

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-5-44-51

УДК: 618.11-006-091:616.381-003.217

Для цитирования: Козик А.В., Кайгородова Е.В., Грищенко М.Ю., Вторушин С.В., Чернышова А.Л. EPCAM+CD45+ клетки в асцитической жидкости больных новообразованиями яичников: связь с уровнями онкомаркеров и степенью злокачественности. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(5): 44–51. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-5-44-51

For citation: Kozik A. V., Kaigorodova E. V., Grishchenko M. Yu., Vtorushin S. V., Chernyshova A. L. EPCAM+CD45+ cells in ascitic fluid of patients with ovarian cancer: a relationship with tumor marker levels and tumor grade. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(5): 44–51. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-5-44-51

ЕРСАМ+CD45+ КЛЕТКИ В АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЯИЧНИКОВ: СВЯЗЬ С УРОВНЯМИ ОНКОМАРКЕРОВ И СТЕПЕНЬЮ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

А.В. Козик², Е.В. Кайгородова^{1,2}, М.Ю. Грищенко^{2,3},
С.В. Вторушин^{1,2}, А.Л. Чернышова¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия.

E-mail: kaigorodova@oncology.tomsk.ru¹

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия²

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия³

Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 115³

Аннотация

Цель исследования – оценить особенности взаимосвязи атипичных/гибридных форм EPCAM+CD45+ клеток в асцитической жидкости у больных новообразованиями яичников с уровнем онкомаркеров CA125, HE4 и степенью злокачественности опухоли. **Материал и методы.** В клиническое исследование NCT04817501 включены 48 больных с впервые диагностированными новообразованиями яичников, из которых 42 пациентки с впервые диагностированным раком яичников Iс–IV стадии по FIGO, а также 6 женщин с пограничными новообразованиями яичников (ПОЯ), в возрасте от 36 до 76 лет. Материалом для исследования служили образцы асцитической жидкости и венозной стабилизированной крови. Наличие атипичных/гибридных форм EPCAM+CD45+ клеток в асцитической жидкости определяли методом многоцветной проточной цитометрии. Уровень онкомаркеров CA125 и HE4 в сыворотке крови определяли методом ИФА. **Результаты.** Количество EPCAM+CD45+ клеток в асцитической жидкости больных серозной карциномой яичников составило 1,02 (0,30; 2,68) клеток/мкл, при этом в группе больных Low-grade серозной карциномы яичников (LGSC) их уровень составил 0,55 (0,03; 4,51) клеток/мкл, а в группе High-grade (HGSC) – 1,36 (0,41; 2,68) клеток/мкл. Показано, что количество EPCAM+CD45+ клеток в асцитической жидкости у больных с новообразованиями яичников имеет прямую корреляционную связь с уровнем CA125 и HE4 в сыворотке крови ($R=0,60$; $p<0,01$ и $R=0,34$; $p=0,05$ соответственно). В группе LGSC между количеством EPCAM+CD45+ клеток в асцитической жидкости и уровнем онкомаркеров CA125 и HE4 в крови наблюдается сильная прямая корреляционная связь ($R=0,93$; $p<0,01$ и $R=0,68$; $p=0,03$ соответственно). Различий в количествах EPCAM+CD45+ клеток в асцитической жидкости и онкомаркеров CA125, HE4 в сыворотке крови у пациенток с HGSC и LGSC серозной карциномой яичников выявлено не было. У больных с ПОЯ наблюдается значимое снижение концентрации атипичных/гибридных форм клеток в асцитической жидкости и CA125, HE4 в сыворотке крови по сравнению с серозными карциномами яичников ($p=0,02$; $p<0,01$; $p<0,01$ соответственно). **Заключение.** Количество EPCAM+CD45+ клеток в асцитической жидкости пациенток связано с концентрациями CA125 и HE4 в крови у больных серозными карциномами яичников и не отличается от таких показателей у больных HGSC и LGSC.

Ключевые слова: рак яичников, асцитическая жидкость, атипичные/гибридные формы опухолевых клеток, EPCAM+CD45+ клетки, CA125, HE4, HGSC, LGSC, пограничные опухоли яичников.



EPCAM+CD45+ CELLS IN ASCITIC FLUID OF PATIENTS WITH OVARIAN CANCER: A RELATIONSHIP WITH TUMOR MARKER LEVELS AND TUMOR GRADE

A.V. Kozik², E.V. Kaigorodova^{1,2}, M.Yu. Grishchenko^{2,3},
S.V. Vtorushin^{1,2}, A.L. Chernyshova¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. E-mail: kaigorodova@oncology.tomsk.ru¹

