

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ISSN 1814-4861 (Print)
ISSN 2312-3168 (Online)

Том 21, № 1' 2022

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

Лекции

Клинические
исследования

Экспериментальные и
лабораторные исследования

Обзоры

История медицины

Протоколы общества онкологов

Юбилеи

Информация. Хроника

Учредитель:
Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение «Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»

сайт: www.siboncoj.ru

Журнал издается при поддержке
Национального союза «Ассоциация онкологов России»

Издается с мая 2002 г.

Адрес редакции и издательства:

634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5
Томский национальный исследовательский медицинский
центр Российской академии наук, редакция «Сибирского
онкологического журнала»
тел.: (3822) 51-32-69, (3822) 28-26-78
факс: (3822) 28-26-86
E-mail: sjo@oncology.tomsk.ru,
AfanasyevSG@oncology.tomsk.ru

Журнал зарегистрирован 20.03.2003 г.
в Министерстве Российской Федерации по делам печати,
телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.
Свидетельство ПИ № 77-14937.

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых
научных изданий, выпускаемых в Российской Федерации,
в которых должны быть опубликованы основные научные
результаты диссертаций на соискание ученой степени
доктора и кандидата наук.

Журнал включен в РЖ и БД ВИНТИ, международную
справочную систему «Ulrich's International Periodicals
Directory», Научную электронную библиотеку (elibrary.
ru), электронную библиотеку «Cyberleninka», онлайн-
платформу «Directory of Open Access Journals» (DOAJ).
Журнал индексируется в БД «Российский индекс научного
цитирования» (РИНЦ), БД «Scopus».

Редакторы:

В.С. Сумарокова, Е.В. Лукина

Верстка:



Дата выхода 03.03.2022 г.

Формат 60x84^{1/8}.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.

Гарнитура Times New Roman Cyr

Печ. л. 20,75; усл. печ. л. 18,5; уч.-изд. л. 21,2.

Тираж 1000 экз. Заказ 148. Свободная цена.

Учебная производственная типография ТГУ, 634050,
г. Томск, пр. Ленина, 66.

При перепечатке ссылка на
«Сибирский онкологический журнал» обязательна

© Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук

ISSN 1814-4861(Print)
ISSN 2312-3168(Online)

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

Двухмесячный научно-практический журнал

Том 21, № 1 2022

Главный редактор -

Е.Л. Чойнзонов, д.м.н., академик РАН, профессор (г. Томск, Россия)

Заместители главного редактора:

В.Е. Гольдберг, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

Н.В. Чердынцова, д.б.н., член-корр. РАН, профессор (г. Томск, Россия)

В.И. Чернов, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

Отв. секретари:

С.Г. Афанасьев, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

И.В. Кондакова, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

Члены редколлегии:

Л.А. Ашрафян, академик РАН, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)

Л.М. Берштейн, д.м.н., профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)

М.И. Давыдов, академик РАН, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)

Е.В. Денисов, к.м.н. (г. Томск, Россия)

Д.Г. Заридзе, д.м.н., член-корр. РАН, профессор (г. Москва, Россия)

Е.Н. Имянитов, д.м.н., член-корр. РАН,

профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)

А.Д. Каприн, академик РАН, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

Л.А. Коломиец, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

М.А. Красильников, д.б.н., профессор (г. Москва, Россия)

А.В. Лисица, д.б.н., академик РАН, профессор (г. Москва, Россия)

Н.В. Литвяков, д.б.н. (г. Томск, Россия)

Л.Н. Любченко, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)

В.М. Моисеенко, д.м.н., профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)

С.А. Некрылов, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

В.А. Новиков, д.м.н. (г. Томск, Россия)

И.Н. Одинцова, д.м.н. (г. Томск, Россия)

В.М. Перельмутер, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

И.В. Решетов, д.м.н., академик РАН, профессор (г. Москва, Россия)

Е.М. Слонимская, д.м.н., профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)

В.В. Старинский, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)

Ж.А. Старцева, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

В.А. Ткачук, академик РАН, д.б.н., профессор (г. Москва, Россия)

С.А. Тузиков, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

С.А. Тюлядин, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)

В.В. Удот, д.м.н., член-корр. РАН, профессор (г. Томск, Россия)

Е.А. Усынин, д.м.н. (г. Томск, Россия)

И.Г. Фролова, д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)

О.В. Черемисина, д.м.н. (г. Томск, Россия)

Е.Р. Черных, д.м.н., член-корр. РАН, профессор (г. Новосибирск, Россия)

С. Айер, профессор (г. Кочи, Индия)

М. Джугашвили, MD, PhD (Испания)

В. Кесик, д.м.н., профессор (Хорватия)

Ю. Кжышкова, д.б.н., профессор (Германия)

Т. Кондо, профессор (Япония)

Г. Марголин, профессор (Швеция)

Л. Унгар, профессор (Венгрия)

М. Фрейдин, PhD (Великобритания)

Т.-Х. Чунг, профессор (г. Гонконг, Китай)

Дж. Ша, MS MD, F.A.C.S. (США)

А. Шаха, профессор (Нью Йорк, США)

А.Ю. профессор (Тайвань)

Founder of the Journal

Federal State Budgetary Scientific Institution «Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences»

Web-site: www.siboncoj.ru

The Journal is published with the support of the Russian Oncology Association

The Journal was founded in 2002

Address of the Editorial Office:

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
Editorial Board of Siberian Journal of Oncology
5, Kooperativny Street., 634009, Tomsk, Russia
tel.: +7 (3822) 51-32-69, (3822) 28-26-78
fax: +7 (3822) 28-26-86
E-mail: sjo@oncology.tomsk.ru,
AfanasievSG@oncology.tomsk.ru

The journal was registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Registration certificate: PI № 77-14937.

The journal has been included in the list of Russian peer-reviewed scientific journals, which publish major scientific results of dissertations for PhD degree.

The journal has been included in the Abstract Journal and VINITI databases, Ulrich's International Periodicals Directory, Scientific Electronic Library (elibrary.ru), Cyberleninka electronic library, and Directory of Open Access Journals (DOAJ). The journal is indexed in Russian Science Citation Index (RSCI) and SCOPUS

Editors: Sumarokova V.S., Lukina E.V.
Maker-up:



Printed: 03.03.2022
Format: 60x84 1/8. Litho

Printing: 1000 copies. Order Free Price.
Printed by TSU press
66 Lenina Str., 634050, Tomsk, Russia

© Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL
ISSUED ONCE IN TWO MONTHS

Vol. 21, № 1 2022

Editor-in-Chief :

E.L. Choyazonov, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

Associate Editors:

V.E. Goldberg, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

N.V. Cherdynseva, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

Executive Editors:

S.G. Afanasyev, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

I.V. Kondakova, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

Editorial Board:

L.A. Ashrafyan, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

L.M. Bershtein, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)

M.I. Davydov, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

E.V. Denisov, PhD (Tomsk, Russia)

D.G. Zaridze, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

E.N. Imyaninov, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (St. Petersburg, Russia)

A.D. Kaprin, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

L.A. Kolomiets, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

M.A. Krasilnikov, PhD, Professor (Moscow, Russia)

A.V. Lisitsa, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

N.V. Litvyakov, PhD, DSc (Tomsk, Russia)

L.N. Lyubchenko, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

V.M. Moiseenko, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)

S.A. Nekrylov, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

V.A. Novikov, MD, PhD, DSc (Tomsk, Russia)

I.N. Odintsova, PhD, DSc (Tomsk, Russia)

V.M. Perelmutter, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

I.V. Reshetov, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

E.M. Slonimskaya, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)

V.V. Starinsky, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Zh.A. Startseva, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

V.A. Tkachuk, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

S.A. Tuzikov, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

S.A. Tyulyandin, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

V.V. Udut, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

E.A. Usynin, MD, PhD, DSc (Tomsk, Russia)

I.G. Frolova, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

O.V. Cheremisina, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

E.R. Chenykh, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia)

S. Iyer, Professor (India)

M. Dzhugashvili, MD, PhD (Spain)

V. Kesik, MD, PhD, Professor (Croatia)

Yu. Kzhyshkovska, Professor (Germany)

T. Kondo, Professor (Japan)

G. Margolin, Professor (Sweden)

L. Ungar, Professor (Hungary)

M. Freidin, PhD (United Kingdom)

Tak-Hong Cheung, MBBS, MD, Professor (Hong-Kong, China)

J. Shah, MS MD, F.A.C.S. (USA)

Ashok Shaha, MD, PhD, F.A.C.S. (New York, USA)

A. Yu, Professor (Taiwan)

СОДЕРЖАНИЕ

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Шуныко Е.Л., Важенин А.В., Шаназаров Н.А.</i> Оценка возможности применения эмпирических моделей прогнозирования второй метастатической опухоли после химиотерапии первой в диспансеризации онкологических больных	5
---	---

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Августиневич А.В., Афанасьев С.Г., Добродеев А.Ю., Волков М.Ю., Костромицкий Д.Н., Спирина Л.В., Черемисина О.В.</i> Непосредственная эффективность и токсичность тотальной неоадьювантной химиотерапии резектабельного рака желудка	11
<i>Потемин С.Н., Уваров И.Б., Потемин Д.С.</i> Интраоперационная радиотерапия фотонной радиохирургической системой в лечении местнораспространенного рака прямой кишки	20
<i>Франциянц Е.М., Сурикова Е.И., Владимиров Л.Ю., Мягкова В.С., Кательническая О.В., Погорелова Ю.А., Лысенко И.Б., Енгибарян М.А.</i> Содержание эндотелина-1 и высокомолекулярного кининогена в крови больных раком молочной железы после перенесенной инфекции SARS-CoV-2	29

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Кутилин Д.С., Кит О.И.</i> Зависимость выживаемости и метастазирования у больных колоректальным раком от транскрипционной активности РТ-генов	37
<i>Тельшьева Е.Н., Шайхаев Е.Г., Снугирева Г.П.</i> Мутационный профиль KRAS-позитивного колоректального рака	47
<i>Назарова И.В., Забегина Л.М., Никифорова Н.С., Слюсаренко М.А., Сидина Е.И., Жахов А.В., Ищенко А.М., Маргулис Б.А., Гужова И.В., Малек А.В.</i> Тепловой стресс стимулирует секрецию клетками колоректальной карциномы специфической популяции нановезикул с повышенным содержанием БТШ70 и измененным составом микроРНК	57
<i>Мндлян Е.Ю., Семушина С.Г., Ржевский Д.И., Новикова Н.И., Калабина Е.А., Комков Д.С., Масленникова А.Ю., Мурашев А.Н., Холмухамедов Э.Л.</i> Создание ортотопических опухолей в молочной железе мышей BALB/C NUDE клетками рака молочной железы человека MCF-7 и ее VDAC-дефицитными производными	72

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

<i>Аксарин А.А., Тер-Ованесов М.Д., Копейка С.М.</i> Бронхопластические операции в лечении больных немелкоклеточным раком лёгкого	85
<i>Хамди О., Аталла Х., Рос М.Х., Метвалли И.Х.</i> Влияние ожирения на онкологические и хирургические результаты лечения саркомы мягких тканей бедра. (на англ.)	91

ОБЗОРЫ

<i>Каприн А.Д., Зикиряходжаев А.Д., Босиева А.Р., Самсонов Ю.В., Костин А.А.</i> Комбинированное и комплексное лечение больных раком молочной железы в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19)	99
<i>Аксёненко В.О., Фролова И.Г., Гарбуков Е.Ю., Григорьев Е.Г., Рамазанова М.П., Усынин Е.А., Вторушин С.В., Алайчиев Н.А.</i> Возможности оценки роли микрокальцинатов в первичной опухоли с позиции прогностической значимости. Обзор литературы	107
<i>Лактионов К.К., Казаков А.М., Саранцева К.А., Щербо Д.С., Коваль А.П.</i> Мутация в гене KRAS как предиктор эффективности иммунотерапии при немелкоклеточном раке лёгкого	115
<i>Солодкий В.А., Фомин Д.К., Гончаров С.В., Кукушкина С.А.</i> Современные подходы к лечению перитонеального канцероматоза при раке желудка (Обзор литературы)	122
<i>Кит О.И., Максимов А.Ю., Новикова И.А., Гончарова А.С., Лукбанова Е.А., Ситковская А.О., Воловик В.Г., Чапек С.В.</i> Применение биосовместимых композитных структур (скаффолдов) в онкологии	130

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

<i>Куликов Е.П., Головкин Е.Ю., Мерцалов С.А., Виноградов И.И., Борисова М.В., Вагапова С.Х.</i> Клиническое наблюдение торпидного течения метастатического трижды негативного рака молочной железы	137
<i>Киреева Т.А., Гуменецкая Ю.В., Гоголин Д.В., Гордон К.Б., Гулидов И.А., Лепилина О.Г.</i> Протонная терапия в лечении диффузной астроцитомы ствола головного мозга. Случай из практики	144
<i>Камалов А.К., Рябов А.Б., Хомяков В.М., Волченко Н.Н., Колобаев И.В., Кострыгин А.К., Аксенов С.А.</i> Способ лапароскопической трансгастральной резекции при мезенхимальных опухолях желудка	151

ЮБИЛЕИ. ХРОНИКА. ИНФОРМАЦИЯ

Академик Борис Иванович Долгушин (к 70-летию со дня рождения)	157
Академик А.Д. Каприн награжден орденом Пирогова	159

CONTENTS

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

- Shunko E.L., Vazhenin A.V., Shanazarov N.A.** Estimation of the feasibility of using empirical models for prediction of the second metachronous tumor after chemotherapy of the first tumor to improve cancer surveillance 5

CLINICAL STUDIES

- Avgustinovich A.V., Afanasyev S.G., Dobrodeev A.Yu., Volkov M.Yu., Kostromitsky D.N., Spirina L.V., Cheremisina O.V.** Short-term efficacy and toxicity of total neoadjuvant chemotherapy in patients with resectable gastric cancer 11
- Potemin S.N., Uvarov I.B., Potemin D.S.** Intraoperative radiotherapy with a photonic Radiosurgical system in the treatment of locally advanced rectal cancer 20
- Frantsiyants E.M., Surikova E.I., Vladimirova L.Yu., Myagkova V.S., Katelnitskaya O.V., Pogorelova Yu.A., Lysenko I.B., Engibaryan M.A.** Levels of Endothelin-1 and high molecular weight kininogen in blood of breast cancer patients after SARS-CoV-2 infection 29

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

- Kutlin D.S., Kit O.I.** Relationship between the transcriptional activity of CT-genes and survival in colorectal cancer patients 37
- Telysheva E.N., Shaikhaev E.G., Snigireva G.P.** Mutational profile of KRAS-positive colorectal cancer 47
- Nazarova I.V., Zabegina L.M., Nikiforova N.S., Slusarenko M.A., Sidina E.I., Zhakhov A.V., Ishchenko A.M., Margulis B.A., Guzhova I.V., Malek A.V.** Heat stress stimulates colon cancer cells to secrete specific population of extracellular nanovesicles enriched by HSP70 and microRNAs 57
- Mndlyan E.Yu., Semushina S.G., Rzhovsky D.I., Novikova N.I., Kalabina E.A., Komkov D.S., Maslennikova A.Yu., Murashev A.N., Holmuhamedov E.L.** Establishment of an orthotopic tumor model in the mammary gland of balb/c nude mice using human breast cancer MCF-7 cells and their VDAC-deficient derivatives 72

PRACTICE OF ONCOLOGY

- Aksarin A.A., Ter-Ovanesov M.D., Kopeyka S.M.** Bronchoplastic surgery in the treatment of patients with non-small cell lung cancer 85
- Hamdy O., Atallah Kh., Ros M.H., Metwally I.H.** Impact of obesity on the oncological and surgical outcomes of thigh soft tissue sarcoma 91

REVIEWS

- Kaprin A.D., Zakiryakhodzhaev A.D., Bosieva A.R., Samsonov Yu.V., Kostin A.A.** Combination treatment of breast cancer patients during the COVID-19 pandemic 99
- Aksenov V.O., Frolova I.G., Garbukov E.Yu., Grigoryev E.G., Ramazanov M.P., Usynin E.A., Vtorushin S.V., Alaichiev N.A.** Prognostic significance of microcalcifications in breast cancer (Literature review) 107
- Laktionov K.K., Kazakov A.M., Sarantseva K.A., Scherbo D.S., Koval A.P.** Mutation in the KRAS gene as a predictor of the effectiveness of immunotherapy for non-small cell lung cancer 115
- Solodkiy V.A., Fomin D.K., Goncharov S.V., Kukushkina S.A.** Modern approaches to the treatment of peritoneal carcinomatosis from gastric cancer (Literature review) 122
- Kit O.I., Maksimov A.Yu., Novikova I.A., Goncharova A.S., Lukbanova E.A., Sitkovskaya A.O., Volovik V.G., Chapek S.V.** The use of biocompatible composite scaffolds in oncology 130

CASE REPORTS

- Kulikov E.P., Golovkin E.Yu., Mertsalov S.A., Vinogradov I.I., Borisova M.V., Vagapova S.Kh.** Clinical case of torpid course of metastatic triple negative breast cancer 137
- Kireeva T.A., Gumenetskaya Yu.V., Gogolin D.V., Gordon K.B., Gulidov I.A., Lepilina O.G.** Proton therapy in the treatment of diffuse astrocytoma of the brain stem. Case report 144
- Kamalov A.K., Ryabov A.B., Khomyakov V.M., Volchenko N.N., Kolobaev I.V., Kostygin A.K., Aksenov S.A.** Method for laparoscopic transgastral resection for mesenchymal gastric tumors 151

ANNIVERSARIES. CHRONICLE. INFORMATION

- Academician B.I. Dolgushin (70-year anniversary) 157
- Academician A.D. Kaprin was awarded the Order of Pirogov 159

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-5-10
УДК: 616.006.04-08-037:615.28

Для цитирования: Шунько Е.Л., Важенин А.В., Шаназаров Н.А. Оценка возможности применения эмпирических моделей прогнозирования второй метакхронной опухоли после химиотерапии первой в диспансеризации онкологических больных. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 5–10. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-5-10
For citation: Shunko E.L., Vazhenin A.V., Shanazarov N.A. Estimation of the feasibility of using empirical models for prediction of the second metachronous tumor after chemotherapy of the first tumor to improve cancer surveillance. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 5–10. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-5-10

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭМПИРИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ВТОРОЙ МЕТАХРОННОЙ ОПУХОЛИ ПОСЛЕ ХИМИОТЕРАПИИ ПЕРВОЙ В ДИСПАНСЕРИЗАЦИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Е.Л. Шунько¹, А.В. Важенин², Н.А. Шаназаров³

ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Тюмень, Россия¹
Россия, 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 54¹
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Челябинск, Россия²
Россия, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64²
РГП «Больница Медицинского центра Управления делами Президента Республики Казахстан»,
г. Нур-Султан, Казахстан³
Казахстан, 010000, г. Нур-Султан, ул. Е495, № 2³

Аннотация

Цель исследования – оценить возможность применения эмпирических моделей прогнозирования второй метакхронной опухоли после химиотерапии первой для повышения эффективности диспансеризации онкологических больных. **Материал и методы.** Объекты исследования – электронные базы данных по химиотерапевтическому лечению онкологических больных, выгрузки из базы данных по лечению больных с первично-множественными злокачественными новообразованиями (ПМ ЗНО) за период 1990–2015 гг., истории болезни и медицинские карты 796 больных с метакхронными (ПМ ЗНО): основная группа – 496 пациентов после химиотерапии, контрольная группа – 300 больных после хирургического лечения первой опухоли, размер выборки предварительно не рассчитывался. **Результаты.** Эмпирические модели прогнозирования второй метакхронной опухоли после химиотерапии первой показали наиболее высокую вероятность появления второй метакхронной опухоли в трех интервалах времени: 1256,00–1884,00 дней (3,44–5,16 года; HR=2,25; шанс возникновения второй метакхронной опухоли составляет 69,2 %), 3768,00–4396,00 дней (10,32–12,04 года; HR=3,86; шанс 79,4 %), 6280,00–6908,00 дней (17,21–18,93 года; HR=2,00; шанс 66,7 %). **Заключение.** По результатам анализа эмпирических моделей риска для второй метакхронной опухоли после химиотерапии первой разработаны поправки в сроки диспансерного наблюдения больных с первично-множественными метакхронными злокачественными новообразованиями после химиотерапии первой опухоли. Знание о наиболее вероятных сроках возникновения второй метакхронной опухоли после химиотерапии первой позволяет более точно составлять и при необходимости корректировать план диспансерного наблюдения после химиотерапевтического лечения первой опухоли.

Ключевые слова: злокачественные новообразования; полинеоплазии; первично-множественные опухоли; метакхронные злокачественные опухоли.

ESTIMATION OF THE FEASIBILITY OF USING EMPIRICAL MODELS FOR PREDICTION OF THE SECOND METACHRONOUS TUMOR AFTER CHEMOTHERAPY OF THE FIRST TUMOR TO IMPROVE CANCER SURVEILLANCE

E.L. Shunko¹, A.V. Vazhenin², N.A. Shanazarov³

Tyumen State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russia, Tyumen, Russia¹

54, Odesskaya St., 625023, Tyumen, Russia¹

South-Ural State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russia, Chelyabinsk, Russia²

64, Vorovsky St., 454092, Chelyabinsk, Russia²

Medical Centre Hospital of President's Affairs Administration of the Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan, Kazakhstan³

№ 2, E495, 010000, Nur-Sultan, Kazakhstan³

Abstract

Aim. To assess the possibility of using empirical models for predicting a second metachronous tumor after chemotherapy of the first one to improve the efficiency of prophylactic medical examination of cancer patients. **Material and Methods.** The objects of the study are electronic databases on the chemotherapy treatment of cancer patients, extracts from the database on the treatment of patients with PM oncology for the period 1990–2015, case histories and medical records of 796 patients with metachronous PM oncology: experimental group – 496 patients after chemotherapy, control group – 300 patients after surgical treatment of the first tumor, the sample size was not previously calculated. **Results.** Empirical models for predicting a second metachronous tumor after chemotherapy of the first one showed the highest probability of a second metachronous tumor in three time intervals: 1256.00–1884.00 days (3.44–5.16 years; HR=2.25; tumor is 69.2 %), 3768.00–4396.00 days (10.32–12.04 years; HR=3.86; chance 79.4 %), 6280.00–6908.00 days (17, 21–18.93 years; HR=2.00; 66.7 % chance. **Conclusion.** Based on the results of the analysis of empirical risk models for a second metachronous tumor after chemotherapy of the first one, amendments were developed to the timing of dispensary observation of patients with primary multiple metachronous malignant neoplasms after chemotherapy of the first tumor. Knowledge of the most probable timing of the occurrence of a second metachronous tumor after chemotherapy of the first one makes it possible to more accurately draw up and, if necessary, adjust the plan for dispensary observation after chemotherapy treatment of the first tumor.

Key words: malignant neoplasms; polyneoplasia; multiple primary tumors; metachronous malignant tumors.

Введение

В современных условиях одной из серьезных проблем в онкологии является рост первично-множественных злокачественных новообразований (ПМ ЗНО), в том числе и после предшествующей химиотерапии первичной опухоли [1]. В ряде популяционных исследований указывается на связь химиотерапии и, в зависимости от цитостатического препарата, различное увеличение частоты ПМ ЗНО у пролеченных пациентов, в том числе лейкемии [2] и лейкоза [3–6]. Кроме того, информация о ПМ ЗНО в официальных статистических формах не разбита по нозологическим группам и недостаточна для анализа данного раздела онкологии, который приобретает все большую актуальность и остроту [7]. В 2018 г. в Российской Федерации 8,8 % всех впервые выявленных злокачественных новообразований составили ПМ ЗНО (54 873 – 37,4 на 100 тыс населения). Синхронные опухоли составили 26,7 %. При этом контингент пациентов с ПМ ЗНО на конец 2018 г. составил 204 792 – 5,4 % от общего числа пациентов, состоящих под диспан-

серным наблюдением, в Уральском федеральном округе – 18 004 (6,2 %), в Челябинской области – 6 128 (7,1 %) [8].

Согласно литературным данным, при наличии первично-множественного процесса вторая опухоль при обследовании не диагностируется в 27–35 % [9–11], так как быстрее проявляется активно манифестирующая опухоль. Как правило, в 57,3 % случаев проявления второй опухоли скрываются выраженными проявлениями первой опухоли или сопутствующей неопухолевой патологией, а у 30 % больных вторая опухоль выявляется только в ходе лечения первой [9].

Онкологические больные после химиотерапевтического лечения являются группой риска возникновения полинеоплазий, и только правильная организация динамического наблюдения позволит провести наиболее раннюю диагностику опухолей второй локализации и выполнить органосохраняющее лечение [11, 12]. При этом одним из возможных инструментов прогнозирования метакронных полинеоплазий являются эмпирические модели

Кокса, которые позволяют более точно определить возможные интервалы времени для развития второй метакронной опухоли после химиотерапии первой, что позволяет скорректировать сроки диспансерного наблюдения для данной категории онкологических больных.

Цель исследования – оценить возможность применения эмпирических моделей прогнозирования второй метакронной опухоли после химиотерапии первой для повышения эффективности диспансеризации онкологических больных.

Материал и методы

Исследование является ретроспективным и проведено по архивным данным Челябинского областного клинического центра онкологии и ядерной медицины (ГБУЗ «ЧОКЦО и ЯМ»). Объектами исследования являются истории болезни, медицинские карты, электронные базы данных по химиотерапевтическому лечению онкологических больных в ГБУЗ «ЧОКЦО и ЯМ», выгрузки из базы данных по лечению больных с ПМ ЗНО за период 1990–2015 гг. Изучены истории болезни 796 больных с метакронными ПМ ЗНО. Основную группу составили 496 пациентов после химиотерапии, контрольную группу – 300 больных после хирургического лечения первой опухоли, размер выборки предварительно не рассчитывался.

Этическая экспертиза исследования проведена Этическим комитетом ГБОУ ВПО «ЧелГМА Минздравсоцразвития России» (Протокол № 1 от 25.01.2012) и ГБОУ ВПО «ЮУГМУ Минздрава» (протокол № 5 от 25.05.2016) – исследование разрешено как не противоречащее принципам медицинской этики.

Модели прогнозирования второй метакронной опухоли построены с помощью модуля «Анализ выживаемости STATISTICA» (пакет прикладных программ «Statistica Version 10.0.0.0») для анализа данных на базе персонального компьютера) с применением многофакторного анализа (модель Кокса) с учетом всех осложнений, приведших к изменениям в лечении (схема, интервал между курсами). Соответствие эмпирической модели данным исследования проверялось по критерию χ^2 .

Результаты

В среднем в группе больных, получивших химиотерапию первой опухоли ($n=496$), пациенты прожили 67,76 мес от начала лечения первой опухоли и 31,02 мес от момента появления второй метакронной опухоли. Интервал времени между первой и второй опухолью составил в среднем 45,21 мес (95 % ДИ 39,76–50,66), интервал времени от начала химиотерапии (ХТ) первой опухоли до появления второй опухоли составил в среднем 38,72 мес (95 % ДИ 33,60–43,84), в подгруппах живых ($n=404$) и умерших ($n=92$) – 40,59 мес (95 % ДИ 34,38–46,79) и 19,26 (95 % ДИ 11,72–

26,80) мес соответственно, различия значимы по критерию однородности дисперсий и результатам однофакторного дисперсионного анализа ($LS=6,578$; $p=0,012$ и $F=10,028$; $p=0,002$).

Также определены выживаемость больных и риск возникновения второй метакронной опухоли в зависимости от вида химиотерапии (адьювантная, неоадьювантная/адьювантная, неоадьювантная, самостоятельная). В среднем выживаемость для адьювантной ХТ ($n=236$) составила 74,339 мес, медиана – 68,000 мес; для неоадьювантной ХТ ($n=56$) – среднее значение 50,357 мес, медиана 55,000 мес; для самостоятельной ХТ ($n=136$) – среднее значение 61,941 мес, медиана – 53,000 мес; для неоадьювантной/адьювантной ХТ ($n=68$) среднее значение – 82,333 мес, медиана – 91,000 мес. Риск возникновения второй метакронной опухоли был практически одинаков для всех видов химиотерапии, число терминальных случаев в группе с адьювантной ХТ было несколько выше для интервалов 0–12, 24–36 и 36–48 мес от начала химиотерапии, в группе с неоадьювантной/адьювантной ХТ – для интервалов 0–12 и 96–108 мес, в группе с самостоятельной ХТ – для интервалов 0–12 и 12–24 мес, в группе с неоадьювантной ХТ в интервале от 0 до 72 мес терминальные случаи отсутствовали.

Для построения модели риска появления второй метакронной опухоли учитывались все значимые осложнения лечения, которые приводили к удлинению интервала между курсами, замене химиопрепарата или изменению схемы лечения (степень лейкопении, тромбоцитопении, эритроцитопении, длительность интервала между курсами). В среднем в основной группе больные получили 2,43 курса химиотерапии, длительность ХТ составила 3,31 мес, длительность перерыва в лечении, обусловленная возникшими осложнениями, – 1,5 мес. Осложнения при химиотерапии отмечались у 156 (31,5 %) больных.

На предварительном этапе построения эмпирических моделей было определено, что теоретические распределения, полученные тремя различными методами оценивания (методом наименьших квадратов и двумя методами взвешенных наименьших квадратов – Weight 1, Weight 2, Weight 3), в двух наборах теоретических данных значимо не расходятся с экспериментальными данными ($\chi^2=15,76251$ и $p=0,166765$; $\chi^2=13,34219$ и $p=0,553256$; $\chi^2=16,47435$ и $p=0,105481$ соответственно для набора данных Weight 1, Weight 2, Weight 3), что делает возможным построение моделей прогнозирования второй метакронной опухоли.

Эмпирическая модель «Оценка функции мгновенного риска» (Модель Кокса) для второй метакронной опухоли после химиотерапии первой опухоли (рис. 1) показала, что отношение величин риска (hazard ratio, HR) в экспериментальной и контрольной группах находится в пределах 0,0008,

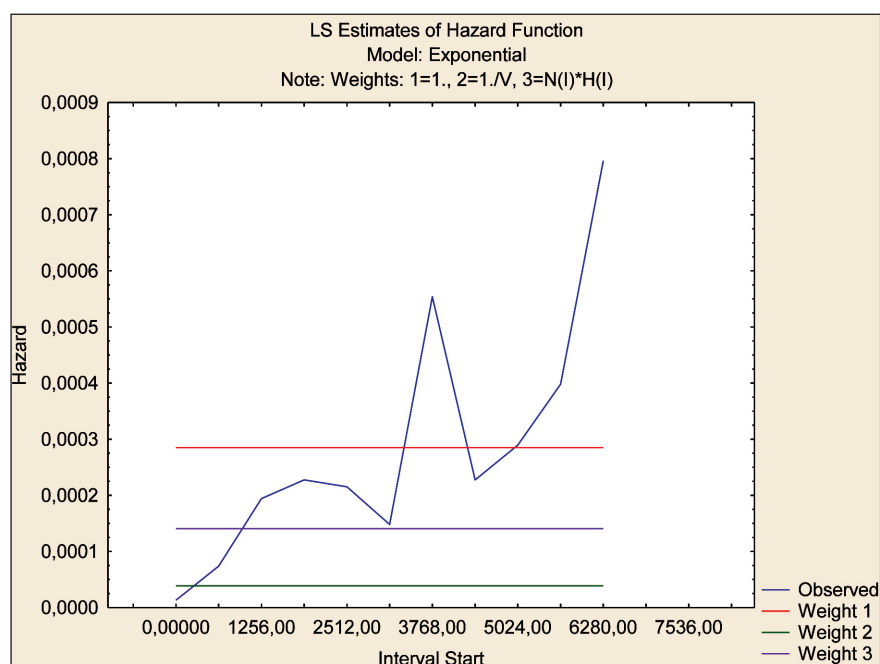


Рис. 1. Модель Кокса «Оценка функции мгновенного риска возникновения второй метакронной опухоли после химиотерапии первой опухоли».

Примечание: по оси Y – риск; по оси X – дни

Fig. 1. Cox model «Assessment of the function of instantaneous risk of a second metachronous tumor after chemotherapy of the first tumor»
Note: Y-axis – risk, X-axis – days

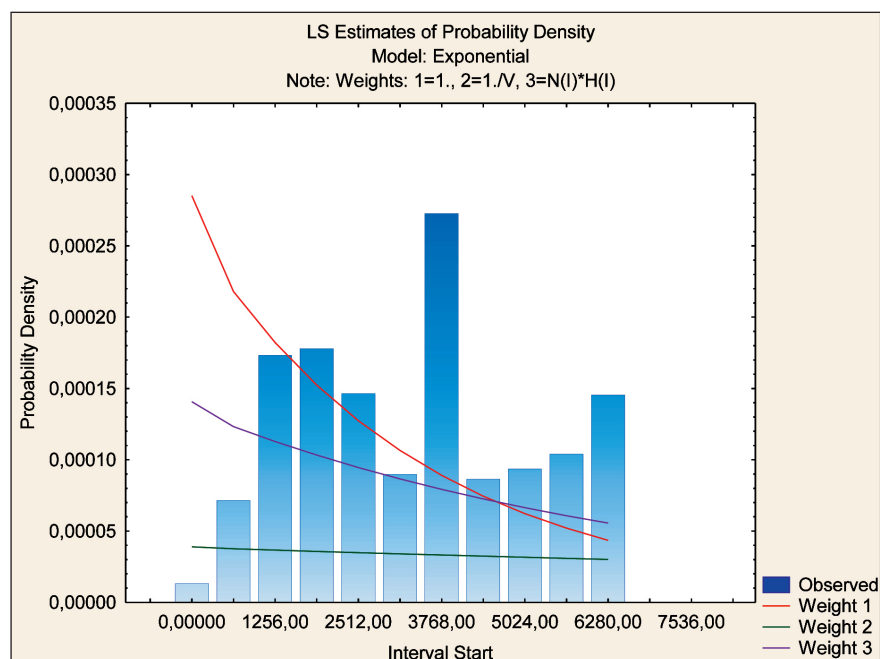


Рис. 2. Экспоненциальная модель «Оценка плотности вероятности возникновения второй метакронной опухоли после химиотерапии первой опухоли». Примечание: по оси Y – плотность вероятности; по оси X – дни

Fig. 2. Exponential model «Estimation of the probability density of a second metachronous tumor after chemotherapy of the first tumor».

Note: Y-axis – probability density, X-axis – days

что составляет 0,08 % развития второй метакронной опухоли после ХТ по сравнению с пациентами после хирургического лечения первой опухоли. Однако необходимо отметить для пациентов после ХТ несколько периодов выживания с наиболее высоким риском для развития второй метакронной опухоли: 1256,00–1884,00 дней (3,44–5,16 года; HR=2,25; шанс возникновения второй метакронной опухоли составляет 69,2 %), 3768,00–4396,00 дней (10,32–12,04 года; HR=3,86; шанс 79,4 %), 6280,00–6908,00 дней (17,21–8,93 года; HR=2,00; шанс 66,7 %).

Экспоненциальная модель «Оценка плотности вероятности» для второй метакронной опухоли после химиотерапии первой опухоли (рис. 2) по-

казала, что наиболее высокая плотность вероятности (0,00027) для второй метакронной опухоли соответствует 4396,00 дням (12,04 года) от начала ХТ. Достаточно высокие показатели плотности 0,00017 и 0,00018 отмечаются соответственно и для временных отметок 1884,00 дней (5,16 лет) и 2512,00 дней (6,88 года) от начала ХТ; к временной отметке 1256,00 дней (3,44 года) от начала ХТ показатели плотности вероятности и риска для второй метакронной опухоли составляют 0,000054 и 0,000075 соответственно, риск для второй метакронной опухоли составляет 51,2 %, в последующие периоды выживания он не снижается и удерживается выше отметки 58,85 % шанса возникновения второй метакронной опухоли.

Таким образом, построенные эмпирические модели прогнозирования второй метакронной опухоли после химиотерапии первой опухоли показали наиболее высокую вероятность второй метакронной опухоли в трех интервалах времени: 1256,00–1884,00 дней (3,44–5,16 года; HR=2,25; шанс возникновения второй метакронной опухоли составляет 69,2 %), 3768,00–4396,00 дней (10,32–12,04 года; HR=3,86; шанс 79,4 %), 6280,00–6908,00 дней (17,21–18,93 года; HR=2,00; шанс 66,7 %).

Обсуждение

К настоящему времени в литературе представлено достаточно большое количество исследований по изучению ПМ ЗНО после химиотерапии, но все они основаны на анализе малочисленных групп больных [13, 14]. За последние годы в иностранной литературе представлено несколько эмпирических многомерных моделей регрессии Кокса, но все они выполнены для одной локализации первой опухоли [15–17] и позволяют предположить только возможную локализацию второй метакронной опухоли, но не содержат информации о примерных

сроках возникновения второй опухоли. Кроме того, по сравнению с нашим исследованием, ни одна из вышеуказанных моделей не построена для онкологических больных после химиотерапии первой опухоли.

Заключение

В исследовании впервые построены эмпирическая модель «Оценка функции мгновенного риска» (модель Кокса) и экспоненциальная модель «Оценка плотности вероятности» для второй метакронной опухоли после химиотерапии первой опухоли. Разработаны поправки в сроки диспансерного наблюдения больных с первично-множественными метакронными злокачественными новообразованиями после химиотерапии первой опухоли. Знание о сроках возникновения второй метакронной опухоли после химиотерапии первой позволяет более точно составлять и при необходимости корректировать план диспансерного наблюдения индивидуально для каждого онкологического больного после химиотерапевтического лечения первой опухоли.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Rubino C., de Vathaire F., Shamsaldin A., Labbe M., Lê M.G. Radiation dose chemotherapy, hormonal treatment and risk of second cancer after breast cancer treatment. *Br. J. Cancer*. 2003; 89: 840–6. doi: 10.1038/sj.bjc.6601138.
2. Travis L.B., Curtis R.E., Boice J.D., Platz C.E., Hankey B.F., Fraumeni J.F. Second malignant neoplasms among long-term survivors of ovarian cancer. *Cancer Res*. 1996; 56(7): 1564–70.
3. de Vathaire F., Hawkins M., Campbell S., Oberlin O., Raquin M.A., Schlienger J.Y., Shamsaldin A., Diallo I., Bell J., Grimaud E., Hardiman C., Lagrange J.L., Daly-Schweitzer N., Panis X., Zucker J.M., Sancho-Garnier H., Eschwege F., Chavaudra J., Lemerle J. Second malignant neoplasms after a first cancer in childhood: temporal pattern of risk according to type of treatment. *Br J Cancer*. 1999; 79(11–12): 1884–93. doi: 10.1038/sj.bjc.6690300.
4. Dore G.M., Metayer C., Curtis R.E., Lynch C.F., Clarke E.A., Glimelius B., Storm H., Pukkala E., van Leeuwen F.E., Holowaty E.J., Andersson M., Wiklund T., Joensuu T., van't Veer M.B., Stovall M., Gospodarowicz M., Travis L.B. Second malignant neoplasms among long-term survivors of Hodgkin's disease: a population-based evaluation over 25 years. *J Clin Oncol*. 2002; 20(16): 3484–94. doi: 10.1200/JCO.2002.09.038.
5. Guérin S., Guibout C., Shamsaldin A., Dondon M.G., Diallo I., Hawkins M., Oberlin O., Hartmann O., Michon J., Le Deley M.C., de Vathaire F. Concomitant chemo-radiotherapy and local dose of radiation as risk factors for second malignant neoplasms after solid cancer in childhood: a case-control study. *Int J Cancer*. 2007; 120(1): 96–102. doi: 10.1002/ijc.22197.
6. Haddy N., Le Deley M.C., Samand A., Diallo I., Guérin S., Guibout C., Oberlin O., Hawkins M., Zucker J.M., de Vathaire F. Role of radiotherapy and chemotherapy in the risk of secondary leukaemia after a solid tumour in childhood. *Eur J Cancer*. 2006; 42(16): 2757–64. doi: 10.1016/j.ejca.2006.05.034.
7. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М., 2018. 250 с. [*Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)*]. Moscow, 2018. 250 p. (in Russian)].
8. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М., 2019. 250 с. [*Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality)*]. Moscow, 2019. 250 p. (in Russian)].
9. Сельчук В.Ю., Долгов И.Ю., Попова Т.Н. Проблема первичной множественности злокачественных новообразований в историческом аспекте. *Российский онкологический журнал*. 1998; 5: 51–4.

[Sel'chuk V.Yu., Dolgov I.Yu., Popova T.N. The problem of primary multiplicity of malignant neoplasms in the historical aspect. *Russian Journal of Oncology*. 1998; 5: 51–54. (in Russian)].

