст, лет Age, years	53,0 (41,0; 65,0)	67,5 (63,0; 72,0)*
Сумма баллов по шкале Глисона Gleason score	7,5 (6,0; 9,5)	7,0 (7,0; 8,0)
Уровень тестостерона, нмоль/л Testosterone level, nmol/l	5,7 (4,6; 6,8)	2,72 (0,71; 2,97)*
Уровень простатического специфического антигена, нг/мл Prostate-specific antigen level, ng/ml	34,9 (29,8; 40,0)	47,3 (44,3; 132,0)*

*Значимость различий, $p < 0,05$.

*Significance of difference, $p < 0.05$.

Так, больные с ответом на АДТ <12 мес и ранним рецидивированием были в 1,3 раза моложе, имели более высокий исходный уровень тестостерона (в 2 раза) и более низкий уровень ПСА (в 1,35 раза) по сравнению с пациентами, у которых наблюдался длительный ответ (>12 мес) на проводимую терапию.

При изучении молекулярных характеристик опухоли у пациентов с ранним прогрессированием заболевания выявлены исходно повышенная экспрессия AR (>64,0 усл. ед.) и сниженная экспрессия ERα (<3,6 усл. ед.) (табл. 3) по сравнению с больными, у которых продолжительность АДТ превышала 12 мес. В данной группе пациентов наблюдалось одновременное возрастание уровня мРНК и ERα, и AR.

Проведенный анализ позволил выявить наиболее значимые прогностические показатели в отношении времени реализации ожидаемого эффекта АДТ: возраст пациента, уровни тестостерона и ПСА, экспрессии AR и ERα в ткани опухоли (табл. 4). На основании полученных данных были рассчитаны дискриминантные функции Y1, Y2 по следующим уравнениям:

$$Y1 = -33,37 + 1,0X1 + 0,01X2 + 0,01X3 + 1,08X4 - 0,0004X5 \text{ (ранняя (в сроки <12 мес от начала проведения терапии) резистентность к АДТ);}$$

Таблица 3. Экспрессии андрогеновых рецепторов (AR), эстрогеновых рецепторов α (ER α), эстрогеновых рецепторов β (ER β) у пациентов с раком предстательной железы в зависимости от продолжительности эффекта андрогендепривационной терапии

Table 3. Expression of androgen receptors (AR), estrogen receptors α (ER α), estrogen receptors β (ER β) in patients with prostate cancer depending on the duration of effect of androgen deprivation therapy

Показатель Characteristic	Эффект андрогендепривационной терапии до 1 года, Ме (Q1; Q3) Effect of androgen deprivation therapy under 1 year, Me (Q1; Q3)	Эффект андрогендепривационной терапии более 1 года, Ме (Q1; Q3) Effect of androgen deprivation therapy over 1 year, Me (Q1; Q3)
AR	128 (96,0; 122,0)	64,0 (32,0; 128,0)*
ER α	1,5 (0,75; 5,0)	3,6 (2,0; 256,0)*
ER β	2,0 (0; 4,0)	0,1 (0,02; 4,0)

*Значимость различий, $p < 0,05$.

*Significance of difference, $p < 0.05$.

$$Y2 = -59,27 + 1,75X1 + 0,03X2 + 0,23X3 - 4,02X4 + 0,007X5$$

(отсроченная (в сроки >12 мес от начала проведения терапии) резистентность к АДТ и прогрессирование РПЖ),

где X1 – возраст пациента, лет; X2 – экспрессия AR в опухоли, усл. ед.; X3 – экспрессия ER α в опухоли, усл. ед.; X4 – содержание тестостерона в сыворотке крови, нмоль/л; X5 – содержание ПСА в сыворотке крови, нг/мл.

При Y1 > Y2 следует ожидать раннего прогрессирования заболевания на фоне АДТ в сроки <12 мес от начала проведения терапии, а при Y1 < Y2 – отсроченное – в сроки >12 мес от начала проведения терапии.

Чувствительность и специфичность полученной дискриминантной модели составила соответственно 99,5 и 91,7 %, диагностическая точность – 95,6 %.