5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia²

2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia²

Tomsk Regional Oncological Dispensary, Tomsk, Russia³

115, Lenina Ave., 634050, Tomsk, Russia³

Abstract

Purpose of the study: to assess the relationship between atypical/hybrid forms of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid of ovarian cancer patients and the levels of cancer markers, such as CA125 and HE4, and the tumor grade. **Material and Methods.** The study included 48 patients with newly diagnosed ovarian cancer (42 patients with stage Ic–IV ovarian cancer and 6 patients with borderline ovarian tumors (BOTs)). The age of the patients ranged from 36 to 76 years. The study material included ascitic fluid and blood samples. The presence of atypical/hybrid forms of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid was identified by laser multicolor flow cytometry. The levels of CA125 and HE4 markers were measured by ELISA. **Results.** The number of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid of patients with serous ovarian carcinoma was 1.02 (0.30; 2.68) cells/ μ l (0.55 (0.03; 4.51) cells/ μ l in patients with low-grade serous carcinoma (LGSC) and 1.36 (0.41; 2.68) cells/ μ l in patients with high-grade serous carcinoma (HGSC)). The number of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid of serous ovarian carcinoma was shown to have a strong correlation with CA125 and HE4 levels in blood serum ($R=0.60$; $p<0.01$ and $R=0.34$; $p=0.05$, respectively). In the LGSC group, there was a strong direct correlation between the number of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid and the levels of CA125 and HE4 markers in blood serum ($R=0.93$; $p<0.01$ and $R=0.68$; $p=0.03$, respectively). No differences in the levels of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid and CA125/ HE4 markers in blood serum between patients with HGSC and LGSC were found. The levels of atypical/hybrid forms of cells in ascitic fluid and CA125/ HE4 markers in blood serum were significantly lower in patients with BOTs than in patients with serous ovarian carcinoma ($p=0.02$ for EpCAM⁺CD45⁺ cells and $p<0.01$ for CA125 и HE4 levels). **Conclusion.** The relationship between the number of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid and the levels of CA125 and HE4 markers in blood serum of patients with serous ovarian carcinoma was found. However, no differences in the levels of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid and CA125/ HE4 markers in blood serum between patients with HGSC and LGSC were observed.

Key words: ovarian cancer, ascitic fluid, atypical/hybrid cell forms, EpCAM⁺CD45⁺ cells, CA125, HE4, HGSC, LGSC, borderline ovarian tumors.

Введение

В терминальных стадиях рак яичников приводит к асцит [1, 2]. Значительный интерес среди злокачественных клеток, определяемых в асцитической жидкости, вызывает недавно открытая группа атипичных/гибридных клеток, образующихся в результате слияния раковой клетки и лейкоцитов. Такие клетки экспрессируют маркер CD45, характерный для всех видов лейкоцитов человека [3] и EpCAM – молекулу клеточной адгезии эпителия, обнаруживающуюся у большинства раковых эпителиальных клеток [4, 5] и в 70 % случаев рака яичников [6, 7].

Группа EpCAM⁺CD45⁺ клеток неоднородна, и на данный момент представлена, как минимум, двумя популяциями – Cancer-Associated Macrophage-Like cell (CAML) и Circulating Hybrid Cells (CHC) [8]. Морфологически первая популяция отличается

увеличенными размерами, неправильной формой и многоядерностью [9], тогда как вторая сохраняет относительное сходство с родительским лейкоцитом [10]. Функционально же, судя по имеющимся данным, все популяции гибридов схожи – комбинация из способностей к активному движению и к неконтрольному росту и размножению делает гибридные клетки потенциальной причиной метастазирования опухоли [11]. При этом их значительные концентрации в большинстве биологических жидкостей, включая асцитическую [7, 12], даже на самых ранних этапах заболевания [13] открывают возможности для подсчета EpCAM⁺CD45⁺ клеток в качестве предиктивных маркеров онкологических заболеваний [14].

Цель исследования – оценить особенности взаимосвязи атипичных/гибридных форм EpCAM⁺CD45⁺ клеток в асцитической жидкости

у больных новообразованиями яичников с уровнем онкомаркеров CA125, HE4 и степенью злокачественности опухолей.

Материал и методы

В клиническое исследование NCT04817501 были включены 42 пациентки с впервые диагностированным раком яичников Ic CA–IV стадии по FIGO, из которых 13 человек – с Low-grade серозной карциномой яичников (LGSC), 29 – с High-grade серозной карциномой яичников (HGSC). Группу сравнения составили 6 женщин с пограничными новообразованиями яичников (ПОЯ). Все пациентки получали лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ и/или Томском областном онкологическом диспансере. Возраст больных – от 36 до 76 лет.

Материалом для исследования служили 5 мл стабилизированной ЭДТА асцитической жидкости, взятой во время лапароскопии, а также 5 мл крови. Наличие атипичных/гибридных форм EpCAM⁺CD45⁺ клеток в асцитической жидкости определяли методом многоцветной проточной цитометрии на проточном цитофлюориметре NovoCyte (Agilent Technologies, США) с помощью меченных различными флуорохромами моноклональных антител к CD45 (CD45-APC-Cy7, Biolegend, США) и EpCAM (EpCAM-BV605, Biolegend, США), а также витального красителя NucBlue Live Cell Stain Ready Probes reagent (Invitrogen, США). Методом ИФА определялся уровень онкомаркеров CA125 и HE4 в сыворотке крови с помощью наборов фирмы «Вектор Бест» (Россия).

Результаты исследования обрабатывали с использованием программ Microsoft Excel 2019 (Microsoft, США) и STATISTICA 13.5 (TIBCO Software Inc., США). Проверка на соответствие выборок нормальному закону распределения проводилась критерием Шапиро–Вилка. Связь между двумя выборками, не подчиняющимися

нормальному закону распределения, оценивали с помощью корреляции Спирмена. Статистическую значимость различий независимых выборок оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы и межквартильного размаха Me (Q1; Q3).

Результаты

В результате проведенного исследования в асцитической жидкости больных раком яичников были выявлены атипичные/гибридные формы EpCAM⁺CD45⁺ в концентрации 1,02 (0,3–2,68) клеток/мкл. Средние уровни онкомаркеров CA125 и HE4 составили 129 (51; 544) ед/мл и 209 (82; 472) пМ/л соответственно (таблица). В подавляющем большинстве случаев по результатам проточной цитометрии асцитической жидкости больных раком яичников мы наблюдали не одно, а два облака EpCAM⁺CD45⁺ клеток (рис. 1).