10. Федоров В.Э., Барсуков В.Ю., Попова Т.Н. Особенности течения и трудности диагностики множественных злокачественных новообразований. *Медицинский альманах*. 2011; 2(15): 157–60. [Fedorov V.E., Barsukov V.Yu., Popova T.N. Features of the course and difficulties in the diagnosis of multiple malignant neoplasms. *Medical Almanac*. 2011; 2(15): 157–60. (in Russian)].

11. Сметанина В.Д., Иванова П.М., Каратаев П.Д. Заболеваемость первично-множественными опухолями населения Республики Саха (Якутия). *Якутский медицинский журнал*. 2008; 3: 12–4. [Smetanina V.D., Ivanova P.M., Karataev P.D. The incidence of primary multiple tumors in the population of the Republic of Sakha (Yakutia). *Yakut medical journal*. 2008; 3: 12–4. (in Russian)].

12. Былин М.В., Черемисина О.В., Панкова О.В., Афанасьев С.Г., Добродеев А.Ю. Эффективность комплексной эндоскопической диагностики первичного и первично-множественного рака легкого. *Поволжский онкологический вестник*. 2017; 2(29): 8–15. [Bylin M.V., Cheremisina O.V., Pankova O.V., Afanasyev S.G., Dobrodeev A.Yu. Efficacy of comprehensive endoscopic diagnosis of primary and multiple primary lung cancer. *Oncology Bulletin of Volga Region*. 2017; 2(29): 8–15. (in Russian)].

13. Важеннин А.В., Бехтерева Е.И., Бехтерева С.А., Гюлов Х.Я. Очерки первичной множественности злокачественных опухолей. Челябинск, 2000. 213 с. [Vazhenin A.V., Bekhtereva E.I., Bekhtereva S.A., Gulyov Kh.Ya. Essays on primary multiplicity of malignant tumors. Chelyabinsk, 2000. 213 p. (in Russian)].

14. Максимов С.Я. Первично-множественные опухоли органов репродуктивной системы. *Практическая онкология*. 2009; 10(2): 117–23. [Maksimov S.Ya. Primary multiple tumors of the reproductive system. *Practical Oncology*. 2009; 10 (2): 117–123. (in Russian)].

15. Grantzau T., Møllerkjær L., Overgaard J. Second primary cancers after adjuvant radiotherapy in early breast cancer patients: a national population based study under the Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). *Radiother Oncol*. 2013; 106(1): 42–9. doi: 10.1016/j.radonc.2013.01.002.

16. Lang B.H., Wong I.O., Wong K.P., Cowling B.J., Wan K.Y. Risk of second primary malignancy in differentiated thyroid carcinoma treated with radioactive iodine therapy. *Surgery*. 2012; 151(6): 844–50. doi: 10.1016/j.surg.2011.12.019.

17. Liu C.H., Chen H.J., Wang P.C., Chen H.S., Chang Y.L. Patterns of recurrence and second primary tumors in oral squamous cell carcinoma treated with surgery alone. *Kaohsiung J Med Sci*. 2013; 29(10): 554–9. doi: 10.1016/j.kjms.2013.03.001.

Поступила/Received 12.10.2020
Принята в печать/Accepted 28.10.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шулько Елена Леонидовна, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры респираторной медицины с курсом рентгенологии ИНИП, ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России (Тюмень, Россия). E-mail: e.shunko@mail.ru. SPIN-код: 5248-3817.

Важенин Андрей Владимирович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (Челябинск, Россия). SPIN-код: 1350-9411.

Шаназаров Насрулла Абдуллаевич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке и стратегии развития, РГП «Больница Медицинского центра Управления делами Президента Республики Казахстан» (г. Нур-Султан, Казахстан). SPIN-код: 6224-3395.

ВКЛАД АВТОРОВ

Шулько Елена Леонидовна: существенный вклад в разработку концепции, планирование научной работы, получение, статистическая обработка и анализ данных; составление черновика рукописи и его критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания; окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Важенин Андрей Владимирович: существенный вклад в разработку концепции и планирование научной работы; критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания; окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Шаназаров Насрулла Абдуллаевич: существенный вклад в разработку концепции и планирование научной работы; критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания; окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena L. Shunko, PhD, Associate Professor of the Department of Respiratory Medicine with a Course of Radiology, Tyumen State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russia (Tyumen, Russia). E-mail: e.shunko@mail.ru. SPIN-code: 5248-3817.

Andrey V. Vazhenin, MD, Professor, Member of the RAS, Head of the Department of Oncology, Radiation Diagnostics and Radiation Therapy, South-Ural State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russia (Chelyabinsk, Russia). SPIN-code: 1350-9411.

Nasrulla A. Shanazarov, MD, Professor, Deputy Director for Science and Development Strategy, Medical Centre Hospital of President's Affairs Administration of the Republic of Kazakhstan (Nur-Sultan, Kazakhstan). SPIN-code: 6224-3395.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Elena L. Shunko: significant contribution to the development of the concept, planning of scientific work, obtaining, statistical processing and analysis of data; drafting of the manuscript and its critical revision with the introduction of valuable intellectual content; final approval of the published version of the manuscript.

Andrey V. Vazhenin: significant contribution to the development of the concept and planning of scientific work; critical revision of the draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content; final approval of the published version of the manuscript.

Nasrulla A. Shanazarov: significant contribution to the development of the concept and planning of scientific work; critical revision of the draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content; final approval of the published version of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-11-19
УДК: 616.33-006.6-08-06:615.28

Для цитирования: Августинovich А.В., Афанасьев С.Г., Добродеев А.Ю., Волков М.Ю., Костромицкий Д.Н., Спирина Л.В., Черемисина О.В. Непосредственная эффективность и токсичность тотальной неoadъювантной химиотерапии резектабельного рака желудка. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 11–19. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-11-19

For citation: Avgustinovich A.V., Afanasyev S.G., Dobrodeev A.Yu., Volkov M.Yu., Kostromitsky D.N., Spirina L.V., Cheremisina O.V. Short-term efficacy and toxicity of total neoadjuvant chemotherapy in patients with resectable gastric cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 11–19. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-11-19

НЕПОСРЕДСТВЕННАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ ТОТАЛЬНОЙ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ РЕЗЕКТАБЕЛЬНОГО РАКА ЖЕЛУДКА

**А.В. Августинovich¹, С.Г. Афанасьев¹, А.Ю. Добродеев¹, М.Ю. Волков¹,
Д.Н. Костромицкий¹, Л.В. Спирина^{1,2}, О.В. Черемисина¹**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук,
г. Томск, Россия¹

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: aov862@yandex.ru¹

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

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

Аннотация

Введение. В настоящее время периоперационная химиотерапия стала обязательной опцией при комбинированном лечении резектабельного рака желудка (РЖ) при стадиях больше, чем T1. Показано, что в предоперационном периоде большинство больных получает запланированное лечение в полном объеме, при этом проведенная химиотерапия не оказывает негативного влияния на течение послеоперационного периода. Однако адъювантные курсы химиотерапии завершает примерно 60 % радикально прооперированных больных. В связи с чем обсуждается вопрос о переносе всех курсов химиотерапии при резектабельном РЖ на предоперационный период. **Целью исследования** явилось изучение непосредственной эффективности и токсичности тотальной неoadъювантной химиотерапии по модифицированной схеме FLOT у больных с резектабельным РЖ. **Материал и методы.** В НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2020 г. проводится пилотное исследование, в которое включено 25 больных резектабельным раком желудка cT2–4N0–2M0, получавших 8 курсов неoadъювантной химиотерапии по схеме FLOT с последующей радикальной операцией в объеме гастрэктомии или дистальной субтотальной резекции желудка. **Результаты.** Предоперационная химиотерапия в запланированном объеме завершена у 25 (100 %) больных. Токсические реакции, возникшие в процессе химиотерапии, не требовали отмены или перерыва в лечении, редукции первоначальной дозы цитостатиков, наиболее частыми нежелательными явлениями являлись эметогенные реакции (92 %), периферическая нейропатия (60 %), нейтропения (48 %), во всех случаях нежелательные явления были I–II степени и купировались стандартной терапией сопровождения. Радикальные операции в среднем выполнялись через 6 нед после завершения 8-го курса химиотерапии. Не наблюдалось значимых послеоперационных осложнений (III степени и выше по шкале Clavien–Dindo) и летальных исходов. По данным патоморфологического исследования операционного материала был выявлен лечебный патоморфоз TRG2–3 степени у 21 (84 %) больного, снижение клинической стадии по индексу T и N («downstaging») отмечено у 13 (52 %) больных. **Заключение.** Тотальная неoadъювантная химиотерапия в режиме 8 курсов по схеме FLOT при резектабельном раке желудка демонстрирует высокую непосредственную эффективность, умеренную контролируемую токсичность, не оказывая отрицательного влияния на течение периоперационного периода.

Ключевые слова: резектабельный рак желудка, комбинированное лечение, тотальная неoadъювантная химиотерапия, токсичность, непосредственная эффективность.



Августинovich Александра Владимировна, aov862@yandex.ru

SHORT-TERM EFFICACY AND TOXICITY OF TOTAL NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH RESECTABLE GASTRIC CANCER

A.V. Avgustinovich¹, S.G. Afanasyev¹, A.Yu. Dobrodeev¹, M.Yu. Volkov¹,
D.N. Kostromitsky¹, L.V. Spirina^{1,2}, O.V. Cheremisina¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia¹

5, Kooperativny Street, 634009, Tomsk, Russia. E-mail: aov862@yandex.ru¹

Siberian State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Tomsk, Russia²
2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia²

Abstract

Background. Currently, perioperative chemotherapy is the standard treatment option for resectable gastric cancer (GC) at stages higher than T1. Preoperative chemotherapy was shown do not adversely affect the course of the postoperative period in gastric cancer patients. However, approximately 60 % of radically operated patients complete adjuvant chemotherapy. In this regard, the problem arises of postponing all courses of chemotherapy for operable gastric cancer to the preoperative period. **The purpose of the study** was to analyze short-term efficacy and toxicity of total neoadjuvant chemotherapy with FLOT regimen in patients with resectable gastric cancer. **Material and Methods.** Since 2020, the Research Cancer Institute of Tomsk National Research Medical Center has been conducting a pilot study, which included 25 patients with resectable gastric cancer (T2–4N0–2M0) who received 8 cycles of neoadjuvant chemotherapy with FLOT regimen followed by radical surgery (gastrectomy or distal subtotal resection of the stomach). **Results.** Preoperative chemotherapy was completed in 25 (100 %) patients. Side effects that occurred during chemotherapy did not require cancellation or interruption of treatment and reduction in the initial dose of drugs. The most common adverse events were emetogenic reactions (92 %), peripheral neuropathy (60 %), and neutropenia (48 %). All patients had no greater than grade II toxicity, which was reversed with standard maintenance therapy. Radical surgeries were performed 6 weeks after completion of chemotherapy cycle 8. There were no significant postoperative complications (grade III or higher according to the Clavien–Dindo scale) and deaths. The histological examination revealed pathological response of TGR2–3 grade in 21 (84%) patients. Downstaging in both T and N categories was found in 13 (52%) patients. **Conclusion.** Eight cycles of total neoadjuvant chemotherapy for resectable gastric cancer demonstrates high efficacy, moderate toxicity, and do not adversely affect the course of the perioperative period.

Key words: resectable gastric cancer, multimodality combined treatment, total neoadjuvant chemotherapy, toxicity, short-term efficacy.

Введение

Рак желудка (РЖ) является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований не только в нашей стране, но и во всём мире [1, 2]. Несмотря на устойчивое снижение показателей заболеваемости, смертность от РЖ остается на высоком уровне. Если, в 2020 г. в мировой структуре онкологической заболеваемости рак желудка занимал 5-е место, составляя 5,6 %, то по уровню смертности среди всех злокачественных новообразований РЖ находился на 4-м месте – 7,7 %. В Российской Федерации в 2019 г. рак желудка занимал 6-е место (5,7 %) в общей структуре онкологической заболеваемости и 2-е место (9,3 %) в структуре смертности. Эффективность ранней диагностики остается низкой, в 2019 г. на долю распространенных процессов (РЖ II–III стадии) пришлось 44,9 % впервые выявленных случаев заболевания, диссеминированный рак диагностирован у 39,9 % больных, что во многом определяет

неудовлетворительные отдаленные результаты лечения [3, 4].

На сегодняшний день радикальная операция является основным методом лечения данной категории больных. Одной из причин отсутствия значимого прогресса в улучшении результатов хирургического лечения является наличие у больных субклинических гематогенных и лимфогенных метастазов уже к моменту установления первичного диагноза. В связи с этим использование только хирургического вмешательства при РЖ является недостаточным и требует разработки системных методов противоопухолевого лечения. Целесообразность применения химиотерапии (ХТ) при резектабельном РЖ показана в ряде рандомизированных международных исследований [5–7]. В настоящее время во многих национальных рекомендациях периоперационная полихимиотерапия рассматривается в качестве обязательной опции у больных резектабельным РЖ со стадией, большей, чем T1.

В 2017 г. опубликованы результаты рандомизированного исследования FLOT 4 [8]. Данное исследование продемонстрировало более высокую эффективность химиотерапии по схеме FLOT по сравнению с общепринятой комбинацией ECF/ECX. В результате применения FLOT время до прогрессирования по сравнению с периоперационной химиотерапией в режиме ECF/ECX значимо увеличилось – до 30 против 18 мес соответственно (HR 0,75; 95% ДИ: 0,62–0,91; $p=0,004$). Следует отметить, что профиль токсичности также отличался, если при FLOT чаще всего наблюдалась нейтропения II–III степени, то при ECF/ECX – тошнота III–IV степени. Авторы предложили комбинированное лечение резектабельного РЖ с использованием периоперационной химиотерапии по схеме FLOT в качестве нового стандарта лечения.

В настоящее время в России схема FLOT рекомендована ассоциацией Российского общества клинической онкологии RUSSCO (2019 г.) при комбинированном лечении РЖ [9]. Показаниями к применению данной схемы являются опухоли $cT>1N0$ и ТлюбоеN1. При этом наиболее часто применяется программа «4 + операция + 4», когда проводят 4 курса химиотерапии FLOT в предоперационном режиме, затем после перерыва длительностью 4–6 нед выполняется хирургический этап лечения и через 8–12 нед после операции вне зависимости от лечебного патоморфоза дополнительно проводят ещё 4 курса химиотерапии в аналогичном режиме.

По данным литературы, не отмечено негативного влияния неоадьювантной химиотерапии (НАХТ), в том числе и по схеме FLOT, на течение послеоперационного периода и непосредственные результаты радикальных операций [10–12]. Однако периоперационная ХТ обладает существенными недостатками, связанными в основном с её послеоперационным (адьювантным) этапом. Так, по данным исследования FLOT 4, более 40 % больных не получают запланированные курсы адьювантной химиотерапии в полном объеме. Чаще всего это обусловлено низким соматическим статусом больных в раннем послеоперационном периоде, наличием пострезекционных расстройств после радикальной операции и токсичностью химиотерапии, в результате чего определенная часть пациентов отказывается от адьювантного лечения [8, 13]. Кроме того, при выполнении радикальной операции в послеоперационном периоде не представляется возможным оценить непосредственную эффективность адьювантного этапа ХТ. Таким образом, остро обсуждается вопрос о переносе всего объема химиотерапии при резектабельном РЖ на предоперационный этап, получавшей название «тотальная неоадьювантная химиотерапия», по аналогии с режимами комбинированного лечения, которые в настоящее время широко применяются в реальной клинической практике у больных раком

прямой кишки [14, 15] и поджелудочной железы [16, 17]. В отделении абдоминальной онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ с апреля 2020 г. проводится клиническая апробация метода комбинированного лечения резектабельного РЖ с применением модифицированной схемы химиотерапии по схеме FLOT, согласно которой больные получают все 8 курсов в неоадьювантном режиме.

Целью исследования явилось изучение непосредственной эффективности и токсичности тотальной неоадьювантной химиотерапии по модифицированной схеме FLOT у больных с резектабельным РЖ.

Материал и методы

В период с 2020 по 2021 г. в пилотное исследование включены 25 больных с морфологически верифицированным резектабельным РЖ, которые получили лечение в абдоминальном отделении НИИ онкологии Томского НИМЦ, из них мужчин было 19 (76%), женщин – 6 (24%). Возраст больных колебался в диапазоне от 36 до 69 лет, средний возраст составил $57,1 \pm 7,3$ года (табл. 1). Всеми больными перед началом лечения были подписаны информированные согласия. На проведение данного вида лечения получено разрешение биоэтического комитета НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 8, от 16 марта 2020 г.). Критериями исключения больных из исследования были: предшествующее специальное лечение, кардиальная локализация опухоли, наличие отдалённых метастазов, первично-множественные синхронные и/или метакронные злокачественные новообразования (кроме базальноклеточного рака кожи), клинически значимые сопутствующие заболевания, индивидуальная непереносимость компонентов химиотерапии, осложненные формы РЖ (кахексия, декомпенсированный стеноз привратника, продолжающееся желудочное кровотечение, требующее экстренного хирургического вмешательства, перфорация опухоли).

До начала лечения всем больным проводилось комплексное обследование, включающее компьютерную томографию органов грудной клетки, видеогастродуоденоскопию с биопсией, эндоскопическую ультрасонографию, УЗИ органов малого таза (у женщин), УЗИ и компьютерную томографию органов брюшной полости с контрастным усилением. Завершающим этапом диагностики во всех случаях являлась лапароскопия для исключения перитонеальной диссеминации РЖ.

Для определения стадии заболевания использовали TNM-классификацию (UICC) 7-го пересмотра. По результатам обследования распространенность первичной опухоли составила $cT2N0M0$ – в 5 (20 %) случаях, $cT3N0M0$ – в 6 (24 %), $cT4N0M0$ – в 1 (4 %), $cT3N1M0$ – в 6 (24 %), $cT4N1M0$ – в 3 (12 %), $cT4N2M0$ – в 1 (4 %), $cT4N3M0$ – в 3 (12 %) наблюдениях. По локали-

зации опухоли больные разделились следующим образом: рак тела желудка – 12 (48 %), рак антрального отдела – 7 (28 %), субтотальное поражение – 6 (24 %). В большинстве случаев встречалась аденокарцинома различной степени дифференцировки – 23 (92 %), недифференцированный или перстневидно-клеточный РЖ диагностирован у 2 (8 %) больных (табл. 1).

На предоперационном этапе всем больным, включенным в исследование, проводилось 8 курсов химиотерапии по модифицированной схеме FLOT: доцетаксел в дозе 50 мг/м²; оксалиплатин в дозе 85 мг/м²; лейковорин в дозе 200 мг/м² в 1-й день, внутривенно капельно; 5-фторурацил в дозе 2600 мг/м² в виде непрерывной внутривенной инфузии в течение 48 ч. Интервал между курсами составлял 14 дней. Оценка непосредственной эффективности предоперационной химиотерапии проводилась после 3, 6 и 8-го курсов по критериям RECIST 1.1. Изучение переносимости химиотерапии осуществлялось с использованием шкалы CTC-NCIC. Радикальная операция выполнялась через 4–8 нед после завершения химиотерапии. Объем проводимого хирургического вмешательства зависел от локализации опухоли в желудке, доступ (эндоскопический или открытый) определялся оперирующим хирургом. Частота и характер послеоперационных осложнений оценивались по шкале Clavien–Dindo. Оценка лечебного патоморфоза опухоли после предоперационной химиотерапии выполнена с использованием шкалы А.М. Mandard.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась общепринятыми методами с использованием параметрических и непараметрических критериев оценки достоверности. Статистическая обработка материала выполнена с помощью компьютерной программы «Statistica 10.0».

Результаты

Все больные получили запланированные курсы предоперационной химиотерапии в полном объеме. Из нежелательных явлений наиболее часто наблюдались тошнота – у 23 (92 %) больных, периферическая нейропатия I–II степени – у 15 (60 %), нейтропения I–II степени – у 12 (48 %), рвота – у 10 (40 %), диарея – у 5 (20 %), бронхоспазм – у 1 (4 %) пациента (табл. 2). Во всех случаях токсические реакции, возникшие в процессе химиотерапии, не требовали отмены или перерыва в лечении, редукции первоначальной дозы цитостатиков и купировались назначением стандартной симптоматической терапии.

При оценке объективного ответа опухоли на предоперационную химиотерапию установлено, что частичная регрессия опухоли выявлена у 20 (80 %) больных, в 5 (20 %) случаях зарегистрирована стабилизация процесса. Случаев полной

морфологической регрессии и прогрессирования опухолевого процесса не наблюдалось.

Хирургический этап комбинированного лечения у всех больных осуществлен в запланированные сроки, в среднем операция выполнялась через 6 нед после завершения 8 курсов НАХТ. Во всех случаях оперативное вмешательство осуществлено в радикальном объеме (R0), из них лапароскопическим доступом – в 10 (40 %) наблюдениях. В большинстве случаев выполнена гастрэктомия – 14 (56 %), реже субтотальная дистальная резекция желудка – 9 (44 %). В раннем послеоперационном периоде осложнений III степени и выше по шкале Clavien–Dindo, а также летальных исходов не наблюдалось. Все больные, включенные в исследование, выписаны из стационара на 7–9-е сут после операции в удовлетворительном состоянии, при дальнейшем динамическом наблюдении в сроки от 1 до 16 мес случаев прогрессирования не отмечено.

При плановом морфологическом исследовании одной из основных задач было изучение лечебного патоморфоза (табл. 3), так как степень повреждения опухоли напрямую влияет на выживаемость больных РЖ. У большинства больных был выявлен лечебный патоморфоз TRG2 – 11 (44%), TRG3 – 10 (40 %), TRG4 – 3 (12 %) и TRG5 – 1 (4 %). После предоперационной химиотерапии по модифицированной схеме FLOT, с учетом данных патоморфологического исследования операционного материала, снижение клинической стадии по индексу T и N («downstaging») отмечено у 13 (52 %) больных, в 11 (44 %) случаях стадия опухолевого процесса не изменилась, у 1 (4 %) пациента отмечены разнонаправленные изменения: частичная регрессия первичной опухоли более чем на 75 % (от cT4 до ypT1), но зафиксировано увеличение клинической стадии по критерию N – от cN1 до ypN2.

Обсуждение

С момента публикации ставшего уже классическим исследования MAGIC (2006 г.) неоадьювантная химиотерапия в составе периоперационной ХТ является стандартом лечения больных раком желудка II–III стадии [5]. В настоящее время большинство исследователей отдают предпочтение схеме FLOT в режиме «4 + операция + 4» [8]. Однако в реальной клинической практике НАХТ у данной категории больных применяется значительно реже, чем это необходимо. По данным американского исследования, в котором проанализированы истории болезни 15 947 пациентов с морфологически верифицированным раком желудка II–III стадии, получавших лечение в период с 2004 по 2015 г., оказалась, что менее трети больных получили НАХТ, которая была показана по степени распространенности первичной опухоли. Авторы считают положительным тот факт, что доля пациентов с РЖ, получивших неоадьювантную химиотерапию,

Таблица 1/Table 1

Клинико-морфологическая характеристика больных
Clinical and morphological characteristics of patients

Параметр/Parameter	Количество больных/Number of patients
ECOG	
0	23 (92 %)
1	2 (8 %)
Пол/Gender	
Мужской/Male	19 (76 %)
Женский/Female	6 (24 %)
Гистологический вариант опухоли/Histological type	
Высокодифференцированная аденокарцинома/Highly differentiated adenocarcinoma	1 (4 %)
Умереннодифференцированная аденокарцинома/ Moderately differentiated adenocarcinoma	7 (28 %)
Низкодифференцированная аденокарцинома/Poorly differentiated adenocarcinoma	15 (60 %)
Недифференцированный рак/Undifferentiated cancer	1 (4 %)
Перстневидноклеточный рак/ Signet cell carcinoma	1 (4 %)
Локализация опухоли/Localization of tumor	
Тело желудка/Body of stomach	12 (48 %)
Антральный отдел/Antrum	7 (28 %)
Субтотальное поражение/Subtotal	5 (24 %)
Клиническая стадия до начала лечения/Clinical stage before treatment	
cT2N0M0	5 (20 %)
cT3N0M0	6 (24 %)
cT4N0M0	1 (4 %)
cT3N1M0	6 (24 %)
cT4N1M0	3 (12 %)
cT4N2M0	1 (4 %)
cT4N3M0	3 (12 %)

Таблица 2/Table 2

Токсичность предоперационной химиотерапии
Toxicity of preoperative chemotherapy

Нежелательное явление/Toxicity	Количество больных/Number of patients
Тошнота/Nausea	23 (92 %)
Периферическая нейропатия I–II степени/Peripheral neuropathy I–II degree	15 (60 %)
Нейтропения I–II степени/Neutropenia I–II degree	12 (48 %)
Рвота/Vomiting	10 (40 %)
Диарея/Diarrhea	5 (20 %)
Бронхоспазм/Bronchospasm	1 (4 %)

Таблица 3/Table 3

Степень выраженности лечебного патоморфоза
The severity of therapeutic pathomorphosis

Лечебный патоморфоз/Therapeutic pathomorphosis	Количество больных/Number of patients
TRG1	—
TRG2	11 (44 %)
TRG3	10 (40 %)
TRG4	3 (12 %)
TRG5	1 (4 %)

увеличилась с менее чем 5 % в период до 2006 г. до 27,5% в 2015 г. и практически сравнялась с числом больных, которым проведено хирургическое лечение в монорежиме (в 2004 г. – примерно 48 %, в 2015 г. – 32 %) [18]. По мнению авторов, необходимо продолжать пополнять доказательную базу для большего внедрения НАХТ в повседневную практику.

В нашей стране частота применения комбинированных методов лечения при раке желудка, включая НАХТ, также остается на крайне низком уровне. Так, в 2019 г. хирургическое вмешательство в качестве единственного метода лечения получили 66,6 % больных раком желудка, тогда как комбинированное лечение без учета самостоятельной химиолучевой терапии проведено 35,3 % пациентов с РЖ [3]. По этому показателю РЖ среди всех злокачественных новообразований пищеварительного тракта занимает предпоследнее, 5-е, место, незначительно опережая рак ободочной кишки – 32,6 %, при котором значительная часть пациентов получает лечение в условиях urgentных хирургических стационаров по поводу осложнений первичной опухоли, в первую очередь в связи с obstructивной толстокишечной непроходимостью.

Широкому распространению комбинированных методов лечения мешает устоявшееся мнение, что рак желудка – хирургическая патология, а применение НАХТ сопровождается высокой токсичностью и негативно влияет на течение послеоперационного периода [19]. Однако данные литературы и собственный клинический опыт позволяют утверждать обратное [5, 10, 20]. Так, по данным классического исследования MAGIC, частота послеоперационных осложнений была одинаковой в группах больных, получавших периоперационную химиотерапию и хирургическое лечение – 46 и 45 % соответственно. Также авторы не отмечают увеличения уровня 30-дневной летальности в сравниваемых группах [5]. По данным японских авторов, вариант предоперационной терапии не являлся фактором риска несостоятельности анастомоза или наличия воспалительного выпота в брюшной полости. В данное исследование были включены 346 пациентов с РЖ, из них предоперационную химиолучевую терапию получили 44 %, предоперационную химиотерапию – 21 % больных, в остальных случаях проводилось хирургическое лечение – 35 %. В послеоперационном периоде несостоятельность анастомоза и выпот в брюшной полости диагностированы у 3,5 и 7,5 % пациентов. Многофакторный анализ показал, что операция была единственным значимым фактором риска развития подобных осложнений ($p=0,014$) [11]. Сходные результаты получены в американском исследовании, по данным которого ни предоперационная химиотерапия, ни лучевая терапия не были связаны с повышенным риском несостоятельности анастомоза ($p=0,12$ и $p=0,58$

соответственно) [12], а также в отечественном многоцентровом рандомизированном исследовании II фазы [10].

В представленной работе нами показано, что проведение 8 курсов НАХТ по схеме FLOT не сопровождалось тяжелыми нежелательными явлениями, ожидаемо преобладали эметогенные и гематологические (лейкопения) реакции I–II степени, которые купировались назначением стандартной симптоматической терапии. Всем больным удалось выполнить оперативный этап комбинированного лечения в запланированные сроки. Проведение НАХТ в указанном режиме не оказало негативного влияния на течение послеоперационного периода, при этом не зафиксировано значимых интра- и послеоперационных осложнений, а также летальных исходов.

С нашей точки зрения, большую проблему представляет реализация адьювантного этапа периоперационной химиотерапии у радикально прооперированных больных раком желудка. Во многих исследованиях авторы обращают внимание на то, что химиотерапию в послеоперационном периоде не завершают до половины пациентов РЖ. В частности, по данным исследования FLOT4, завершили 4 запланированных курса предоперационной ХТ – 90 % больных, тогда как послеоперационную химиотерапию удалось начать 60 % пациентов, а завершили ее в полном объеме (4 курса) – 51 % прооперированных больных [8]. Корейские исследователи в 2019 г. обобщили данные о 1089 пациентах с РЖ, получавших комбинированное лечение в 31 учреждении. Оказалось, что доля пациентов, получивших запланированные курсы предоперационной химио- и химиолучевой терапии, составила 93 и 98 %, тогда как все курсы послеоперационной химиотерапии получили 65 и 53 % больных соответственно. Неблагоприятными факторами прогноза не завершения лечения или редукции дозы цитостатиков, помимо осложненного течения послеоперационного периода, явились возраст старше 60 лет – 76,8 % ($p<0,001$) и 21,3 % ($p=0,354$), индекс массы тела более 23 кг/м² – 70,2 % ($p=0,019$) и 19,9 % ($p=0,987$) соответственно, а также уровень физического состояния пациента согласно классификации Американского общества анестезиологов (ASA PS). Влияние последнего фактора было следующим: при статусе ASA PS I, II и III частота завершения лечения составила 74,4; 62,8 и 60 % ($p=0,001$), редукция дозы химиопрепаратов – 18,4; 20,7 и 17,8 % соответственно ($p=0,946$) [21]. Кроме того, ряд авторов отмечают психологическую усталость больных от длительного лечения, что приводит к отказам от продолжения терапии, в основном это происходит на адьювантном этапе комбинированного лечения [8, 13]. Естественно, что проведение лекарственного лечения не в полном объеме отрицательно влияет на непосредственную и отдаленную эффективность комбинированной терапии.

В этой ситуации возникает вопрос о целесообразности переноса всех курсов адъювантной химиотерапии на предоперационный период – лечение по типу тотальной НАХТ. В нашем исследовании подобный подход не привёл к увеличению частоты и тяжести послеоперационных осложнений, не требовал изменения плана лечения, а, напротив, характеризовался удовлетворительной переносимостью. Следует отметить, что если после 3 курсов предоперационной химиотерапии у большинства больных (92 %) отмечалась лишь стабилизация опухолевого процесса, то после завершения всех 8 курсов НАХТ удалось добиться частичного ответа опухоли (регрессия более 50 %). Несмотря на то, что предоперационная химиотерапия продолжалась в течение длительного времени (медиана – 16 нед), нами не было выявлено прогрессирования РЖ и неконтролируемой токсич-

ности, также не отмечено отказов больных от курсов НАХТ, что позволило завершить комбинированное лечение в полном объеме.

Заключение

Полученные результаты позволяют положительно оценить непосредственную эффективность и переносимость тотальной неoadъювантной химиотерапии по модифицированной схеме FLOT у больных резектабельным раком желудка. Результаты предварительного анализа показывают, что проведение тотальной НАХТ обеспечивает отбор больных с неблагоприятным прогнозом, которые не являются возможными кандидатами для хирургического лечения. Планируется продолжение набора клинического материала с последующей оценкой результатов комбинированного лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., 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.
- Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol*. 2019; 14(1): 26–38. doi: 10.5114/pg.2018.80001.
- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М., 2020. 239 с. [Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. The state of cancer care for the population of Russia in 2019. Moscow, 2020. 239 p. (in Russian)].
- Писарева Л.Ф., Одинова И.Н., Ананина О.А., Афанасьев С.Г., Волков М.Ю., Давыдов И.М. Рак желудка в Томской области: эпидемиологические аспекты. *Сибирский онкологический журнал*. 2013; (3): 40–42. [Pisareva L.F., Odintsova I.N., Ananina O.A., Afanasyev S.G., Volkov M.Yu., Davydov I.M. Gastric cancer in Tomsk region: epidemiological aspects. *Siberian Journal of Oncology*. 2013; (3): 40–42. (in Russian)].
- Cunningham D., Allum W.H., Stenning S.P., Thompson J.N., Van de Velde C.J., Nicolson M., Scarffe J.H., Lofts F.J., Falk S.J., Iveson T.J., Smith D.B., Langley R.E., Verma M., Weeden S., Chua Y.J. *MAGIC Trial Participants*. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med*. 2006; 355(1): 11–20. doi: 10.1056/NEJMoa055531.
- Leong T., Smithers M.B., Haustermans K., Michael M., Gebbski V., Miller D., Zalcberg J., Boussiotas A., Findlay M., O'Connell R.L., Verghis J., Willis D., Kron T., Crain M., Murray W.K., Lordick F., Smallow C., Darling G., Simes J., Wong R. TOPGEAR: A Randomized, Phase III Trial of Perioperative ECF Chemotherapy with or Without Preoperative Chemoradiation for Resectable Gastric Cancer: Interim Results from an International, Intergroup Trial of the AGITG, TROG, EORTC and CCTG. *Ann Surg Oncol*. 2017; 24(8): 2252–58. doi: 10.1245/s10434-017-5830-6.
- de Steur W.O., van Amelsfoort R.M., Hartgrink H.H., Putter H., Meershoek-Klein Kranenbarg E., van Grieken N.C.T., van Sandick J.W., Claassen Y.H.M., Braak J.P.B.M., Jansen E.P.M., Sikorska K., van Tinteren H., Walraven I., Lind P., Nordmark M., van Berge Henegouwen M.I., van Laarhoven H.W.M., Cats A., Verheij M., van de Velde C.J.H.; *CRITICS investigators*. Adjuvant chemotherapy is superior to chemoradiation after D2 surgery for gastric cancer in the per-protocol analysis of the randomized CRITICS trial. *Ann Oncol*. 2021 Mar; 32(3): 360–367. doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.004.
- Al-Batran S.E., Homann N., Pauligk C., Goetze T.O., Meiler J., Kasper S., Kopp H.G., Mayer F., Haag G.M., Luley K., Lindig U., Schmiegel W., Pohl M., Stoecklacher J., Folprecht G., Probst S., Prasnikar N., Fischbach W., Mahlberg R., Trojan J., Koenigsmann M., Martens U.M., Thuss-Patience P., Egger M., Block A., Heinemann V., Illerhaus G., Moehler M., Schenk M., Kullmann F., Behringer D.M., Heike M., Pink D., Teschendorf C., Lohr C., Bernhard H., Schuch G., Rethwisch V., von Weikert H., Hartmann J.T., Kneba M., Daum S., Schulmann K., Weniger J., Belle S., Gaiser T., Oduncu F.S., Güntner M., Hozaeel W., Reichart A., Jäger E., Kraus T., Mönig S., Bechstein W.O., Schuler M., Schmalenberg H., Hofheinz R.D.; *FLOT4-AIO Investigators*. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resect-
- able gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial. *Lancet*. 2019 May 11; 393(10184): 1948–1957. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32557-1.
- Бесова Н.С., Болотина Л.В., Калинин А.Е., Кононец П.В., Малихова О.А., Проценко С.А., Рябов А.Б., Стилиди И.С., Тер-Ованесов М.Д., Трякин А.А., Хомяков В.М. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака желудка. Злокачественные опухоли. 2019; 9(3S2): 308–323. [Besova N.S., Bolotina L.V., Kalinin A.E., Kononets P.V., Malikhova O.A., Protsenko S.A., Ryabov A.B., Stilidi I.S., Ter-Ovanesov M.D., Tryakin A.A., Khomyakov V.M. Practical recommendations for drug treatment of gastric cancer. *Malignant tumors*. 2019; 9(3S2): 308–323. (in Russian)]. doi: 10.18027/2224-5057-2019-9-3s2-308-323.
- Скоропад В.Ю., Афанасьев С.Г., Гамаюнов С.В., Соколов П.В., Каров В.А., Титова Л.Н., Силантьева Н.К., Иванов С.А., Каприн А.Д. Анализ безопасности проведения неoadъювантной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком желудка (результаты многоцентрового рандомизированного исследования). *Сибирский онкологический журнал*. 2020; 19(4): 41–48. [Skoropad V.Yu., Afanasyev S.G., Gamayunov S.V., Sokolov P.V., Karov V.A., Titova L.N., Silanteva N.K., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Analysis of safety of neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced gastric cancer (results of a multicenter randomized trial). *Siberian Journal of Oncology*. 2020; 19(4): 41–48. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-41-48.
- Ikoma N., Das P., Blum M., Estrella J.S., Devine C.E., Wang X., Fournier K., Mansfield P., Minsky B.D., Ajani J., Badgwell B.D. Preoperative Chemoradiation Therapy Does Not Increase Risk of Anastomotic Leak in Patients With Gastric Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2017 Nov 1; 99(3): 660–666. doi: 10.1016/j.ijrobp.2017.07.018.
- Haskins I.N., Kroh M.D., Amdur R.L., Ponksy J.L., Rodriguez J.H., Vaziri K. The Effect of Neoadjuvant Chemoradiation on Anastomotic Leak and Additional 30-Day Morbidity and Mortality in Patients Undergoing Total Gastrectomy for Gastric Cancer. *J Gastrointest Surg*. 2017; 21(10): 1577–83. doi: 10.1007/s11605-017-3496-9.
- Kim D.W., Kwon O.K., Yoo M.W., Ryu S.W., Oh S.J., Hur H., Hwang S.H., Lee J., Jin S.H., Lee S.E., Kim J.H., Kim J.J., Jeong I.H., Jee Y.S. Actual compliance to adjuvant chemotherapy in gastric cancer. *Ann Surg Treat Res*. 2019 Apr; 96(4): 185–190. doi: 10.4174/astr.2019.96.4.185.
- Petrelli F., Trevisan F., Cabiddu M., Sgroi G., Bruschi L., Rausa E., Ghidini M., Turati L. Total Neoadjuvant Therapy in Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis of Treatment Outcomes. *Ann Surg*. 2020 Mar; 271(3): 440–448. doi: 10.1097/SLA.0000000000003471.
- Ludmir E.B., Palta M., Willet C.G., Czito B.G. Total neoadjuvant therapy for rectal cancer: An emerging option. *Cancer*. 2017 May 1; 123(9): 1497–1506. doi: 10.1002/cncr.30600.
- Murphy J.E., Wo J.Y., Ryan D.P., Jiang W., Yeap B.Y., Drapek L.C., Blaszkowsky L.S., Kwak E.L., Allen J.N., Clark J.W., Faris J.E., Zhu A.X., Goyal L., Lillemoe K.D., DeLaney T.F., Fernández-Del Castillo C., Ferrone C.R., Hong T.S. Total Neoadjuvant Therapy With FOLFIRINOX Followed by Individualized Chemoradiotherapy for Borderline Resectable Pancreatic Adenocarcinoma: A Phase 2 Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2018 Jul 1; 4(7): 963–969. doi: 10.1001/jamaonc.2018.0329.
- Barrak D., Villano A.M., Villafane-Ferriol N., Stockton L.G.,

Hill M.V., Deng M., Handorf E.A., Reddy S.S. Total neoadjuvant therapy for pancreatic adenocarcinoma increases probability for a complete pathologic response. *Eur J Surg Oncol*. 2022 Jan 5; S0748-7983(21)01445-1. doi: 10.1016/j.ejso.2021.12.473.

18. Liu N., Guo Y., Jiang H., Yi W. Gastric cancer diagnosis using hyperspectral imaging with principal component analysis and spectral angle mapper. *J Biomed Opt*. 2020 Jun; 25(6): 1–9. doi: 10.1117/1.JBO.25.6.066005.

19. Reddavid R., Sofia S., Chiaro P., Colli F., Trapani R., Esposito L., Solej M., Degiuli M. Neoadjuvant chemotherapy for gastric cancer. Is it a must or a fake? *World J Gastroenterol*. 2018; 24(2): 274–289. doi: 10.3748/wjg.v24.i2.274.

20. Афанасьев С.Г., Августиневич А.В., Тузиков С.А., Пак А.В., Волков М.Ю., Савельев И.Н., Фролова И.Г. Результаты комбинированных операций при местно-распространенном раке желудка. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2013; 2: 12–15. [Afanasyev S.G., Avgustinovich A.V., Tuzikov S.A., Pak A.V., Volkov M.Yu., Savel'ev I.N., Frolova I.G. Results of combined operations for locally advanced gastric cancer. *P.A. Gerzen Journal of Oncology*. 2013; 2: 12–15. (in Russian)].