Обсуждение

Высокие уровни ПСА и тестостерона – стандартные признаки, определяющие показания для проведения АДТ у больных РПЖ [13, 14]. При этом в клинической практике бывает очень сложно предполагать продолжительность эффекта от проводимой терапии. В литературе, как правило, обсуждается прогностическая значимость отдельных клинических и молекулярных параметров. Так, в качестве неблагоприятного признака, ассоциированного с развитием ранней ре-

Таблица 4. Показатели, включенные в дискриминантную модель прогнозирования ожидаемой продолжительности эффективности андрогендепривационной терапии у больных раком предстательной железы

Table 4. Characteristics included in a discriminatory model of prognosis of expected duration of effectiveness of androgen deprivation therapy in patients with prostate cancer

Показатель Characteristic	Wilks Lambda	Toler.	p
Возраст пациента Patient age	0,315367	0,694706	0
Экспрессия андрогеновых рецепторов Androgen receptor expression	0,176739	0,751103	0,002160
Экспрессия эстрогеновых рецепторов α Estrogen receptor α expression	0,169194	0,822430	0,010485
Содержание тестостерона Testosterone level	0,501745	0,202200	0
Уровень простатического специфического антигена Prostate-specific antigen level	0,448715	0,187039	0

зистентности, рассматривается молодой возраст больных [15]. Также признаком прогрессирования заболевания является высокое содержание AR в опухоли в отличие от ER β , высокий уровень которого, напротив, может свидетельствовать о благоприятном исходе опухолевого процесса [6, 7]. Поэтому оправданно использование комплексного подхода в оценке ожидаемой продолжительности эффекта АДТ, позволяющего учитывать наиболее значимые клинические, морфологические и молекулярные параметры и тем самым повысить точность прогноза.