При статистической обработке данных установлены прямые корреляции между уровнями CA125 и HE4 в крови среди всех пациенток ($R=0,60$; $p < 0,01$), больных LGSC ($R=0,79$; $p < 0,01$) и HGSC ($R=0,52$; $p < 0,01$). Обнаружены достаточно сильные корреляции между концентрациями EpCAM⁺CD45⁺ клеток в образцах асцитической жидкости больных LGSC и уровнями CA125 ($R=0,93$; $p < 0,01$) и HE4 ($R=0,68$; $p=0,03$) крови. У пациенток с HGSC зависимости между концентрацией гибридных клеток и HE4 не обнаружено ($R=-0,16$; $p=0,51$), а в случае CA125 – только на уровне статистической тенденции ($R=0,38$; $p=0,08$). Корреляция между этими параметрами в общей группе исследования обнаружена с уровнем CA125 ($R=0,51$; $p < 0,01$), но не в случае HE4 ($R=0,08$; $p=0,69$) (рис. 2).

Проведенное исследование показало, что значимых различий между количеством EpCAM⁺CD45⁺ клеток у пациенток с LGSC и HGSC обнаружено

Таблица / Table

Уровень атипичных/гибридных форм EpCAM⁺CD45⁺ клеток и онкомаркеров CA125, HE4 у больных с новообразованиями яичников

Atypical/hybrid forms of EpCAM⁺CD45⁺ cell and the levels of CA125 and HE4 markers in patients with ovarian neoplasms

Показатель/Parameter	Группа исследования/Study group		
	LGSC	HGSC	ПОЯ/BOT
CD45+EpCAM ⁺ , кл/мкл/ D45+EpCAM ⁺ , cells/ μl	0,55 (0,03; 4,51)	1,36 (0,41; 2,68) $p_1=0,29$	0,04 (0; 0,66) $p_2=0,17$; $p_3=0,01$
CA125, ед/мл/ CA125, U/ml	170 (42,06; 489,05)	71,3 (51; 544) $p_1=0,63$	6,39 (4,75; 9,5) $p_2=0,02$; $p_3<0,01$
HE4, пМ/л/ HE4, pmol/l	239,5 (181,55; 501,7)	130 (82; 335) $p_1=0,30$	26,25 (0; 44,3) $p_2<0,01$; $p_3<0,01$

Примечание: p_1 – значение p , полученное в результате применения критерия Манна–Уитни для сравнения двух независимых выборок групп HGSC и LGSC; p_2 – для LGSC и ПОЯ; p_3 – для HGSC и ПОЯ.

Note: p_1 – p value obtained after Mann–Whitney U test to compare two independent distributions of HGSC and LGSC groups; p_2 – for LGSC and BOT groups; p_3 – for HGSC and BOT groups.

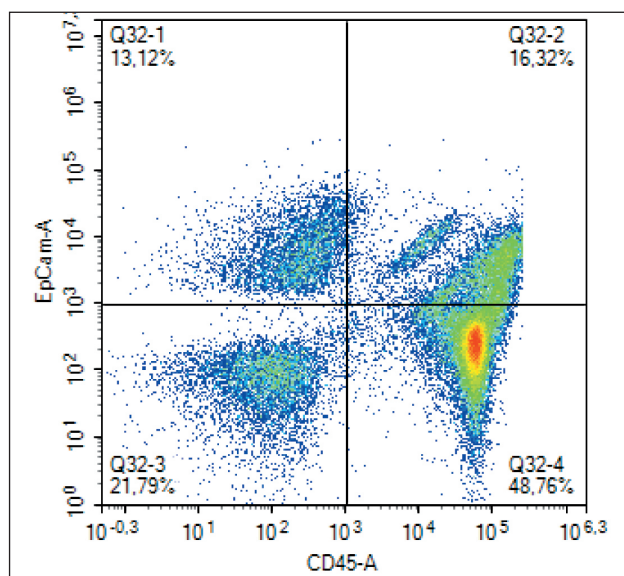


Рис. 1. Типичная скаттерграмма, полученная в ходе цитофлуориметрического исследования асцитической жидкости
Fig. 1. Typical scatterplot acquired after flow cytometry of an ascitic fluid sample