21. Kim D.W., Youn S.I., Jee Y.S. Treatment options for advanced gastric cancer with peritoneal metastasis: experience from a single institution in Korea. *Ann Surg Treat Res*. 2021 Apr; 100(4): 209–217. doi: 10.4174/ast.2021.100.4.209.

Поступила/Received 09.09.2021
Принята в печать/Accepted 06.11.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Августиневич Александра Владимировна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: aov862@yandex.ru. SPIN-код: 2952-6119. ORCID: 0000-0001-7301-7581.
Афанасьев Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9206-3037. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 7005336732. ORCID: 0000-0002-4701-0375.

Добродеев Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5510-4043. Researcher ID (WOS): B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200. ORCID: 0000-0002-2748-0644.

Волков Максим Юрьевич, кандидат медицинских наук, врач-онколог отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8052-9941.

Костромницкий Дмитрий Николаевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9466-6641. ORCID: 0000-0001-5691-2349.

Спирина Людмила Викторовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1336-8363. ORCID: 0000-0002-5269-736X.

Черемисина Ольга Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая эндоскопическим отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9579-2691. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

ВКЛАД АВТОРОВ

Августиневич Александра Владимировна: разработка концепции научной работы, сбор и обработка данных, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Афанасьев Сергей Геннадьевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Добродеев Алексей Юрьевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Волков Максим Юрьевич: анализ полученных результатов, статистическая обработка.

Костромницкий Дмитрий Николаевич: анализ полученных результатов, статистическая обработка.

Спирина Людмила Викторовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Черемисина Ольга Владимировна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Alexandra V. Avgustinovich, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Abdominal Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: aov862@yandex.ru. Researcher ID (WOS): D-6062-2012. Author ID (Scopus): 56392965300. ORCID: 0000-0001-7301-7581.

Sergey G. Afanasyev, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Abdominal Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-4701-0375. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 7005336732.

Alexey Yu. Dobrodeev, MD, DSc, Leading Researcher, Department of Abdominal Oncology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-2748-0644. Researcher ID (WOS): B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200. E-mail: dobrodeev@oncology.tomsk.ru.

Maxim Yu. Volkov, MD, PhD, Oncologist, Department of Abdominal Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Dmitry N. Kostromitsky, MD, PhD, Researcher, Department of Abdominal Oncology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0001-5691-2349.

Ludmila V. Spirina, MD, DSc, Leading Researcher, Cancer Research Institute, Laboratory of Tumor Biochemistry, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Department Of Biochemistry and Molecular Biology, Siberian State Medical University, Сибирский государственный медицинский университет (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500. ORCID: 0000-0002-5269-736X.

Olga V. Cheremisina, MD, DSc, Head of Endoscopy Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-9259-2012. Author ID (Scopus): 6602197938. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

AUTHOR CONTRIBUTION

Alexandra V. Avgustinovich: study design and conception, data collection and analysis, study analysis, statistical analysis, drafting a manuscript.

Sergey G. Afanasyev: study analysis, critical revision for the important intellectual content.

Alexey Yu. Dobrodeev: study analysis, critical revision for the important intellectual content.

Maxim Yu. Volkov: study analysis, statistical analysis.

Dmitry N. Kostromitsky: study analysis, statistical analysis.

Ludmila V. Spirina: study analysis, critical revision for the important intellectual content.

Olga V. Cheremisina: study analysis, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Потемин С.Н., Уваров И.Б., Потемин Д.С. Интраоперационная радиотерапия фотонной радиохирургической системой в лечении местнораспространенного рака прямой кишки. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 20–28. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-20-28

For citation: Potemin S.N., Uvarov I.B., Potemin D.S. Intraoperative radiotherapy with a photonic radiosurgical system in the treatment of locally advanced rectal cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 20–28. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-20-28

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ РАДИОТЕРАПИЯ ФОТОННОЙ РАДИОХИРУРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМОЙ В ЛЕЧЕНИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ

С.Н. Потемин¹, И.Б. Уваров^{1,2}, Д.С. Потемин³

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России,

г. Краснодар, Россия¹

Россия, 350063, Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, Россия. E-mail: uvarovivan@yandex.ru¹

ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Минздрава Краснодарского края,

г. Краснодар, Россия²

Россия, 350040, г. Краснодар, ул. Димитрова, 146²

ООО клиника «Екатерининская», г. Краснодар, Россия³

Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Кубанская набережная, 37/1, Россия³

Аннотация

Цель исследования – оценка результатов применения интраоперационной радиотерапии (ИОРТ) фотонной радиохирургической системой у пациентов с местнораспространенным раком прямой кишки (мРПК). **Материал и методы.** Проведен ретроспективный анализ результатов лечения 172 пациентов с гистологически подтвержденным РПК II–III стадии (pT3–4 или pN+), которым выполнена хирургическая операция и ИОРТ (n=92) или неoadъювантная дистанционная лучевая терапия (ДЛТ), операция и ИОРТ (n=80). ИОРТ проводилась фотонной радиохирургической системой Intrabeam® (Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, Германия) с использованием сферических аппликаторов диаметром 4,5 см или 5,0 см. Процедура проводилась непосредственно после хирургического удаления опухоли. Разовая доза составляла 10–20 Гр. Средний период наблюдения для группы ИОРТ составил 25 мес, для группы ДЛТ/ИОРТ – 22 мес (p=0,52). **Результаты.** Течение послеоперационного периода при использовании ИОРТ не имело специфических особенностей, профиль токсичности был низкий в обеих группах с общей частотой осложнений 5,4 %. Не отмечено значимых различий между обеими группами в показателях 4-летней общей выживаемости (59,1 % в группе ИОРТ против 67,4 % в группе ДЛТ/ИОРТ, p=0,66), выживаемости без прогрессирования (53,6 против 55,1 %, p=0,51) и выживаемости без местного рецидива (59,4 против 65,4 %, p=0,70). При дополнительном анализе подгрупп с РПК II и III стадии не обнаружено значимых различий в общей выживаемости между группами ИОРТ и ДЛТ/ИОРТ (p=0,63 и p=0,98 соответственно). Значимых различий в местном и отдаленном прогрессировании между обеими группами у пациентов II стадии (p=0,5 и p=0,19 соответственно) и III стадии (p=0,23 и p=0,75 соответственно) также не получено. **Заключение.** ИОРТ при мРПК является безопасным методом, обеспечивающим достижение адекватного локального контроля, и может рассматриваться как эффективный метод лечения как в изолированном варианте, так и в интеграции в алгоритм мультимодального лечения в условиях специализированного онкологического учреждения.

Ключевые слова: ИОРТ, дистанционная лучевая терапия, рак прямой кишки.

INTRAOPERATIVE RADIOTHERAPY WITH A PHOTONIC RADIOSURGICAL SYSTEM IN THE TREATMENT OF LOCALLY ADVANCED RECTAL CANCER

S.N. Potemin¹, I.B. Uvarov^{1,2}, D.S. Potemin³

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia¹

4, Mitrofan Sedin St., 350063, Krasnodar, Russia. E-mail: uvarovivan@yandex.ru¹

Regional Oncological Center of Krasnodar, Krasnodar, Russia²

146, Dimitrova St., 350040, Krasnodar, Russia²

ООО clinic «Ekaterinskaya», Krasnodar, Russia³

37/1, Kuban Embankment St., 350063, Krasnodar, Russia³

Abstract

Aim of the study: to evaluate the results of using intraoperative radiotherapy (IORT) in patients with locally advanced rectal cancer (RC). **Material and Methods.** A total of 172 patients with histologically confirmed stage II–III (pT3–4 or pN+) RC were included in this retrospective analysis; of those, 92 (53,5 %) were treated with IORT alone and 80 (46,5 %) received both neoadjuvant EBRT and IORT. The median follow-up was 25 months for the IORT group and 22 months for the EBRT/IORT group ($p=0,52$). **Results.** The incidence of toxicity was low in both groups with an overall complication rate of 5,4 %. There were no statistically significant differences between both groups in 4-year overall survival rates (59,1 % in the IORT group *versus* 67,4 % in the EBRT / IORT group, $p=0,66$), progression-free survival (53,6 *versus* 55,1 %, $p=0,51$) and local progression free survival (59,4 *versus* 65,4 %, $p=0,70$). **Conclusion.** IORT for locally advanced RC is a safe method that ensures adequate local control and can be considered as an effective treatment method both in an isolated version and in integration into a multimodal treatment algorithm in a specialized oncological clinics.

Key words: intraoperative radiotherapy, external beam radiotherapy, rectal cancer.

Стандартной тактикой лечения местнораспространенного рака прямой кишки (мРПК) является неoadъювантная химиолучевая терапия с последующей операцией [1–4]. Предоперационная химиолучевая терапия позволяет снизить риск местного рецидивирования, уменьшить объем опухоли и улучшить результат хирургического лечения [5]. Вместе с тем в реальной клинической практике существуют проблемы с доступностью современной технической базы для выполнения дистанционной лучевой терапии (ДЛТ), проблемы низкого комплаенса больных при «длительных» сроках курсового лечения, отказ или прерывание курса по различным причинам, сложности организационного характера во время длительного курса терапии и длительного постлучевого перерыва, в результате чего пациент не во всех случаях получает полный курс лечения и доходит до хирургического этапа. В этой связи большую актуальность имеют исследования, направленные на изучение менее ресурсоемких альтернатив традиционной химиолучевой терапии. Одним из таких подходов является ИОРТ, которая обеспечивает точную доставку однократной крупной фракции излучения (обычно 8–20 Гр) к зоне высокого риска рецидивирования непосредственно во время оперативного вмешательства, позволяя вывести за пределы поля облучения либо экранировать радиочувствительные структуры [6, 7].

Значительный опыт применения ИОРТ при различных злокачественных новообразованиях

накоплен отечественными онкологами [8–10]. За последние десятилетия опубликовано небольшое количество работ, сообщающих об использовании ИОРТ при колоректальном раке в изолированном варианте [7, 9] либо в сочетании с неoadъювантной ДЛТ или химиолучевой терапией [11–14]. В связи с этим представляет интерес оценка результатов хирургического лечения мРПК с ИОРТ в сочетании с неoadъювантной ДЛТ (с химиотерапией (ХТ) или без нее) либо в самостоятельном варианте.

Цель исследования – оценка результатов применения интраоперационной радиотерапии (ИОРТ) фотонной радиохирургической системой у пациентов с местнораспространенным раком прямой кишки.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ результатов лечения 172 пациентов (табл. 1) с гистологически подтвержденным диагнозом мРПК (II–III стадии, pT3–4 или pN+), перенесших радикальную операцию с ИОРТ с декабря 2012 по октябрь 2016 г. Больным выполнялись следующие операции: передняя резекция прямой кишки (ПРПК) с тотальной мезоректумэктомией, брюшно-промежностная экстирпация прямой кишки (БПЭПК), обструктивная резекция (операция Гартмана).

ИОРТ проводилась фотонной радиохирургической системой Intrabeam® (Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, Германия) с использованием

Таблица 1/Table 1

Характеристика групп пациентов
General characteristics of patients

Параметры/Parameters	ИОРТ/IORT (n=92)	ИОРТ+ДЛТ/ IORT+EBRT (n=80)	P
Медиана наблюдения, мес/Follow-up – median, months	25 (0,9–62,5)	22 (0–57,7)	0,52
Возраст, лет/Age – median, years	65,5 (38,0–83,0)	65 (33,0–85,0)	0,67
Мужской пол/Male	49 (53,3 %)	39 (48,8 %)	0,55
Локализация опухоли/Tumor localization			
Верхнеампулярная/Upper ampullar	17 (18,5 %)	5 (6,3 %)	<0,0001
Среднеампулярная/Medium ampullar	53 (57,6 %)	19 (23,8 %)	
Нижнеампулярная/Lower ampullar	22 (23,9 %)	56 (70,0 %)	
T-стадия/T-stage			
T2	2 (2,2 %)	2 (2,5 %)	0,047
T3	82 (89,1 %)	59 (73,8 %)	
T4a	7 (7,6 %)	14 (17,5 %)	
T4b	1 (1,1 %)	5 (6,3 %)	
N-стадия/N-stage			
N0	78 (84,8 %)	41 (51,3 %)	0,0001
N1	11 (12,0 %)	25 (31,3 %)	
N2	3 (3,3 %)	14 (17,5 %)	
Стадии опухоли/Tumor stage			
II	77 (83,7 %)	41 (51,3 %)	0,0001
IIA	72 (87,3 %)	32 (40,0 %)	
IIIB	5 (5,4 %)	8 (10,0 %)	
IIIC	-	1 (1,3 %)	
III	15 (16,3 %)	39 (48,8 %)	
IIIA	8 (8,7 %)	13 (16,25 %)	
IIIB	7 (7,6 %)	24 (30,6 %)	
IIIC	-	2 (2,5 %)	
Гистология/Histology			
Аденокарцинома/Adenocarcinoma	91 (98,9 %)	78 (97,5 %)	0,5
Эпидермоидный рак/Epidermoid cancer	1 (1,1 %)	1 (1,2 %)	
Муцинозная карцинома с перстневидноклеточным компонентом/Mucinous carcinoma with a signet ring	–	1 (1,2 %)	
Дифференцировка/Differention			
G1	4 (4,3 %)	–	0,25
G2	79 (85,9 %)	72 (90,0 %)	
G3	8 (8,7 %)	6 (7,5 %)	
Gx	1 (1,1 %)	6 (7,5 %)	
Размер опухоли, см/Tumor size,cm			
Медиана/Median	4,0 (1,5–9)	5,0 (2,0–8,0)	0,02
<2,5	5 (5,4 %)	2 (2,6 %)	
2,5–4,0	43 (46,7 %)	29 (36,3 %)	
> 4,0	44 (47,8 %)	49 (61,3 %)	
Операция/Surgery			
Высокая передняя резекция/High anterior resection	15 (16,3 %)	4 (5,0 %)	0,0001
Низкая передняя резекция/Low anterior resection	63 (68,5 %)	15 (18,8 %)	
Ультранизкая передняя резекция/Ultra-low anterior resection	3 (3,3 %)	1 (1,3 %)	
Брюшно-промежностная экстирпация/ Abdomino-perineal resection	8 (7,9 %)	63 (75,0 %)	
Операция Гартмана/Hartmann's operation	3 (3,3 %)	1 (1,3 %)	

Окончание таблицы 1/End of Table 1

Статус краев резекции/Resection margin status			
R0	89 (96,7 %)	73 (91,3 %)	0,2
R1	3 (3,3 %)	5 (6,3 %)	
R2		2 (2,5 %)	
Стома/Stoma			
Концевая/Terminal	20 (21,7 %)	60 (75,0 %)	0,0001
Петлевая трансверзостомы/Loop transversostomy	66 (71,7 %)	19 (23,8 %)	
Петлевая илеостомы/Loop ileostomy	5 (5,4 %)	1 (1,3 %)	
Без стомы/No stoma	1 (1,1 %)	–	
ИОРТ/IORT			
Доза на поверхности аппликатора, Гр/ Applicator surface dose, Gy	15 (15,0–17,0)	15 (8,4–17,0)	0,1
Длительность сеанса, мин/Time, min	34 (25,0–38,0)	34 (15,0–38,0)	0,64
Диаметр аппликатора, см/Applicator diameter, cm	5 (4,5–5,0)	5 (4,5–5,0)	0,68
Послеоперационный период, сут/ Postoperative hospital stay, days	16 (5,0–25,0)	16 (9,0–42,0)	0,4
Химиотерапия/Chemotherapy			
Неoadъювантная/Neoadjuvant	-	20 (25,0 %)	0,0001
Адъювантная/Adjuvant	10 (10,9 %)	34 (42,5 %)	

сферических аппликаторов диаметром 4,5 см или 5,0 см. Процедура проводилась непосредственно после удаления опухоли. Разовая доза составляла 10–20 Гр, величина зависела от близости окружающих структур риска. Перед сеансом ИОРТ петли тонкой кишки накрывали тканевыми салфетками и отводили краниально специальным фиксирующим зеркалом; мочеточники в некоторых случаях выделяли, брали на резиновые турникеты и выводили латерально из поля облучения. На боковые стенки таза в области сосудистых пучков и мочеточников укладывали специальные стерильные защитные пластинки и сухие марлевые салфетки. При ПРПК таким же образом защищали культю прямой кишки. После сеанса ИОРТ операцию продолжали: при сфинктерсохраняющих операциях выполняли формирование анастомоза, при БПЭПК – ушивание промежностной раны. Во всех случаях при формировании анастомоза выполняли наложение превентивной стомы. В группе пациентов, которым производилось неоадъювантное лечение, проводился курс ДЛТ с использованием линейного ускорителя и 2D-конформной лучевой терапии, в суммарной дозе до 50,4 Гр ежедневными фракциями по 1,8 Гр. Операцию выполняли через 6–8 нед после завершения ДЛТ. Адъювантную ХТ проводили пациентам с метастазами в регионарные лимфатические узлы, в режиме FOLFOX или FOLFIRI. Отдаленные результаты оценивали каждые 3–6 мес, обследование проводили в объеме физического обследования, УЗИ, КТ и МРТ органов брюшной полости и малого таза, исследование онкомаркеров (СЕА, СА19–9) в интервале до 5 лет после вмешательства.

Статистическую обработку проводили с использованием критерия ранговых сумм Вилкоксона, критерия Краскела–Уоллиса или t-теста для независимых групп. Для сравнения качественных дан-

ных в пределах каждой когорты и межгрупповых различий использовали критерий χ^2 . Показатели общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования определяли методом Каплана–Майера. Сравнение кривых выживаемости проводили с помощью лог-рангового критерия (log-rank-тест) или критерия Бреслоу (Breslow). Статистически значимой считалась разница переменных с соответствующими p-значениями ниже 0,05.

Результаты

В группе ИОРТ у 83,7 % пациентов имел место РПК II стадии, у 16,3 % – III стадии. В группе ИОРТ/ДЛТ – 51,3 и 48,8 % соответственно ($p < 0,0001$). В группе ИОРТ у большинства пациентов (57,6 %) выявлена среднеампулярная локализация опухоли, тогда как большинство пациентов (70,0 %) в группе ИОРТ/ДЛТ имели нижнеампулярный рак ($p < 0,0001$). У 169 (98,2 %) пациентов опухоль была верифицирована как аденокарцинома, у 2 пациентов – эпидермоидный рак, у 1 – муцинозный рак. В большинстве случаев опухоли отнесены к G2 (85,9 % в группе ИОРТ и 90 % в группе ИОРТ/ДЛТ). ИОРТ со средней дозой на поверхности аппликатора 15 Гр получили 92 (53,5 %) пациента. Среднее время сеанса ИОРТ составило 34,0 мин. Неоадъювантную ДЛТ получили 80 (46,5 %) пациентов (средняя доза 50,4 Гр) и ИОРТ. Только 2 (2,6 %) пациента получили менее 50,4 Гр. В группе ИОРТ/ДЛТ 20 (24,7 %) пациентов из 81 получили неоадъювантную ХТ. Адъювантную ХТ получили 10,9 % пациентов группы ИОРТ и 42,5 % из группы ДЛТ/ИОРТ. При анализе сравниваемых групп выявлены различия по характеру хирургического вмешательства – большинству пациентов (68,5 %) в группе ИОРТ была выполнена низкая передняя резекция, в то время как в группе ИОРТ/ДЛТ чаще ($n=63$, 75 %) выполнялась БПЭПК ($p < 0,0001$).

Позитивные края резекции имели место у 10 пациентов, в группе ИОРТ частота выполнения R1-операции составила 3,3 %; в группе ДЛТ/ИОРТ частота выполнения R1-операции – 6,3 %, R2 – 2,5 %. Течение послеоперационного периода не имело специфических особенностей и осложнений, связанных с ИОРТ. Общая частота осложнений в целом по группе (n=172) составила 5,4 %. Послеоперационные инфекционные осложнения наблюдались у 9 пациентов: инфекция раны брюшной стенки – у 3 (1,7 %), инфекция промежностной раны – у 6 (3,5 %), атония мочевого пузыря – у 1 больного. Зафиксирован один случай несостоятельности колоректального анастомоза (1/109 пациентов с анастомозом). Средняя длительность послеоперационного периода в стационаре составила 16,0 сут (от 5,0 до 42 сут), что не превышало соответствующий показатель для аналогичных операций без ИОРТ.

Средний период динамического наблюдения для группы ИОРТ составил 25 мес, для группы ДЛТ/ИОРТ – 22 мес (p=0,52). Прогрессирование опухолевого процесса наблюдалось у 25 больных. У 3 пациентов отмечен местный рецидив, у 23 – отдаленные метастазы. Между группами ИОРТ и ДЛТ/ИОРТ не было значимых различий во времени возникновения местного рецидива (p=0,68) либо прогрессирования (p=0,26). Не отмечено значимых различий между показателями общей выживаемости в сравниваемых группах – 59,1 против 67,4 % (p=0,66). Выживаемость без прогрессирования через 4 года в группе ИОРТ составила 53,6 мес; в группе ДЛТ/ИОРТ – 55,1 мес (p=0,51). Выживаемость без местного прогрессирования через 4 года – 59,4 и 65,4 % соответственно (p=0,70) (рис. 1).

Кроме того, мы отдельно проанализировали подгруппы пациентов с раком прямой кишки II и III стадии (рис. 2) и не обнаружили значимых различий в показателях общей выживаемости между группами ИОРТ и ДЛТ/ИОРТ (p=0,63 и p=0,98 соответственно). Значимых различий в местном и отдаленном прогрессировании между обеими группами у пациентов II стадии (p=0,5 и p=0,19 соответственно) и III стадии (p=0,23 и p=0,75 соответственно) также не получено (рис. 2).

Обсуждение

В последние годы ИОРТ становится все более популярной в онкохирургии. Во многих мультимодальных лечебных программах методика введена в качестве дополнительного к ДЛТ прицельного облучения ложа опухоли (буст – boost) либо самостоятельного метода лечения [15]. ДЛТ в адьювантном режиме обычно не применяется по меньшей мере в течение 2 нед после операции из-за процессов заживления ран. В течение этого периода остаточные опухолевые клетки могут продолжить пролиферировать и в конечном итоге

стать причиной местного рецидива. При данных обстоятельствах ИОРТ имеет преимущество незамедлительного противоопухолевого воздействия на ложе опухоли, являясь эффективной методикой при опухолях торакоабдоминальной локализации, рецидивном колоректальном и гинекологическом раке, саркомах мягких тканей, опухолях головы и шеи, раке молочной железы, опухолях головного мозга [16–19].

В ряде одноцентровых исследований продемонстрировано, что ИОРТ эффективна в плане локального контроля при раке прямой кишки, в том числе

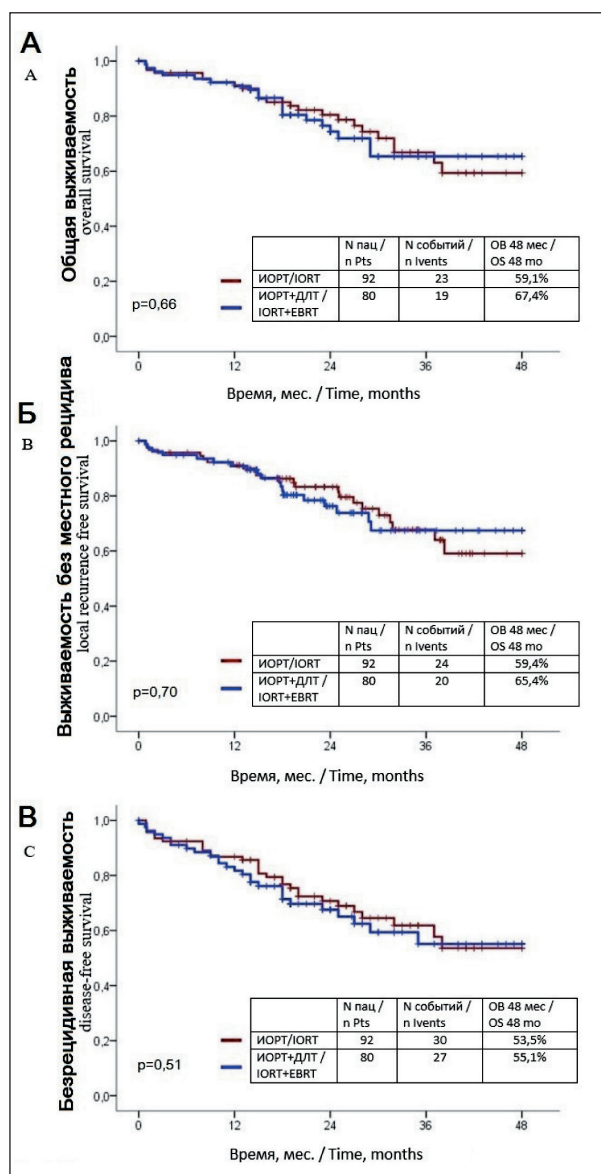


Рис. 1. Отдаленные результаты лечения с применением ИОРТ, анализ выживаемости по Каплан – Майеру:

А – общая выживаемость; Б – выживаемость без местного рецидива; В – безрецидивная выживаемость (без местного и общего прогрессирования)

Fig. 1. Long-term results of treatment with the use of IORT, survival rate according to Kaplan – Meier: A – Overall survival; B – Local recurrence free survival; C – Disease-free survival (without local and general progression)

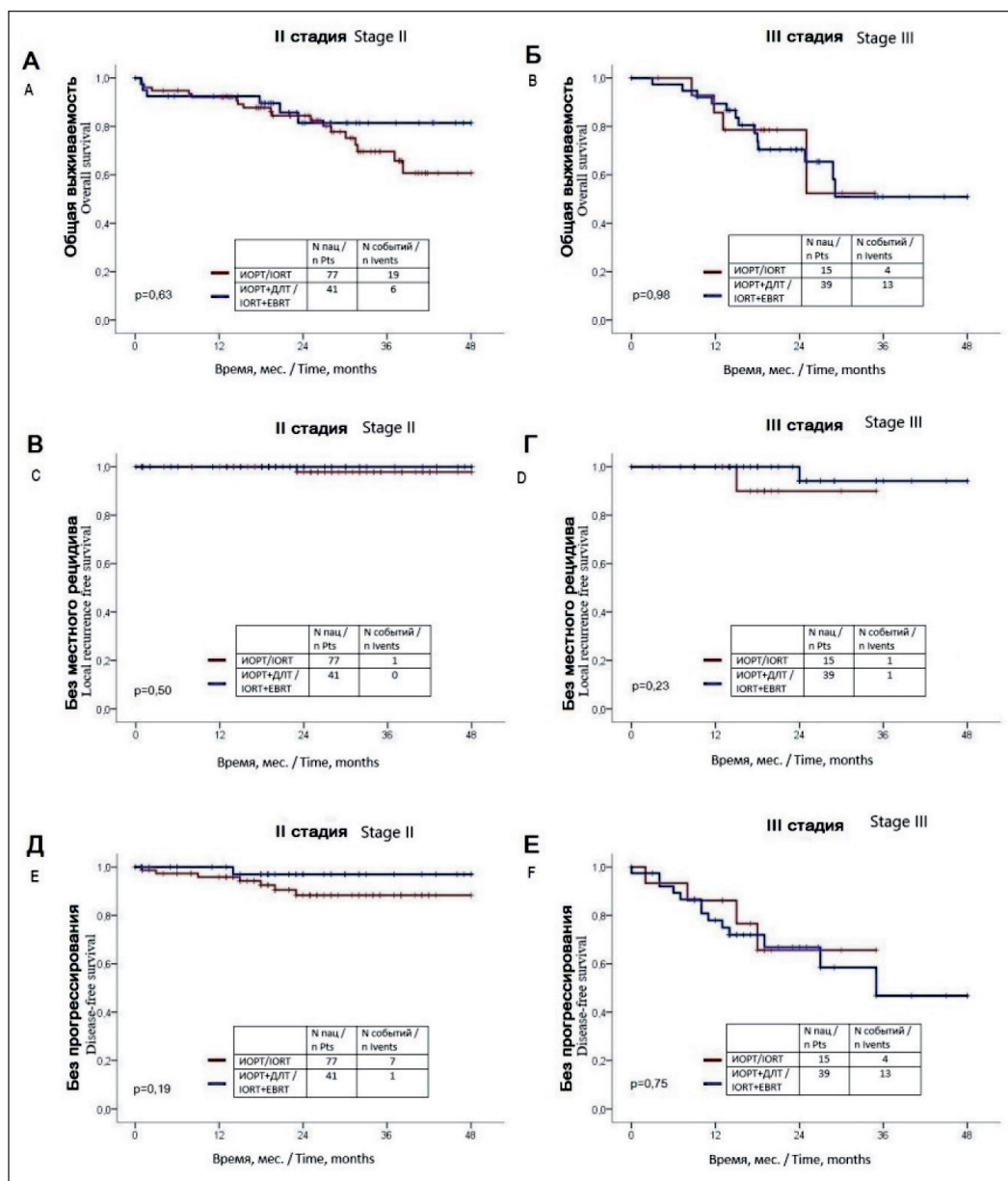


Рис. 2. Отдаленные результаты лечения с применением ИОРТ в зависимости от стадии заболевания, анализ выживаемости по Каплан-Мейеру: А – общая выживаемость при II стадии; Б – общая выживаемость при III стадии; В – выживаемость без местного рецидива при II стадии; Г – выживаемость без местного рецидива при III стадии; Д – безрецидивная выживаемость (без местного и общего прогрессирования) при II стадии; Е – безрецидивная выживаемость (без местного и общего прогрессирования) при III стадии

Fig. 2. Long-term results of treatment with the use of IORT depending on the stage of the disease, survival rate according to Kaplan – Meier: А – overall survival at stage II; Б – overall survival at stage III; В – survival without local recurrence at stage II; Г – survival without local recurrence at stage III; Е – disease-free survival (without local and general progression) at stage II; F – disease-free survival (without local and general progression) at stage III

и в сочетании с неoadъювантной химиолучевой терапией, причем наибольший эффект метод дает у пациентов с положительной циркулярной границей резекции [20–22]. В систематическом обзоре 29 исследований, включающих более 3000 пациентов с местнораспространенным первичным или рецидивным колоректальным раком, ИОРТ показал улучшение локального контроля, безрецидивной и общей выживаемости без увеличения частоты урологических и анастомотических осложнений

[23]. W.J. Alberda et al. показали, что пациенты с микроскопически положительными краями резекции, получавшие ИОРТ, имели значительно лучшую совокупную 5-летнюю безрецидивную выживаемость по сравнению с пациентами без ИОРТ (84 против 41 %, $p=0,01$) [12]. При многофакторном анализе было показано, что ИОРТ является независимым фактором, снижающим частоту местных рецидивов. Эти данные предполагают, что ИОРТ может найти свое место в алго-

ритме лечения рака прямой кишки при опухолях с близкими или микроскопически положительными краями резекции.

В большинстве опубликованных работ ИОРТ при РПК проводилась с использованием устройств, генерирующих пучки электронов [24–26], или, реже, методом высокодозной брахитерапии, либо путем сочетания обеих технологий [27, 28]. Облучение электронным пучком требовало наличия специальной операционной с соответствующей радиационной защитой, оснащенной стационарным линейным ускорителем, либо транспортировки пациента на ИВЛ под наркозом из операционной в специально оборудованное помещение для лучевой терапии. Кроме того, коллиматор излучателя, установленный в ложе опухоли, обеспечивал доставку пучка электронов только в одном направлении, чем можно объяснить недостаточную эффективность метода в некоторых исследованиях [24].

В нашем исследовании мы использовали мобильную фотонную радиохирургическую систему Intrabeam PRS 500 (Carl Zeiss), представляющую собой миниатюрный линейный ускоритель, в котором пучок электронов направляется на золотую пластинку, находящуюся внутри сферического аппликатора для создания вторичного низкоэнергетического (30–50 кВ) рентгеновского излучения. Особенностью этой системы является то, что излучение доставляется через сферический аппликатор, обеспечивающий циркулярное распределение изотропной дозы, чем достигается более равномерный и эффективный охват целевого объема по сравнению с однонаправленными излучателями. Система генерирует низкоэнергетическое (не более 50 кВ) рентгеновское излучение, которое обладает высокой эффективностью воздействия на опухолевые клетки и в то же время, благодаря экспоненциальному затуханию, проникает в ткань всего на несколько миллиметров, что позволяет достигать высоких доз в ложе опухоли при малых дозах в окружающих органах. Низкоэнергетические рентгеновские лучи обладают более высокой относительной биологической эффективностью из-за увеличенного линейного переноса энергии (т.е. происходит больше разрывов двухцепочечной ДНК в облучаемых тканях), чем высокоэнергетические фотоны или электронные пучки. [29].

Представленное исследование носит ретроспективный характер и, таким образом, имеет некоторые ограничения. Во-первых, 5-летняя общая и безрецидивная выживаемость при мРПК, по данным зарубежных исследований, составляют 70–80 и 10–20 % соответственно [30, 31]. Уровень выживаемости в течение 4 лет в нашем исследовании был несколько ниже – около 60 %, однако частота местных рецидивов составила примерно 3 %, что может указывать на то, что было больше

смертей, не связанных с прогрессированием опухоли, что может определяться демографическими особенностями популяции пациентов [32, 33]. Во-вторых, дисбаланс между группами по количеству пациентов с III стадией несколько ограничивал интерпретацию влияния ИОРТ в монорежиме. Эта проблема решена путем субанализа в подгруппах больных со II и III стадиями, где мы также не обнаружили значимых различий в общей выживаемости, локальном и общем прогрессировании, что свидетельствует о том, что ИОРТ оказывает положительное влияние при применении в монорежиме. Некоторое влияние на результаты мог оказать дисбаланс между группами по локализации опухоли (в группе ИОРТ частота опухоли в средней трети прямой кишки составила 58 %, в группе ИОРТ/ДЛТ, в нижней трети прямой кишки – 70 %) и, как следствие, различия по объему операций. Тем не менее результаты нашего исследования однозначно свидетельствуют о возможности обеспечения адекватного локального контроля у пациентов с РПК II стадии за счет применения ИОРТ без неоадьювантной ДЛТ.

Наши результаты подтверждают заключение о достаточно высокой безопасности ИОРТ фотонной радиохирургической системой Intrabeam®. Мы не наблюдали серьезных осложнений после ИОРТ, хотя средний период наблюдения в течение 5 лет может быть недостаточным, чтобы дать обоснованное заключение, особенно о поздней токсичности (такой как нейропатия). Тем не менее профиль токсичности ИОРТ очень низок, что согласуется с результатами предыдущих рандомизированных исследований [7, 24]. Не наблюдалось значимых различий в частоте хирургических осложнений и в сроках пребывания в стационаре.

Заключение

Использование фотонной радиохирургической системы является безопасной технологией ИОРТ при раке прямой кишки, не приводящей к критическому увеличению длительности операции, продолжительности госпитализации и не имеющей специфических осложнений. Данная медицинская технология обеспечивает адекватный локальный контроль при РПК II и III стадии как в самостоятельном варианте, так и в сочетании с дистанционным облучением и лекарственным лечением. Показатели общей и безрецидивной выживаемости при изолированном применении ИОРТ сопоставимы с ее использованием в комбинации с ДЛТ. ИОРТ может рассматриваться как эффективный метод лечения рака прямой кишки II и III стадии как в монорежиме, так и в интеграции в алгоритм мультимодального лечения РПК в условиях специализированного онкологического учреждения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Petersen S.H., Harling H., Kirkeby L.T., Wille-Jørgensen P., Mocelin S. Postoperative adjuvant chemotherapy in rectal cancer operated for cure. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 2012(3). doi: 10.1002/14651858.CD004078.pub2.
- Rodriguez-Bigas M.A., Chang G.J., Skibber J.M. Multidisciplinary approach to recurrent/unresectable rectal cancer: how to prepare for the extent of resection. *Surg Oncol Clin N Am.* 2010; 19(4): 847–59. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2010.07.001>.
- Wong R.K., Tandan V., De Silva S., Figueredo A. Pre-operative radiotherapy and curative surgery for the management of localized rectal carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 2. doi: 10.1002/14651858.CD002102.pub2.
- Афанасьев С.Г., Старцева Ж.А., Тарасова А.С., Усова А.В., Самцов Е.Н. Результаты комбинированного лечения рака прямой кишки с применением пролонгированной предоперационной химиолучевой терапии. *Сибирский онкологический журнал.* 2012; 6: 5–12. [Afanasyev S.G., Startseva Zh.A., Tarasova A.S., Usova A.V., Samtsov E.N. Results of combined modality treatment including preoperative prolonged chemotherapy for rectal cancer. *Siberian Journal of Oncology.* 2012. 6: 5–12. (in Russian)].
- Li Y., Wang J., Ma X., Tan L., Yan Y., Xue C., Hui B., Liu R., Ma H., Ren J. A review of Neoadjuvant Chemoradiotherapy for locally advanced rectal Cancer. *Int J Biol Sci.* 2016; 12(8): 1022–31. doi: 10.7150/ijbs.15438.
- Gunderson L.L. Rationale for and results of intraoperative radiation therapy. *Cancer.* 1994; 74(2): 537–41.
- Guo S., Reddy C.A., Kolar M., Woody N., Mahadevan A., Deibel F.C., Dietz D.W., Remzi F.H., Suh J.H. Intraoperative radiation therapy with the photon radiosurgery system in locally advanced and recurrent rectal cancer: retrospective review of the Cleveland clinic experience. *Radiat Oncol.* 2012; 7: 110. doi: 10.1186/1748-717X-7-110.
- Завьялов А.А., Мусабаяева Л.И., Лисин В.А., Чойнзонов Е.Л., Новиков В.А., Коломиец Л.А., Тузиков С.А., Афанасьев С.Г., Дубский С.В., Анисеня И.И., Тюкалов Ю.И., Миллер С.В., Добродеев А.Ю., Чивчиш Л.Н., Нечитайло М.Н., Жеравин А.А. Пятнадцатилетний опыт применения интраоперационной лучевой терапии. *Сибирский онкологический журнал.* 2004; 2–3: 75–84. [Zavyalov A.A., Musabaeva L.I., Lisin V.A., Choinzonov E.L., Novikov V.A., Kolomiets L.A., Tuzikov S.A., Afanasiev S.G., Dubsky S.V., Anisemya I.I., Tyukalov Yu.I., Miller S.V., Dobrodeev A.Yu., Chivchish L.N., Nechitailo M.N., Zheravin A.A. Fifteen years of experience in the use of intraoperative radiation therapy. *Siberian Journal of Oncology.* 2004; 2–3: 75–84. (in Russian)].
- Бердов Б.А., Скоропад В.Ю., Евдокимов Л.В., Титова Л.Н. Интраоперационная лучевая терапия в комбинированном лечении рака желудка и ободочной кишки. *Онкохирургия.* 2010; 2(3): 10–18. [Berdiv B.A., Skoropad V.Yu., Evdokimov L.V., Titova L.N. Intraoperative radiotherapy in multimodal treatment of gastric and colon cancer. *Oncosurgery.* 2010; 2(3): 10–18. (in Russian)].
- Чойнзонов Е.Л., Мусабаяева Л.И., Лисин В.А., Тюкалов Ю.И., Новиков В.А. Новая технология интраоперационной лучевой терапии в сочетании с дистанционной гамма-терапией при комбинированном лечении онкологических больных. *Онкохирургия.* 2010; 2(3): 26–36. [Choinzonov E.L., Musabaeva L.I., Lisin V.A., Tyukalov Yu.I., Novikov V.A. Novel technique of intraoperative electron radiation therapy with external radiation therapy for combined modality treatment in cancer patients. *Oncosurgery.* 2010; 2(3): 26–36. (in Russian)].
- Alberda W.J., Verhoef C., Nuytens J.J., Rothbarth J., van Meerten E., de Wilt J.H., Burger J.W. Outcome in patients with resectable locally recurrent rectal cancer after total mesorectal excision with and without previous neoadjuvant radiotherapy for the primary rectal tumor. *Ann Surg Oncol.* 2014; 21(2): 520–6. doi: 10.1245/s10434-013-3306-x.
- Alberda W.J., Verhoef C., Nuytens J.J., van Meerten E., Rothbarth J., de Wilt J.H., Burger J.W. Intraoperative radiation therapy reduces local recurrence rates in patients with microscopically involved circumferential resection margins after resection of locally advanced rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014; 88(5): 1032–40. doi: 10.1016/j.ijrobp.2014.01.014.
- Haddock M.G. Intraoperative radiation therapy for colon and rectal cancers: a clinical review. *Radiat Oncol.* 2017; 12(1): 11. doi: 10.1186/s13014-016-0752-1.
- Schild S.E., Gunderson L.L., Haddock M.G., Wong W.W., Nelson H. The treatment of locally advanced colon cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997; 37(1): 51–8.
- Debenham B.J., Hu K.S., Harrison L.B. Present status and future directions of intraoperative radiotherapy. *Lancet Oncol.* 2013; 14(11). doi: 10.1016/S1470-2045(13)70270-5.
- Roeder F., Krempien R. Intraoperative radiation therapy (IORT) in soft-tissue sarcoma. *Radiat Oncol.* 2017; 12(1): 20. doi: 10.1186/s13014-016-0751-2.
- Weil R.J., Mavinkurve G.G., Chao S.T., Vogelbaum M.A., Suh J.H., Kolar M., Toms S.A. Intraoperative radiotherapy to treat newly diagnosed solitary brain metastasis: initial experience and long-term outcomes. *J Neurosurg.* 2015; 122(4): 825–32. doi: 10.3171/2014.11.JNS1449.
- Veronesi U., Orecchia R., Maisonneuve P., Viale G., Rotmensz N., Sangalli C., Luini A., Veronesi P., Galimberti V., Zurrada S., Leonardi M.C., Lazzari R., Cattani F., Gentilini O., Intra M., Caldarella P., Ballardini B. Intraoperative radiotherapy versus external radiotherapy for early breast cancer (ELIOT): a randomised controlled equivalence trial. *Lancet Oncol.* 2013; 14(13): 1269–77. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70497-2.
- Pilar A., Gupta M., Ghosh Laskar S., Laskar S. Intraoperative radiotherapy: review of techniques and results. *Ecancermedicalscience.* 2017; 11: 750. doi: 10.3332/ecancer.2017.750.
- Ferenschild F.T., Vermaas M., Nuytens J.J., Graveland W.J., Marinelli A.W., van der Sijp J.R., Wiggers T., Verhoef C., Eggermont A., de Wilt J. Value of intraoperative radiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2006; 49(9): 1257–65. doi: 10.1007/s10350-006-0651-x.
- Valentini V., Coco C., Rizzo G., Manno A., Crucitti A., Mattana C., Ratto C., Verbo A., Vecchio F.M., Barbaro B., Gambacorta M.A., Montoro C., Barba M.C., Sofo L., Papa V., Menghi R., D'Ugo D.M., Doglietto G. Outcomes of clinical T4M0 extra-peritoneal rectal cancer treated with preoperative radiochemotherapy and surgery: a prospective evaluation of a single institutional experience. *Surgery.* 2009; 145(5): 486–94. doi: 10.1016/j.surg.2009.01.007.
- Ratto C., Valentini V., Morganti A.G., Barbaro B., Coco C., Sofo L., Balducci M., Gentile P.C., Pacelli F., Doglietto G.B., Picciocchi A., Cellini N. Combined-modality therapy in locally advanced primary rectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2003; 46(1): 59–67. doi: 10.1007/s10350-004-6497-1.
- Mirnezami R., Chang G.J., Das P., Chandrakumaran K., Tekkis P., Darzi A., Mirnezami A.H. Intraoperative radiotherapy in colorectal cancer: systematic review and meta-analysis of techniques, long-term outcomes, and complications. *Surg Oncol.* 2013; 22(1): 22–35. doi: 10.1016/j.suronc.2012.11.001.
- Dubois J.B., Bussieres E., Richaud P., Rouanet P., Becouarn Y., Mathoulin-Pélissier S., Saint-Aubert B., Ychou M. Intra-operative radiotherapy of rectal cancer: results of the French multi-institutional randomized study. *Radiation Oncol.* 2011; 98(3): 298–303. doi: 10.1016/j.radonc.2011.01.017.
- Kusters M., Valentini V., Calvo F.A., Krempien R., Nieuwenhuijzen G.A., Martijn H., Doglietto G.B., del Valle E., Roeder F., Buchler M.W., van de Velde C.J.H., Rutten H.J.T. Results of European pooled analysis of IORT-containing multimodality treatment for locally advanced rectal cancer: adjuvant chemotherapy prevents local recurrence rather than distant metastases. *Ann Oncol.* 2010; 21(6): 1279–84. doi: 10.1093/annonc/mdp501.
- Masaki T., Takayama M., Matsuoka H., Abe N., Ueki H., Sugiyama M., Tonari A., Kusuda J., Mizumoto Sh., Atomi Yu. Intraoperative radiotherapy for oncological and function-preserving surgery in patients with advanced lower rectal cancer. *Langenbecks Arch Surg.* 2008; 173–80. doi: 10.1007/s00423-007-0260-8.
- Martinez-Monge R., Nag S., Martin E.W. Three different intraoperative radiation modalities (electron beam, high-dose-rate brachytherapy, and iodine-125 brachytherapy) in the adjuvant treatment of patients with recurrent colorectal adenocarcinoma. *Cancer.* 1999; 86(2): 236–47.
- Vermaas M., Nuytens J.J., Ferenschild F.T., Verhoef C., Eggermont A.M., de Wilt J.H. Reirradiation, surgery and IORT for recurrent rectal cancer in previously irradiated patients. *Radiation Oncol.* 2008; 87(3): 357–60. doi: 10.1016/j.radonc.2008.02.021.
- Herskind C., Steil V., Kraus-Tiefenbacher U., Wenz F. Radiobiological aspects of intraoperative radiotherapy (IORT) with isotropic low-energy X rays for early-stage breast cancer. *Radiat Res.* 2005; 163(2): 208–15. doi: 10.1667/RR3292.
- Sauer R., Liersch T., Merkel S., Fietkau R., Hohenberger W., Hess C., Becker H., Raab H.R., Villanueva M.T., Witzigmann H., Wittekind C., Beissbarth T., Rödel C. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: results of the German CAO/ARO/AIO-94 randomized phase III trial after a median follow-up of 11 years. *J Clin Oncol.* 2012; 30(16): 1926–33. doi: 10.1200/JCO.2011.40.1836.
- Guillem J.G., Chessin D.B., Cohen A.M., Shia J., Mazumdar M., Enker W., Paty P.B., Weiser M.R., Klimstra D., Saltz L., Minsky B.D., Wong W.D. Long-term oncologic outcome following preoperative combined modality therapy and total mesorectal excision of locally advanced rectal cancer. *Ann Surg.* 2005; 241(5): 829–36. doi: 10.1097/01.sla.0000161980.46459.96.
- Timonin S., Danilova I., Andreev E., Shkolnikov V.M. Recent Mortality Trend Reversal in Russia: Are Regions Following the Same Tempo? *Eur J Popul.* 2017; 33(5): 733–63. doi: 10.1007/s10680-017-9451-3.
- Poppe F., Annuss R., Kuhn J. Regional life expectancy rankings: methodological artefacts in population updates. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2017; 60(12): 1422–8. doi: 10.1007/s00103-017-2648-0.