Заключение

Таким образом, определена совокупность информативных параметров, анализ которых позволяет прогнозировать продолжительность ожидаемого ответа на АДТ у больных РПЖ. Эти данные необходимо учитывать при планировании адекватной тактики лечения, сроков ее проведения и динамического наблюдения у больных местно-распространенным и метастатическим РПЖ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Маркова А.С., Поликарпова С.Б., Камолов Б.Ш. и др. Факторы прогноза общей выживаемости больных метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы. *Онкоурология* 2015;11(2):77–84. DOI: 10.17650/1726-9776-2015-11-2-77-84. [Markova A.S., Polikarpova S.B., Kamolov B.S. et al. Predictors of overall survival in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2015;11(2):77–84. (In Russ.)].
2. Amiya Y., Yamada Y., Sugiura M. et al. Treatment of locally advanced prostate cancer (Stage T3). *Jpn J Clin Oncol* 2017;47(3):257–61. DOI: 10.1093/jjco/hyw186. PMID: 28096182.
3. Wang Y., Kreisberg J.I., Ghosh P.M. Cross-talk between the androgen receptor and the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in prostate cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2007;7(6):591–604. PMID: 17896924.
4. D'Amico A.V., Moul J., Carroll P.R. et al. Prostate specific antigen doubling time as a surrogate end point for prostate cancer specific mortality following radical prostatectomy or radiation therapy. *J Urol* 2004;172(5 Pt 2):42–6. PMID: 15535442.
5. Loneragan P.E., Tindall D.J. Androgen receptor signaling in prostate cancer development and progression. *J Carcinog* 2011;10:20. DOI: 10.4103/1477-3163.83937. PMID: 21886458.
6. Al-Maghrabi J.A., Hassan T.M., Abdel-Meguid T.A., Mosli H.A. Original article expression of estrogen alpha and beta receptors in prostate cancer and hyperplasia: immunohistochemical analysis. *African J Urol* 2010;16(3):1110–5704.
7. Karamouzis M.V., Papavassiliou K.A., Adamopoulos C., Papavassiliou A.G. Targeting androgen/estrogen receptors crosstalk in cancer. *Trends Cancer* 2016;2(1):35–48. DOI: 10.1016/j.trecan.2015.12.001. PMID: 28741499.
8. Takizawa I., Lawrence M.G., Balanathan P. et al. Estrogen receptor alpha drives proliferation in PTEN-deficient prostate carcinoma by stimulating survival signaling, MYC expression and altering glucose sensitivity. *Oncotarget* 2015;6(2):604–16. DOI: 10.18632/oncotarget.2820. PMID: 25436982.
9. Ahmad N., Kumar R. Steroid hormone receptors in cancer development: a target for cancer therapeutics. *Cancer Lett* 2011;300(1):1–9. DOI: 10.1016/j.canlet.2010.09.008. PMID: 20926181.
10. Nelson A.W., Tilley W.D., Neal D.E., Carroll J.S. Estrogen receptor beta in prostate cancer: friend or foe? *Endocr Relat Cancer* 2014;21(4):T219–34. DOI: 10.1530/ERC-13-0508. PMID: 24402043.
11. Спирина Л.В., Горбунов А.К., Кондакова И.В. и др. Экспрессия транскрипционного фактора TRIM16 в ткани рака предстательной железы, связь с экспрессией эстрогеновых и андрогеновых рецепторов и клинико-морфологическими особенностями заболевания. *Бюллетень сибирской медицины* 2018;17(3):122–30. DOI: org/10.20538/1682-0363-2018-3-122-130. [Spirina L.V., Gorbunov A.K., Kondakova I.V. et al. TRIM16 transcription factor in prostate cancer, association with the expression of estrogen and androgen receptors and clinical and morphological features of the disease. *Bulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine* 2018;17(3):122–30. (In Russ.)].
12. Hearn J.W.D., AbuAli G., Reichard C.A. et al. HSD3B1 and resistance to androgen-deprivation therapy in prostate cancer: a retrospective, multicohort study. *Lancet Oncol* 2016;17(10):1435–44. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30227-3. PMID: 27575027.
13. Geara F.B., Bulbul M., Khauli R.B. et al. Nadir PSA is a strong predictor of treatment outcome in intermediate and high risk localized prostate cancer patients treated by definitive external beam radiotherapy and androgen deprivation. *Radiat Oncol* 2017;12(1):149. DOI: 10.1186/s13014-017-0884-y. PMID: 28882187.
14. Michaud J.E., Billups K.L., Partin A.W. Testosterone and prostate cancer: an evidence-based review of pathogenesis and oncologic risk. *Ther Adv Urol* 2015;7(6):378–87. DOI: 10.1177/1756287215597633. PMID: 26622322.
15. Печерский А.В., Семиглазов В.Ф., Комяков Б.К. и др. Изменение экспрессии рецепторов стероидных гормонов при развитии частичного возрастного андрогенного дефицита (PADAM). *Цитология* 2005;47(4):311–6. DOI: 10.17650/1726-9776-2015-11-2-77-84. [Pechersky A.V., Semiglazov V.F., Komyakov B.K. et al. Change in steroid receptors expression in partial androgen deficiency of the ageing male (PADAM). *Tsylogiya = Cytology* 2005;47(4):311–6. (In Russ.)].

Вклад авторов

Л.В. Спирина: написание обзора, анализ данных литературы;
 А.К. Горбунов, И.В. Кондакова: редактирование обзора, обзор публикаций по теме статьи;
 Е.А. Усын: формирование концепции и дизайна исследования;
 Е.М. Слонимская: научное редактирование статьи, обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

L.V. Spirina: article writing, literature data analysis;
 A.K. Gorbunov, I.V. Kondakova: article review, reviewing of publications of the article's theme;
 E.A. Usynin: formation of the concept and design of the study;
 E.M. Slonimskaya: scientific article editing, reviewing of publications of the article's theme.

ORCID авторов/ORCID of authors

Л.В. Спирина/L.V. Spirina: <https://orcid.org/0000-0002-5269-736X>
 И.В. Кондакова/I.V. Kondakova: <http://orcid.org/0000-0003-0907-4615>
 Е.М. Слонимская/E.M. Slonimskaya: <http://orcid.org/0000-0003-4382-569>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН».

Financing. The study was performed with the support of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 18.01.2019. **Принята к публикации:** 28.02.2019.

Article received: 18.01.2019. **Accepted for publication:** 28.02.2019.