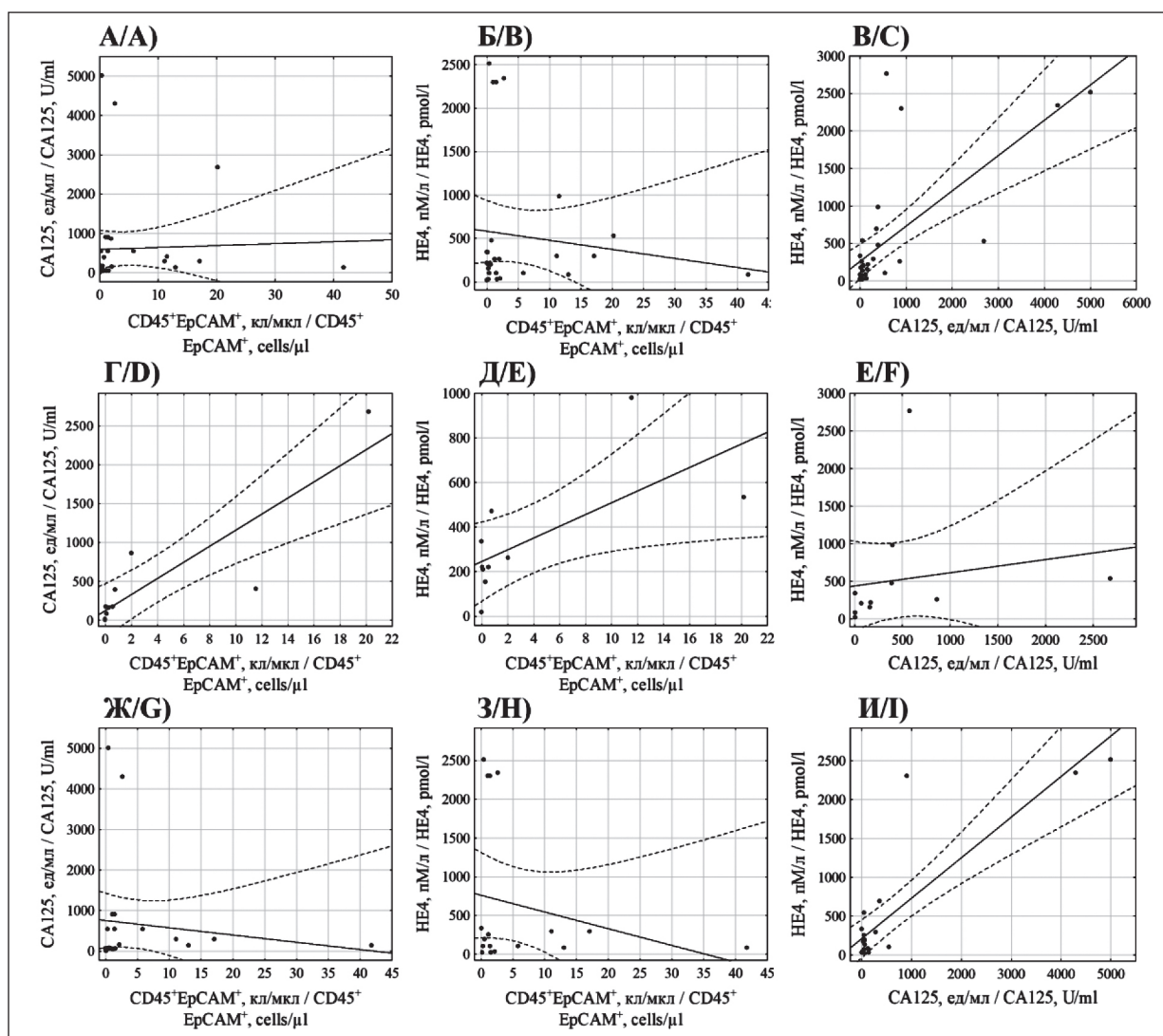


Рис. 2. А–В) – скаттерграммы значений EpCAM⁺CD45⁺ клеток асцитической жидкости, CA-125 и HE4 крови в общей группе пациентов;

Г–Е) – для группы LGSC; Ж–И) – для группы HGSC

Fig. 2. А–С) Scatterplots of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid, blood CA-125 and HE4 values of all patients; D–F) – of LGSC patients; G–I) – of HGSC patients

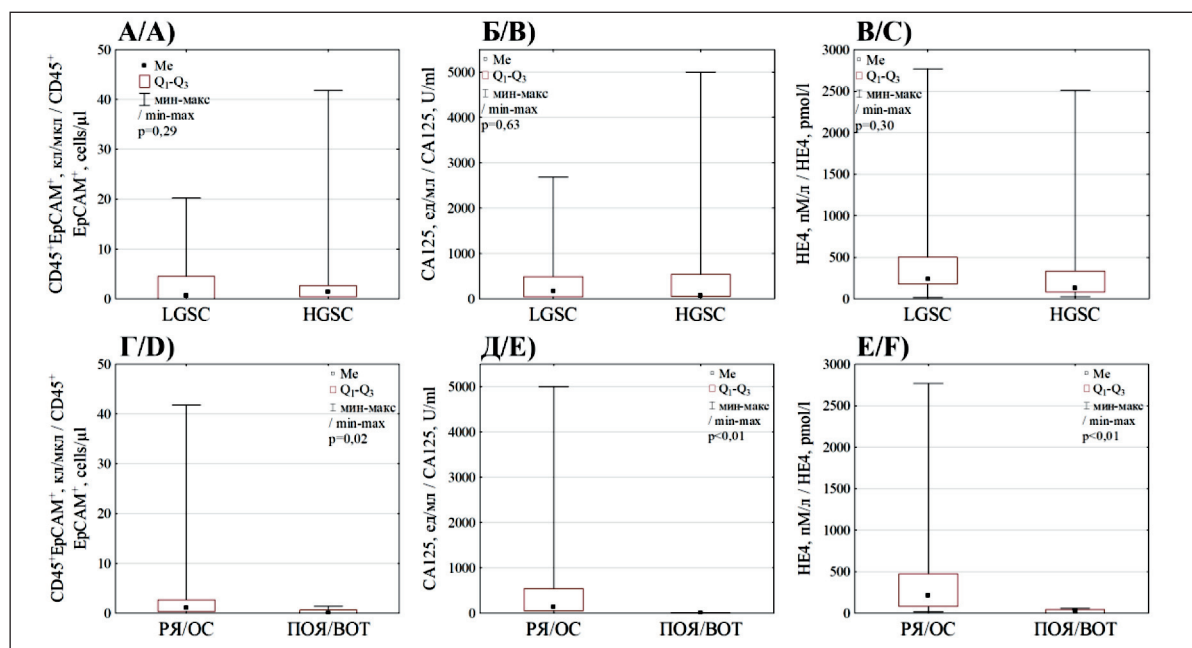


Рис. 3. А–В) – диаграммы размаха значений EpCAM⁺CD45⁺ клеток асцитической жидкости, CA-125 и HE4 крови между пациентками с LGSC и HGSC; Г–Е) – между пациентками с серозными карциномами яичников (РЯ) и пограничными новообразованиями (ПОЯ)