Поступила/Received 18.07.2021
Принята в печать/Accepted 20.09.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Потемин Сергей Николаевич, кандидат медицинских наук, доцент, кафедра хирургии № 2, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Краснодар, Россия). Author ID (Scopus): 57188746062. ORCID: 0000-0002-5650-6591.

Уваров Иван Борисович, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры хирургии № 2, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий онкологическим отделением № 3, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Минздрава Краснодарского края (г. Краснодар, Россия). E-mail: uvarovivan@yandex.ru. SPIN-код: 6871-1440. Researcher ID (WOS): A-4192-2014. ORCID: 0000-0002-2725-3281.

Потемин Даниил Сергеевич, врач-онколог, хирург, ООО клиника «Екатерининская» (г. Краснодар, Россия). ORCID: 0000-0002-5257-4247.

ВКЛАД АВТОРОВ

Потемин Сергей Николаевич: формулирование идеи, целей и задач, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания, участие в научном дизайне работы.

Уваров Иван Борисович: участие в разработке концепции, формулировка и развитие ключевых целей и задач, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и редактирование текста, его критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Потемин Даниил Сергеевич: сбор данных, участие в составлении черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания, статистическая обработка результатов.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Sergey N. Potemin, MD, PhD, Assistant Professor of the Department of Surgery № 2, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russia). Author ID (Scopus): 57188746062. ORCID: 0000-0002-5650-6591.

Ivan B. Uvarov, MD, DSc, Assistant Professor, Professor, Department of Surgery № 2, Kuban State Medical University; Head of the Oncology Department № 3, Regional Oncological Center of Krasnodar (Krasnodar, Russia). E-mail: uvarovivan@yandex.ru. Researcher ID (WOS): A-4192-2014. ORCID: 0000-0002-2725-3281.

Daniil S. Potemin, MD, Oncologist, Surgeon, ООО clinic «Ekaterininskaya» (Krasnodar, Russia). ORCID: 0000-0002-5257-4247.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Sergey N. Potemin: idea formation, formulation and development of key goals and objectives, analysis and interpretation of data, preparation of a manuscript with the introduction of valuable intellectual content, participation in the scientific design of the work.

Ivan B. Uvarov: participation in the development of the concept, formulation and development of key goals and objectives, data collection, analysis and interpretation of results, preparation and editing of the text, its critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Daniil S. Potemin: data collecting, participating in the drafting of the manuscript with the introduction of valuable comments of intellectual content, statistical processing of the results.

Funding

The study did not require additional funding.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Для цитирования: Франциянц Е.М., Сурикова Е.И., Владимирова Л.Ю., Мягкова В.С., Кательницкая О.В., Погорелова Ю.А., Лысенко И.Б., Енгибарян М.А. Содержание эндотелина-1 и высокомолекулярного кининогена в крови больных раком молочной железы после перенесенной инфекции SARS-CoV-2. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 29–36. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-29-36

For citation: Frantsiyants E.M., Surikova E.I., Vladimirova L.Yu., Myagkova V.S., Katelnitskaya O.V., Pogorelova Yu.A., Lysenko I.B., Engibaryan M.A. Levels of endothelin-1 and high molecular weight kininogen in blood of breast cancer patients after SARS-coV-2 infection Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 29–36. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-29-36

СОДЕРЖАНИЕ ЭНДОТЕЛИНА-1 И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО КИНИНОГЕНА В КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ SARS-CoV-2

Е.М. Франциянц, Е.И. Сурикова, Л.Ю. Владимирова, В.С. Мягкова,
О.В. Кательницкая, Ю.А. Погорелова, И.Б. Лысенко, М.А. Енгибарян

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63. E-mail: sunsur2000@mail.ru

Аннотация

Цель исследования – изучить содержание эндотелина-1 (ЭТ-1) и высокомолекулярного кининогена (ВМК) в крови больных раком молочной железы (РМЖ), перенесших в анамнезе новую коронавирусную инфекцию. **Материал и методы.** Основную группу составили 20 больных РМЖ II–IV стадий (инвазивная карцинома). На момент инфицирования вирусом SARS-CoV-2 все больные получали химиотерапию. Группу сравнения составили 19 женщин без онкологической патологии, сопоставимых по возрасту. Все обследованные перенесли новую коронавирусную инфекцию в июне – октябре 2020 г., подтвержденную положительным результатом RT-PCR на антиген и наличием антител к вирусу SARS-CoV-2. Через 3–10 нед от положительного результата на антиген SARS-CoV-2 в крови ИФА-методом определяли содержание ЭТ-1 и ВМК. В контрольную группу включили 10 женщин без онкологической патологии, не имевших симптомов COVID-19 и антител к вирусу SARS-CoV-2. **Результаты.** В группе сравнения содержание ЭТ-1 находилось в пределах референсных значений, а содержание ВМК – значительно выше. Только у больных РМЖ с метастатическим поражением легких до инфекции уровень ЭТ-1 был выше, чем в группе сравнения, у остальных (при отсутствии метастазов в легкие, легком течении инфекции или в виде пневмонии) он не отличался от уровня в группах сравнения и контроля. Содержание ВМК в основной и группе сравнения было значительно выше, чем в контроле. При этом среди больных РМЖ выделяется группа женщин с содержанием ЭТ-1 и ВМК значительно выше референсного уровня, большинство из которых имели метастазы в легкое и перенесли COVID-пневмонию. **Заключение.** Изучение содержания в крови ВМК показало, что системы контактной активации плазмы и калликреин-кининовая находятся в активированном состоянии в течение длительного периода после инфицирования как у больных РМЖ, так и у женщин без онкологической патологии. При этом у части больных РМЖ длительно сохраняется высокий уровень ЭТ-1 – маркера эндотелиальной дисфункции. Эти результаты согласуются с результатами других исследований, подтверждающих гипотезу о том, что инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, является системным сосудистым заболеванием с длительными последствиями, механизмы которого нуждаются в дальнейшем изучении.

Ключевые слова: рак молочной железы, SARS-CoV-2, COVID-19, эндотелин-1, высокомолекулярный кининоген, гемостаз.

LEVELS OF ENDOTHELIN-1 AND HIGH MOLECULAR WEIGHT KININOGEN IN BLOOD OF BREAST CANCER PATIENTS AFTER SARS-COV-2 INFECTION

E.M. Frantsiyants, E.I. Surikova, L.Yu. Vladimirova, V.S. Myagkova,
O.V. Katelnitskaya, Yu.A. Pogorelova, I.B. Lysenko, M.A. Engibaryan

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia
63, 14 liniya St., 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: sunsur2000@mail.ru

Abstract

The aim. To analyze the blood levels of endothelin-1 (ET-1) and high molecular weight kininogen (HMWK) in patients with breast cancer (BC) previously infected with the new coronavirus. **Material and methods.** The study group included 20 patients with stage II-IV BC (invasive carcinoma). All patients were receiving chemotherapy at the time of their SARS-CoV-2 infection. The comparison group included 19 women without breast cancer, who were matched for age. All women of both groups had an RT-PCR confirmed SARS-Cov-2 infection. Blood levels of ET-1 and HMWK were measured by ELISA 3–10 weeks after the positive antigen test results. The control group included 10 women of the same age without cancer and without COVID-19 symptoms and anti-SARS-CoV-2 antibodies. **Results.** The ET-1 levels in the comparison group were within the reference range, while HMWK levels were significantly higher than those in breast cancer patients. In BC patients with lung metastases, the ET-1 levels were higher than those in the comparison group patients, while in others (no history of lung metastases, with mild infection course or pneumonia), the ET-1 levels were similar to those in the comparison and control groups. The HMWK levels in the study and comparison groups were significantly higher than those in controls. Among BC patients, there were women who had significantly higher ET-1 and HMWK levels compared to the reference levels, and the majority of these patients had lung metastases and previous COVID-19 pneumonia. **Conclusion.** The measurement of HMWK blood levels demonstrated that the plasma contact activation system and the kallikrein-kinin system were active for a long period after the infection both in BC patients and in women without cancer. A high level of ET-1, the endothelial dysfunction marker, persisted for a long time in some BC patients. Our results were consistent with results of other studies supporting the hypothesis that SARS-CoV-2 virus infection is a systemic vascular disease with long-term consequences, and its mechanisms require further study.

Key words: breast cancer, SARS-CoV-2, COVID-19, high molecular weight kininogen, endothelin-1, hemostasis.

Введение

Разразившаяся пандемия COVID-19 имела глубокое негативное воздействие на оказание специальной медицинской помощи онкологическим больным. Возникло много вопросов, связанных с взаимным влиянием онкологического и инфекционного процессов и их лечением, что способствовало активизации исследований в этой области [1, 2].

Инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, признана системным сосудистым заболеванием, приводящим к прокоагулянтному состоянию, гиперактивации воспаления и развитию эндотелиальной дисфункции [3–5]. Проникновение в клетку вируса SARS-CoV-2 происходит через связывание с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (АПФ-2) на клеточной мембране эндотелиоцитов, который противодействует вазопрессорному эффекту ангиотензина [6]. Взаимодействие SARS-CoV-2 с АПФ-2 снижает активность фермента, что косвенно способствует активации пути калликреин-брадикинин, приводя к дилатации сосудов и увеличивая их про-

ницаемость [7]. С другой стороны, в плазме крови существует биохимический механизм ограничения распространения инфекции, связанный с контролируемым воспалением, коагуляцией, увеличением проницаемости сосудов – плазматическая система контактной активации и калликреин-кининовая система, которые активируются при контакте с чужеродными микроорганизмами [8–10]. Комплекс ВМК с фактором XII и прекалликреином является центральным компонентом этой системы, связывая плазменную коагуляцию, фибринолиз, активацию комплемента, проявляя антикоагулянтные свойства [11]. В результате расщепления ВМК калликреином образуется пептид брадикинин – один из самых мощных медиаторов воспаления, вазодилатации и проницаемости сосудов, участвующий в активации клеточных врожденных иммунных ответов. Ряд других продуктов расщепления ВМК стимулируют секрецию цитокинов и хемокинов мононуклеарными клетками человека, обладают антибактериальной и антигрибковой активностью, что также вносит вклад в развитие воспаления

[10]. В литературе представлены убедительные доказательства участия кининов в инфекциях, вызываемых различными агентами, в том числе вирусными, а также при развитии COVID-19 [12]. Как показывают исследования (гипер)активация этих систем играет важную роль в патогенезе новой инфекции [13–16].

Формирующаяся при коронавирусной инфекции эндотелиальная дисфункция проявляется нарушением сосудистого баланса в сторону вазоконстрикции с последующей ишемией органов, воспалением и прокоагулянтным состоянием [4, 17]. Сильнодействующим вазоконстриктором является ЭТ-1, синтез которого в эндотелии индуцируется гипоксией и легочной инфекцией [18]. Клинические и экспериментальные данные показывают, что ЭТ-1, являясь провоспалительным агентом, участвует в патогенезе сепсиса, бактериальной и вирусной пневмонии [19–22]. Кроме эффектов ЭТ-1 на гладкомышечные клетки сосудов известны его митогенные, апоптотические и иммуномодулирующие свойства, имеющие определенное значение при развитии онкологического процесса в организме [23]. Для ВМК и продукта его расщепления брадикинина также показано важное значение в ангиогенезе и росте опухоли [24, 25].

Целью исследования явилось изучение содержания ЭТ-1 и высокомолекулярного кининогена в крови больных РМЖ, перенесших новую коронавирусную инфекцию.

Материал и методы

В исследование включили 20 пациенток с локализованной и метастатической формами РМЖ в возрасте 30–80 лет (средний возраст $52,8 \pm 3,9$ года), находившихся на лечении в НМИЦ онкологии с июня по октябрь 2020 г. Гистологически у всех больных верифицирована инвазивная карцинома неспецифического типа. Распределение по стадиям: II стадия – у 9 (45 %), III стадия – у 6 (30 %), IV стадия – у 5 (25 %) больных; по степени дифференцировки: G1 у 5 (25 %), G2 у 10 (50 %), G3 у 5 (25 %); по молекулярному подтипу: люминальный А – у 4 (20 %), люминальный В HER2/neu негативный – у 4 (20 %), люминальный В HER2/neu позитивный – у 7 (35 %), тройной негативный – у 5 (25 %) пациенток. На момент инфицирования вирусом SARS-CoV-2 все больные получали системную полихимиотерапию (таксановые режимы – 5 пациенток, нетаксановые режимы – 15).

Все пациентки имели положительный результат на наличие антигена SARS-CoV-2 в мазке из носоглотки (метод RT-PCR в лаборатории НМИЦ онкологии). По степени тяжести COVID-19 больные были с бессимптомным течением (только положительный результат RT-PCR в мазке из носоглотки), с легким течением (повышение температуры тела до 38 °С, боль в горле, кашель, отсутствие признаков вирусного поражения легких

при КТ), с среднетяжелым течением (повышение температуры тела выше 38 °С, одышка при легкой физической нагрузке, КТ-признаки вирусной пневмонии). Все пациентки получали лечение по поводу инфекции COVID-19 согласно клиническим рекомендациям в зависимости от тяжести течения заболевания: при легкой степени лечение проводилось амбулаторно, при среднетяжелой – в условиях стационара, искусственной вентиляции легких не потребовалось.

После лечения по поводу COVID-19 для продолжения противоопухолевой терапии всех больных госпитализировали при наличии отрицательного результата на антиген SARS-CoV-2 в мазке из носоглотки, сбора эпидемиологического анамнеза, оценки жалоб больного, термометрии, пульсоксиметрии с измерением SpO_2 и отсутствии признаков пневмонии по результатам спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки. Период от положительного результата на антиген SARS-CoV-2 и до забора крови составил от 3 до 10 нед, в среднем – 5,7 нед.

Группу сравнения составили 19 женщин, сопоставимых по возрасту, без выявленной онкологической патологии, которые также перенесли новую коронавирусную инфекцию, подтвержденную наличием положительного результата на антиген SARS-CoV-2 в мазке из носоглотки (метод RT-PCR), и имеющие антитела IgG к вирусу SARS-CoV-2 (у 1 – среднетяжелое течение, у 3 – легкое течение, у 15 – бессимптомно, только положительный результат RT-PCR в мазке из носоглотки). Контрольную группу составили 10 женщин, сопоставимых по возрасту, без онкологической патологии, не имевших симптомов COVID-19 и не имеющих антител IgG к вирусу SARS-CoV-2. У всех участников исследования получено информированное согласие на использование биологического материала (кровь) в научных целях.

В основной группе женщины имели различную коморбидную патологию: гипертоническую болезнь различной степени тяжести (n=9), хроническую сердечную недостаточность (n=7), ожирение (n=7), сахарный диабет II типа (n=8), варикозную болезнь нижних конечностей, хронический пиелонефрит в стадии ремиссии, узловую миому матки и хронический гастродуоденит. У женщин из группы сравнения и контроля также отмечены гипертоническая болезнь, хроническая сердечная недостаточность, ожирение, сахарный диабет II типа, аутоиммунный тиреоидит.

В плазме крови, взятой утром натощак, ИФА-методом определяли содержание ЭТ-1 (R&D Systems, США) и высокомолекулярного кининогена (AssayPro, США). Статистическую обработку проводили в программе Statistica 6.0. Проверку на нормальность распределения данных в группах проводили с помощью критерия Шапиро–Уилка. В большинстве групп распределение отличалось

от нормального, поэтому для единообразия все данные представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей (медиана (25 %; 75 %)). Значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента или критерия Манна–Уитни, применяя поправку Бонферрони к уровню статистической значимости в связи с проведением множественных сравнений (для групп с нормальным и высоким содержанием ЭТ-1 – $p=0,0085$, в остальных случаях – $p=0,017$).

Результаты

При анализе уровня ЭТ-1 и высокомолекулярного кининогена в крови больных РМЖ и женщин из группы сравнения установлено, что в группе сравнения (женщины без онкологической патологии, перенесшие COVID-19) содержание ЭТ-1 не отличалось от уровня в контрольной группе, а содержание ВМК было в 3,4 раза выше (табл.). При этом надо учесть, что референсные значения для ВМК составляют 65–130 мкг/мл плазмы крови. В общей группе больных РМЖ содержание ЭТ-1 и ВМК не отличалось от уровня в группе сравнения, однако по сравнению с уровнем показателей в контрольной группе содержание ВМК было в 2,6 раза выше.

У 5 (25 %) больных РМЖ до инфицирования SARS-CoV-2 было выявлено метастатическое поражение легких, при этом средний возраст в этой группе был выше, чем средний возраст в группе сравнения. Содержание ЭТ-1 было выше уровня в группе сравнения в 1,8 раза, содержание ВМК не отличалось от показателя в группе сравнения, но было в 3,0 раза выше, чем в контроле ($p=0,0209$). У 15 (75 %) женщин без метастатического поражения легких до COVID-19 содержание ЭТ-1 не отличалось от его уровня в группе сравнения, а уровень ВМК был в 2,4 раза выше, чем в контроле.

Из 20 больных РМЖ у 11 (55 %) была зафиксирована среднетяжелая степень течения инфекции (COVID-пневмония), у 8 (40 %) – инфекция протекала бессимптомно, у 1 (5 %) – легкое течение (проявления ОРВИ без повышения температуры тела). При этом метастатическое поражение легких до инфицирования имелось как среди больных со среднетяжелым течением – у 3 (27,3 %), так и среди больных с бессимптомным и легким течением коронавирусной инфекции – у 2 (22,2 %). Независимо от степени тяжести проявления инфекции содержание ЭТ-1 и ВМК было сопоставимо с их уровнями в группе сравнения, при этом по сравнению с показателями в контрольной группе содержание ВМК было выше у всех больных в 2,3–2,8 раза ($p=0,0186$, $p=0,0047$).

Результаты изучения концентрации ЭТ-1 в крови у здоровых людей противоречивы, но известно, что она крайне невелика – не превышает 0,1–1 фмоль/мл плазмы крови (или может совсем не определяться) [26]. Исходя из этого мы проана-

лизировали у обследованных женщин содержание ЭТ-1–21 и установили, что в контрольной и в группе сравнения ни у одной женщины оно не достигло значения 1 фмоль/мл=2,49 пг/мл, в группе больных РМЖ у 16 (80 %) женщин – было ниже уровня 1 фмоль/мл (ниже 2,49 пг/мл), т.е. находилось ниже референсного значения, а у 4 (20 %) больных – выше этого значения и составило в среднем 3,02 пг/мл, что оказалось в среднем в 3 раза выше показателя в контроле, в группе сравнения и в группе больных РМЖ с нормальным содержанием ЭТ-1–21. При этом у больных с нормальным уровнем ЭТ-1–21 содержание кининогена было ниже, чем в группе сравнения и у больных с высоким содержанием ЭТ-1–21, в среднем в 1,8 раза ($p=0,0076$, $p=0,0103$), но выше, чем в контроле, в 2 раза ($p=0,0297$), почти достигая верхней границы референсного интервала. У больных с высоким уровнем ЭТ-1–21 содержание кининогена не отличалось от значений в группе сравнения и сохранялось выше, чем в контроле в 3,5 раза ($p=0,0209$). При этом только у 2 женщин из этой подгруппы имела место коморбидная патология – гипертоническая болезнь, хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет II типа, ожирение.

Обсуждение

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что у женщин без онкологической патологии через 1–2 мес после перенесенной коронавирусной инфекции содержание ЭТ-1 не отличалось от уровня у здоровых женщин и находилось в пределах референсных значений, однако содержание ВМК на этом сроке было значительно более высоким. Только у больных РМЖ с метастатическим поражением легких до коронавирусной инфекции уровень ЭТ-1 был выше, чем у женщин без онкологической патологии после коронавирусной инфекции, у остальных больных РМЖ (при отсутствии метастазирования в легкие в анамнезе, легком течении инфекции или в виде пневмонии) уровень ЭТ-1 не отличался от показателей у женщин без онкологической патологии (болевших и не болевших COVID-19), при этом содержание этого метаболита у большинства обследованных больных РМЖ оставалось в пределах референсных значений. У всех женщин, перенесших инфекцию (группа сравнения, группа больных РМЖ), через 3–10 нед от момента получения положительного результата RT-PCR на антиген Sars-CoV-2 содержание ВМК все еще было значительно выше, чем у людей без инфекции (контрольная группа), и выше референсных значений, причем у больных РМЖ с более благоприятной клинической картиной (отсутствие метастазов в легкие, легкое течение инфекции) увеличение уровня ВМК было менее выражено (имеющееся ограничение – небольшая численность подгрупп – возможно, оказывает влияние на величину статистической значимости

Таблица/Table

Содержание в крови ЭТ-1 и высокомолекулярного кининогена у больных РМЖ
The blood levels of endothelin-1 and high molecular weight kininogen in patients with breast cancer

Группы больных/Patients groups	Возраст, лет/ Age, years	ЭТ-1–21, пг/мл/ Endothelin 1–21, pg/ml	Высокомолекулярный кининоген, мкг/мл/ High molecular weight kininogen, µg/ml
Контрольная группа (n=10)/ Control group (n=10)	53,8 ± 9,5	1,136 (0,932; 1,242), N	70,7 (55,1; 88,1), N
Группа сравнения (n=19)/ Comparison group (n=19)	43,10 ± 17,1	0,90 (0,62; 1,23), N	213,0 (170; 288) p3=0,0027
Общая группа больных РМЖ (n=20)/ General group of patients with breast cancer (n=20)	52,8 ± 17,4	1,135 (0,735; 2,03)	150,5 (110,5; 221,0) p3=0,0163
Больные РМЖ с метастазами в легкие, до COVID-19 (n=5)/ Breast cancer patients with lung metastases, up to COVID-19 (n=5)	59,6 ± 10,1 p=0,0257	2,6 (0,53; 2,8) p=0,0154	170 (161; 220), N p3=0,0209
Больные РМЖ без метастазов в легкие, до COVID-19 (n=15)/ Breast cancer patients without lung metastases, up to COVID-19 (n=15)	46,5 ± 13,2 p2=0,0546	1,1 (0,75; 1,62)	146 (105; 222) p3=0,0124
Больные РМЖ с бессимптомным течением COVID-19 (n=9)/ Breast cancer patients with asymptomatic COVID-19 (n=9)	51,6 ± 20,7	0,95 (0,72; 1,76), N	146,0 (92; 155) p3=0,0186
Больные РМЖ с COVID-пневмонией (n=11)/ Breast cancer patients with COVID-pneumonia (n=11)	51,1 ± 11,3	1,322 (1,1; 2,8), N	171,5 (145; 222) p3=0,0047
Группа с нормальным содержанием ЭТ-1–21 – до 2,49 пг/мл=1 фМоль/мл (n=16)/ Group with normal ET-1–21 – up to 2.49 pg/ml=1 fMol/ ml (n=16)	50,04 ± 11,9	1,018 (0,66; 1,26), N	146,0 (94; 173) p=0,0076 p3=0,0297
Группа с повышенным содержанием ЭТ-1–21 – выше 2,49 пг/мл, т.е. выше 1 фМоль/мл (n=4)/ Group with an increased content of ET-1–21 – is higher than 2.49 pg/ml, i.e. above 1 fMol/ml (n=4)	58,40 ± 6,5 p=0,0275	2,91 (2,70; 3,35), N p=0,0020; p1=0,0029 p3=0,0066	195,0 (157,5; 348,5) p1=0,0103 p3=0,0209

Примечание: N – нормальное распределение; критический уровень значимости для ЭТ-1–21 и ВМК для групп с нормальным и высоким содержанием ЭТ-1 – p=0,0085, в остальных случаях – p=0,017; значимость различий: p – по сравнению с группой сравнения, p1 – по сравнению с группой с нормальным содержанием ЭТ-1–21, p2 – по сравнению с группой больных РМЖ с метастазами в легкие, p3 – по сравнению с контрольной группой.

Note: N – normal distribution; critical level of significance for ET-1–21 and high molecular weight kininogen for groups with normal and high levels of endothelin-1 – p=0.0085, in other cases – p=0.017; significance of differences: p – compared with the comparison group, p1 – compared with the group with normal ET-1–21, p2 – compared with the group of breast cancer patients with lung metastases, p3 – compared with the control group.

различий). При этом среди больных РМЖ выделяется группа женщин с содержанием ЭТ-1 и ВМК значительно выше уровня у женщин без онкологической патологии и референсного уровня, в которой большинство имели метастазы в легкое и перенесли COVID-пневмонию.

Полученные результаты, прежде всего, подтверждают значительную вовлеченность плазматической системы контактной активации и калликреин-кининовой системы, являющихся частью врожденной системы защиты организма, в патогенез новой коронавирусной инфекции [8–10, 14, 15]. ВМК является сайтом связывания и кофактором активации прекалликреина. В результате ряда протеолитических реакций активируется каскад коагуляции или калликреин-кининовая система с

образованием брадикинина, приводя к усилению воспалительных реакций [9]. Было показано, что оболочечные вирусы усиливают активацию внутреннего пути коагуляции крови, образуя комплекс FXII, ВМК и прекалликреина непосредственно на оболочке, как было продемонстрировано, в частности, для вируса простого герпеса HSV1 [27]. S.L. Taylor et al. показано, что при инкубации инфицированных хантавирусом эндотелиальных клеток с компонентами системы контактной активации фактором FXII, прекалликреином и ВМК происходит связывание FXII с клетками и его автоактивация, что приводит к расщеплению ВМК и высвобождению брадикинина [28].

Активность каскада коагуляции и KKS изучалась также при COVID-19, было высказано

предположение, что у пациентов, особенно с респираторными осложнениями, может присутствовать нарушение регуляции брадикинин-связанных путей [16]. В исследовании S. Meini et al. установлено, что у пациентов с COVID-19, не находящихся в критическом состоянии, уровни воспалительных биомаркеров (в частности, С-реактивный белок) и биомаркеров свертывания крови (в частности, D-димер, протромбиновое время) значительно различаются, что может свидетельствовать о существовании различных биохимических и клинических фенотипов, в которых могут преобладать провоспалительные или прокоагулянтные реакции. Авторы предполагают, что существует еще не полностью установленная на сегодняшний день связь между изменениями воспалительной и коагулянтной систем и клиническими проявлениями COVID-19 [15]. Исходя из вышесказанного, можно предположить, что уровень ВМК в крови больных РМЖ, перенесших COVID-пневмонию, и уровень ВМК в крови больных РМЖ с бессимптомно протекавшей инфекцией, возможно, отражает разную активность прокоагулянтных или провоспалительных процессов. Высказанную S. Meini et al. мысль подтверждает и то, что среди больных РМЖ выделяется группа женщин с содержанием ЭТ-1 и ВМК значительно выше уровня у женщин без онкологической патологии (контрольная группа) и референсного уровня, в которой большинство пациенток (но не все) имели метастазы в легкое, перенесли COVID-пневмонию, а часть не имела сопутствующей патологии. Однако самым неожиданным результатом оказался высокий уровень ВМК в плазме крови у женщин без онкологической патологии после инфицирования коронавирусом, среди которых только у одной инфекция протекала в виде COVID-пневмонии. В связи с полученными результатами необходимо отметить, что интер-

претация изменения содержания ВМК у больных РМЖ и у женщин без онкологической патологии не однозначна.

Несколько неожиданным было также отсутствие значительного увеличения содержания ЭТ-1–21 в крови людей, перенесших новую коронавирусную инфекцию, особенно COVID-пневмонию, несмотря на известные в настоящее время данные о его участии в патогенезе вирусной и бактериальной пневмонии [20, 21], повышении его уровня при различных инфекционных процессах, при повреждении легких [цит. по 22]. Однако С. Gregoriano et al. показали, что при COVID-19 концентрация проэндотелина-1 увеличивается в меньшей степени, чем при других типах легочной инфекции [29]. Однако точно не известно, отражает ли уровень ЭТ-1 в плазме крови роль этого пептида в патогенезе поражения легких, т.к. активация его синтеза может происходить локально в эндотелии сосудов легких.

Заключение

Изучение содержания в крови высокомолекулярного кининогена показало, что системы контактной активации плазмы и калликреин-кининовая находятся в активированном состоянии в течение длительного периода после инфицирования вирусом SARS-CoV-2 как у больных РМЖ, так и у женщин без онкологической патологии. При этом у части больных РМЖ длительно сохраняется высокий уровень ЭТ-1 – маркера эндотелиальной дисфункции. Эти результаты согласуются с результатами других исследований, подтверждающих гипотезу о том, что инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, является системным сосудистым заболеванием, механизмы которого нуждаются в дальнейшем изучении.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kum O.I., Gevorgyan Y.A., Soldatkina N.B., Gevorgyan E.Y. Особенности лечения пациентов с онкологическими заболеваниями и проведение клинических исследований в области онкологии в условиях пандемии COVID-19: опыт зарубежных стран. Вестник Российской академии медицинских наук. 2020; 75(4): 278–82. doi: 10.15690/vramn1384. [Kum O.I., Gevorgyan Y.A., Soldatkina N.B., Gevorgyan E.Y. Cancer treatment and research in the context of COVID-19 pandemic: the experience of foreign countries. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2020; 75(4): 278–82. (in Russian)]. doi: 10.15690/vramn1384.
2. Poortmans P.M., Guarneri V., Cardoso M.J. Cancer and COVID-19: what do we really know? Lancet. 2020; 395(10241): 1884–5. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31240-X.
3. Goshua G., Pine A.B., Meizlish M.L., Chang C.H., Zhang H., Bahel P., Baluha A., Bar N., Bona R.D., Burns A.J., Dela Cruz C.S., Dumont A., Halene S., Hwa J., Koff J., Menninger H., Neparidze N., Price C., Siner J.M., Tormey C., Rinder H.M., Chun H.J., Lee A.I. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. Lancet Haematol. 2020; 7(8): 575–82. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30216-7.
4. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., Mehra M.R., Schuepbach R.A., Ruschitzka F., Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. Lancet. 2020; 395(10234): 1417–8. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
5. Barbosa L.C., Gonçalves T.L., de Araujo L.P., Rosario L.V.O., Ferrer V.P. Endothelial cells and SARS-CoV-2: An intimate relationship. Vascu Pharmacol. 2021; 137: 106829. doi: 10.1016/j.vph.2021.106829.
6. Bombardini T., Picano E. Angiotensin-Converting Enzyme 2 as the Molecular Bridge Between Epidemiologic and Clinical Features of COVID-19. Can J Cardiol. 2020; 36(5): 784. doi: 10.1016/j.cjca.2020.03.026.
7. Teuwen L.A., Geldhof V., Pasut A., Carmeliet P. COVID-19: the vasculature unleashed. Nat Rev Immunol. 2020; 20(7): 389–91. doi: 10.1038/s41577-020-0343-0.
8. Antoniak S. The coagulation system in host defense. Res Pract Thromb Haemost. 2018; 2(3): 549–57. doi: 10.1002/rth2.12109.
9. Schmaier A.H. The contact activation and kallikrein/kinin systems: pathophysiologic and physiologic activities. J Thromb Haemost. 2016; 14(1): 28–39. doi: 10.1111/jth.13194.
10. Oehmcke-Hecht S., Köhler J. Interaction of the Human Contact System with Pathogens—An Update. Front Immunol. 2018; 9: 312. doi: 10.3389/fimmu.2018.00312.
11. Jukema B.N., de Maat S., Maas C. Processing of Factor XII during Inflammatory Reactions. Front Med (Lausanne). 2016; 3: 52. doi: 10.3389/fmed.2016.00052.
12. Dagnino A.P.A., Campos M.M., Silva R.B.M. Kinins and Their Receptors in Infectious Diseases. Pharmaceuticals (Basel). 2020; 13(9): 215. doi: 10.3390/ph13090215.
13. Czick M., Shapter C., Shapter R. COVID's Razor: RAS Imbalance, the Common Denominator Across Disparate, Unexpected Aspects of COVID-19. Diabetes Metab Syndr Obes. 2020; 13: 3169–92. doi: 10.2147/DMSO.S265518.
14. Garvin M.R., Alvarez C., Miller J.I., Prates E.T., Walker A.M., Amos B.K., Mast A.E., Justice A., Aronow B., Jacobson D. A mechanistic

model and therapeutic interventions for COVID-19 involving a RAS-mediated bradykinin storm. *Elife*. 2020; 9: 59177. doi: 10.7554/eLife.59177.

15. Meini S., Zanichelli A., Sbrojavacca R., Iuri F., Roberts A.T., Siffritti C., Tascini C. Understanding the Pathophysiology of COVID-19: Could the Contact System Be the Key? *Front Immunol*. 2020; 11: 2014. doi: 10.3389/fimmu.2020.02014.

16. van de Veerdonk F.L., Netea M.G., van Deuren M., van der Meer J.W., de Mast Q., Brüggemann R.J., van der Hoeven H. Kallikrein-kinin blockade in patients with COVID-19 to prevent acute respiratory distress syndrome. *Elife*. 2020; 9: 57555. doi: 10.7554/eLife.57555.

17. Deng H., Tang T.X., Chen D., Tang L.S., Yang X.P., Tang Z.H. Endothelial Dysfunction and SARS-CoV-2 Infection: Association and Therapeutic Strategies. *Pathogens*. 2021; 10(5): 582. doi: 10.3390/pathogens10050582.

18. Carpenter T.C., Schomberg S., Stenmark K.R. Endothelin-mediated increases in lung VEGF content promote vascular leak in young rats exposed to viral infection and hypoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005; 289(6): 75–82. doi: 10.1152/ajplung.00251.2005.

19. Teder P., Noble P.W. A cytokine reborn? Endothelin-1 in pulmonary inflammation and fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000; 23(1): 7–10. doi: 10.1165/ajrcmb.23.1.f192.

20. Samransamruajkit R., Moonviriyakit K., Vanapongtipagorn P., Prapphal N., Deerojanawong J., Poovorawan Y. Plasma endothelin-1 in infants and young children with acute bronchiolitis and viral pneumonia. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2002; 20(4): 229–34.

21. Schuetz P., Stolz D., Mueller B., Morgenthaler N.G., Struck J., Mueller C., Bingisser R., Tamm M., Christ-Crain M. Endothelin-1 precursor peptides correlate with severity of disease and outcome in patients with community acquired pneumonia. *BMC Infect Dis*. 2008; 8: 22. doi: 10.1186/1471-2334-8-22.

22. Freeman B.D., Machado F.S., Tanowitz H.B., Desruisseaux M.S. Endothelin-1 and its role in the pathogenesis of infectious diseases. *Life Sci*. 2014; 118(2): 110–9. doi: 10.1016/j.lfs.2014.04.021.

23. Bagnato A., Loizidou M., Pflug B.R., Curwen J., Growcott J. Role of the endothelin axis and its antagonists in the treatment of cancer. *Br J Pharmacol*. 2011; 163(2): 220–33. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01217.x.

24. Shukla M., Betapudi V., Alluri R.K., Merkulov S., Hale J., Lathia J., McCrae K.R. Regulation of the Tumor Microenvironment By High Molecular Weight Kininogen. *Blood*. 2016; 128(22): 1394. doi.org/10.1182/blood.V128.22.1394.1394.

25. Zhou Y., Wang W., Wei R., Jiang G., Li F., Chen X., Wang X., Long S., Ma D., Xi L. Serum bradykinin levels as a diagnostic marker in cervical cancer with a potential mechanism to promote VEGF expression via BDKRB2. *Int J Oncol*. 2019 Jul; 55(1): 131–41. doi: 10.3892/ijo.2019.4792.

26. Stauffer B.L., Westby C.M., DeSouza C.A. Endothelin-1, aging and hypertension. *Curr Opin Cardiol*. 2008; 23(4): 350–5. doi: 10.1097/HCO.0b013e328302f3c6.

27. Gershom E.S., Sutherland M.R., Lollar P., Prydzial E.L. Involvement of the contact phase and intrinsic pathway in herpes simplex virus-initiated plasma coagulation. *J Thromb Haemost*. 2010; 8(5): 1037–43. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.03789.x.

28. Taylor S.L., Wahl-Jensen V., Copeland A.M., Jahrling P.B., Schmaljohn C.S. Endothelial cell permeability during hantavirus infection involves factor XII-dependent increased activation of the kallikrein-kinin system. *PLoS Pathog*. 2013; 9(7): 1003470. doi: 10.1371/journal.ppat.1003470.

29. Gregoriano C., Damm D., Kutz A., Koch D., Wolfisberg S., Haulbitz S., Conen A., Bernasconi L., Hammerer-Lercher A., Fux C.A., Mueller B., Schuetz P. Association of endothelial activation assessed through endothelin-1 precursor peptide measurement with mortality in COVID-19 patients: an observational analysis. *Respiratory Research*. 2021; (22): 148.

Поступила/Received 28.06.2021
Принята в печать/Accepted 20.09.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора НМИЦ онкологии по науке, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9427-9928. Researcher ID (WOS): Y-1491-2018. Author ID (Scopus): 55890047700. ORCID: 0000-0003-3618-6890.

Сурикова Екатерина Игоревна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: sunsur2000@mail.ru. SPIN-код: 2401-4115. Researcher ID (WOS): AAG-8748-2019. Author ID (Scopus): 6507092816. ORCID: 0000-0002-4318-7587.

Владимирова Любовь Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением противоопухолевой лекарственной терапии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4857-6202. Author ID (Scopus): 7004401163. ORCID: 0000-0002-4822-5044.

Мягкова Валерия Сергеевна, врач-онколог, отделение противоопухолевой лекарственной терапии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1633-8793. ORCID: 0000-0002-8481-8795.

Кательницкая Оксана Васильевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, отделение абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6459-0334. Researcher ID (WOS): G-9110-2019. Author ID (Scopus): 57215595950. ORCID: 0000-0002-7777-9943.

Погорелова Юлия Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 2168-8737. Author ID (Scopus): 37026863400. ORCID: 0000-0002-2674-9832.

Лысенко Ирина Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением онкогематологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9510-3504. Author ID (Scopus): 57190217834. ORCID: 0000-0003-4457-3815.

Енгибарян Марина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением опухолей головы и шеи, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1764-0276. Author ID (Scopus): 57046075800.

ВКЛАД АВТОРОВ

Франциянц Елена Михайловна: планирование исследования, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Сурикова Екатерина Игоревна: анализ, интерпретация данных, написание текста рукописи.

Владимирова Любовь Юрьевна: планирование исследования, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Мягкова Валерия Сергеевна: получение, анализ, интерпретация данных.

Кательницкая Оксана Васильевна: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Погорелова Юлия Александровна: получение, анализ, статистическая обработка.

Лысенко Ирина Борисовна: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Енгибарян Марина Александровна: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Yelena M. Frantsiyants, DSc, Professor, Deputy General Director of the National Medical Research Center for Oncology for Science, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 9427-9928. Researcher ID (WOS): Y-1491-2018. Author ID (Scopus): 55890047700. ORCID: 0000-0003-3618-6890.

Ekaterina I. Surikova, PhD, Senior Researcher, Laboratory for the Study of the Pathogenesis of Malignant Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: sunsur2000@mail.ru. SPIN-code: 2401-4115. Researcher ID (WOS): AAG-8748-2019. Author ID (Scopus): 6507092816. ORCID: 0000-0002-4318-7587.

Lyubov Y. Vladimirova, MD, Professor, Head of the Department of Antitumor Drug Therapy № 1, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 4857-6202. Author ID (Scopus): 7004401163. ORCID: 0000-0002-4822-5044.

Valeria S. Myagkova, MD, Oncologist, Department of Antitumor Drug Therapy № 1, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-8481-8795.

Oksana V. Katelnitskaya, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Abdominal Oncology № 2, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): G-9110-2019. Author ID (Scopus): 57215595950. ORCID: 0000-0002-7777-9943.

Julia A. Pogorelova, PhD, Senior Researcher, Laboratory for the Study of the Pathogenesis of Malignant Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 37026863400. ORCID: 0000-0002-2674-9832.

Irina B. Lysenko, MD, Professor, Head of Department of Oncohematology, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57190217834. ORCID: 0000-0003-4457-3815.

Marina A. Yengibaryan, MD, Professor, Head of the Department of Head and Neck Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57046075800.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Yelena M. Frantsiyants: research planning, final approval of the published version of the manuscript.

Ekaterina I. Surikova: analysis, data interpretation, writing of the manuscript text.

Lyubov Y. Vladimirova: research planning, final approval of the published version of the manuscript.

Valeria S. Myagkova: obtaining, analysis, data interpretation.

Oksana V. Katelnitskaya: a critical review of the manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

Julia A. Pogorelova: obtaining, analysis, statistical processing.

Irina B. Lysenko: a critical review of the manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

Marina A. Yengibaryan: a critical review of the manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-37-46
УДК 616.34-006.6-033.2:575.113

Для цитирования: *Кутилин Д.С., Кит О.И.* Зависимость выживаемости и метастазирования у больных колоректальным раком от транскрипционной активности РТ-генов. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 37–46. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-37-46

For citation: *Kutilin D.S., Kit O.I.* Relationship between the transcriptional activity of CT-genes and survival in colorectal cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 37–46. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-37-46

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫЖИВАЕМОСТИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ ОТ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ РТ-ГЕНОВ

Д.С. Кутилин, О.И. Кит

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии, г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63. E-mail: k.denees@yandex.ru

Аннотация

Введение. Высокие показатели заболеваемости колоректальным раком и летальности от этого заболевания свидетельствуют об острой необходимости применения новых высокоспецифичных диагностических и прогностических молекулярных маркеров. В этом аспекте особый интерес представляют раково-тестикулярные антигены. **Целью исследования** явился анализ транскрипционной активности генов раково-тестикулярных антигенов у больных колоректальным раком с наличием метастазов (T1–4N1–2M1–2) и без них (T1–3N0M0) и её связи с отдаленной выживаемостью. **Материал и методы.** Величины относительной экспрессии 16 генов (*MAGE-A1*, *MAGE-A2*, *MAGE-A3*, *MAGE-A4*, *MAGE-B1*, *MAGE-B2*, *GAGE-1*, *GAGE-3*, *GAGE-4*, *MAGE-C1*, *BAGE*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *SSX2*, *SCP1*, *PRAME1*) определяли методом ПЦР в режиме реального времени. **Результаты.** Обнаружены статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение экспрессии *SSX2* и *PRAME1* в опухолевой ткани толстой кишки относительно нормальной ткани и снижение экспрессии *BAGE* в опухолевой ткани относительно нормальной ткани у больных колоректальным раком без метастазов. У пациентов с наличием метастазов обнаружены статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение экспрессии генов *GAGE1*, *SCP1* и *PRAME1*, а также снижение экспрессии генов *MAGEA2*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE4* и *NY-ESO1* в опухолевой ткани толстой кишки относительно нормальной ткани. Установлено, что на общую выживаемость пациентов и отдаленное метастазирование статистически значимое ($p < 0,05$) влияние оказывает экспрессия генов *GAGE1*, *BAGE*, *SSX2*, *MAGEA2*, *SCP1* и *MAGEB1*. **Выводы.** Полученные данные являются основой для формирования панели эффективных иммунотерапевтических мишеней и прогностических маркеров для колоректального рака дифференциально для двух групп пациентов – с метастазами и без них.

Ключевые слова: колоректальный рак, раково-тестикулярные антигены, экспрессия, метастазы, выживаемость.

RELATIONSHIP BETWEEN THE TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY OF CT-GENES AND SURVIVAL IN COLORECTAL CANCER PATIENTS

D.S. Kutilin, O.I. Kit

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia
63, 14th Line Street, Rostov-on-Don, 344037, Russia. E-mail: k.denees@yandex.ru

Abstract

Introduction. High incidence and mortality rates of colorectal cancer indicate an urgent need for the use of new highly specific diagnostic and prognostic molecular markers. In this aspect, cancer testis antigens (CTAs) are of particular interest. **The aim of the study** was to analyze the relationship between the transcriptional activity of CTAs and survival in colorectal cancer patients with metastases (T1–4N1–2M1–2) and without metastases (T1–3N0M0). **Results.** The relative expression of 16 genetic loci (*MAGE-A1*, *MAGE-A2*, *MAGE-A3*, *MAGE-A4*, *MAGE-B1*, *MAGE-B2*, *GAGE-1*, *GAGE-3*, *GAGE-4*, *MAGE-C1*, *BAGE*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *SSX2*, *SCP1* and *PRAME1*) was determined by real-time PCR. In colorectal cancer patients having no metastases, the expression of *SSX2* and *PRAME1* genes was significantly higher and the expression of *BAGE* was significantly lower in colon tumor tissue than in normal tissue ($p < 0.05$). In colorectal cancer patient with metastases, the expression of *GAGE1*, *SCP1* and *PRAME1* genes was significantly higher and the expression of *MAGEA2*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE4* and *NY-ESO1* genes was significantly lower in colon tumor tissue than in normal tissue ($p < 0.05$). The expression of the *GAGE1*, *BAGE*, *SSX2*, *MAGEA2*, *SCP1* and *MAGEB1* genes was found to have a significant impact on the overall survival and the development of distant metastasis ($p < 0.05$). **Conclusion.** The data obtained are the basis for the formation of a panel of effective immunotherapeutic targets and prognostic markers for colorectal cancer patients with and without metastases.

Key words: colorectal cancer, cancer-testis antigens, expression, metastases, survival.

Введение

Колоректальный рак (КРР) – группа злокачественных новообразований, которая занимает 4-е место среди всех онкологических заболеваний по числу летальных случаев. Ежегодно во всем мире фиксируют около 1 000 000 новых случаев КРР и более 700 000 смертей от этого заболевания. В Российской Федерации за последние 10 лет значительно увеличилась заболеваемость КРР. В настоящее время уровень летальности в течение 1-го года достигает 40 %, частота метастазов превышает 50 %, а пятилетняя выживаемость без специального лечения составляет не более 2 % [1]. Эти показатели свидетельствуют о необходимости применения новых высокоспецифичных диагностических и прогностических молекулярно-генетических маркеров КРР. Из известных опухолевых антигенов особое внимание в этом плане привлекают раково-тестикулярные антигены (РТА, Cancer Testis Antigens (CTA)) [2–4].

При КРР транскрипционная активность генов раково-тестикулярных антигенов (РТ-генов) охарактеризована недостаточно полно [2, 5]. Первые исследования РТ-генов при КРР, проведенные в конце прошлого века, показали гиперэкспрессию *MAGEA-1*, *MAGEA-2* и *MAGEA-3* не более чем в 30 % случаев (в выборку были включены 54 больных), при этом экспрессия РТ-генов чаще была повышена у больных КРР с метастазами [2, 3]. Существует предположение, что агрессивные формы опухолей толстой кишки гиперэкспрессируют гены семейства *MAGE*, и это может способствовать метастазированию. Однако степень со-экспрессии данных генов или экспрессии, по крайней мере, одного РТ-гена из семейства *MAGE* практически не исследована в первичных опухолях толстой кишки (анализ транскрипционной активности проводился в основном в метастазах в печени), что накладывает

определенные ограничения на выводы, сделанные на основании этих данных [2, 6].

Целью исследования явились анализ транскрипционной активности РТ-генов у больных КРР с наличием (T1–3N1–2M1–2) и без регионарных и отдаленных метастазов (T1–3N0M0) и её связи с отдаленной выживаемостью.

Материал и методы

В исследование были включены 30 больных с первичным раком толстой кишки (группа 1) и 30 больных с метастатическим раком толстой кишки (группа 2), проходивших лечение в Ростовском научно-исследовательском онкологическом институте в 2016–19 гг. Все пациенты, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие. Выборку гистологически подтвержденных КРР-опухолей составили аденокарциномы (G2–G3).

Фрагменты тканей (опухолевой и условно нормальной) толстой кишки, полученные в ходе оперативного вмешательства, гомогенизировали в лизирующем буфере, содержащем 4М гуанидин тиоцианат, цитрат натрия, саркозил и меркаптоэтанол. Выделение суммарной РНК из лизата тканей проводили методом фенол-хлороформной экстракции. Для очистки от примесей геномной ДНК образцы суммарной РНК обрабатывали препаратами ДНК-азы-1. Концентрацию полученных препаратов РНК измеряли на флюориметре Qubit 2.0® (Invitrogen, США). Для оценки качества полученного препарата РНК проводили электрофорез в 2 % агарозном геле (интенсивность полос 18S и 28S в соотношении 1:1 свидетельствовала о приемлемом для дальнейшей работы качестве РНК) (рис. 1) [7].

Синтез кДНК проводили с использованием наборов «Reverta-L» («Интерлабсервис», Россия). Методом ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR)

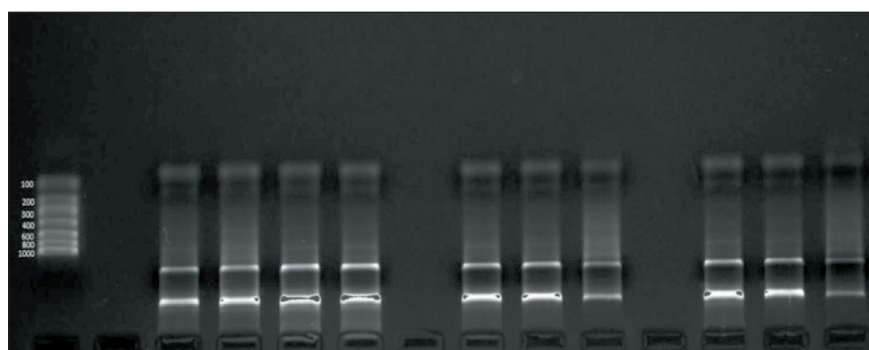


Рис. 1. Электрофореграмма РНК, выделенной из тканей опухолей толстой кишки (визуализация на GelDoc XR PLUS)
Fig. 1. Electropherogram of RNA isolated from colon tumor tissues (visualized on GelDoc XR PLUS)

определяли величины относительной экспрессии 16 генетических локусов: *MAGE-A1*, *MAGE-A2*, *MAGE-A3*, *MAGE-A4*, *MAGE-B1*, *MAGE-B2*, *GAGE-1*, *GAGE-3*, *GAGE-4*, *MAGE-C1*, *BAGE*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *SSX2*, *SCP1* и *PRAME1*. Выбор референсного локуса осуществляли с использованием алгоритма, описанного в работе Д.И. Водолажского и др. [8]. При выполнении алгоритма вычисляются значения *M Value* и *Stability* ($\ln(1/M)$). Гены со значениями *M* менее 0,50 считаются «идеальными». В качестве референсных были выбраны два генетических локуса *GAPDH* ($M=0,06$, $Stability=2,70$) и *GUSB* ($M=0,18$, $Stability=1,70$).

В исследовании использовали синтетические олигонуклеотиды (праймеры) (табл. 1), разработанные Д.И. Водолажским и соавт. [9]. RT-PCR-амплификацию (в трех технических повторах для каждого образца) проводили на термоциклере CFX96 («Bio-Rad», США) в 25 мкл реакционной смеси (содержащей 12 нг кДНК, 0,25мМ каждого

из dNTP, 2,5 мМ $MgCl_2$, 1х-ый ПЦР-буфер и 1 ед. акт. SynTaq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами («Синтол», Россия), краситель EVA-Green и по 400 нМ прямого и обратного праймеров для референсных генов или гена-мишени) по следующей программе: $t=95^{\circ}C$ 3 мин, 40 циклов: $t=95^{\circ}C$ 10 сек, $t=58^{\circ}C$ (отжиг праймеров, T_a подбиралась экспериментальным путем с использованием температурного градиента) 30 сек (+регистрация сигнала), $t=72^{\circ}C$ 30 сек. Относительную экспрессию (RE) рассчитывали по формуле $RE=2^{-\Delta\Delta C_t}$. Нормализацию результатов проводили по двум референсным генам *GAPDH*, *GUSB* и уровню экспрессии соответствующих генов мишеней в образцах нормальной ткани, последовательно по схеме, приведенной ниже [10]:

1. Нормализация по среднему референсных генов:

$$\Delta C(t) = C(t)_{\text{target}} - C(t)_{\text{g_reference}},$$

Таблица 1/Table 1

Панель праймеров [9]
Primer panel [9]

Название гена/ Gene name	Последовательности праймеров/Primer sequences	
	Прямой праймер/Direct primer	Обратный праймер/Reverse primer
<i>MAGEA1</i>	GAA GGA ACC TGA TCC AGG C	AGG GAA TTC TGT CCT CTG GG
<i>MAGEA2</i>	CGA AGG CTC CGT GAG GA	CTG TAT TGA CCT GAG TCA CC
<i>MAGEA3</i>	TGA GCA AAG AGC GAC GG	TCA GAC TGT CCC CTC AGA A
<i>MAGEB1</i>	TTC AGT GTG GTG TCC AGC AA	CGA GTT GTA CTC CTG GAT GAT CA
<i>MAGEB2</i>	AGC CAG GGG TGA ATT CTC TG	GGC ACG GAG CTT ACT CTC CT
<i>GAGE1</i>	CTG ATG GGC ACG AGA TGG AC	CCA GTC TCG GCA ACA TAG TGA
<i>GAGE3</i>	TCA CAC AGC TGA GTT GGC GA	CTG TGT GAA ATA TGA GTT GGC GC
<i>GAGE4</i>	GAG GAG GTG AAA ACG CCT GG	GCA TCA TTT CAA CGT GCC TTC G
<i>MAGEC1</i>	ACG AGG ATC GTC TCA GGT CC	CCA GGT CTT CAA CTC CTG CC
<i>MAGEA4</i>	CTG ACC AGC AGC TTG GGA TC	TCC AGG GAA TCC TGT CCT CCT
<i>BAGE</i>	GCC GGC TCC TTT CAG GAT TT	ACA TCT TTC AGG AGC TTG GTC AC
<i>XAGE3</i>	ACT TGC CCT GAG ACT TAG TT	ACT TGC CCT GAG ACT TAG TTT
<i>NY-ESO1</i>	GAG TTC ACT GTG TCC GGC AC	TGG AGA CAG GAG CTG ATG GA
<i>SSX2</i>	TAC GGT TGG TGC TCA AAT ACC	CCG AGG CTT TCA TCT TTT CCT
<i>SCP1</i>	AGG TGA AAC CTC AGA CCC T	AGT CTT TGC AAA TGG AAA CTC AAT
<i>PRAME1</i>	GCT GAG CCA TTG TCT CGT TAC T	AGG CTC AGT CAC TTG TTG CC
<i>GAPDH</i>	GTC AAG GCT GAG AAC GGG AA	TCG CCC CAC TTG ATT TTG GA
<i>GUSB</i>	CAG GAC CTG CGC ACA AGA C	CTA GCG TGT CGA CCC CAT TG

где $C(t)_{g_reference}$ – среднее геометрическое $C(t)$ референсных генов.

2. Расчёт $2^{-\Delta C(t)}$ по каждому гену для контрольной (условно-нормальная ткань) и опытной (опухолевая ткань) групп.

3. Расчёт медианы для матрицы данных $2^{-\Delta C(t)}$ по каждому гену для контрольной и опытной групп.

4. Нормализация по контрольной группе (окончательный результат – кратное различие):

$$2^{-\Delta\Delta C(t)} = \frac{2^{-\Delta C(t)_{\text{медиана опытной группы}}}}{2^{-\Delta C(t)_{\text{медиана контрольной группы}}}} = \frac{2^{-\Delta C(t)_{\text{медиана опытной группы}}}}{2^{-\Delta C(t)_{\text{медиана контрольной группы}}}} = 2^{-(\Delta C(t)_{\text{медиана опытной группы}} - \Delta C(t)_{\text{медиана контрольной группы}})}$$

Статистический анализ выполняли с использованием STATISTICA 8.0 и IBM SPSS Statistics v.23.0. Оценку различий проводили с использованием критерия Манна–Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0,05$. Оценку выживаемости в клинических группах проводили с помощью метода Каплана–Мейера. Сравнение кривых выживаемости в различных группах пациентов, построенных по методу Каплана–Мейера, проводилось с использованием логарифмического рангового критерия (Log-rank test). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ (95 % точности). Для изучения связи экспрессии РТ-генов с наблюдаемыми временами жизни больных КРР использовали модель пропорциональных интенсивностей Кокса. Силу влияния на выживаемость характеризовали β -стандартизованный коэффициент регрессии по величине и его статистическая значимость. Для проверки ограничений на параметры статистических моделей, оценённых на основе выборочных данных, использовали статистику (тест) Вальда. Оценку взаимосвязи сопряжения между признаками (летальный исход и экспрессия генов, метастазирование и экспрессия генов) осуществляли с помощью лог-линейного метода и метода построения таблиц сопряженности. Коэффициент сопряженности Пирсона χ^2 с поправкой на правдоподобие Мантеля–Хэнзеля позволял оценить силу взаимосвязи между признаками.

Результаты

В исследовании, проведенном на объединенной выборке, включающей 60 пациентов с наличием (T1–4N1–2M1–2) и без (T1–3N0M0) регионарных и отдаленных метастазов, обнаружено значимое ($p < 0,05$) изменение транскрипционной активности РТ-генов: увеличение в 3,8 и 8,5 раза для *SSX2* и *PRAME1* соответственно и снижение для *BAGE* в 1,9 раза в опухолевой ткани относительно нормальной (рис. 2). Экспрессия генов *MAGEA1*, *MAGEA2*, *MAGEA3*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE1*, *GAGE3*, *GAGE4*, *MAGEC1*, *MAGEA4*, *XAGE3*, *NY-*

ESO1 и *SCP1* в ткани опухоли значимо ($p > 0,05$) не отличается от уровня экспрессии в нормальной ткани толстой кишки.

У больных КРР без метастазов обнаружено значимое ($p < 0,05$) изменение транскрипционной активности РТ-генов: снижение для гена *BAGE* в 1,9 раза и увеличение для генов *MAGEB1* и *SSX2* в 2,0 и 5,2 раза соответственно в опухолевой ткани относительно нормальной (рис. 3). У больных КРР с метастазами выявлено значимое ($p < 0,05$) увеличение транскрипционной активности РТ-генов *GAGE1*, *SCP1* и *PRAME1* в 2,1; 3,1 и 9,9 раза соответственно, а также снижение транскрипционной активности генов *MAGEA2*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE4* и *NY-ESO1* в 2,8; 2,3; 2,7; 3,1 и 2,5 раза соответственно в опухолевой ткани относительно нормальной (рис. 3). При этом в данной группе в опухолевой ткани экспрессия генов *GAGE1* и *SCP1* была в 3,3 и 3,6 раза соответственно выше ($p < 0,05$), чем экспрессия у пациентов без метастазов. Экспрессия генов *MAGEA2*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE3*, *GAGE4*, *NY-ESO1* и *SSX2* в опухолевой ткани была значимо ниже в 2,6; 4,7; 3,8; 2,4; 3,1; 3,6 и 3,1 раза соответственно ($p < 0,05$), чем у пациентов без метастазов (рис. 3).

Дифференциально для пациентов 1 и 2-й групп проведена оценка выживаемости (рис. 4). В группе 1 летальный исход наблюдался у 2 (6,7 %) больных, 3-летняя выживаемость составила 93,3 % ($n=28$). В группе 2 летальный исход наблюдался у 22 (73,3 %) больных, 3-летняя выживаемость составила 26,7 % ($n=8$). Медиана общей выживаемости больных в группе 2 составила 35 мес. В группе 2 у всех больных в разные сроки за 36 мес возникли отдаленные метастазы. В зависимости от сроков их появления у пациентов этой группы рассчитана трехлетняя динамика безметастатической выживаемости (рис. 5), которая составила 24 мес, нижний квартиль (25 %) – 15,5 мес, верхний квартиль – 28,5 мес. Таким образом, у 50 % пациентов безметастатическая выживаемость равнялась 15,5–28,5 мес.

С использованием регрессионного анализа оценено влияние экспрессии РТ-генов в ткани опухоли на общую выживаемость больных всей выборки, объединенных в группы 1 и 2. Транскрипционная активность РТ-генов ранжирована следующим образом: 0 – снижена в опухоли относительно нормы, 1 – не изменена в опухоли относительно нормы, 2 – повышена в опухоли относительно нормы, 4 – повышена в опухоли относительно нормы более чем в 9,0 раз. Установлено, что на общую выживаемость в обеих группах значимое влияние ($p < 0,001$) оказывала экспрессия генов *GAGE1*, *BAGE*, *SSX2*, *MAGEA2* и *SCP1* (табл. 2). β -стандартизованные коэффициенты регрессии, выражающие силу взаимосвязи, имели высокие значения. Статистика Вальда имела высокое значение, что с большой вероятностью позволяло отвергнуть нулевую ги-

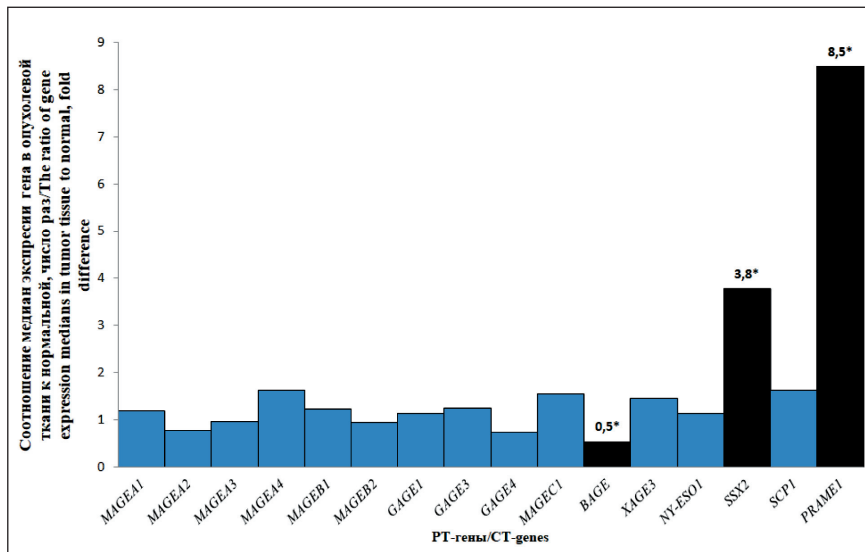


Рис. 2. Транскрипционная активность РТ-генов в опухолевой ткани толстой кишки относительно нормальной (n=60). Примечание: * – отличия между опухолевой и нормальной тканью толстой кишки статистически значимы ($p < 0,05$)

Fig. 2. Transcriptional activity of CT genes in colon tumor tissue compared to normal tissue (n=60). Note: * – statistically significant differences between tumor and normal tissues of the colon ($p < 0.05$)

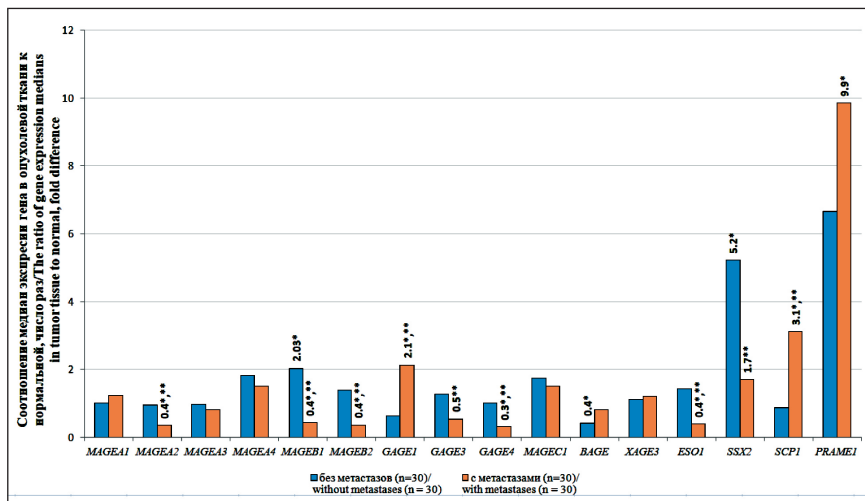


Рис. 3. Транскрипционная активность РТ-генов в опухолевой ткани толстой кишки относительно нормальной у пациентов с метастазами (n=30) и без них (n=30). Примечание: * – отличия между опухолевой и нормальной тканью статистически значимы ($p < 0,05$); ** – отличия между пациентами с метастазами и без них статистически значимы ($p < 0,05$)

Fig. 3. Transcriptional activity of CT genes in tumor tissue compared to normal tissue in patients with metastases (n=30) and without metastases (n=30). Note: * – statistically significant differences between tumor and normal tissues ($p < 0.05$); ** – statistically significant differences between patients with and without metastases ($p < 0.05$)

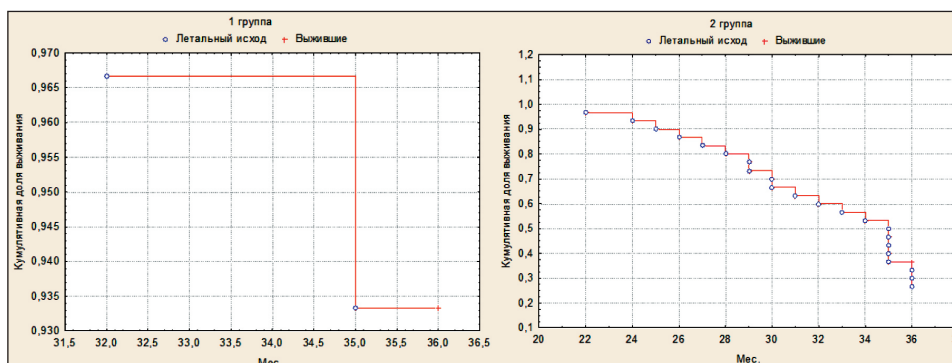


Рис. 4. Кривая Каплана–Мейера общей выживаемости больных 1 и 2-й группы

Fig. 4. Kaplan–Meier curve of overall survival of patients in groups 1 and 2

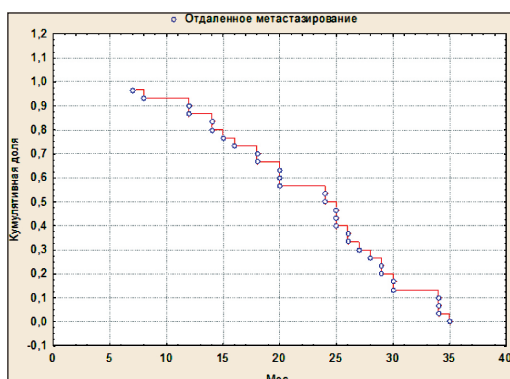


Рис. 5. Кривая Каплана–Мейера безметастатической выживаемости больных 2-й группы

Fig. 5. Kaplan–Meier curve of metastasis-free survival in group 2 patients

Таблица 2/Table 2

Результаты регрессионной модели Кокса пропорциональных рисков по сопряжению экспрессии генов в опухолевой ткани и общей выживаемости больных КРР
Results of the Cox regression model of proportional risks for the coupling of gene expression in tumor tissue and overall survival of patients with colorectal cancer

Экспрессия генов/ Gene expression	β-стандартизированный коэффициент регрессии/ β-standardized regression coefficient	Wald	p	χ ² , (p)
<i>GAGE1</i>	2,86 ± 0,74	14,89	<0,001	29,47 (p<0,0001)
<i>BAGE</i>	2,86 ± 0,74	14,89	<0,001	29,47 (p<0,0001)
<i>SSX2</i>	-2,23 ± 0,59	14,43	<0,001	46,10 (p<0,0001)
<i>MAGEA2</i>	-3,15 ± 0,74	18,05	<0,0001	36,96 (p<0,0001)
<i>SCP1</i>	1,58 ± 0,37	18,05	<0,0001	12,55 (p<0,0001)

Таблица 3/Table 3

Распределение пациентов с КРР в зависимости от летального исхода и ранга экспрессии генов в опухолевой ткани
Distribution of patients with colorectal cancer depending on the lethal outcome and the rank of gene expression in tumor tissue

Ген/Gene	Группа/ Group	Летальный исход/Lethal outcome Ранг экспрессии/Rank of gene expression			
		0	1	2	4
<i>MAGEB1</i>	M0	—	8 (22,22 %)	28 (77,78 %)	—
	M1	24 (100,0 %)	—	—	—
<i>GAGE1</i>	M0	—	28 (77,78 %)	8 (22,22 %)	—
	M1	—	2 (8,33 %)	22 (91,67 %)	—
<i>NY-ESO1</i>	M0	3 (8,33 %)	33 (91,67 %)	—	—
	M1	24 (100,0 %)	—	—	—
<i>BAGE</i>	M0	28 (77,78 %)	8 (22,22 %)	—	—
	M1	2 (8,33 %)	22 (91,67 %)	—	—
<i>SSX2</i>	M0	3 (8,33 %)	5 (13,89 %)	28 (77,78 %)	—
	M1	23 (95,83 %)	—	1 (4,17 %)	—
<i>MAGEA2</i>	M0	5 (13,89 %)	31 (86,11 %)	—	—
	M1	22 (91,67 %)	2 (8,33 %)	—	—
<i>SCP1</i>	M0	—	—	31 (86,11 %)	5 (13,89 %)
	M1	—	—	2 (8,33 %)	22 (91,67 %)

Таблица 4/Table 4

Сопряжения между экспрессией генов и общей выживаемостью в течение 36 мес после операции
Coupling characteristics between gene expression and overall survival 36 months after surgery

Ген/Gene	Критерий/Criterion	Величина критерия/Criterion value	p
<i>MAGEB1</i>	Критерий Пирсона χ ² с MX/ Pearson's criterion χ ² with MH	80,76	<0,0001
<i>GAGE1</i>	Критерий Пирсона χ ² с MX/ Pearson's criterion χ ² with MH	31,27	<0,0001
<i>NY-ESO1</i>	Критерий Пирсона χ ² с MX/ Pearson's criterion χ ² with MH	61,92	<0,0001
<i>BAGE</i>	Критерий Пирсона χ ² с MX/ Pearson's criterion χ ² with MH	31,27	<0,0001
<i>SSX2</i>	Критерий Пирсона χ ² с MX/ Pearson's criterion χ ² with MH	53,47	<0,0001
<i>MAGEA2</i>	Критерий Пирсона χ ² с MX/ Pearson's criterion χ ² with MH	39,80	<0,0001
<i>SCP1</i>	Критерий Пирсона χ ² с MX/ Pearson's criterion χ ² with MH	39,80	<0,0001

Примечание: MX – поправка Мантеля–Хэнзеля.
 Note: Mantel–Haenszel test.

Таблица 5/Table 5

Направленность изменения экспрессии генов, ассоциированная с развитием летального исхода
Direction of changes in gene expression associated with the development of a lethal outcome

Ген/Gene	Направленность изменения экспрессии генов/ Directional change in expression	p
MAGEB1	↓	<0,0001
GAGE1	↑	<0,0001
NY-ESO1	↓	<0,0001
BAGE	↑	<0,0001
SSX2	↓	<0,0001
MAGEA2	↓	<0,0001
SCP1	↑↑	<0,0001

Таблица 6/Table 6

Результаты регрессионной модели Кокса пропорциональных рисков по сопряжению экспрессии генов в опухолевой ткани и метастазирования

Results of the Cox regression model of proportional risks for the coupling of gene expression in tumor tissue and metastasis

Экспрессия генов/ Gene expression	β-стандартизированный коэффициент регрессии/ β-standardized regression coefficient	Wald	p	χ ² , (p)
<i>MAGEB1</i>	-1,74 ± 0,57	9,31	0,0023*	12,55 (p=0,0020)
<i>NY-ESO1</i>	-0,76 ± 0,50	2,26	0,1323	2,61 (p=0,1300)
<i>SSX2</i>	-0,76 ± 0,48	2,53	0,1118	3,11 (p=0,0780)
<i>MAGEA2</i>	-0,85 ± 0,61	1,93	0,1651	2,40 (p=0,1651)
<i>SCP1</i>	0,26 ± 0,03	0,92	0,3373	1,04 (p=0,3083)

Таблица 7/Table 7

Распределение пациентов 1 и 2-й групп в зависимости от рангов экспрессии генов в опухолевой ткани и отдаленного метастазирования

Distribution of patients in groups 1 and 2 depending on the ranks of gene expression in tumor tissue and distant metastasis

Ген/Gene	Группа/Group	Ранг экспрессии/ Expression rank			
		0	1	2	4
<i>MAGEB1</i>	M0	2 (6,67 %)	–	28 (93,33 %)	–
	M1	22 (73,33 %)	8 (26,67 %)	–	–
<i>GAGE1</i>	M0	–	30 (100,0 %)	–	–
	M1	–	–	30 (100,0 %)	–
<i>NY-ESO1</i>	M0	2 (6,67 %)	28 (93,33 %)	–	–
	M1	25 (83,33 %)	5 (16,67 %)	–	–
<i>BAGE</i>	M0	30 (100,0 %)	–	–	–
	M1	–	30 (100,0 %)	–	–
<i>SSX2</i>	M0	1 (3,33 %)	1 (3,33 %)	28 (93,33 %)	–
	M1	25 (83,33 %)	4 (13,33 %)	1 (3,33 %)	–
<i>MAGEA2</i>	M0	1 (3,33 %)	29 (96,67 %)	1 (3,33 %)	–
	M1	26 (86,67 %)	4 (13,33 %)	26 (86,67 %)	–
<i>SCP1</i>	M0	–	–	29 (96,67 %)	1 (3,33 %)
	M1	–	–	4 (13,33 %)	26 (86,67 %)

Таблица 8/Table 8

**Характеристики сопряжения между экспрессией генов и метастазированием
в течение 36 мес после операции**

Coupling characteristics between gene expression and metastasis 36 months after surgery

Ген/Gene	Критерий/Criterion	Величина критерия/ Criterion value	p
<i>MAGEB1</i>	Критерий Пирсона χ^2 с MX/ Pearson's criterion χ^2 with MH	69,41	<0,0001
<i>GAGE1</i>	Критерий Пирсона χ^2 с MX/ Pearson's criterion χ^2 with MH	83,18	<0,0001
<i>NY-ESO1</i>	Критерий Пирсона χ^2 с MX/ Pearson's criterion χ^2 with MH	40,85	<0,0001
<i>BAGE</i>	Критерий Пирсона χ^2 с MX/ Pearson's criterion χ^2 with MH	83,18	<0,0001
<i>SSX2</i>	Критерий Пирсона χ^2 с MX/ Pearson's criterion χ^2 with MH	60,99	<0,0001
<i>MAGEA2</i>	Критерий Пирсона χ^2 с MX/ Pearson's criterion χ^2 with MH	50,25	<0,0001
<i>SCPI</i>	Критерий Пирсона χ^2 с MX/ Pearson's criterion χ^2 with MH	50,25	<0,0001

Примечание: MX – поправка Мантеля–Хэнзеля.

Note: Mantel–Haenszel test.

Таблица 9/Table 9

**Направленность изменения экспрессии генов, ассоциированная с развитием отдаленного
метастазирования, по сравнению с пациентами без отдаленных метастазов**

**Direction of changes in gene expression associated with the development of distant metastasis, compared
with patients without distant metastases**

Ген/Gene	Направленность изменения экспрессии/ Directional change in expression	p
<i>MAGEB1</i>	↓	<0,0001
<i>GAGE1</i>	↑	<0,0001
<i>NY-ESO1</i>	↓	<0,0001
<i>BAGE</i>	↑	<0,0001
<i>SSX2</i>	↓	<0,0001
<i>MAGEA2</i>	↓	<0,0001
<i>SCPI</i>	↑↑	<0,0001

потезу о равенстве стандартизированного коэффициента нулю и считать полученную информацию о влиянии фактора адекватной.