Fig. 3. A–C) Boxplot of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid, blood CA-125 and HE4 values between the LGSC and HGSC patients; D–F) Boxplot of EpCAM⁺CD45⁺ cells in ascitic fluid, blood CA-125 and HE4 values between the ovarian cancer patients and borderline ovarian tumors

не было ($p=0,29$), как и для концентрации CA125 ($p=0,63$) и HE4 ($p=0,30$) (рис. 3 А–В). По сравнению с пациентками, у которых выявлена серозная карцинома яичников, концентрации гибридных клеток, CA125 и HE4 у больных ПОЯ снижены в разы ($p=0,02$; $p<0,01$ и $p<0,01$ соответственно) (рис. 3 Г–Е).

Обсуждение

Основным достижением представленного исследования стало обнаружение сильной связи между количеством EpCAM⁺CD45⁺ клеток и концентрацией онкомаркеров в группе больных LGSC. Роль гибридных клеток в патогенезе рака до конца не изучена. Большинство авторов склоняются к мнению, что появление EpCAM⁺CD45⁺ клеток в больших количествах является плохим прогностическим фактором, прямо связанным со стадией заболевания и выживаемостью. Ряд работ показывает их способность к быстрому делению, активной инфильтрации тканей и к образованию метастазов [11, 13, 15, 16]. Однако описание различных популяций гибридных клеток наводит на мысль, что не все гибриды могут участвовать в метастазировании. Более того, в настоящем исследовании вполне могли быть обнаружены здоровые макрофаги с поглощенным содержимым раковых клеток вместе с их маркерами. В пользу этого свидетельствует отсутствие корреляции между концентрациями гибридов и онкомаркеров в случаях HGSC. Активный рост опухоли вызван быстрым делением раковых клеток. В условиях ограниченного объема

среди них неизбежно начинается «естественный отбор», приводящий к гибели множества наименее приспособленных клеток [17]. Их компоненты выходят в кровь и асцитическую жидкость, где и поглощаются макрофагами. Однако процесс отбора наиболее жизнеспособного клона случаен. В одном случае может происходить активная наработка клонов, когда в другом первоначальный клон уже максимально приспособлен к существованию, и отбор нового не происходит. Поэтому концентрация EpCAM⁺CD45⁺ клеток в случае HGSC подвержена сильным флуктуациям. На данный процесс также влияют и внешние факторы в виде недостатка питательных веществ, гипоксии и активности противоопухолевого иммунитета [17], которые также подвержены частым, случайным изменениям в условиях активно растущей опухолевой массы. В случае же LGSC опухоль растет медленнее, активность деления клеток ниже, а случаи клеточной гибели – реже. Поэтому здесь гибридные клетки в большей степени представлены структурами, образованными в результате непосредственного клеточного слияния, количество которых прямо зависит от размера опухолевой массы, как и уровни онкомаркеров. Теорию присутствия нескольких популяций атипичных/гибридных клеток также подкрепляет факт наличия нескольких облаков сигналов EpCAM⁺CD45⁺ клеток на скаттерограммах проточного цитофлуориметра (рис. 1). Из этого также можно сделать вывод, что популяции гибридов отличаются по степени экспрессии EpCAM и CD45.

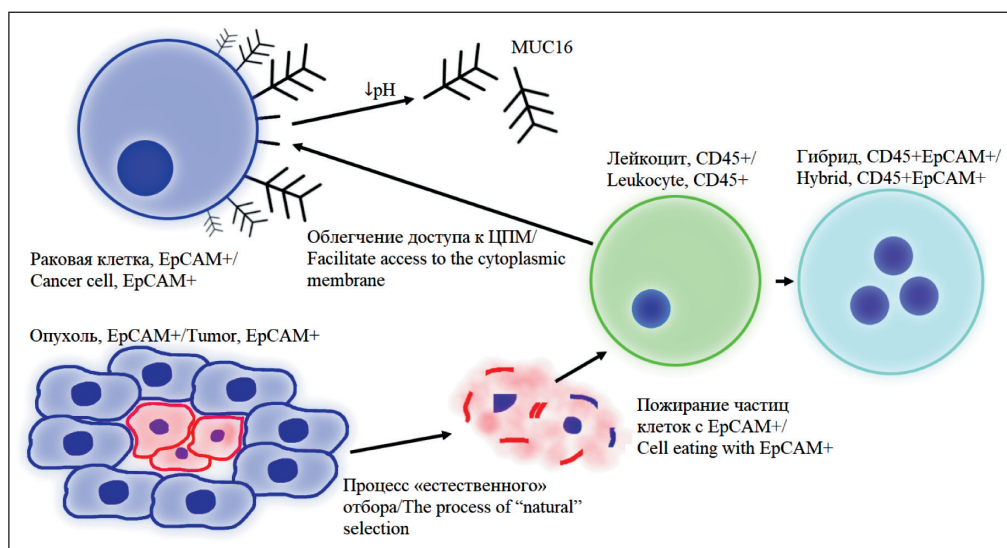


Рис. 4. Схематическое представление теории образования гибридных клеток, предложенных в данной работе
Fig. 4. Schematic representation of hybrid formation theories proposed in this work