В табл. 3 представлены данные по распределению пациентов с КРР в зависимости от летального исхода и ранга экспрессии изучаемых генов в опухолевой ткани. Сопряжение между экспрессией генов *MAGEB1*, *GAGE1*, *NY-ESO1*, *BAGE*, *SSX2*, *MAGEA2*, *SCPI* и общей выживаемостью в течение 36 мес после операции было статистически значимым (табл. 4). Анализ таблиц кросстабуляции выявил различную направленность изменения экспрессии генов, ассоциированных с развитием летального исхода, по сравнению с пациентами без прогрессирования (табл. 5).

Корреляция между транскрипционной активностью РТ-генов в опухолевой ткани и метастазированием у больных КРР была установ-

лена только для гена *MAGEB1*. Отрицательный β -стандартизированный коэффициент регрессии между экспрессией *MAGEB1* и метастазированием свидетельствовал о высоком влиянии снижения экспрессии этого гена (по сравнению с больными КРР без метастазов).

Распределение пациентов групп 1 и 2 в зависимости от рангов экспрессии генов в опухолевой ткани и отдаленного метастазирования представлено в табл. 6. Распределение частот в таблицах сопряженности подвергали логлинейному анализу (табл. 7–8). При этом установлено, что от экспрессии изучаемых генов зависела также и реализация отдаленного метастазирования ($p < 0,0001$). Логлинейный анализ более адекватно отражал сопряжение экспрессии генов в опухолевой ткани с отдаленным метастазированием по сравнению с регрессионным анализом. Направленность измене-

ния экспрессии изучаемых генов, ассоциированная с развитием отдаленных метастазов, отражена в табл. 9.

Таким образом, у больных КРП установлены закономерности, связывающие транскрипционную активность РТ-генов с выживаемостью и метастазированием.

Обсуждение

У больных метастатическим и неметастатическим КРП профили экспрессии РТ-генов значительно отличаются. В обеих группах наблюдается дифференциальная экспрессия ряда РТ-генов, относящихся к разным классам: СТ-Х (*MAGEB1*, *SSX2* и др.) и non-Х (*SCP1* и др.), тестикулярно-селективным (*SSX2*, *GAGE1*, *SCP1*) и тестикулярно-ограниченным (*MAGEB1/2*). Изменение экспрессии генов *SSX2*, *GAGE1*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE3*, *GAGE4* и *NY-ESO1* согласуется с данными, полученными J. Sammut et al. [6]. В отличие от данных Н.М. Shantha Kumara et al. [11] и М. Li et al. [12] для РТА из семейства *MAGEA* в нашем исследовании не выявлено значимого увеличения транскрипционной активности. Следует отметить, что в основном (исключение ген *BAGE*) только в опухолевой ткани толстой кишки пациентов с метастазами наблюдается значительное снижение транскрипционной активности ряда РТ-генов относительно опухолевой и нормальной ткани пациентов без метастазов. Снижение экспрессии данных генов может иметь важное значение для развития метастазирования. РТА достаточно давно используются в качестве мишеней для иммунотерапии основанной на ДКВ (дендритно-клеточных вакцинах), и хорошо известно, что увеличение

их экспрессии повышает иммуногенность опухолевой ткани [13, 14]. Соответственно, снижение экспрессии РТ-генов в опухолевых клетках может улучшать их маскировочный потенциал, скрывая от иммунной системы.

Это предположение частично подтверждается результатами регрессионного анализа, согласно которым *GAGE1*, *BAGE*, *SSX2*, *MAGEA2*, *SCP1* и *MAGEB1* статистически значимо влияют на общую выживаемость, и результатами логлинейного анализа, согласно которым *GAGE1*, *BAGE*, *SSX2*, *MAGEA2*, *SCP1* и *MAGEB1* статистически значимо влияют на отдаленное метастазирование. При этом направленность изменения экспрессии РТ-генов, ассоциированная с развитием отдаленного метастазирования и летальным исходом, полностью совпадает и для генов *MAGEB1*, *NY-ESO*, *SSX2* и *MAGEA2* характеризуется снижением транскрипционной активности по сравнению с пациентами без отдаленных метастазов.

Заключение

У больных метастатическим и неметастатическим КРП обнаружена дифференциальная транскрипционная активность РТ-генов *MAGEA2*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE1*, *GAGE3*, *GAGE4*, *SSX2*, *BAGE*, *NY-ESO1* и *PRAME1*. На общую выживаемость пациентов и метастазирование значимое влияние оказывает экспрессия генов *GAGE1*, *BAGE*, *SSX2*, *MAGEA2*, *SCP1* и *MAGEB1*. Полученные данные являются основой для формирования панели эффективных иммунотерапевтических мишеней и прогностических маркеров для колоректального рака дифференциально для двух групп пациентов: с метастазами и без метастазов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Кутилин Д.С., Кошелева Н.Г., Гусарева М.А., Харатезов Д.А., Донцов В.А., Полуэктов С.И., Зема Т.В., Лиман Н.А., Шляхова О.В., Удаленкова И.А. Влияние транскрипционной активности генов, регулирующих репарацию ДНК, на эффективность лучевой терапии опухолей прямой кишки. Современные проблемы науки и образования. 2019; 6: 142. [Kutulin D.S., Kosheleva N.G., Gusareva M.A., Kharatzev D.A., Dontsov V.A., Poluektov S.I., Zema T.V., Liman N.A., Shlyakhova O.V., Udalenkova I.A. The effect of transcriptional activity of genes that regulate DNA repair on the effectiveness of radiation therapy of rectal tumors. Modern Problems of Science and Education. 2019; 6: 142. (in Russian)].
2. Солдатова К.И., Колесников Е.Н., Габричидзе П.Н. Особенности транскрипционной активности раково-тестикулярных антигенов у больных метастатическим и неметастатическим колоректальным раком. Современные проблемы науки и образования. 2018; 5: 108. [Soldatova K.I., Kolesnikov E.N., Gabrichidze P.N. Transcriptional activity features of cancer-testis antigens in patients with metastatic and non-metastatic colorectal cancer. Modern Problems of Science and Education. 2018; 5: 108. (in Russian)].
3. Кут О.И., Солдатова К.И., Кутилин Д.С., Водолажский Д.И. Раково-тестикулярные антигены в диагностике опухолей толстой кишки. Современные проблемы науки и образования. 2018; 2: 10. [Kit O.I., Soldatova K.I., Kutulin D.S., Vodolazhsky D.I. Cancer-testis antigens in colon tumors diagnostics. Modern Problems of Science and Education. 2018; 2: 10. (in Russian)].
4. Chi Soh J.E., Abu N., Jamal R. The potential immune-eliciting cancer testis antigens in colorectal cancer. Immunotherapy. 2018 Sep; 10(12): 1093–1104. doi: 10.2217/imt-2018-0044.
5. Гольшико П.В., Новиков Д.В., Ананьев С.В., Барышников К.А., Новиков В.В. Раково-тестикулярные гены в крови и опухоли
6. Sammut J., Wakeman J.A., Stuart N., McFarlane R.J. Cancer/ Testis Antigens and Colorectal Cancer. J Genet Syndr Gene Ther. 2013; 4: 149.
7. Кутилин Д.С., Никитин И.С., Кут О.И. Особенности экспрессии генов некоторых транскрипционных факторов при малигнизации тканей тела матки. Успехи молекулярной онкологии. 2019; 6(1): 57–62. [Kutulin D.S., Nikitin I.S., Kit O.I. Features of some transcription factors gene expression in the malignancy tissues of the corpus uteri. Advances in Molecular Oncology. 2019; 6(1): 57–62. (in Russian)].
8. Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Солдатова К.И. Изучение стабильности экспрессии референсных генетических локусов при малигнизации тканей толстой кишки. Сборник материалов 5-й итоговой научной сессии молодых ученых РостГМУ. 2018: 33–34. [Vodolazhsky D.I., Kutulin D.S., Soldatova K.I. Study of the stability of expression of reference genetic loci during malignancy of colon tissues. 5 itogovaya nauchnaya sessiya molodykh uchonykh. RostGMU. 2018: 33–34. (in Russian)].
9. Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Мозушкова Х.А., Кут О.И. Транскрипционный профиль раково-тестикулярных антигенов у больных раком молочной железы. Медицинская иммунология. 2018; 20(3): 38390. [Vodolazhskiy D.I., Kutulin D.S., Mogushkova Kh.A., Kit O.I. Transcriptional profile of cancer-testicular antigens in patients with breast cancer. Medical Immunology. 2018; 20(3): 383–90. (in Russian)].
10. Кутилин Д.С., Димитриади С.Н., Водолажский Д.И., Францианц Е.М., Кут О.И. Влияние тепловой ишемии-реперфузии на экспрессию апоптоз-регулирующих генов в почечной ткани больных

с почечно-клеточным раком. Нефрология. 2017; 21(1): 80–6. [Kutlin D.S., Dimitriadis S.N., Vodolazhsky D.I., Frantsiyants H.M., Kit O.I. Effect of thermal ischemia-reperfusion on expression of apoptosis-regulating genes in the renal tissue of patients with renal cell carcinoma. Nephrology. 2017; 21(1): 80–6. (in Russian)].

11. Shantha Kumara H.M., Grieco M.J., Caballero O.L., Su T., Ahmed A., Ritter E., Gnjatic S., Cekic V., Old L.J., Simpson A.J., Cordon-Cardo C., Whelan R.L. MAGE-A3 is highly expressed in a subset of colorectal cancer patients. Cancer Immun. 2012; 12: 16.

12. Li M., Yuan Y.H., Han Y., Liu Y.X., Yan L., Wang Y., Gu J. Expression profile of cancer-testis genes in 121 human colorectal cancer tissue

and adjacent normal tissue. Clin Cancer Res. 2005 Mar 1; 11(5): 1809–14. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1365.

13. Wei X., Chen F., Xin K., Wang Q., Yu L., Liu B., Liu Q. Cancer-Testis Antigen Peptide Vaccine for Cancer Immunotherapy: Progress and Prospects. Transl Oncol. 2019 May; 12(5): 733–8. doi: 10.1016/j.tranon.2019.02.008.

14. Salmaninejad A., Zamani M.R., Pourvahedi M., Golchehre Z., Hosseini Bereshneh A., Rezaei N. Cancer/Testis Antigens: Expression, Regulation, Tumor Invasion, and Use in Immunotherapy of Cancers. Immunol Invest. 2016 Oct; 45(7): 619–40. doi: 10.1080/08820139.2016.1197241.

Поступила/Received 06.02.2020
Принята в печать/Accepted 20.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кутилин Денис Сергеевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 8382-4460. ORCID 0000-0002-8942-3733.

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1728-0329. Researcher ID (WOS): U-2241-2017. Author ID (Scopus): 55994103100. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кутилин Денис Сергеевич: разработка концепции научной работы, обработка биологического материала и проведение молекулярного анализа, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Кит Олег Иванович: разработка концепции научной работы, внесение ценного интеллектуального содержания в основную концепцию, получение биологического материала и данных о выживаемости пациентов, анализ черновика рукописи и его корректировка.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность К.И. Солдатовой (аспирант РостГМУ) за помощь в сборе информации о выживаемости пациентов.

ABOUT THE AUTHORS

Denis S. Kutilin, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 8382-4460. ORCID 0000-0002-8942-3733.

Oleg I. Kit, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 1728-0329. Researcher ID (WOS): U-2241-2017. Author ID (Scopus): 55994103100. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

AUTHOR CONTRIBUTION

Denis S. Kutilin: study conception and design, biological specimen collection and processing, statistical analysis, drafting of the manuscript.

Oleg I. Kit: study conception and design, data collection and interpretation, biological specimen collection, editing of the manuscript, critical revision of manuscript for important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors are grateful to K.I. Soldatova for help in collecting information on patient survival.

Для цитирования: Телышева Е.Н., Шайхаев Е.Г., Снигирева Г.П. Мутационный профиль *KRAS*-позитивного колоректального рака. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 47–56. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-47-56
For citation: Telysheva E.N., Shaikhaev E.G., Snigireva G.P. Mutational profile of *KRAS*-positive colorectal cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 47–56. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-47-56

МУТАЦИОННЫЙ ПРОФИЛЬ *KRAS*-ПОЗИТИВНОГО КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Е.Н. Телышева, Е.Г. Шайхаев, Г.П. Снигирева

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко» Минздрава России, г. Москва, Россия
Россия, 125047, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

Аннотация

Цель исследования – изучение особенностей молекулярно-генетического профиля *KRAS*-позитивного колоректального рака (КРР). **Материал и методы.** В исследование было включено 42 пациента с диагнозом колоректальный рак, в опухолевой ткани которых методом ПЦР в режиме «реального времени» выявлена мутация в гене *KRAS*. С помощью технологии секвенирования нового поколения (NGS) на платформе Illumina были проанализированы гены, участвующие в молекулярном патогенезе КРР: *KRAS*, *BRAF*, *NRAS*, *APC*, *TP53*, *SMAD2*, *SMAD4*, *FBXW7*, *PIK3CA*, *CTNNB1*, *TCF7L2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *ATM*, *TGF- β 2*, *AKT1*, *CDC27*, *CASP8*, *MAP2K4*, *DCC*, *DMD*, *MAP7*, *ERBB2*, *P3H3*, *MIER3*, *CADM1*, *FLT4*, *PTPN12*, *PIK3R1*, *EP300*. Пробоподготовку библиотек из выделенной ДНК проводили с использованием коммерческих наборов GeneRead DNASeq Targeted Panel v2 Human Colorectal Cancer («Qiagen», США); NEBNext Ultra DNA library Prep kit for Illumina и NEBNext Multiplex Oligos for Illumina («New England BioLabs»). **Результаты.** У 36 пациентов с *KRAS*-позитивным КРР зарегистрированы изменения в 13 генах, участвующих в молекулярном патогенезе заболевания. Всего было выявлено 82 соматические мутации. При этом у 9 больных дополнительно выявлено по одной мутации, у 17 – по 2 мутации, у 7 – по 3 мутации и у 3 – по 4 мутации. Сочетание сразу трех мутаций в ключевых генах, отвечающих за патогенез КРР (*KRAS*, *APC* и *TP53*), было выявлено у 15 (36 %) больных. Сочетание двух мутаций в генах *KRAS* и *APC* выявлено у 10 (24 %) больных, в генах *KRAS* и *TP53* – у 8 (19 %) больных. Самое большое количество соматических мутаций выявлено в генах *APC* (59,5 %) и *TP53* (54,7 %). Показано, что сочетание трех мутаций в ключевых генах (*KRAS*, *APC* и *TP53*) является наиболее неблагоприятным фактором прогноза и может свидетельствовать о более высокой агрессивности опухолевого процесса. **Заключение.** Полученная с помощью метода NGS информация о мутационном статусе *KRAS*-позитивной опухоли пациентов с КРР позволяет с учетом клинических характеристик персонифицировать тактику лечения, а также прогнозировать его течение.

Ключевые слова: колоректальный рак, соматические мутации, секвенирование нового поколения (NGS), таргетная терапия.

MUTATIONAL PROFILE OF *KRAS*-POSITIVE COLORECTAL CANCER

E.N. Telysheva, E.G. Shaikhaev, G.P. Snigireva

N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
16, 4th Tverskaya-Yamskaya St., 125047, Moscow, Russia

Abstract

Aim: to study the features of the molecular genetic profile of *KRAS*-positive colorectal cancer (CRC). **Material and Methods.** The study included 42 patients diagnosed with colorectal cancer. The *KRAS* gene mutation was detected in tumor tissue of these patients by real-time PCR. Using the next generation sequencing technology

(NGS) on the Illumina platform, the genes involved in the molecular pathogenesis of colorectal cancer, namely *KRAS*, *BRAF*, *NRAS*, *APC*, *TP53*, *SMAD2*, *SMAD4*, *FBXW7*, *PIK3CA*, *CTNNB1*, *TCF7L2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *ATM*, *TGF- β 2*, *AKT1*, *CDC27*, *CASP8*, *MAP2K4*, *DCC*, *DMD*, *MAP7*, *ERBB2*, *P3H3*, *MIER3*, *CADM1*, *FLT4*, *PTPN12*, *PIK3R1*, and *EP300* were analyzed. Sample preparation of libraries from isolated DNA was carried out using commercial kits GeneRead DNASeq Targeted Panel v2 Human Colorectal Cancer (Qiagen, USA); NEBNext Ultra DNA library Prep kit for Illumina and NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (New England Biolabs). **Results.** In 36 patients with *KRAS*-positive tumors, changes were observed in 13 genes involved in the molecular pathogenesis of colorectal cancer. A total of 82 somatic variants were identified. Moreover, 9 patients additionally had one mutation each, 17 patients had 2 mutations each, 7 patients had 3 mutations each, and 3 patients had 4 mutations each. Combination of three mutations in key genes involved in the pathogenesis of colorectal cancer (*KRAS*, *APC* и *TP53*) was detected in 15 (36 %) patients. Combination of two mutations in the *KRAS* and *APC* genes was detected in 10 (23.8 %) patients, and in the *KRAS* and *TP53* genes – in 8 (19.1 %) patients. The largest number of somatic mutations was found in the *APC* (59.5 %) and *TP53* (54.7 %) genes. It was shown that a combination of three mutations in key genes was the most unfavorable prognosis factor and indicated a higher aggressiveness of the tumor process. **Conclusion.** The information obtained using the NGS method on the mutational status of a *KRAS*-positive tumor in patients with colorectal cancer allows for personalized treatment as well as predicting the outcome.

Key words: colorectal cancer, somatic mutations, next generation sequencing (NGS), targeted therapy.

Введение

Колоректальный рак (КРР), по данным ВОЗ, занимает третье место в структуре онкологических заболеваний, являясь одной из наиболее частых причин смерти [1, 2]. Отмечается неуклонный рост заболеваемости КРР, которая в ближайшем десятилетии может значительно возрасти, в том числе и среди молодых людей [3, 4]. Повысить эффективность лечения и улучшить показатели выживаемости при КРР позволяет внедрение новых высокотехнологичных методов лечения, включая таргетную терапию.

В основе патогенеза КРР лежит взаимодействие экологических и генетических факторов. Известно большое количество молекулярно-генетических маркеров, которые участвуют в развитии КРР, определяя клиническую картину заболевания [5]. Пациенты со схожими гистологическими типами опухоли часто имеют различные прогностические перспективы, что может быть связано с молекулярно-генетическими особенностями опухоли, лежащими в основе канцерогенеза [5, 6]. Информация о молекулярном разнообразии опухоли при КРР помогает не только совершенствовать диагностику, но и разрабатывать новые подходы к эффективной персонифицированной терапии [7].

В настоящее время лишь несколько генетических маркеров, участвующих в процессах малигнизации и опухолевой прогрессии, нашли применение в клинической практике. Основные рекомендации по лечению пациентов с КРР предполагают определение мутационного статуса генов семейства *RAS* и гена *BRAF*. Мутации, выявляемые в генах семейства *RAS*, являются валидированными показателями резистентности к анти-*EGFR*-таргетной терапии. Что касается мутаций в гене *BRAF*, то имеющиеся в литературе данные не однозначны и в основном свидетельствуют об очень ограниченной пользе ингибиторов *EGFR* при лечении КРР [8]. Несмотря на тестирование мута-

ционного статуса генов семейства *RAS*, число чувствительных к таргетной терапии пациентов пока невелико. Примерно в 35–40 % случаев при КРР выявляются активирующие мутации в гене *KRAS*, которые не позволяют назначать анти-*EGFR*-таргетную терапию [9]. Кроме того, эффективность анти-*EGFR*-таргетной терапии у пациентов с диким типом гена *KRAS* часто снижается из-за развития вторичной резистентности в процессе лечения. Неудивительно, что предметом все возрастающего числа исследований является поиск новых мишеней для лечения КРР [8, 10–13].

Благодаря применению нового высокочувствительного метода секвенирования нового поколения (NGS) были выявлены многочисленные молекулярно-генетические изменения (мутации, транслокации и амплификации), которые лежат в основе развития КРР и определяют высокую пластичность и устойчивость клеток опухоли к лекарственным препаратам и лучевой терапии. До недавнего времени персонифицированная медицина, основанная на индивидуальном секвенировании генома, была дорогостоящей и трудоемкой. Постоянное усовершенствование технологии NGS, ее активное внедрение в практическую медицину, благодаря реальной возможности проведения анализа десятков и сотен генов в одном исследовании, позволяют зачастую заменить ряд рутинных молекулярно-генетических методов, в частности метод полимеразной цепной реакции и метод секвенирования по Сенгеру.

Целью исследования явилось изучение особенностей молекулярно-генетического профиля *KRAS*-позитивного КРР.

Материал и методы

В исследование были включены 42 пациента в возрасте от 48 до 86 лет (средний возраст – 67,7 ± 8,8 года) с диагнозом колоректальный рак, из них 17 женщин и 25 мужчин. У 27 больных опухоль

располагалась в ободочной кишке, у 15 – в прямой кишке. Диагноз верифицирован инструментально и морфологически. Гистологическую классификацию опухоли и стадирование заболевания проводили согласно системе TNM (7 издание, 2010). Распределение по стадиям заболевания: I стадия – 11, II – 9, III – 10, IV – 12 пациентов. Во всех случаях была аденокарцинома различной степени дифференцировки: низкодифференцированная – 3, умереннодифференцированная – 24, высокодифференцированная – 15. Все пациенты проходили хирургическое лечение в Российском научном центре рентгенорадиологии МЗ РФ в период с 2014 по 2019 г. Неоадьювантное лечение не проводилось. У всех пациентов в опухолевой ткани, полученной после операции, методом ПЦР в режиме «реального времени» были выявлены мутации в гене *KRAS*. Представленная работа одобрена этическим комитетом Российского научного центра рентгенорадиологии МЗ РФ (протокол № 3, от 17 марта 2014 г.). Все пациенты подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

ДНК выделяли из операционного материала, хранящегося в формалин-фиксированных парафиновых блоках (FFPE) и содержащего не менее 60 % опухолевых клеток. Для выделения ДНК использовали коммерческие наборы DNA FFPE kit («Qiagen», США). Концентрацию ДНК измеряли флуоресцентным методом с использованием наборов Qubit dsDNA HS Assay kit («Invitrogen») на приборе Qubit («Invitrogen»). Концентрация двухцепочечной ДНК каждого образца составляла не менее 5 нг/мкл. Качество ДНК перед пробоподготовкой библиотек оценивали методом ПЦР в режиме «реального времени» с использованием наборов GeneRead DNA QuantiMize («Qiagen», США) на приборе 7500 real-time PCR systems («Applied Biosystems», США) с последующей обработкой полученных данных с помощью программного обеспечения GeneRead DNA QuantiMize 96 DataAnalysis.

Пробоподготовку библиотек из выделенной ДНК для последующего анализа методом NGS проводили с использованием коммерческих наборов GeneRead DNASeq Targeted Panel v2 Human Colorectal Cancer («Qiagen», США); NEBNext Ultra DNA library Prep kit for Illumina и NEBNext Multiplex Oligos for Illumina («New England BioLabs») в соответствии с рекомендациями производителя. Таргетная панель «GeneRead DNASeq Targeted Panel v2 Human Colorectal Cancer» включала следующие гены, участвующие в молекулярном патогенезе КРР: *KRAS*, *BRAF*, *NRAS*, *APC*, *TP53*, *SMAD2*, *SMAD4*, *FBXW7*, *PIK3CA*, *CTNNB1*, *TCF7L2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *ATM*, *TGFBR2*, *AKT1*, *CDC27*, *CASP8*, *MAP2K4*, *DCC*, *DMD*, *MAP7*, *ERBB2*, *P3H3*, *MIER3*, *CADMI*, *FLT4*, *PTPN12*, *PIK3R1*, *EP300*.

Готовые библиотеки ДНК разводили до концентрации 4 нМ, смешивали в эквимольных количествах и затем подвергали кластеризации с использованием стандартной проточной ячейки. Секвенирование осуществляли на платформе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора реагентов MiSeq v2 (300 циклов).

Биоинформатический анализ данных – получение VCF файлов (variant call format) из файлов формата FASTQ – проводили с использованием программного обеспечения MiSeq Reporter (Illumina, США), которое позволяло картировать и выравнивать отсеквенированные таргетные последовательности на референсную последовательность генома человека (GRCH37/hg19).

Для аннотирования и интерпретации генетических вариантов использовали программное обеспечение Variant Studio 2.0 (Illumina), которое работает с VCF файлами. Для исключения артефактных и некачественных нуклеотидных вариантов были установлены следующие параметры фильтрации: глубина прочтения составляла не менее $\times 100$, глубина прочтения альтернативного варианта – не менее $\times 10$. Для исследования выбраны генетические варианты, соответствующие параметрам фильтрации. Все соматические мутации, найденные в образцах ДНК ткани опухоли, были подтверждены методом прямого секвенирования по Сенгеру.

Генетические варианты были аннотированы и интерпретированы с использованием базы данных однонуклеотидных полиморфизмов (dbSNP), баз данных COSMIC, cBioPortal и других. Для визуализации генетических вариантов применяли программу IGV (Integrative Genomics Viewer), в которой прочитанные таргетные участки ДНК выравниваются на референсный геном человека (GRCH37/hg19).

Результаты

Помимо мутаций в гене *KRAS*, которые предварительно были выявлены методом ПЦР в режиме «реального времени» у всех 42 обследованных пациентов, изменения в других генах обнаружены у 36 человек. Всего было выявлено 82 соматические мутации в 13 генах (табл. 1).

В генах *NRAS*, *BRAF*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *TGFBR2*, *MAP2K4*, *AKT1*, *CDC27*, *CASP8*, *ERBB2*, *P3H3*, *CADMI*, *MIER3*, *EP300*, *PTPN12*, *FLT4* соматические мутации не были обнаружены ни у одного обследованного пациента. Самое большое количество соматических мутаций было выявлено в генах *APC* – у 25 (59,5 %) и *TP53* – у 23 (54,7 %) пациентов.

Мутации в гене *APC* выявлены у 25 человек, при этом около 70 % всех изменений, обнаруженных в гене *APC*, являются нонсенс-мутациями, приводящими к образованию преждевременно-го стоп-кодона и в дальнейшем к образованию укороченного белка (табл. 2). Реже встретились

Таблица 1/Table 1

Спектр и частота мутаций, выявленных в обследованной группе больных
Spectrum and frequency of mutations detected in the examined group of patients

Ген/Gene	Число мутаций/ Number of mutations	Число пациентов с мутациями/ Number of patients with mutations
<i>APC</i>	29 (35,4 %)	25 (59,5 %)
<i>TP53</i>	23 (28,0 %)	23 (54,7 %)
<i>FBXW7</i>	8 (9,8 %)	7 (16,7 %)
<i>SMAD4</i>	3 (3,7 %)	3 (7,1 %)
<i>SMAD2</i>	3 (3,7 %)	3 (7,1 %)
<i>ATM</i>	3 (3,7 %)	2 (4,8 %)
<i>PIK3CA</i>	3 (3,7 %)	3 (7,1 %)
<i>DMD</i>	3 (3,7 %)	3 (7,1 %)
<i>CTNNB1</i>	2 (2,4 %)	2 (4,8 %)
<i>TCF7L2</i>	2 (2,4 %)	2 (4,8 %)
<i>DCC</i>	1 (1,2 %)	1 (2,4 %)
<i>MAP7</i>	1 (1,2 %)	1 (2,4 %)
<i>PIK3R1</i>	1 (1,2 %)	1 (2,2 %)

изменения, представленные инделами со сдвигом рамки считывания: в 5 образцах ДНК опухолевой ткани обнаружены делеции со сдвигом рамки считывания, в 2 образцах – инсерции со сдвигом рамки считывания. В одном образце ДНК выявлена миссенс-мутация. Все выявленные мутации, за исключением 4 вариантов, представлены в базах данных по мутациям как «вероятно патогенные» или «патогенные». Четыре мутации – p.Q1204*, p.Q1291*, p.K1310RfsTer11 и p.E1353* – были выявлены впервые, и в базах данных по мутациям не описаны. Следует отметить, что у 4 больных обнаружены по 2 мутации в гене *APC*.

Мутации в гене *TP53* выявлены у 23 человек и в основном представлены миссенс-мутациями, приводящими к замене аминокислоты в белке (табл. 3). В двух случаях обнаружены редкие для гена *TP53* мутации: инсерция со сдвигом рамки считывания – p.V147GfsTer25 и нонсенс-мутация – p.R342*, приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона в белковом продукте. Большая часть найденных мутаций, за исключением 3 вариантов – p.V147GfsTer25, p.R213* и p.R342*, – находится в так называемых «горячих точках» – наиболее часто мутирующих областях гена *TP53*. Мутация p.V147GfsTer25 выявлена впервые и не описана в базах данных. Все остальные мутации представлены в базах данных как «вероятно патогенные» или «патогенные».

В остальных генах обнаружено значительно меньше изменений. В гене *FBXW7* – у 7 пациентов, причем у одного из них были выявлены 2 мутации. По три мутации было выявлено в генах *SMAD4*, *SMAD2*, *ATM*, *DMD* и *PIK3CA*, по 2 мутации – в генах *CTNNB1*, *TCF7L2* и по одной мутации – в генах *DCC*, *MAP7* и *PIK3R1*. У одного обследованного пациента было обнаружено 2 мутации в гене *ATM* (табл. 4).

Мутации в других генах, участвующих в патогенезе КРР, выявлены у 36 человек. При этом в 9 случаях дополнительно было выявлено по одной мутации, в 17 случаях – по 2 мутации, в 7 – по 3 мутации, в 3 случаях – по 4 мутации. Сочетание трех мутаций в ключевых генах *KRAS*, *APC* и *TP53* выявлено у 15 (36 %) больных. Сочетание двух мутаций – в генах *KRAS* и *APC* – у 10 (24 %), а в генах *KRAS* и *TP53* – у 8 (19 %) больных.

Обсуждение

Колоректальный рак представляет собой гетерогенную группу опухолей, отличающихся по молекулярно-генетическим характеристикам. Поэтому при назначении лечения больным КРР очень важно учитывать не только клинические факторы и функциональный статус пациента, но и молекулярный профиль опухоли. Известно, что примерно в 50–80 % случаев при КРР в опухоли наблюдается гиперэкспрессия гена *EGFR*, которая приводит к активному росту и делению клеток вследствие активации сигнального пути *EGFR-RAS-RAF-MEK-MAPK* [14]. При лечении КРР с диким типом гена *KRAS* применяют моноклональные антитела, способные блокировать рецептор *EGFR*. Однако мутации в гене *KRAS*, которые встречаются достаточно часто, делают такую блокировку рецептора *EGFR* бесполезной, а лечение неэффективным. Накопление данных о мутационном профиле опухоли и определение их связи с клинико-патологическими характеристиками помогают получить важную информацию о патогенезе заболевания, а также позволяют вести поиск новых возможностей для лечения КРР. Метод секвенирования нового поколения позволяет одновременно проанализировать большое количество генов и гораздо большие области, что обеспечивает высокую чувствительность данного

Таблица 2/Table 2

Характеристика мутаций, выявленных в гене APC
Characterization of mutations identified in the APC gene

Экзон/ Exon	Нуклеотидный вариант/ Nucleotide variant	Белковый вариант/ Protein variant	Тип мутации/ Type of mutation	База/Database COSMIC/cBioPortal	База/ DatabasedbSNP
6	p.R213*	c.637C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
7	p.R216*	c.646C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
11	p.S457*	c.1370C > A	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
14	p.R564*	c.1690C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
16	p.R1114*	c.3340C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
16	p.Q1204*	c.3610C > T	Нонсенс/ Nonsense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
16	p.Q1291*	c.3871C > T	Нонсенс/ Nonsense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
16	p.Q1294*	c.3880C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.Q1303*	c.3907C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.K1310RfsTer11	c.3926delA	Делеция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift deletion	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
16	p.G1312EfsTer9	c.3934delG	Делеция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift deletion	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.E1353*	c.4057G > T	Нонсенс/ Nonsense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
16	p.Q1367*	c.4099C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.Y1376*	c.4128T > G	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic
16	p.Q1378*	c.4132C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.S1400*	c.4199C > A	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic
16	p.Q1406*	c.4216C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.Q1444*	c.4330C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.R1450*	c.4348C > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.S1465WfsTer3	c.4393_4394delAG	Делеция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift deletion	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
16	p.L1488YfsTer19	c.4463delT	Делеция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift deletion	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.L1488FfsTer26	c.4463dupT	Инсерция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift insertion	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.E1536*	c.4606G > T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
16	p.T1556NfsTer3	c.4666dup	Инсерция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift insertion	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data

Таблица 3/Table 3

Характеристика мутаций, выявленных в гене *TP53*
Characteristics of mutations identified in the *TP53* gene

Эк- зон/ Exon	Нуклеотидный вариант/ Nucleotide variant	Белковый вариант/ Protein variant	Тип мутации/ Type of mutation	База/Database COSMIC/ cBioPortal	База/ Database dbSNP
5	p.V147GfsTer25	c.435_439dupGTGGG	Инсерция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift insertion	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
5	p.R175H	c.524G>A	Миссенс/Missense	Патогенная/Pathogenic	Патогенная/Pathogenic
6	p.H193N	c.577C>A	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
6	p.R213*	c.637C>T	Нонсенс/Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
7	p.Y234H	c.700T>C	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
7	p.C238W	c.714T>G	Миссенс/Missense	Патогенная/Pathogenic	Патогенная/Pathogenic
7	p.C238Y	c.713G>A	Миссенс/Missense	Патогенная/Pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
7	p.G245S	c.733G>A	Миссенс/Missense	Патогенная/Pathogenic	Патогенная/Pathogenic
7	p.R248W	c.742C>T	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
8	p.R273C	c.817C>T	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
8	p.R273L	c.818G>T	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
8	p.P278R	c.833C>G	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
8	p.R282W	c.844C>T	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
10	p.R342*	c.1024C>T	Нонсенс/Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data

Таблица 4/Table 4

Характеристика мутаций в других генах, выявленных в обследованной группе
Characterization of mutations in other genes identified in the examined group

Ген/ Gene	Экзон/ Exon	Нуклеотид- ный вариант/ Nucleotide variant	Белковый вариант/ Protein variant	Тип мутации/ Type of mutation	База/Base COSMIC/cBioPortal	База / Database dbSNP
FBXW7	4	p.A204T	c.610G>A	Миссенс/Missense	Данные отсутствуют/ No data	Неизвестное значение/ Unknown value
	8	p.T385ins	c.1149_1153dupGATCA	Инсерция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift insertion	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
	9	p.R465H	c.1394G>A	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
	10	p.R479P	c.1436G>C	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
	10	p.R479Q	c.1436G>A	Миссенс/Missense	Патогенная/ Pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
	10	p.S546*	c.1637C>A	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
	12	p.R689W	c.2065C>T	Миссенс/Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data

Окончание таблицы 4/End of Table 4

PIK3CA	2	p.R88*	c.262C>T	Нонсенс/ Nonsense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
	2	p.G106V	c.317G>T)	Миссенс/ Missense	Патогенная/ Pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
	20	p.H1047R	c.3140A>G	Миссенс/ Missense	Патогенная/ Pathogenic	Патогенная/ Pathogenic
SMAD4	9	p.P356R	c.1067C>G	Миссенс/ Missense	Неизвестное значение/ Unknown value	Данные отсутствуют/ No data
	12	p.D537G	c.1610A>G	Миссенс/ Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
	12	p.D537V	c.1610A>T	Миссенс/ Missense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
SMAD2	4	p.R120*	c.352C>T	Нонсенс/ Nonsense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
	8	p.C312G	c.934T>G	Миссенс/ Missense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
	11	p.*468K	c.1402T>A	Потеря стоп кодона/ Stop codon loss	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
DMD	7	p.G208S	c.622G>A	Миссенс/ Missense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
	23	p.E1026D	c.3078G>T	Миссенс/ Missense	Неизвестное значение/ Unknown value	Данные отсутствуют/ No data
	59	p.K2957N	c.8871G>T	Миссенс/ Missense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
ATM	16	p.R805*	c.2413C>T	Нонсенс/ Nonsense	Вероятно патогенная/ Probably pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
	18	p.S934N	c.2801G>A	Миссенс/ Missense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
	63	p.R3008H	c.9023G>A	Миссенс/ Missense	Патогенная/ Pathogenic	Данные отсутствуют/ No data
CTNIB1	4	p.A152T	c.454G>A	Миссенс/ Missense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
	15	p.W776*	c.2328G>A	Нонсенс/ Nonsense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
TCF7L2	6	p.G229R	c.685G>A	Миссенс/ Missense	Неизвестное значение/ Unknown value	Данные отсутствуют/ No data
	15	p.A562T	c.1684G>A	Миссенс/ Missense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
MAP7	4	p.P80L	c.239C>T	Миссенс/ Missense	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data
DCC	15	p.A769T	c.2305G>A	Миссенс/ Missense	Неизвестное значение/ Unknown value	Данные отсутствуют/ No data
PIK3R1	16	p.A682PfsTer12	c.2043_2044insTTTTT	Инсерция со сдвигом рамки считывания/ Frameshift insertion	Данные отсутствуют/ No data	Данные отсутствуют/ No data

метода по сравнению с секвенированием по Сэнгеру или методом ПЦР.

В настоящем исследовании мы изучали мутационный статус опухолей у 42 пациентов с КРР с использованием коммерчески доступной панели NGS GeneRead DNaseq Targeted Panel v2 Human Colorectal Cancer («Qiagen», США) из 32 генов, участвующих в молекулярном патогенезе заболевания и выполняющих важную роль в регуляции клеточного роста, трансформации, адгезии, апоп-

тозе и т.д. Полученные данные позволили идентифицировать мутации не только в горячих точках генов, обычно участвующих в патогенезе КРР, но и редкие и новые варианты, которые еще не описаны в базах данных по мутациям. Для многих выявленных вариантов генов уже имеется информация относительно их потенциальной роли в качестве прогностических и предиктивных маркеров. Значение других мутаций предстоит оценить в крупных клинических исследованиях.

Несколько ранее проведенных исследований были посвящены анализу мутационного статуса генов при КРР с применением метода NGS для выявления прогностически значимых маркеров и поиска новых мишеней для таргетной терапии [15–18]. В основном эти исследования проводились с использованием панели AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2 (Life Technologies, США). В этих работах показана возможность успешного применения одного мультиплексного теста для анализа мутаций множества генов, ассоциированных с КРР. Авторы сходятся во мнении, что такой подход, с включением в обследование высокопроизводительного секвенирования, облегчает выявление лиц с высоким риском, помогает идентифицировать новые мутации, которые могут быть использованы в качестве мишеней для разработки лекарств, а также принимать решение при назначении терапии.

Известно, что для КРР характерна стадийность морфологической трансформации, обусловленная постепенным накоплением мутаций в онкогенах и супрессорных генах, ассоциированных с развитием заболевания [19]. Ключевыми генетическими изменениями при КРР являются мутации в генах *KRAS*, *APC* и *TP53*. Ген *KRAS* – протоонкоген, участвующий в активации сигнального пути *EGFR* (*RAS/RAF/MAPK*), тесно связан с пролиферацией опухолевых клеток. Активирующие мутации в гене *KRAS* приводят к конститутивной активации сигнальной трансдукции, что способствует клеточной пролиферации и злокачественной трансформации. Ген *APC* – ген-супрессор опухоли, основными функциями которого является участие в регуляции транскрипции, апоптозе, клеточной адгезии, а также контроле клеточного цикла. Он является негативным регулятором сигнального каскада Wnt. В норме *APC* ингибирует клеточную пролиферацию путем связывания β -катенина с последующим его разрушением. Однако при возникновении мутации он теряет способность связывать и разрушать β -катенин, в результате чего последний проникает в ядро и активирует транскрипцию ряда онкогенов, в том числе *c-myc*, *циклин D1*, которые являются промоторами клеточной пролиферации. Мутации в гене *APC* при спорадическом КРР встречаются довольно часто и могут составлять до 75 % случаев, мутации, как правило, возникают уже на ранней стадии развития опухоли [20, 21]. Ген *TP53*, изменения в котором наряду с геном *APC* чаще всего встретились в обследованной группе, является наиболее известным опухолевым супрессором, отвечающим за стабильное состояние генома. Он часто мутирует в различных типах опухолей. По данным литературы, мутации в гене *TP53* при спорадическом КРР наблюдаются в 40–50 % [22]. По данным литературы, сочетание мутаций в трех

ключевых генах (*KRAS*, *APC*, *TP53*) свидетельствует о более агрессивном характере заболевания [13, 16, 23].

В нашем исследовании из пациентов с комбинацией мутаций в трех ключевых генах (*KRAS*, *APC*, *TP53*) большинство – 10 (67 %) – имели III и IV стадии заболевания. В этой группе прогрессирование заболевания отмечено у 10 (67 %) пациентов (у 8 – с КРР III или IV стадий, у 2 – с КРР II стадии), из них 8 больных (53 %) умерли в период наблюдения (27 мес). В то же время в группах с мутациями в двух генах *KRAS/APC* или *KRAS/TP53* прогрессирование заболевания отмечено в 4 (40 %) и 4 (50 %) случаях соответственно. В течение всего периода наблюдения умерло 2 (25 %) больных из группы с мутациями в генах *KRAS/TP53* и 3 (30 %) пациентов с мутациями в генах *KRAS/APC*. В группе пациентов, у которых не выявлены мутации в генах *APC* и *TP53*, а имелась лишь мутация в гене *KRAS*, 7 (77 %) человек имели КРР I или II стадии, 2 – КРР III или IV стадии. У 2 пациентов с КРР III и IV стадии отмечено прогрессирование заболевания, и они умерли в течение периода наблюдения.

Предварительные результаты исследования продемонстрировали, что сочетание 3 мутаций в ключевых генах, отвечающих за патогенез КРР (*KRAS*, *APC*, *TP53*), является наиболее неблагоприятным фактором прогноза и свидетельствует о более высокой агрессивности опухолевого процесса. Дальнейшие исследования позволяют уточнить полученные данные и, возможно, выявить новые особенности молекулярно-генетического профиля, характерные для КРР. Таким образом, поиск и идентификация генных мутаций у пациентов с КРР имеют важное значение не только для выбора тактики лечения, но и для прогноза заболевания. Дальнейшие исследования в этом направлении позволяют уточнить выявленные закономерности и, возможно, получить ответ на вопросы, связанные с патогенезом КРР.

Заключение

Эффективное лечение большинства злокачественных новообразований, включая КРР, предполагает исследование молекулярного профиля опухоли. Одним из наиболее чувствительных и надежных способов идентификации мутаций в опухолевой ткани является метод секвенирования нового поколения (NGS), позволяющий анализировать десятки и сотни генов в одном исследовании. Полученная информация о мутационном статусе опухоли с учетом клинических характеристик позволяет персонифицировать тактику лечения, включая применение комбинации таргетных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Arnold M., Sierra M.S., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*. 2017; 66(4): 683–91. doi: 10.1136/gutjnl-2015-310912.
2. Stewart B.W., Bray F., Forman D., Ohgaki H., Straif K., Ullrich A., Wild C.P. Cancer prevention as part of precision medicine: 'plenty to be done'. *Carcinogenesis*. 2016; 37(1): 2–9. doi: 10.1093/carcin/bgv166.
3. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2017. 236 с. [The state of cancer care for the population of Russia in 2016 / Eds. A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrov. Moscow, 2017. 236 p. (in Russian)].
4. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М., 2017. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality). Moscow, 2017. 250 p. (in Russian)].
5. Armaghany T., Wilson J.D., Chu Q., Mills G. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res*. 2012; 5(1): 19–27.
6. Кум О.И., Водолажский Д.И. Молекулярная биология колоректального рака в клинической практике. Молекулярная биология. 2015; 49(4): 531–40. [Kit O.I., Vodolazhskii D.I. The molecular biology of colorectal cancer in clinical practice. *Molecular Biology*. 2015; 49(4): 531–40. (in Russian)].
7. Price T.J., Tang M., Gibbs P., Haller D.G., Peeters M., Arnold D., Segelov E., Roy A., Tebbutt N., Pavlakis N., Karapetis C., Burge M., Shapiro J. Targeted therapy for metastatic colorectal cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2018; 18(10): 991–1006. doi: 10.1080/14737140.2018.1502664.
8. Cai Z.X., Tang X.D., Gao H.L., Tang C., Nandakumar V., Jones L., Ye H., Lou F., Zhang D., Sun H., Dong H., Zhang G., Liu Z., Dong Z., Guo B., Yan H., Yan C., Wang L., Su Z., Wang F.Y., Wan J.J., Fang F.O., Chen H.L., Shang D., Huang X.F., Chen S.Y., Guo H.S. APC, FBXW7, KRAS, PIK3CA, and TP53 Gene Mutations in Human Colorectal Cancer Tumors Frequently Detected by Next-Generation DNA Sequencing. *J Mol Genet Med*. 2014; 8: 4. doi: 10.4172/1747-0862.1000145.
9. Afrăsănie V.A., Marinca M.V., Alexa-Stratulat T., Gafton B., Păduraru M., Adavidoaiei A.M., Miron L., Rusu C. KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and microsatellite instability in metastatic colorectal cancer – practical implications for the clinician. *Radiol Oncol*. 2019; 53(3): 265–74. doi: 10.2478/raon-2019-0033.
10. Lupini L., Bassi C., Mlcochova J., Musa G., Russo M., Vychytilova-Faltejskova P., Svoboda M., Sabbioni S., Nemecek R., Slaby O., Negrini M. Prediction of response to anti-EGFR antibody-based therapies by multigene sequencing in colorectal cancer patients. *BMC Cancer*. 2015; 15: 808. doi: 10.1186/s12885-015-1752-5.
11. Гервас П.А., Литвяков Н.В., Попова Н.О., Добродеев А.Ю., Тарасова А.С., Юмов Е.Л., Иванова Ф.Г., Черемисина О.В., Афанасьев С.Г., Гольдберг В.Е., Чердынцева Н.В. Проблемы и перспективы совершенствования молекулярно-генетической диагностики для назначения таргетных препаратов в онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2014; 2: 46–55. [Gervas P.A., Litviakov N.V., Popova N.O., Dobrodeev A.Yu., Tarasova A.S., Yumov E.L., Ivanova F.G., Cheremisina O.V., Afanasyev S.G., Goldberg V.E., Cherdyntseva N.V. Problem and perspective to improve molecular testing to choose appropriate target therapy. *Siberian Journal of Oncology*. 2014; 2: 46–55. (in Russian)].
12. Therkildsen C., Bergmann T.K., Henrichsen-Schnack T., Ladelund S., Nilbert M. The predictive value of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol*. 2014; 53(7): 852–64. doi: 10.3109/0284186X.2014.895036.
13. Lin P.S., Semrad T.J. Molecular Testing for the Treatment of Advanced Colorectal Cancer: An Overview. *Methods Mol Biol*. 2018; 1765: 281–97. doi: 10.1007/978-1-4939-7765-9_18.
14. Ben Brahim E., Ayari I., Jouini R., Atafi S., Koubaa W., Elloumi H., Chadli A. Expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal cancer: An immunohistochemical study. *Arab J Gastroenterol*. 2018; 19(3): 121–4. doi: 10.1016/j.ajg.2018.08.002.
15. Gleeson F.C., Kipp B.R., Voss J.S., Campion M.B., Minot D.M., Tu Z.J., Klee E.W., Sciallis A.P., Graham R.P., Lazaridis K.N., Henry M.R., Levy M.J. Endoscopic ultrasound fine-needle aspiration cytology mutation profiling using targeted next-generation sequencing: personalized care for rectal cancer. *Am J Clin Pathol*. 2015; 143(6): 879–88. doi: 10.1309/AJCPU3J7FGAYQBRL.
16. Chang P.Y., Chen J.S., Chang N.C., Chang S.C., Wang M.C., Tsai S.H., Wen Y.H., Tsai W.S., Chan E.C., Lu J.J. NRAS germline variant G138R and multiple rare somatic mutations on APC in colorectal cancer patients in Taiwan by next generation sequencing. *Oncotarget*. 2016; 7(25): 37566–80. doi: 10.18632/oncotarget.8885.
17. Cornejo K.M., Cosar E.F., Paner G.P., Yang P., Tomaszewicz K., Meng X., Mehta V., Sirintrapun S.J., Barkan G.A., Hutchinson L. Mutational Profile Using Next-Generation Sequencing May Aid in the Diagnosis and Treatment of Urachal Adenocarcinoma. *Int J Surg Pathol*. 2020; 28(1): 51–9. doi: 10.1177/1066896919872535.
18. Dallol A., Buhmeida A., Al-Ahwal M.S., Al-Maghrabi J., Bajouh O., Al-Khayyat S., Alam R., Abusanad A., Turki R., Elaimi A., Alhadrami H.A., Abuzenadah M., Banni H., Al-Qahtani M.H., Abuzenadah A.M. Clinical significance of frequent somatic mutations detected by high-throughput targeted sequencing in archived colorectal cancer samples. *J Transl Med*. 2016; 14(1): 118. doi: 10.1186/s12967-016-0878-9.
19. Имянитов Е.Н. Клинико-молекулярные аспекты колоректального рака: этиопатогенез, профилактика, индивидуализация лечения. Практическая онкология. 2005; 6 (2): 65–70. [Imyanitov E.N. Clinical and molecular aspects of colorectal cancer: etiopathogenesis, prevention, individualization of treatment. *Practical Oncology*. 2005; 6 (2): 65–70. (in Russian)].
20. Schell M.J., Yang M., Teer J.K., Lo F.Y., Madan A., Coppola D., Monteiro A.N., Nebozhyn M.V., Yue B., Loboda A., Bien-Wilner G.A., Greenawalt D.M., Yeatman T.J. A multigene mutation classification of 468 colorectal cancers reveals a prognostic role for APC. *Nat Commun*. 2016; 7: 11743. doi: 10.1038/ncomms11743.
21. Wang C., Ouyang C., Cho M., Ji J., Sandhu J., Goel A., Kahn M., Fakih M. Wild-type APC Is Associated with Poor Survival in Metastatic Microsatellite Stable Colorectal Cancer. *Oncologist*. 2021; 26(3): 208–14. doi: 10.1002/onco.13607.
22. Li X.L., Zhou J., Chen Z.R., Chng W.J. P53 mutations in colorectal cancer – molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World J Gastroenterol*. 2015; 21(1): 84–93. doi: 10.3748/wjg.v21.i1.84.
23. Conlin A., Smith G., Carey F.A., Wolf C.R., Steele R.J. The prognostic significance of K-ras, p53, and APC mutations in colorectal carcinoma. *Gut*. 2005; 54(9): 1283–6. doi: 10.1136/gut.2005.066514.

Поступила/Received 21.05.2021

Принята в печать/Accepted 26.01.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тельшева Екатерина Николаевна, кандидат биологических наук, патологоанатомическое отделение, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8700-1335. Research ID: X-9043-2018. Author ID (Scopus): 57193142191. ORCID: 0000-0002-0370-8667.

Шайхаев Евгений Гаджирамазанович, кандидат биологических наук, патологоанатомическое отделение, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5504-8523. Research ID: AAB-4981-2020. Author ID (Scopus): 55053528200. ORCID: 0000-0002-7882-2579.

Снигирева Галина Петровна, доктор биологических наук, патологоанатомическое отделение, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: G.Snigireva@nsi.ru. SPIN-код: 4247-0600. Research ID: Y-4302-2018. Author ID (Scopus): 6602153865. ORCID: 0000-0002-2584-802X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Тельшева Екатерина Николаевна: разработка концепции научной работы, подбор больных, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи.

Шайхаев Евгений Гаджирамозанович: биоинформационный анализ полученных данных, редактирование окончательного варианта статьи.

Снигирева Галина Петровна: разработка концепции научной работы, редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina N. Telysheva, PhD, Pathoanatomical Department, N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 8700-1335. Research ID: X-9043-2018. Author ID (Scopus): 57193142191. ORCID: 0000-0002-0370-8667.

Eugene G. Shaikhaev, PhD, Pathoanatomical Department, N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 5504-8523. Research ID: AAB-4981-2020. Author ID (Scopus): 55053528200. ORCID: 0000-0002-7882-2579.

Galina P. Snigireva, DSc, Pathoanatomical Department, N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). E-mail: G.Snigireva@nsi.ru. SPIN-code: 4247-0600. Research ID: Y-4302-2018. Author ID (Scopus): 6602153865. ORCID: 0000-0002-2584-802X.

AUTHOR CONTRIBUTION

Ekaterina N. Telysheva: study conception, data analysis and interpretation, drafting of the manuscript.

Eugene G. Shaikhaev: bioinformatic analysis of the obtained data, editing of the final version of the manuscript.

Galina P. Snigireva: study conception, editing of the manuscript, critical revision for important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Назарова И.В., Забегина Л.М., Никифорова Н.С., Слюсаренко М.А., Сидина Е.И., Жахов А.В., Ищенко А.М., Маргулис Б.А., Гузова И.В., Малек А.В. Тепловой стресс стимулирует секрецию клетками колоректальной карциномы специфической популяции нановезикул с повышенным содержанием БТШ70 и измененным составом микроРНК. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 57–71. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-57-71

For citation: Nazarova I.V., Zabegina L.M., Nikiforova N.S., Slusarenko M.A., Sidina E.I., Zhakhov A.V., Ishchenko A.M., Margulis B.A., Guzhova I.V., Malek A.V. Heat stress stimulates colon cancer cells to secrete specific population of extracellular nanovesicles enriched by HSP70 and microRNAs. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 57–71. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-57-71

ТЕПЛОВЫЙ СТРЕСС СТИМУЛИРУЕТ СЕКРЕЦИЮ КЛЕТКАМИ КОЛОРЕКТАЛЬНОЙ КАРЦИНОМЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ НАНОВЕЗИКУЛ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ БТШ70 И ИЗМЕНЕННЫМ СОСТАВОМ МИКРОРНК

И.В. Назарова¹, Л.М. Забегина¹, Н.С. Никифорова¹, М.А. Слюсаренко¹,
Е.И. Сидина¹, А.В. Жахов³, А.М. Ищенко³, Б.А. Маргулис⁴, И.В. Гузова⁴,
А.В. Малек^{1,2}

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, г. Санкт-Петербург, Россия¹
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68.

E-mail: anastasia@malek.com¹

ООО «Онко-система», г. Москва, Россия²

Россия, 121205, г. Москва, тер. Сколково инновационного центра, ул. Нобеля, 7²

ФГУП «Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России,

Санкт-Петербург, Россия³

Россия, 197110, г. Санкт-Петербург, Пудожская ул., 7³

ФГБУ Институт цитологии» РАН⁴

Россия, 194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4⁴

Аннотация

Введение. Температурный стресс стимулирует секрецию клетками белков теплового шока (БТШ) и внеклеточных нановезикул (ВНВ). Биологическая связь между этими явлениями изучена слабо. В случае клеток колоректального рака (КРР) секреция БТШ и ВНВ может участвовать в формировании клинического ответа на внутрибрюшные методы терапии перитонеального карциноматоза. **Цель исследования** – оценка эффекта теплового шока (ТШ) на способность клеток КРР секретировать ВНВ *in vitro*, выделение, количественный и качественный анализ популяции ВНВ, мембрана которых содержит БТШ70 (мБТШ70(+)) ВНВ, анализ эффекта ТШ на активность секреции мБТШ70(+) ВНВ, оценка состава микроРНК в популяции ТШ-индуцированных ВНВ. **Материал и методы.** В работе использованы стабильные линии клеток КРР: COLO320, HCT116, HT29, DLD1. Внеклеточные везикулы выделены методом дифференцированного ультрацентрифугирования, для их анализа использованы методы лазерной корреляционной спектроскопии, анализ траекторий наночастиц, атомная силовая микроскопия и проточная цитометрия. Для выделения и количественной оценки БТШ70(+) ВНВ были использованы суперпарамагнитные частицы (СПМЧ), «декорированные» антителами к мембранной форме БТШ70. Анализ микроРНК в составе ВНВ был проведен методом обратной транскрипции и последующей ПЦР. **Результаты.** Тепловой шок индуцировал секрецию клетками КРР мБТШ70(+)ВНВ, наблюдалась корреляция между резистентностью клеток к ТШ и активностью ТШ-индуцированной секреции ВНВ. Состав микроРНК БТШ70(+)ВНВ имел качественные и количественные особенности. Концентрация miR-126-3p, – 181-5p, –155-5p, –223 была повышена в БТШ70(+)ВНВ, секретируемых тремя линиями клеток КРР. **Заключение.** Тепловой шок стимулирует секрецию мБТШ70(+)ВНВ клетками КРР. Этот феномен может участвовать в формировании клинического ответа на интраперитонеальную химиогипертермическую перфузию, проводимую в рамках терапии перитонеального карциноматоза.

Ключевые слова: внеклеточные нановезикулы, колоректальный рак, тепловой шок, БТШ70.

HEAT STRESS STIMULATES COLON CANCER CELLS TO SECRET SPECIFIC POPULATION OF EXTRACELLULAR NANOVESICLES ENRICHED BY HSP70 AND MICRORNAS

I.V. Nazarova¹, L.M. Zabegina¹, N.S. Nikiforova¹, M.A. Slusarenko¹, E.I. Sidina¹, A.V. Zhakhov³, A.M. Ishchenko³, B.A. Margulis⁴, I.V. Guzhova⁴, A.V. Malek^{1,2}

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia¹

68, Leningradskaya St., 197758, Pesochny, Saint Petersburg, Russia¹

Oncosystem Ltd., Moscow, Russia²

7, Nobel St., 7121205, Skolkovo Innovation Center, Moscow, Russia²

Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia³

7, Pudozhskaya St., 197110, Saint Petersburg, Russia³

Institute of Cytology, RAS, Saint Petersburg, Russia⁴

4, Tikhoretsky Ave., 194064, Saint Petersburg, Russia⁴

Abstract

Background. Heat stress (HS) induces the cellular secretion of heat shock proteins (HSP) and extracellular nanovesicles (ENVs). The biological link between these phenomena is poorly understood. In the case of colorectal cancer (CRC) cells, the secretion of HSPs and ENV may be involved in the clinical response to intraperitoneal therapy of peritoneal carcinomatosis. **Material and Methods.** Established colon cancer cell lines COLO320, HCT116, HT29 and DLD1 were used. ENVs were isolated from culture media by differential ultra-centrifugation and analyzed by dynamic light scattering, nanoparticle tracking analysis, atomic force microscopy and flow cytometry. Super-paramagnetic particles (SPMP) covered by antibodies to the membrane form of Hsp70 were used for isolation and quantification of Hsp70(+) ENVs. Vesicular microRNA was assayed by RT-qPCR. **Results.** HS induces the secretion of ENVs by CRC cells, the resistance to HS correlates with the activity of HS-induced ENVs secretion. HS induces the secretion of a specific population of ENVs enriched by membrane form Hsp70 (mHsp70). The microRNA content of mHsp70(+) ENVs has qualitative and quantitative features. The concentration of miR-126-3p, -181-5p, -155-5p, -223 is increased in mHSP70(+) ENVs secreted by three CRC cell lines. **Conclusion.** HS induces the secretion of mHSP70(+) ENVs by CRC cells. This phenomenon may be involved in a clinical response to intraperitoneal chemo-hyperthermic perfusion therapy of peritoneal carcinomatosis.

Key words: extracellular nanovesicles, colorectal cancer, heat stress, microRNA.

Введение

Феномен секреции клетками различных по размеру, составу и функциям внеклеточных везикул активно исследуется в течение последних лет. Класс наноразмерных везикул (нановезикул), секретируемых путем формирования мультивезикулярных телец в цитоплазме и опорожнения их содержимого в межклеточное пространство, исследован наиболее полно [1]. Для везикул, секретируемых таким путем, характерен специфический набор признаков (размер, плотность, наличие белковых маркеров), который позволяет отличать их от везикулярных образований другой природы [2]. Внеклеточные нановезикулы (ВНВ), продуцируемые опухолевыми клетками, участвуют в процессах локального роста опухоли и прогрессирования онкологических заболеваний, поэтому они активно исследуются с целью разработки новых диагностических и терапевтических подходов [3].

Результаты ряда исследований указывают на существенную гетерогенность состава ВНВ, секретируемых клетками одного типа: ВНВ отличаются по размеру, плотности, составу протеинов и РНК

[4, 5]. Показано, что эти структурные различия определяют и функциональные особенности везикул. Например, различные по составу ВНВ, секретируемые клетками меланомы B16F10, оказывают различное влияние на эндотелиальные клетки в условиях *in vitro* [6]. Эти данные указывают на важность выделения и дифференцированного исследования отдельных популяций ВНВ. Особый интерес привлекает феномен стимуляции секреции ВНВ различными стрессорными факторами. На клеточном уровне стимулирующий эффект может оказывать потеря контакта эпителиальных клеток с мембраной [7], температурный стресс [8] или гипоксия [9]. Причем ВНВ, секретируемые клетками после воздействия стрессорных факторов, могут иметь особые функциональные характеристики и, возможно, являются особой популяцией «стрессорных» везикул.

Внеклеточные везикулы являются одной из форм секреции белков теплового шока (БТШ), характерной как для нормальных [10], так и для трансформированных клеток [11, 12]. БТШ представляют собой большое семейство сходных по функции

белков, способных контролировать целостность внутриклеточных протеинов и поддерживать конформационный гомеостаз белков в нормальных условиях и при различных стрессорных воздействиях [13]. «Антистрессовая» внутриклеточная функция БТШ в контексте трансформированных клеток реализуется рядом «проопухолевых» качеств: эти белки способны ингибировать апоптоз [14], снижать чувствительность к цитостатической [15] и лучевой [16] терапии. Таким образом, внутриклеточные формы большинства БТШ (Hsp27, Hsp70, Hsp90) традиционно рассматриваются в качестве потенциальных мишеней противоопухолевой терапии [17, 18].

Физиологическое значение секретируемых форм БТШ пока недостаточно понятно, даже в контексте нормальных клеток [19]. Результаты исследований роли БТШ, секретируемых опухолевыми клетками, формируют крайне «пеструю» картину. Например, в ранних исследованиях было показано, что белок Hsp72, секретируемый клетками колоректального рака (КРР), угнетает противоопухолевый иммунитет [20]. Механизм инактивации иммунного ответа, опосредованный взаимодействием Hsp70(+) ВНВ, секретируемых опухолевыми клетками, и TLR2-рецепторов (toll-like receptor 2) на мембране клеток миелоидного происхождения (MDSC), был позднее исследован в контексте различных онкологических заболеваний [21]. В цитируемой работе показано, что блокада этого взаимодействия является универсальной стратегией активации противоопухолевого иммунитета, т.е. потенциальным методом противоопухолевой терапии. Однако в серии последующих исследований было показано, что внеклеточные БТШ образуют комплексы с опухолеспецифическими пептидами, такие комплексы обладают иммуногенными свойствами и могут быть использованы в качестве противоопухолевых вакцин [22]. БТШ в составе мембраны ВНВ опухолевого происхождения могут стимулировать активацию НК-клеток [23], макрофагов [24] и дендритных клеток [25]. В контексте этих данных везикулярная форма БТШ представляется «нативным» активатором различных звеньев противоопухолевого иммунитета и может быть использована в качестве комплексной вакцины [26].

В целом, выделение и структурный анализ ВНВ и везикулярных форм БТШ, секретируемых опухолевыми клетками в ответ на стресс, являются интересной фундаментальной задачей. Ее решение может иметь практическую значимость в контексте исследования реакции клеток колоректального рака (КРР) на сочетанное воздействие химиотерапии и высокой температуры в процессе интраперитонеальной химиогипертермической перфузии (ИХГТП), применяемой для лечения перитонеального канцероматоза [27]. Предпосылками эффективности ИХГТП являются отно-

сительно низкая резистентность клеток опухоли к тепловому стрессу и эффект локального применения высокой концентрации химиопрепарата. Несмотря на долгую историю, этот метод пока не вошел в широкую практику. Можно предполагать, что ВНВ, секретируемые КРР под воздействием ИХГТП, содержат БТШ, имеют особый состав других компонентов и участвуют в формировании клинического ответа на ИХГТП.

Цель исследования – оценка эффекта теплового шока (ТШ) на способность клеток КРР секретировать ВНВ *in vitro*, выделение, количественный и качественный анализы популяции ВНВ, мембрана которых содержит БТШ70 (мБТШ70(+)) ВНВ, анализ эффекта ТШ на активность секреции мБТШ70(+) ВНВ, оценка состава микроРНК в популяции ТШ-индуцированных ВНВ.

Материал и методы

В исследовании были использованы стабильные культуры клеток колоректального рака (COLO320, HCT116, HT29, DLD1) человека, которые культивировались в среде RPMI-1640 с L-глутамином, смесью антибиотиков Пени-Стреп и 10 % эмбриональной сыворотки телят (ООО «БиоЛот», СПб), при 37 °C и 5 % CO₂.

Перед проведением эксперимента клетки (5×10⁶) высаживали в культуральные флаконы Т-75 и культивировали в стандартных условиях до состояния 75–80 % конфлюентности, которое соответствует количеству клеток 7–7,5×10⁶ / флакон. Время культивирования составляло от 24 до 48 ч, в зависимости от культуры. Для каждого эксперимента было параллельно приготовлено два флакона с равным количеством клеток. Клетки в одном из флаконов были подвержены тепловому шоку (ТШ) (heat shock, HS), путем инкубации на водяной бане при 42 °C 120 мин, затем культивировались в стандартных условиях еще в течение 6 ч. Клетки во втором флаконе культивировались параллельно в стандартных условиях. Для выделения ВНВ клеточную среду накапливали в течение нескольких (6–7) экспериментов до объема 60 мл в стеклянной посуде при +4 °C.

Нановезикулы из культуральной среды выделяли методом дифференциального центрифугирования (Beckman Coulter: Optima XPN 80, ротор 70.1 Ti / k-фактор 36). Накопленную среду центрифугировали последовательно: 300xg – 10 мин, 2000xg – 30 мин, 16000xg – 60 мин для осаждения крупных везикул и клеточного детрита, затем супернатант ультрацентрифугировали при 110 000 xg в течение 6 ч при +4 °C. Осадок ресуспендировали в 1x фосфатно-солевом буфере (ФСБ) и вновь ультрацентрифугировали. Полученный осадок, содержащий ВНВ из 60 мл среды, ресуспендировали в 100 мкл ФСБ. Оценка распределения везикул по размеру после выделения проводилась с помощью лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) на

аппарате Microtrac Nanotrac Wave II («Microtrac», Германия) в соответствии с рекомендациями производителя.

*Анализ траекторий наночастиц,
ATH (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA)*

Перед измерением осадки нановезикул, полученные после второго раунда ультрацентрифугирования, ресуспендировались в 100 мкл ФСБ. Затем по 20 мкл (20 %) такой суспензии разводили в ФСБ до 1000 мкл. Измерения проводились на анализаторе Nanosight NS300 («Malvern», США). Обработка спектров проводилась в Nanosight NTA 3.2 Software. Уровень камеры: 14, ползунок затвора: 1259, усиление ползунка: 366, пороговый уровень – 5. Каждый образец прокачивался через камеру наблюдения анализатора так, чтобы провести 5 измерений на разных микрообъемах одного и того же образца. Каждое измерение имело длительность 60 с, что соответствовало 1498 кадрам. По результатам пяти измерений проводился расчет среднего арифметического значения и квадратичного отклонения.

Для выделения мБТШ70(+)-ВНВ из тотальной популяции ВНВ использовали суперпарамагнитные частицы со стрептавидином (СПМЧ) (ООО «Силекс», РФ) и меченные биотином антитела к мембранной форме белка БТШ70 (мБТШ70). В работе использовали антитела, любезно предоставленные Dr. Gabriele Multhoff, – cmHsp70.1 [28], и моноклональные антитела 8D1, специфичные к неопределяемому БТШ70, экспонированного на мембране опухолевых клеток (Патент РФ, 2 722 398, Моноклональное антитело к БТШ70, Бюл. № 16, 29.05.2020). Антитела инкубировали с СПМЧ в соотношении, рекомендованном производителем частиц, в течение одного часа при +4 °С для образования иммунного комплекса СПМЧ-АТ. Комплексы трижды отмывали в ФСБ и инкубировали с 50 мкл взвеси выделенных ВНВ в течение ночи при +4 °С при постоянном помешивании. Предполагалось, что в результате инкубации образовывались комплексы СПМЧ-АТ и мБТШ70(+)-ВНВ. Удаление «СПМЧ-АТ-мБТШ70(+)-ВНВ» приводило к истощению фракции мБТШ70(+)-ВНВ и относительному возрастанию фракции мБТШ(-)-ВНВ в составе оставшейся популяции везикул. После удаления комплексов на основе СПМЧ (1 экстракции) супернатант использовали для повторного выделения (2 экстракции) или для анализа оставшейся популяции ВНВ. Количество везикул «до» и «после» экстракции оценивалось с помощью АТН, перед измерением аликвоту суспензии (20 мкл) разводили в ФСБ до 1000 мкл.

*Анализ популяции мБТШ70(+)-ВНВ
с помощью проточной цитометрии (ПЦ)*

Комплексы СПМЧ-АТ-мБТШ70(+)-ВНВ отмывали трижды ФСБ и концентрировали на магнитном

штативе, затем добавляли 200 мкл 0,2 % блокирующего буфера Tropix i-Block (ThermoFisher, США), и инкубировали в течение 1 ч при +4 °С. Для последующего анализа эффективности образования комплекса СПМЧ-АТ-мБТШ70(+)-ВНВ проводили мечение маркерных белков в мембране связанных везикул. Для этого комплексы инкубировали с антителами к тетраспанину CD63, меченные PERCP / Peridinin-Chlorophyll-Protein (ab77227 Abcam, США) или антителами к мБТШ70 (cmHsp70.1) в течение 2 ч при +4 °С. Связывание антител к БТШ70 с комплексом везикул оценивали путем инкубации образцов с вторичными антителами к IgG мыши, меченными PE / Phycoerythrin (F0102B, RnD Systems, США) в течение 30 мин при +4 °С в темноте. В качестве негативного контроля использовали образец комплекса СПМЧ-АТ без ВНВ. Эффективность окрашивания антителами образцов наблюдали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Полученные данные анализировались с помощью программного обеспечения CytExpert (Beckman Coulter, США) и Excel (Microsoft Office, США).

Проведена экспертная валидация экспериментальных параметров всех этапов работы с внеклеточными нановезикулами (ВНВ), включая выделение и анализ, с помощью платформы EV-track (<https://evtrack.org>), которая является инструментом прозрачной отчетности и интеграции данных исследований, поддерживаемой ISEV (The International Society For Extracellular Vesicles). Отчет доступен по EV-track №: EV200175.

Для выделения тотальной РНК из различных популяций везикул использовали набор ЛИРА (ООО «БиоЛабМикс», г. Новосибирск, РФ). Выделение РНК проводили в соответствии с протоколом производителя. Концентрация и чистота выделенной РНК оценивались на спектрофотометре Implen50 (Implen GmbH, Германия). Профайлинг микроРНК был проведен с использованием набора реагентов для анализа 179 молекул микроРНК, преимущественно представленных в плазме Plasma focused miRNA PCR Panel и соответствующих ферментных смесей miRCURY LNA Universal RT microRNA Polyadenylation and cDNA synthesis Kit, ExiLent SYBR Greenmaster mix (Qiagen, США). Анализ выбранных 13 молекул микроРНК проводился с помощью наборов для ОТ-ПЦР серии ALL-MIR (ООО «Альгимед-Техно», Беларусь). Набор этой же серии был использован для анализа miR-191-5p. Перед началом работы аналитические характеристики всех систем были протестированы с помощью разведений синтетических аналогов анализируемых молекул, все измерения биологических образцов проводились в диапазоне линейной зависимости значений пороговых циклов (Ct) от концентрации микроРНК. Анализ малой ядерной РНК U6 snRNA был проведен с помощью следующих олигонуклеотидов:

ОТ праймер: gtcgtgtctgaggctgactgagacatttcgcac
ctgacacgacggccatgc

Прямой ПЦР праймер: ggccgcatacagagaagatta

Обратный ПЦР праймер: ctgaggctgactgagacct

ПЦР зонд: (R6G)-attcgacc(T-BHQ1)
gacacgacggccatgc-p

Все реакции проводили на приборе CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Нормализацию результатов профайлинга производили относительного среднего для каждого эксперимента значения Ct (global Ct mean). Анализ отдельных молекул проводили в трех повторах ОТ-ПЦР, результаты усредняли и нормализовали относительно референсных микроРНК (U6 snRNA, miR-191-5p) по формуле $2^{-(Ct \text{ reference} - Ct \text{ target})}$.

Статистические расчеты и иллюстрации выполнены с помощью программ Graph Pad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., San Diego, California USA, www.graphpad.com), Sigma Plot 12 (Systat Software, Inc., San Jose, California USA, www.sigmaplot.co.uk). Воспроизводимость результатов повторных измерений оценивали путем вычисления значения стандартного отклонения. Оценку статистической значимости разницы исследуемого параметра

между двумя «группами» результатов (n=3) проводили с помощью метода Mann–Withney.

Результаты

Характеристика везикул, секретируемых клетками KPP in vitro.

Согласно требованиям ISEV [29], перед началом исследований мы провели анализ основных характеристик внеклеточных нановезикул (ВНВ), выделяемых с помощью ультрацентрифугирования (УЦ) из среды после культивации клеток KPP. На рис. 1 представлены результаты анализа ВНВ, секретируемых клетками линии HT29. Размер (гидродинамический диаметр) мажорной популяции везикул, выделенных из культуральных сред, колебался в диапазоне 126–149 нм. Распределение выделенных везикул по размеру было относительно гомогенно, а сканируемая поверхность фиксированных везикул имела характерную для экзосом структуру (рис. 1Б). В состав поверхностной мембраны ВНВ входили белки, так называемые экзосомальные маркеры – тетраспанины CD9 и CD63 (рис. 1В). Ультраструктура везикул, выделенных из культуральной среды аналогичным методом, ранее была исследована с помощью криоэлектронной

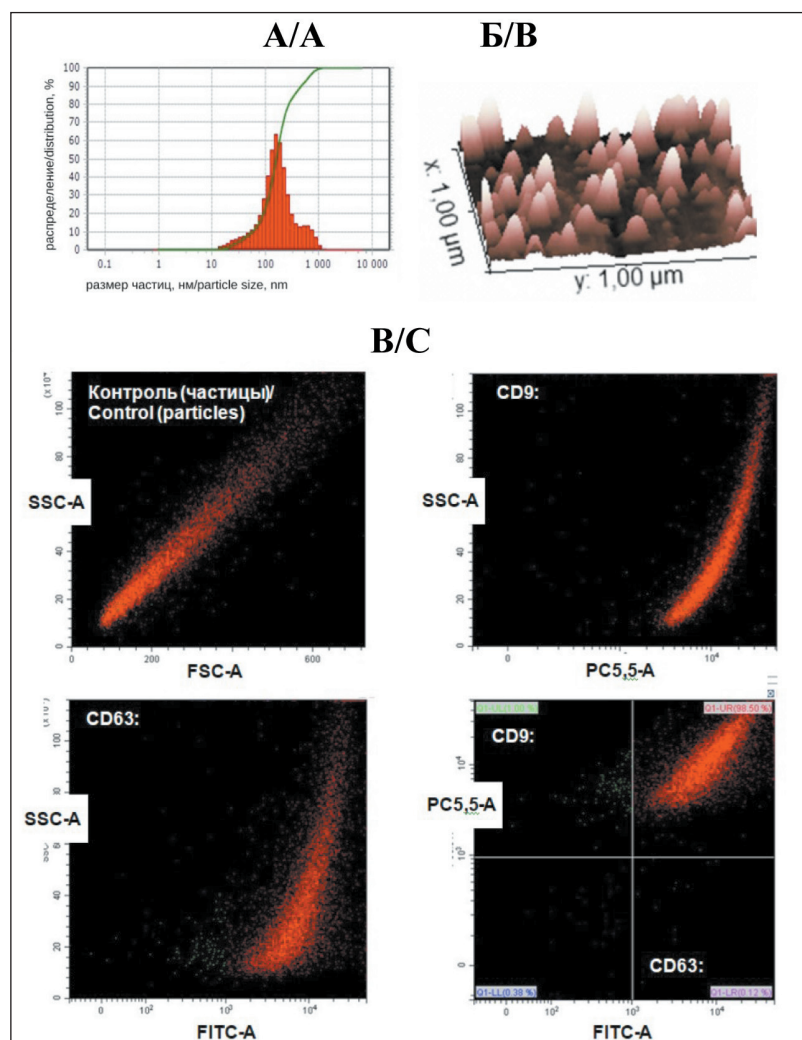


Рис. 1. Характеристика внеклеточных ВНВ: А – анализ распределения наночастиц по размеру (лазерная корреляционная спектроскопия, ЛКС); Б – анализ размера и морфологии наночастиц (атомная силовая микроскопия, АСМ); В – оценка экспрессии маркеров (тетраспанинов CD9, CD63) на поверхностной мембране везикул методом проточной цитометрии Fig.1. Characteristics of extracellular ENVs:

А – analysis of the size distribution of nanoparticles (laser correlation spectroscopy, LCS); Б – analysis of the size and morphology of nanoparticles (atomic force microscopy, AFM); В – evaluation of the expression of markers (tetraspanins CD9, CD63) on the surface membrane of vesicles by flow cytometry

Таблица 1/Table 1

Эффект ТШ на активность секреции ВНВ, оцененный с помощью АТН
Effect of HS on ENVs secretion activity assessed by NTA

Клеточные линии/ Cell lines	Содержание ВНВ в 1 мл среды/ENVs content in 1 ml of medium			
	Контроль (37 °C)/Control (37°C)		Тепловой шок (42 °C)/ Heat stress (42°C)	
	Всех/Of all	30–150 нм/30–150 nm	Всех/Of all	30–150 нм/30–150 nm
COLO 320	$(18 \pm 2) \times 10^7$	11×10^7	$(72 \pm 3) \times 10^7$	23×10^7
HCT116	$(98 \pm 25) \times 10^7$	$7,8 \times 10^7$	$(54 \pm 7) \times 10^7$	$8,5 \times 10^7$
HT29	$(27 \pm 6) \times 10^7$	$4,5 \times 10^7$	$(58 \pm 4) \times 10^7$	$9,4 \times 10^7$
DLD1*	$(41 \pm 5) \times 10^7$	14×10^7	$(78 \pm 11) \times 10^7$	17×10^7

Примечание: представлены усредненные значения, полученные после пяти измерений разных микрообъемов одного образца; * – результаты представлены на рис. 2Б

Note: the averaged values obtained from the results of five assays of different microvolumes of the same sample; * – the results are shown in Fig. 2B

микроскопии [30]. По совокупности данных можно предполагать, что в состав популяций исследуемых ВНВ входили так называемые экзосомы, более детальное исследование физических характеристик везикул в составе смеси не входило в задачи исследования.