В настоящем исследовании корреляция между количеством $\text{EpCAM}^+\text{CD45}^+$ клеток в асцитической жидкости и уровнем HE4 в крови больных HGSC не найдена. Однако обнаружена корреляция между гибридами и CA125 в общей группе больных и в группе HGSC на уровне тенденции. Структура MUC16 включает в себя домены SEA, способные разрушаться в кислой среде. При этом муцин отсоединяется от поверхности клетки, после чего способен попасть в кровотоки [18]. Поскольку концентрация CA125 линейно зависит от количества $\text{EpCAM}^+\text{CD45}^+$ клеток, можно предположить, что кислая среда, создаваемая опухолевой массой, является фактором, стимулирующим процесс клеточного слияния [19]. Прямое повреждение элементов гликокаликса (такого как MUC16) при низком pH открывает билипидный слой мембраны раковой клетки для прямого контакта с макрофагом [19]. Кроме того, отсутствие MUC16 на поверхности клетки стимулирует ЕМТ, что повышает доступность раковых клеток для лейкоцитов [20]. Кислая среда активирует MMP9, положительное влияние которой на процесс гибридизации доказано на клетках рака молочной железы [21]. Другим доказанным фактором клеточного слияния является гипоксия [22], неразрывно связанная со снижением pH внеклеточной среды. Для точного установления роли кислой среды опухоли в механизме клеточного слияния требуется провести дополнительные исследования. Схемы обеих теорий представлены на рис. 4.

Обнаруженные нами корреляции между количеством $\text{EpCAM}^+\text{CD45}^+$ клеток асцитической

жидкости и уровнями CA125 и HE4 крови свидетельствуют о пригодности гибридных клеток для диагностики рака яичников в комплексе с онкомаркерами. Стоит отметить, что в большинстве работ, в которых изучалось количество $\text{EpCAM}^+\text{CD45}^+$ клеток у больных раком яичников, подобные сравнения не представлялись возможными, поскольку исследования проводились *in vitro* на культурах клеток [23–25]. В экспериментах *in vivo* исследования были сконцентрированы на гибридных клетках, уровни онкомаркеров во внимание не принимались [10].

Закономерно, что в представленном исследовании выявлены значимые различия уровней CA125 и HE4 крови у пациенток с РЯ и ПОЯ. Выявленные различия подтверждаются данными литературы [26–28]. При этом мы не обнаружили работ, посвященных исследованию количеств $\text{EpCAM}^+\text{CD45}^+$ клеток при пограничных опухолях яичников.

Заключение

Найденные нами корреляции между уровнями $\text{EpCAM}^+\text{CD45}^+$ атипичных/гибридных клеток асцитической жидкости и онкомаркеров CA125 и HE4 крови наглядно демонстрируют возможность поиска гибридов в качестве предиктивных факторов рака яичников, а также позволяют обосновать несколько теорий образования $\text{EpCAM}^+\text{CD45}^+$ клеток. Пока это только предположения, наталкивающие нас на дальнейшие исследования данных клеток, в течение нескольких десятков лет остававшихся вне поля зрения мировой науки.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Penet M.F., Krishnamachary B., Wildes F.B., Mironchik Y., Hung C.F., Wu T.C., Bhujwallan Z.M. Ascites Volumes and the Ovarian Cancer Microenvironment. *Front Oncol.* 2018; 8: 595. doi: 10.3389/fonc.2018.00595.
2. Степанов И.В., Падеров Ю.М., Афанасьев С.Г. Перитонеальный канцероматоз. *Сибирский онкологический журнал.* 2014; 5: 45–53. [Stepanov I.V., Paderov Yu.M., Afanasyev S.G. Peritoneal carcinomatosis. *Siberian Journal of Oncology.* 2014; 5: 45–53. (in Russian)].

3. Rheinländer A., Schraven B., Bommhardt U. CD45 in human physiology and clinical medicine. *Immunol Lett.* 2018; 196: 22–32. doi: 10.1016/j.imlet.2018.01.009.

4. Huang L., Yang Y., Yang F., Liu S., Zhu Z., Lei Z., Guo J. Functions of EpCAM in physiological processes and diseases (Review). *Int J Mol Med.* 2018; 42(4): 1771–85. doi: 10.3892/ijmm.2018.3764.

5. Kaigorodova E.V., Savelieva O.E., Tashireva L.A., Tarabanovskaya N.A., Simolina E.I., Denisov E.V., Slonimskaya E.M., Choyznov E.L., Perelmuter V.M. Heterogeneity of Circulating Tumor Cells in

Neoadjuvant Chemotherapy of Breast Cancer. *Molecules*. 2018; 23(4): 727. doi: 10.3390/molecules23040727.

6. Кайгородова Е.В., Ковалев О.В., Чернышова А.Л., Вторушин С.В., Шpileva O.V. Гетерогенность EpCAM-положительных клеток в асцитической жидкости low-grade серозной карциномы яичников: клинический случай. Опухоли женской репродуктивной системы. 2021; 17(4): 90–5. [Kaigorodova E.V., Kovalev O.V., Chernyshova A.L., Vtorushin S.V., Shpileva O.V. Heterogeneity of EpCAM-positive cells in low-grade serous ovarian carcinoma ascitic fluid: a clinical case. *Tumors of Female Reproductive System*. 2021; 17(4): 90–5. (in Russian)]. doi: 10.17650/1994-4098-2021-17-4-90-95.

7. Kaigorodova E.V., Fedulova N.V., Ochirov M.O., Dyakov D.A., Molchanov S.V., Chasovskikh N.Yu. Dissimilar tumor cell populations in ascitic fluid of ovarian cancer patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19(1): 50–8. doi: 10.20538/1682-0363-2020-1-50-58.

8. Kaigorodova E.V., Kozik A.V., Zavaruev I.S., Grishchenko M.Y. Hybrid/Atypical Forms of Circulating Tumor Cells: Current State of the Art. *Biochemistry (Moscow)*. 2022; 87(4): 380–90. doi: 10.1134/S0006297922040071.

9. Adams D.L., Martin S.S., Alpaugh R.K., Charpentier M., Tsai S., Bergan R.C., Ogden I.M., Catalona W., Chumsri S., Tang C.M., Cristofanilli M. Circulating giant macrophages as a potential biomarker of solid tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014; 111(9): 3514–9. doi: 10.1073/pnas.1320198111.

10. Dietz M.S., Sutton T.L., Walker B.S., Gast C.E., Zarour L., Sengupta S.K., Swain J.R., Eng J., Parappilly M., Limbach K., Sattler A., Burlingame E., Chin Y., Gower A., Mira J.L.M., Sapre A., Chiu Y.J., Clayburgh D.R., Pommier S.J., Cetnar J.P., Fischer J.M., Jaboin J., Pommier R.F., Sheppard B.C., Tsikitis V.L., Skalet A.H., Mayo S.C., Lopez C.D., Gray J.W., Mills G.B., Mitri Z., Chang Y.H., Chin K., Wong M.H. Relevance of circulating hybrid cells as a non-invasive biomarker for myoid solid tumors. *Sci Rep*. 2021; 11(1). doi: 10.1038/s41598-021-93053-7.

11. Gast C.E., Silk A.D., Zarour L., Riegler L., Burkhardt J.G., Gustafson K.T., Parappilly M.S., Roh-Johnson M., Goodman J.R., Olson B., Schmidt M., Swain J.R., Davies P.S., Shastri V., Iizuka S., Flynn P., Watson S., Korkola J., Courtney S.A., Fischer J.M., Jaboin J., Billingsley K.G., Lopez C.D., Burchard J., Gray J., Coussens L.M., Sheppard B.C., Wong M.H. Cell fusion potentiates tumor heterogeneity and reveals circulating hybrid cells that correlate with stage and survival. *Sci Adv*. 2018; 4(9). doi: 10.1126/sciadv.aat7828.

12. Adams D., Adams D.K., Lin S.H., Cristofanilli M., Bergan R.C., Marks J.R., Martin S.S., Chumsri S., Ho T.H., Lapidus R.G., Tsai S., Tang C.M., Alpaugh R.K. Cancer-associated macrophage-like cells as prognostic indicators of overall survival in a variety of solid malignancies. *J Clin Oncol*. 2017; 35(15): 11503. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.11503.

13. Manjunath Y., Porciani D., Mitchem J.B., Suvilesh K.N., Avella D.M., Kimchi E.T., Staveley-O'Carroll K.F., Burke D.H., Li G., Kaifi J.T. Tumor-Cell-Macrophage Fusion Cells as Liquid Biomarkers and Tumor Enhancers in Cancer. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(5): 1872. doi: 10.3390/ijms21051872.

14. Кайгородова Е.В., Очиров М.О., Молчанов С.В., Рогачев Р.Р., Дьяков Д.Д., Чернышова А.Л., Шpileva O.V., Ковалев О.В., Вторушин С.В. Различные популяции EpCam-положительных клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза. Бюллетень сибирской медицины. 2021; 20(2): 44–53. [Kaigorodova E.V., Ochirov M.O., Molchanov S.V., Rogachev R.R., Dyakov D.A., Chernyshova A.L., Shpileva O.V., Kovalev O.I., Vtorushin S.V. Dissimilar populations of EpCAM-positive cells in ascitic fluid of ovarian

cancer patients: a relationship with the degree of carcinomatosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20(2): 44–53. (in Russian)]. doi: 10.20538/1682-0363-2021-2-44-53.

15. Hass R., von der Ohe J., Dittmar T. Hybrid Formation and Fusion of Cancer Cells In Vitro and In Vivo. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(17): 4496. doi: 10.3390/cancers13174496.

16. Reduzzi C., Vismara M., Gerrata L., Silvestri M., De Braud F., Raspagliesi F., Verzoni E., Di Cosimo S., Locati L.D., Cristofanilli M., Daidone M.G., Cappelletti V. The curious phenomenon of dual-positive circulating cells: Longtime overlooked tumor cells. *Semin Cancer Biol*. 2020; 60: 344–50. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.10.008.

17. McGranahan N., Swanton C. Clonal heterogeneity and tumor evolution: past, present, and the future. *Cell*. 2017; 168(4): 613–28. doi: 10.1016/j.cell.2017.01.018.

18. Aithal A., Rauth S., Kshirsagar P., Shah A., Lakshmanan I., Junker W.M., Jain M., Ponnusamy M.P., Batra S.K. MUC16 as a novel target for cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets*. 2018; 22(8): 675–86. doi: 10.1080/14728222.2018.1498845.

19. Kato Y., Ozawa S., Miyamoto C., Maehata Y., Suzuki A., Maeda T., Baba Y. Acidic extracellular microenvironment and cancer. *Cancer Cell Int*. 2013; 13(1): 89. doi: 10.1186/1475-2867-13-89.

20. Bastida-Ruiz D., Van Hoesen K., Cohen M. The dark side of cell fusion. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(5): 638. doi: 10.3390/ijms17050638.

21. Weiler J., Mohr M., Zänker K.S., Dittmar T. Matrix metalloproteinase-9 (MMP9) is involved in the TNF- α -induced fusion of human M13SV1-Cre breast epithelial cells and human MDA-MB-435-pFDR1 cancer cells. *Cell Commun Signal*. 2018; 16(1): 14. doi: 10.1186/s12964-018-0226-1.

22. Jiang E., Yan T., Xu Z., Shang Z. Tumor Microenvironment and Cell Fusion. *Biomed Res Int*. 2019. doi: 10.1155/2019/5013592.

23. Melzer C., von der Ohe J., Hass R. MSC stimulate ovarian tumor growth during intercellular communication but reduce tumorigenicity after fusion with ovarian cancer cells. *Cell Commun Signal*. 2018; 16(1): 1–9. doi: 10.1186/s12964-018-0279-1.

24. Ramakrishnan M., Mathur S.R., Mukhopadhyay A. Fusion-Derived Epithelial Cancer Cells Express Hematopoietic Markers and Contribute to Stem Cell and Migratory Phenotype in Ovarian Carcinoma. Significance of Hemato-Epithelial Ovarian Cancer Compartment. *Cancer Res*. 2013; 73(17): 5360–70. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0896.

25. Akhter M.Z., Sharawat S.K., Kumar V., Kochat V., Equbal Z., Ramakrishnan M., Kumar U., Mathur S., Kumar L., Mukhopadhyay A. Aggressive serous epithelial ovarian cancer is potentially propagated by EpCAM+ CD45+ phenotype. *Oncogene*. 2018; 37(16): 2089–103. doi: 10.1038/s41388-017-0106-y.

26. Gershenson D.M. Management of borderline ovarian tumours. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2017; 41: 49–59. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.09.012.

27. Gizzo S., Berretta R., Di Gangi S., Guido M., Zanni G.C., Franceschetti I., Quaranta M., Plebani M., Nardelli G.B., Patrelli T.S. Borderline ovarian tumors and diagnostic dilemma of intraoperative diagnosis: could preoperative He4 assay and ROMA score assessment increase the frozen section accuracy? A multicenter case-control study. *BioMed Research International*. 2014. doi: 10.1155/2014/803598.

28. Messalli E.M., Grauso F., Balbi G., Napolitano A., Seguin E., Torella M. Borderline ovarian tumors: features and controversial aspects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013; 167(1): 86–9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.11.002.

Поступила/Received 30.05.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 21.07.2022

Принята к публикации/Accepted 05.08.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Козик Алексей Владимирович, студент 6-го курса медико-биологического факультета, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия).

Кайгородова Евгения Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: kaigorodova@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 8286-3757. ORCID: 0000-0003-4378-6915.

Грищенко Максим Юрьевич, кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой общей хирургии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; главный врач, ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2548-9991.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, заведующий отделением общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2442-4720. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Чернышова Алена Леонидовна, доктор медицинских наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник отделения гинекологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2522-7513. ORCID: 0000-0002-8194-2811.

ВКЛАД АВТОРОВ

Козик Алексей Владимирович: проведение исследований, анализ данных, написание статьи.

Кайгородова Евгения Викторовна: разработка концепции и дизайна исследования, проведение исследований, анализ и интерпретация данных, критическая доработка с внесением ценного интеллектуального содержания, редактирование окончательного варианта статьи, утверждение рукописи для публикации.

Грищенко Максим Юрьевич: сбор, анализ и интерпретация данных, редактирование окончательного варианта статьи.

Вторушин Сергей Владимирович: редактирование окончательного варианта статьи.

Чернышова Алена Леонидовна: редактирование окончательного варианта статьи.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента РФ МД-2017.2020.7.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 4 от 02.04.2018).

Благодарности

Авторы выражают благодарность Центру коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ за возможность использования научного оборудования.

ABOUT THE AUTHORS

Alexey V. Kozik, Student, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia).

Evgenya V. Kaigorodova, MD, DSc, Leading Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with the Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). E-mail: kaigorodova@oncology.tomsk.ru. ORCID: 0000-0003-4378-6915.

Maksim Yu. Grishchenko, MD, PhD, Head of the Department of Surgery Division with a Mobilization Training and Emergency Medicine Course, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia; Chief Physician, Tomsk Regional Oncological Dispensary (Tomsk, Russia).

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Head of the Department of the General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor of the Department of Pathology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3789-2016. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Alena L. Chernyshova, MD, DSc, Professor of the Russian Academy of Sciences, Leading Researcher, Department of Gynecology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-8194-2811.

AUTHOR CONTRIBUTION

Alexey V. Kozik: data analysis and interpretation, writing of the manuscript.

Evgenya V. Kaigorodova: study conception and design, data analysis and interpretation, critical revision with valuable intellectual data addition, editing the final version of the article, approval of the manuscript for publication.

Maksim Yu. Grishchenko: data analysis and interpretation, editing of the final version of the manuscript.

Sergey V. Vtorushin: editing of the final version of the manuscript.

Alena L. Chernyshova: editing of the final version of the manuscript.

Funding

The study was supported by a grant from the President of the Russian Federation MD-2017.2020.7.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical Compliance

The study was approved by the local ethics committee of the Cancer Research Institute of the Tomsk National Research Medical Center (protocol № 4 of 02.04.2018).

Acknowledgments

The authors are grateful to The Core Facility «Medical genomics», Tomsk NRMЦ for the opportunity to use scientific equipment.