Тепловой шок (ТШ) стимулирует секрецию ВНВ клетками КРР
Этот феномен был показан для ряда клеточных культур (данные суммированы в обзоре [31]), но исследований, сфокусированных на клетках КРР, опубликовано не было. Мы использовали четыре

линии, полученные из материала колоректальных карцином, которые были подвержены тепловому шоку (2 ч – 42 °C). После 6 ч инкубации в стандартных условиях среда была собрана для выделения и анализа количества ВНВ. Для получения достаточного для анализа количества везикул каждый эксперимент был проведен шесть раз. Образцы культуральной среды, полученные после отдельных экспериментов, были объединены в равных объемах. Полученная смесь объемом 60 мл была дополнена ФСБ до объема пробирки для ультрацентрифугирования (94 мл). После двух раундов ультрацентрифугирования осадки ресуспендировали

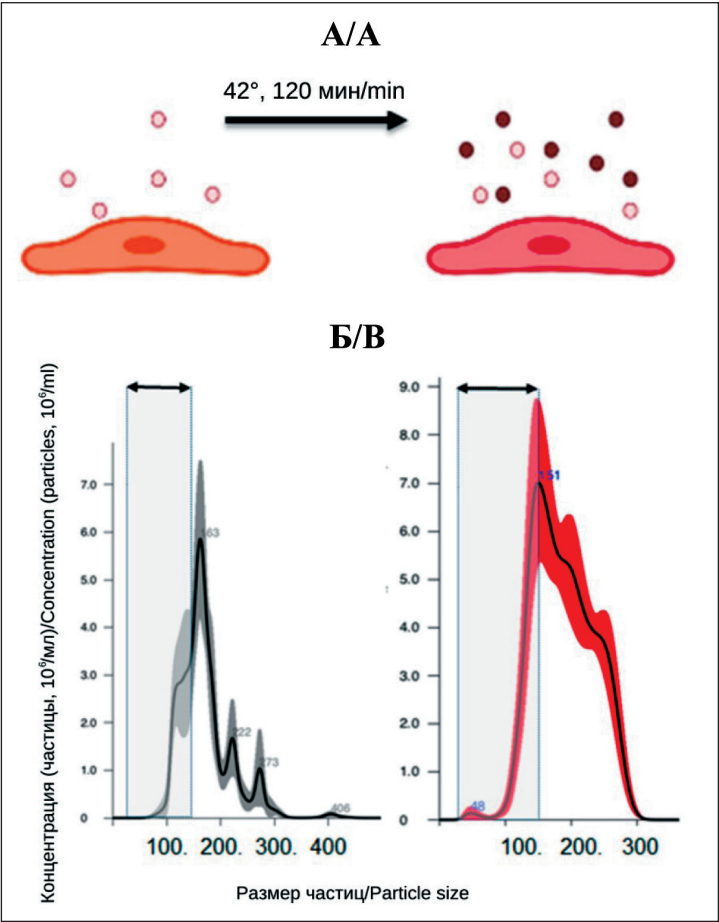


Рис. 2. Эффект ТШ на общее количество ВНВ (АТН): А – схема эксперимента; Б – анализ концентрации и размера ВНВ, выделенных из среды клеток DLD1 после культивации в стандартных условиях и после ТШ. Серым цветом выделен интервал размера ВНВ (30–150 нм). Была определена концентрация всех детектируемых ВНВ и везикул размером 30–150 нм Fig 2. Effect of HS on the total amount of ENVs (NTA): A – scheme of the experiment; B – analysis of the concentration and size of ENVs isolated from the medium of DLD1 cells after cultivation under standard conditions and after HS. The range of the size of the ENVs (30–150 nm) is highlighted in gray. The concentration of all detectable ENVs and vesicles with a size of 30–150 nm was determined

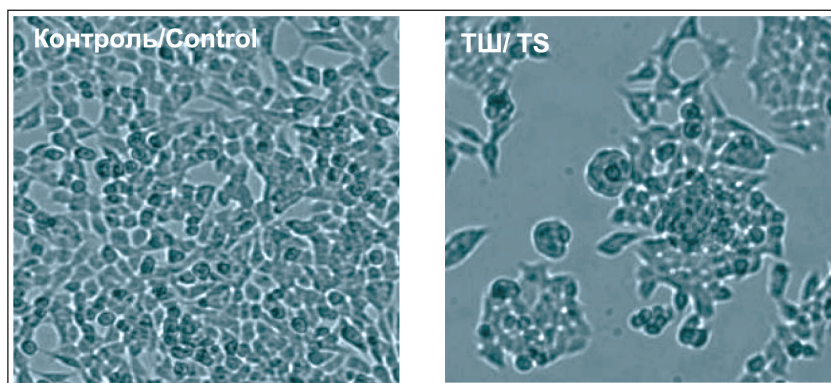


Рис. 3. Клетки линии HCT116 после культивации в стандартных условиях и после воздействия ТШ. Изображение получено через 6 ч после начала эксперимента с помощью цифровой камеры HC-HD-2 с программным обеспечением MC-View для инверсионного микроскопа МИБ-Р (АО «ЛОМО», СПб), $\times 40$

Fig. 3. HCT116 cells after cultivation under standard conditions and after exposure to HS. The image was obtained 6 hours after the start of the experiment using a digital camera HC-HD-2 with MC-View software for the inversion microscope MIBR (Company «LOMO», St. Petersburg), $\times 40$

лись и использовались для дальнейших измерений, которые в каждом случае отражали усредненные для шести идентичных экспериментов результаты. Подсчет числа всех везикул в составе суспензий был проведен с помощью АТН. Число ВНВ размера 30–150 нм в 1 мл было определено путем интегрирования усредненного значения пяти повторных измерений образца, с последующим вычислением значения среднего квадратичного отклонения. Результаты представлены в табл. 1, схема эксперимента и репрезентативный пример результатов анализа траекторий наночастиц – на рис. 2. Так, ТШ стимулировал секрецию ВНВ клетками трех линий: концентрация везикул в среде клеток COLO320 возросла в 4 раза, HT29 – в 2,2 раза, DLD-1 – в 1,9 раза по сравнению с контролем. В одном случае (HCT116) наблюдалось снижение числа нановезикул в среде после воздействия ТШ до 0,6 от значения концентрации ВНВ в контроле. Более того, ТШ вызывал заметные изменения морфологии клеток линии HCT116: округление, вакуолизация, потеря контакта с пластиком указывали на гибель части клеточной популяции (рис. 3). После 2–3 дней культивации в свежей среде жизнеспособность и пролиферативная активность клеточной линии восстанавливались. Характерные изменения морфологии и динамика их нормализации были воспроизведены в шести экспериментах, что указывало на особенности биологии клеток линии HCT116, которые оказались более чувствительны к воздействию ТШ, чем остальные.

ТШ индуцирует секрецию ВНВ, обогащенных мембранной формой БТШ70 (мБТШ70(+))ВНВ

Известно, что ТШ стимулирует секрецию группы белков-шаперонов (белков теплового шока). Полученные экспериментальные данные продемонстрировали феномен ТШ-стимулированной секреции ВНВ. Но связь между этими явлениями изучена слабо. В частности, неизвестно, являются ли ВНВ просто одной из форм секреции БТШ и ТШ приводит к повышению содержания этих белков в составе везикул, или ТШ индуцирует формирование особой фракции ВНВ, обогащенных белками

этого семейства. Для ответа на этот вопрос мы разработали технологию специфического выделения ВНВ, мембрана которых содержит БТШ70. Был выбран этот представитель семейства, так как его экспрессия в составе ВНВ была доказана рядом исследований (суммировано в обзоре [32]). Кроме того, для этого белка показаны существование мембранной формы и ее особые функциональные качества [33]. ВНВ, мембрана которых содержит белок БТШ70 (мБТШ70), были выделены из общей популяции везикул с помощью суперпарамагнитных частиц (СПМЧ), к поверхности которых были фиксированы антитела к мБТШ70 (СПМЧ-АТ). Количественная оценка ВНВ, фиксированных к поверхности СПМЧ, была проведена путем «мечения» тетраспанина CD63 в составе их мембраны и анализа методом проточной цитометрии. Для оценки факта выделения специфической мБТШ70(+) популяции везикул (мБТШ70(+)ВНВ) процедура экстракции этих везикул из супернатанта была проведена повторно. Сравнительный анализ эффективности двух последовательных экстракций мБТШ70(+)ВНВ позволил оценить факт «истощения» их фракции в составе тотальной популяции везикул. Изменение количества везикул в составе тотальной суспензии «до» и «после» двух последовательных экстракций оценивалось с помощью АТН и не превышало значений погрешности метода. Таким образом, выделенная фракция мБТШ70(+) везикул являлась минорной, так как ее выделение не приводило к значимому снижению исходной концентрации везикул. Схема эксперимента представлена на рис. 4А. Эксперимент был проведен с использованием ВНВ, выделенных из среды 4 клеточных линий в двух ситуациях: в нормальных условиях культивации и после ТШ. Во всех случаях первая процедура выделения приводила к детекции большего количества «меченых» частиц по сравнению с повторным выделением. Эти результаты указывали на наличие специфической популяции мБТШ70(+)ВНВ и ее «истощение» в результате связывания с СПМЧ-АТ. На рис. 4Б представлен пример результатов проточной цитометрии: заметен пик «меченых» частиц после первого выделения и практически

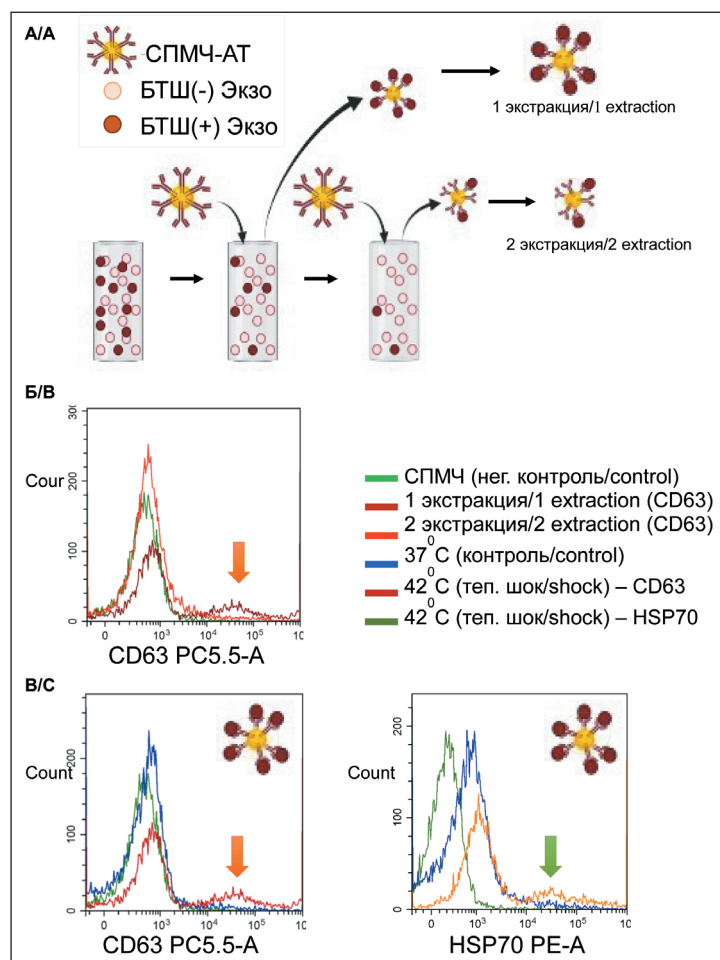


Рис. 4. Технология выделения и количественного анализа мБТШ70(+) ВНВ:

А – схема процедуры двухэтапного выделения и последующего мечения мБТШ70(+) ВНВ; Б – пример результатов анализа эффективности связывания (выделения) мБТШ70(+) ВНВ путем двух последовательных экстракций из среды после культивации клеток COLO320. Везикулы, фиксированные к СПМЧ, мечены с помощью антител к CD63; В – пример результатов анализа эффективности выделения мБТШ70(+) ВНВ из среды до и после температурного воздействия на клетки COLO320. Везикулы, фиксированные к СПМЧ, мечены с помощью антител к CD63 (слева) и БТШ70 (справа)

Fig. 4. The technology of isolation and quantitative analysis of mHSP70 (+) ENVs:

А – diagram of the procedure for two-stage isolation and subsequent labeling of mHSP70 (+) ENVs; Б – an example of the results of the analysis of the efficiency of binding (isolation) of mHSP70 (+) ENVs by two successive extractions from the medium after cultivation of COLO320 cells. Vesicles fixed to SPMP are labeled with anti-CD63 antibodies; В – an example of the results of the analysis of the efficiency of mHSP70 (+) ENVs isolation from the medium before and after exposure to heat stress on COLO320 cells. Vesicles fixed to SPMP were labeled with antibodies to CD63 (left) and HSP70 (right)

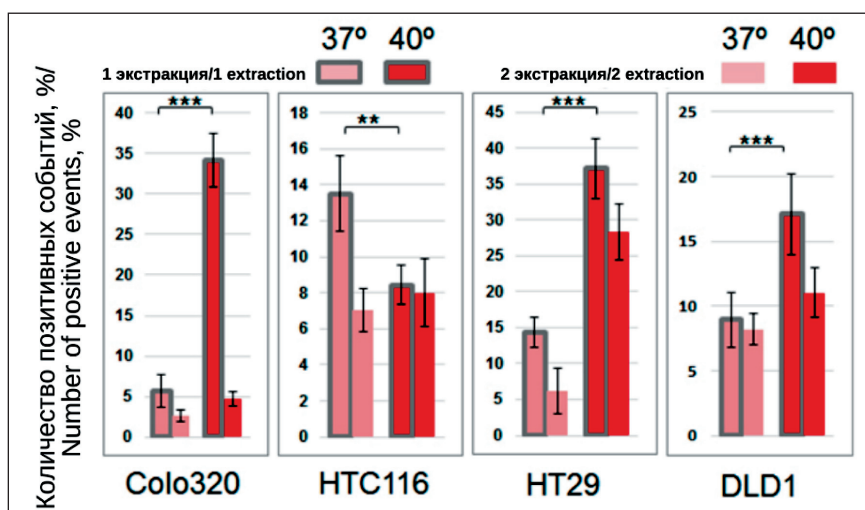


Рис. 5. Эффект ТШ на количество мБТШ70(+) ВНВ. Результаты анализа эффективности выделения мБТШ70(+) ВНВ из среды различных клеточных линий, перенесших ТШ, и контрольных, проведенного методом проточной цитометрии. Представлены результаты двух экстракций. Детекция мБТШ70(+) ВНВ, сорбированных на СПМЧ, была проведена с помощью антител к CD63. По оси ординат показаны значения (%) положительных событий, детектированных по PERCP каналу флуоресценции. Представлены усредненные результаты двух экстракций и значения стандартных отклонений. Статистическая значимость отличий эффективности первой экстракции мБТШ70(+)ВНВ из среды контрольных клеток (37 °С) и клеток, перенесших ТШ (42 °С), определена с помощью U теста Mann–Whitney (** – $p < 0.005$; *** – $p < 0.0005$)

Fig. 5. Effect of HS on the number of mHSP70 (+) ENVs

Results of the analysis of the efficiency of isolation of mHSP70 (+) ENVs from the cell medium of various cell lines that underwent HS and control, carried out by flow cytometry. The results of the two extractions are presented. The detection of mHSP70 (+) ENVs adsorbed on SPMP was carried out using antibodies with CD63. The ordinate shows the values (%) of positive events detected by the PERCP fluorescence channel. The average of the two extractions and the standard deviations are shown. Statistical significance between efficacy of first extraction of mHSP70(+)ENVs from media of control (37 °C) and treated cells (42 °C) is evaluated using Mann–Whitney U test and indicated as asterisk (** – $p < 0.005$; *** – $p < 0.0005$)

Таблица 2/Table 2

Анализ эффективности экстракции БТШ70(+) ВНВ из тотальной популяции методом проточной цитометрии

Analysis of the efficiency of HSP70 (+) ENVs extraction from the total population by flow cytometry

Экстракция/ Extraction	Colo320*		HCT116		HT29		DLD1	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Детекция мБТШ70(+) ВНВ с помощью антител к CD63(PERCP)**/Detection of mHSP70 (+) ENVs using antibodies to CD63 (PERCP)**								
Контроль, 37 °C/ Control, 37 °C	5,71	2,67*	13,50	7,05	14,27	6,22	8,96	8,22
ТШ, 42 °C/ HS, 42 °C	34,21*	4,74*	8,45	8,00	37,11	28,33	17,08	11,02
Детекция мБТШ70(+)ВНВ с помощью антител к HSP70(PE)/Detection of mHSP70 (+) ENVs using antibodies to HSP70(PE)								
Контроль, 37 °C/ Control, 37 °C	9,78	8,00*	16,03	7,00	17,88	5,52	11,12	8,34
ТШ, 42 °C/ HS, 42 °C	34,47*	17,41*	10,33	8,17	43,66	29,22	22,93	6,22

Примечание: БТШ70(+) ВНВ выделялись путем иммуносорбции с помощью антител, фиксированных к поверхности СПМЧ, детекция сорбированных везикул проводилась с помощью антител флуоресцентно-меченных антител CD63(PERCP) и HSP70(PE); представлены усредненные значения, полученные по результатам трех экспериментов; результаты представлены как % «положительных событий» при анализе в соответствующем канале; * – результаты представлены на рис. 4 Б и В; ** – результаты представлены на рис. 4.

Note: HS – heat stress; HSP70 (+) ENVs were isolated by immunoadsorption using antibodies fixed to the surface of the SPMP, detection of sorbed nanovesicles was carried out using antibodies of fluorescently labeled antibodies CD63 (PERCP) and HSP70 (PE); the averaged values obtained from the results of three repetitions of the experiment are presented; results are presented as % of “positive events” when analyzed in the corresponding channel; * – the results are shown in Fig. 4 B and C; ** – results are presented in Fig. 4.

отсутствует сигнал от частиц после повторного выделения мБТШ70(+)ВНВ из суспензии везикул культуральной среды клеток COLO320, перенесших ТШ (34,21 % vs 4,74 %). Результаты анализа эффективности экстракции мБТШ70(+)ВНВ из культуральных сред всех четырех линий (ТШ и контроль) и последующего мечения связанных везикул с помощью CD63(PERCP) представлены на рис. 5. Эти же данные и результаты мечения тех же комплексов антителом HSP70(PE) представлены в табл. 2.

Анализ данных позволяет оценить эффект ТШ. Сравнение эффективности первых экстракций мБТШ70(+)ВНВ из среды контрольных клеток (37 °C) и клеток, перенесших ТШ (42 °C), демонстрирует статистически значимую разницу: в трех случаях (COLO320, HT29, DLD1) ТШ стимулировал секрецию ВНВ, в случае HCT116 секреция везикул угнеталась в результате ТШ (рис. 5). Особенности реакции клеток HCT116 на ТШ были сопоставимы при разных схемах анализа: СПМЧ-мБТШ70(+) ВНВ-CD63(PERCP) и СПМЧ-мБТШ70(+) ВНВ-HSP70(PE). Вероятно, биология этих клеток предполагает низкую резистентность к температурному стрессу и отсутствие способности к секреции ВНВ в ответ на ТШ.

Состав микроРНК в популяции мБТШ70(+) ВНВ обогащен количественно и качественно

МикроРНК в составе ВНВ во многом определяет эффекты последних. Особое внимание привлекает микроРНК в составе везикул, секретируемых опухолевыми клетками [34]. Известно, что «упаковка» молекул микроРНК в ВНВ является

активным и регулируемым процессом. Более того, клетки могут секретировать биохимически отличимые популяции везикул с разным составом микроРНК [35]. На основе этих данных возникло предположение об измененном составе микроРНК в мБТШ70(+)ВНВ, секретируемых клетками КРР после воздействия ТШ. Клетки трех линий были подвержены ТШ, из тотальных популяций везикул были выделены фракции мБТШ70(+)ВНВ. На первом этапе проведен анализ экспрессии 179 молекул микроРНК в популяциях выделенных везикул (мБТШ70(+)ВНВ) и везикул, оставшихся после двукратных процедур экстракции, т.е. предположительно популяции мБТШ70(-) ВНВ. Исследование проведено с помощью набора для ОТ-ПЦР анализа молекул с относительно высокой концентрацией в плазме. Сравнение числа детектированных молекул выявило относительное обогащение состава микроРНК в мБТШ70(+)ВНВ. Данные по 3 клеточным линиям представлены в табл. 3; рис. 6 дает наглядное представление результатов микроРНК профайлинга клеток линии COLO320. В целом, ТШ-индуцированные изменения состава везикулярных микроРНК трех клеточных линий имели мало общего как в составе детектированных молекул, так и в соотношении концентрации молекул, детектированных в мБТШ70(+)ВНВ и мБТШ70(+)ВНВ фракциях. Относительная концентрация лишь 13 из 179 молекул была выше в популяции мБТШ70(+)ВНВ относительно популяции мБТШ70(-)ВНВ в трех клеточных линиях.

С целью верификации полученных экспрессионных данных анализ этих 13 молекул проведен с помощью технологии «двухфланговой» ОТ и после-

Таблица 3/ Table 3

Результаты ОТ-ПЦР анализа отдельных молекул микроРНК в популяциях БТШ(+) и БТШ(-) ВНВ
Results of RT-PCR analysis of individual microRNA molecules in HSP(+) and HSP(-) ENVs populations

Клеточные линии/Cell lines	Colo320		HT29		DLD1	
Статус БТШ (+/-)/HSP status	-	+	-	+	-	+
Общее кол-во /Total number	115	157	98	142	91	122
miR-126*	0,18	1,11	0,10	2,14	0,19	1,05
miR-181-5p*	11,1	48,17	0,13	39,13	0,53	67,1
miR-155*	2,15	4,40	0,38	3,27	0,42	11,51
miR-223*	13,05	414,75	23,42	389,88	22,99	99,64
miR-324-5p	18,32	26,21	11,32	18,26	1,65	2,18
miR-486-5p	21,11	28,54	2,43	3,23	18,44	23,18

Примечание: представлены усредненные результаты трех независимых экспериментов выделения БТШ(+) и БТШ(-) фракций ВНВ; в каждом случае ОТ-ПЦР анализ проводился в трех повторях, результаты нормализованы относительно miR-191-5p; * – результаты представлены на рис. 7.

Note: the averaged results of three independent experiments of the isolation of HSP(+) and HSP(-) ENVs fractions are presented. In each case, RT-PCR analysis was performed in triplicate: the results were normalized relative to miR-191-5p; * – the results are shown in Fig. 7.

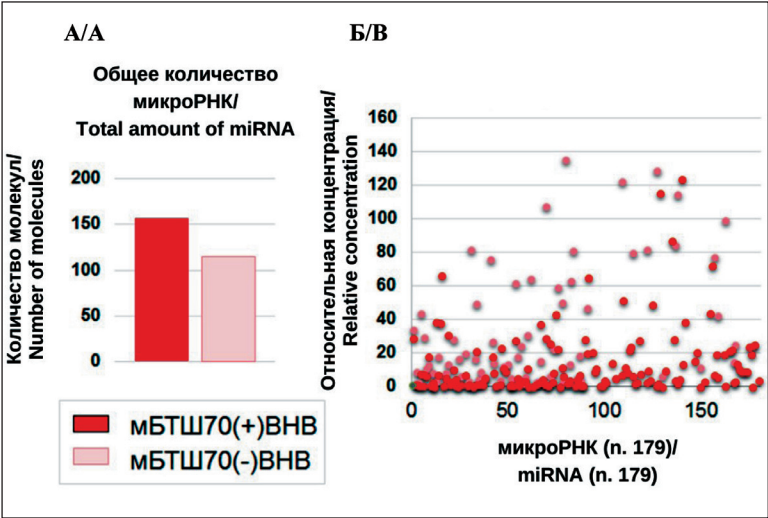


Рис. 6. Сравнение общего количества и профиля экспрессии молекул микроРНК в составе мБТШ70(+) ВНВ и мБТШ70(-) ВНВ, секретируемых клетками COLO320: А – общее количество детектированных молекул из 179, включенных в анализ; Б – сравнительный состав и уровень экспрессии (профиль) микроРНК в мБТШ70(+) ВНВ и мБТШ70(-) ВНВ, секретируемых клетками COLO320. Данные нормализованы относительно среднего значения Ct (global Ct) для всех детектированных молекул

Fig.6. Comparison of the total number and miRNA expression profile of molecules in the composition of mHSP70 (+) ENVs and mHSP70(-) ENVs secreted by COLO320 cells. A – the total number of detected molecules out of 179 included in the analysis; B – comparative composition and expression level (profile) of miRNA in mHSP70 (+) ENVs and mHSP70 (-) ENVs secreted by COLO320 cells. The data are normalized to the average Ct value (global Ct) for all detected molecules

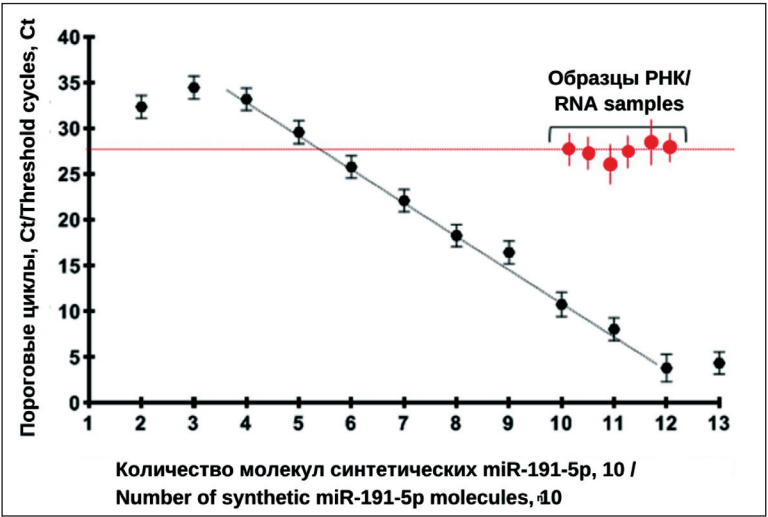


Рис. 7. Анализ эффективности детекции miR-191. Черным цветом показаны результаты анализа серийных разведений синтетического аналога молекулы miR-191-5p, входящие в состав набора серии ALL-MIR. Красным цветом показаны результаты анализа шести образцов РНК, выделенных из ВНВ, секретируемых клетками КРР (три культуры: мБТШ70(+) ВНВ и мБТШ70(-) ВНВ). Представлены усредненные результаты трех измерений (значения Ct без нормализации) и значения стандартных отклонений

Fig. 7. Analysis of the detection efficiency of miR-191. Black color shows the results of the analysis of serial dilutions of the synthetic analog of the miR-191-5p molecule included in the ALL-MIR kit. The red color shows the results of the analysis of six RNA samples isolated from ENVs, secreted by CRC cells (three cultures: mHSP70(+) ENVs and mHSP70(-) ENVs). The averaged results of three measurements (Ct values without normalization) and standard deviation values are shown

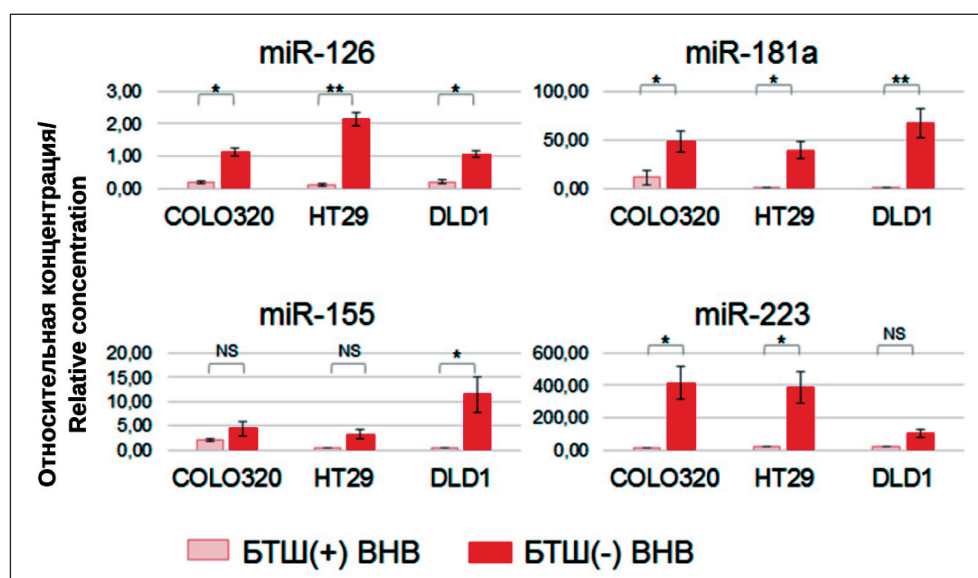


Рис. 8. Анализ концентрации миР-126, -181а, -155 и -223 в мБТШ70(+) и мБТШ70(-) ВНВ, секретируемых клетками разных линий КРР. Представлены усредненные данные трех экспериментов выделения мБТШ70(+) ВНВ и мБТШ70(-) ВНВ и значения стандартных отклонений. В каждом случае реакции ОТ-ПЦР проведены в трех повторах, данные усреднены и нормализованы относительно значения Ct (miR-191-5p). Сравнение статистической значимости разницы между «группами» результатов измерений (n=3) проведено методом Mann–Withney (* – p<0,05; ** – p<0,005; *** – p<0,0005)

Fig. 8. Analysis of the concentration of miR-126, -181a, -155 and -223 in mHSP70 (+) and mHSP70 (-) ENVs secreted by cells of different CRC lines. The averaged data of three experiments on the isolation of mHSP70(+) ENVs and mHSP70(-) ENVs and the values of standard deviations are presented. In each case, RT-PCR reactions were performed in triplicate, the data averaged and normalized relative to the Ct value (miR-191-5p). Comparison of the statistical significance of the difference between the «groups» of measurement results (n= 3) was carried out by the Mann– Withney method (* – p<0.05; ** – p<0.005; *** – p<0.0005)

дующей ПЦР с двумя микроРНК-специфичными праймерами, реализованной в наборах ALL-MIR (ООО «Альгимед Техно», Беларусь). Параллельно был проведен анализ экспрессии миР-191-5p и малой ядерной РНК U6 snRNA в качестве референсных молекул. В шести анализируемых образцах наблюдалась относительно стабильная экспрессия обеих молекул: Ct (U6)=24,3 ± 0,3; Ct (miR-191-5p)=27,1 ± 0,4, что позволило использовать их в качестве нормализаторов. На рис. 7 совмещены результаты анализа серийных разведений синтетической молекулы miR-191-5p, демонстрирующие аналитические характеристики системы ОТ-ПЦР анализа в диапазоне концентраций аналита 10³–10¹² молекул/реакцию, и результаты анализа этой молекулы в биологических образцах.

Анализ концентрации выбранных по данным профайлинга везикулярных микроРНК был проведен после трех независимых экспериментов по индукции ТШ и получения фракций мБТШ70(+) ВНВ и мБТШ70(-)ВНВ. Каждый раз ОТ-ПЦР анализ был проведен в трех технических повторах, разница не превышала 0,5 цикла. Полученные результаты усреднены, нормализованы относительно U6 и miR-191-5p. Для семи из 13 молекул результаты, полученные после трех экспериментов и нормализации относительно двух разных молекул (U6 и miR-191-5p), имели дискордантный характер. В шести случаях (miR-126-3p, miR-181-5p, miR-155-5p, miR-223, miR-324-5p, miR-486-5p (табл. 3)

разница содержания микроРНК в анализируемых везикулярных популяциях была воспроизводима и не зависела от метода нормализации. В ряде случаев наблюдаемая разница концентрации микроРНК в мБТШ70(+)ВНВ и мБТШ70(-) ВНВ была статистически значима (рис. 8).

Обсуждение

Результаты исследования выявили предсказуемый, но интересный факт разной чувствительности клеток КРР к воздействию высокой температуры. С практической точки зрения было бы важно идентифицировать молекулярные маркеры высокой чувствительности (или низкой резистентности) и использовать их для прогнозирования эффективности ИХГТП. Анализ заявленных производителем клеточных линий (ATCC, American Type Culture Collection) характеристик позволил сделать предположения относительно причин низкой устойчивости к температуре клеток линии HCT116. В этих клетках описана активирующая мутация в 13 кодоне протоонкогена RAS, что предполагает патологическую активность сигнального каскада MAPK. Если этот каскад задействован в реакции клеток на ТШ, то его постоянная активность может снижать потенциал ТШ-индуцированной активации и, соответственно, толерантность клеток к воздействию ТШ. Конечно, подтверждение или опровержение этой гипотезы требует дополнительных исследований.

В ряде ранее опубликованных работ показано, что ТШ стимулирует секрецию БТШ(+)ВНВ, например, лимфобластами [36] или моноклеарами периферической крови [10]. Результаты нашего исследования дополняют эти наблюдения интересным феноменом обратной корреляции между чувствительностью культивируемых клеток к воздействию ТШ и их способностью активировать секрецию мБТШ70(+)ВНВ в ответ на это воздействие. Если расценивать секрецию мБТШ70(+)ВНВ как элемент «защитной реакции» клеток на стресс, то такая корреляция представляется логичной: клетки, способные «реагировать» на ТШ, оказываются более резистентными к его действию, чем клетки, не способные к такой реакции. Эта интерпретация находит подтверждение в результатах ряда современных исследований, показавших корреляцию уровня мБТШ70(+)ВНВ и маркеров цитотоксичности (Granzym B, Perforin) в плазме и перитонеальной жидкости пациентов с онкогинекологическими заболеваниями. Результаты анализа биологических жидкостей не позволяют утверждать, что источником таких «индикаторов» стресса, как мБТШ70(+)ВНВ и молекулярные индукторы апоптоза, являются именно клетки опухоли. Однако наблюдавшаяся другими авторами связь между клиническим статусом пациентов и уровнем мБТШ70(+)ВНВ в циркуляции указывает на опухолевые клетки как на наиболее вероятный источник «стрессорных» везикул [37].

Отдельного обсуждения заслуживает показанный в нашем исследовании факт существования специфической популяции мБТШ70(+)ВНВ, экспрессия которой стимулируется ТШ. Возможность продукции ВНВ разного состава [4, 5] является известным фактом, наши данные дополняют существующие представления о механизмах регуляции этого процесса. Возможность ТШ-индуцируемой активации продукции именно (или преимущественно) мБТШ70(+)ВНВ указывает на существование различных, возможно независимых, регуляторных механизмов. Кроме того, выявлена разница (количественная и качественная) в составе микроРНК мБТШ70(+)ВНВ и остальных везикул, что подтверждает специфический биогенез ТШ-индуцируемой популяции. Повышение содержания ряда молекул микроРНК (miR-126-3p, miR-181-5p, miR-155-5p, miR-223-5p) в мБТШ70(+)ВНВ, наблюдавшееся во всех трех клеточных линиях,

может указывать на специфические функциональные качества этих везикул, которые требуют дальнейшего изучения.

В целом, представленные данные указывают на связь между реакцией клеток КРР на температурный стресс и секрецией специфической популяции мБТШ70(+)ВНВ. Исследования механизмов этой связи необходимы для оценки возможностей ее терапевтической модификации, в частности изменения чувствительности клеток КРР к ТШ путем изменения активности секреции мБТШ70(+)ВНВ. Результаты таких исследований могли бы быть полезны для повышения эффективности ИХГТП при канцероматозе брюшины у больных КРР. Кроме того, специфический состав микроРНК мБТШ70(+)ВНВ, секретируемых клетками КРР после ТШ, может играть особую роль в реакции клеток мезотелия здоровой брюшины на ИХГТП и участвовать в развитии острых или отсроченных осложнений перфузии.

Заключение

1. Стабильные линии клеток колоректальной карциномы характеризуются разной чувствительностью к температурному стрессу. Воздействие ТШ на относительно резистентные клетки (COLO320, HT29, DLD1) стимулирует, а воздействие ТШ на относительно чувствительные клетки (HCT116) угнетает секрецию ими ВНВ.

2. В составе ВНВ, секретируемых клетками КРР (COLO320, HT29, DLD1), после воздействия ТШ возрастает содержание везикул, обогащенных мембранной формой БТШ70, мБТШ70(+)ВНВ. Фракция таких мБТШ70(+)ВНВ может быть выделена (обогащена) с помощью технологии иммуносорбции.

3. Состав микроРНК мБТШ70(+)ВНВ качественно и количественно отличается от состава микроРНК мажорной популяции мБТШ70(-)ВНВ. В частности, в мБТШ70(+)ВНВ детектируется большее количество различных молекул микроРНК, а концентрация отдельных молекул, детектируемых в обеих популяциях, может существенно отличаться.

4. Феномен высокой концентрации ряда молекул (miR-126-3p, miR-181-5p, miR-155-5p, miR-223-5p) в ТШ-индуцированной популяции мБТШ70(+)ВНВ относительно мБТШ70(-)ВНВ характерен для клеток КРР трех линий (COLO320, HT29, DLD1).

на основе анализа экзосом, секретируемых опухолевыми клетками. Российский биотерапевтический журнал. 2015; 4(12): 9–18 [Malek A.V., Samsonov R.B., Chiesi A. Development of cancer diagnostics and monitoring methods based on analysis of tumor-derived exosomes. Russian Journal of Biotherapy. 2015; 14(4): 9–18. (in Russian)].

4. Bobrie A., Colombo M., Krumeich S., Raposo G., Théry C. Diverse subpopulations of vesicles secreted by different intracellular mechanisms are present in exosome preparations obtained by differential ultracentrifugation. J Extracel Vesicles. 2012; 1(1): 18397.

5. Tauro B.J., Greening D.W., Mathias R.A., Mathivanan S., Ji H., Simpson R.J. Two distinct populations of exosomes are released from LIM1863 colon carcinoma cell-derived organoids. Mol Cell Proteomics. 2013; 12(3): 587–98.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Тамкович С.Н., Тутанов О.С., Лактионов П.П. Экзосомы: механизмы возникновения, состав, транспорт, биологическая активность, использование в диагностике. Биологические мембраны. 2016; 33(3): 163–175. [Tamkovich S.N., Tutanov O.S., Laktionov P.P. Exosomes: Generation, Structure, Transport, Biological Activity and Diagnostic Application. Biology Membranes. 2016; 33(3): 163–175. (in Russian)]. doi: 10.7868/s0233475516020122
2. Colombo M., Raposo G., Théry C. Biogenesis, Secretion, and Intercellular Interactions of Exosomes and Other Extracellular Vesicles. Ann Rev Cell Develop Biol. 2014; 30(1): 255–89.
3. Малек А.В., Самсонов Р.Б., Къези А. Перспективы разработки методов диагностики и мониторинга онкологических заболеваний

6. Willms E., Johansson H.J., Mäger I., Lee Y., Blomberg K.E., Sadik M., Alaarg A., Smith C.I., Lehtio J., El Andaloussi S., Wood M.J., Vader P. Cells release subpopulations of exosomes with distinct molecular and biological properties. *Sci Rep.* 2016; 6: 22519. doi: 10.1038/srep22519.
7. Koumangoye R.B., Sakwe A.M., Goodwin J.S., Patel T., Ochieng J. Detachment of breast tumor cells induces rapid secretion of exosomes which subsequently mediate cellular adhesion and spreading. *PLoS One.* 2011; 6(9).
8. Eguchi T., Sogawa C., Ono K., Matsumoto M., Tran M.T., Okusha Y., Lang B.J., Okamoto K., Calderwood S.K. Cell Stress Induced Stressosome Release Including Damaged Membrane Vesicles and Extracellular HSP90 by Prostate Cancer Cells. *Cells.* 2020; 9(3): 755. doi: 10.3390/cells9030755.
9. Shao C., Yang F., Miao S., Liu W., Wang C., Shu Y., Shen H. Role of hypoxia-induced exosomes in tumor biology. *Mol Cancer.* 2018; 17(1): 120. doi: 10.1186/s12943-018-0869-y.
10. Lancaster G.I., Febbraio M.A. Exosome-dependent trafficking of HSP70: a novel secretory pathway for cellular stress proteins. *J Biol Chem.* 2005; 280(24): 23349–55. doi: 10.1074/jbc.M502017200.
11. Santos T.G., Martins V.R., Hajj G.N.M. Unconventional secretion of heat shock proteins in cancer. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(5): 946.
12. Tang X., Chang C., Guo J., Lincoln V., Liang C., Chen M., Woodley D.T., Li W. Tumour-Secreted Hsp90α on External Surface of Exosomes Mediates Tumour – Stromal Cell Communication via Autocrine and Paracrine Mechanisms. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 15108. doi: 10.1038/s41598-019-51704-w.
13. Маргулис Б.А., Гужова И.В. Двойная роль шаперонов в ответе клетки и всего организма на стресс. *Цитология.* 2009; 51(3): 219–28 [Margulis B.A., Guzhova I.V. The dual role of chaperones in the response of the cell and the body to stress. *Cytology.* 2009; 51(3): 219–28 (in Russian)].
14. Garrido C., Brunet M., Didelot C., Zermati Y., Schmitt E., Kroemer G. Heat shock proteins 27 and 70: Anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties. *Cell Cycle.* 2006; 5(22): 2592–2601.
15. Rérole A.L., Gobbo J., De Thonel A., Schmitt E., Pais de Barros J.P., Hammann A., Lanneau D., Fourmaux E., Demidov O.N., Micheau O., Lagrost L., Colas P., Kroemer G., Garrido C. Peptides and aptamers targeting HSP70: a novel approach for anticancer chemotherapy. *Cancer Res.* 2011; 71(2): 484–95. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1443.
16. Kudryavtsev V.A., Khokhlova A.V., Mosina V.A., Silvanova E.I., Kabakov A.E. Induction of Hsp70 in tumor cells treated with inhibitors of the Hsp90 activity: A predictive marker and promising target for radiosensitization. *PLoS One.* 2017; 12(3).
17. Gong J., Weng D., Eguchi T., Murshid A., Sherman M.Y., Song B., Calderwood S.K. Targeting the hsp70 gene delays mammary tumor initiation and inhibits tumor cell metastasis. *Oncogene.* 2015; 34(43): 5460–71. doi: 10.1038/onc.2015.1.
18. Calderwood S.K., Gong J. Heat Shock Proteins Promote Cancer: It's a Protection Racket. *Trends Biochem Sci.* 2016; 41(4): 311–23.
19. De Maio A. Extracellular Hsp70: Export and Function. *Curr Protein Pept Sci.* 2014; 15(3): 225–31.
20. Chalmir F., Ladoire S., Mignot G., Vincent J., Bruchard M., Remy-Martin J.P., Boireau W., Rouleau A., Simon B., Lanneau D., De Thonel A., Multhoff G., Hamman A., Martin F., Chaffert B., Solary E., Zitvogel L., Garrido C., Ryffel B., Borg C., Apetoh L., Rébé C., Ghiringhelli F. Membrane-associated Hsp72 from tumor-derived exosomes mediates STAT3-dependent immunosuppressive function of mouse and human myeloid-derived suppressor cells. *J Clin Invest.* 2010; 120(2): 457–71. doi: 10.1172/JCI140483.
21. Gobbo J., Marcion G., Cordonnier M., Dias A.M.M., Pernet N., Hammann A., Richaud S., Mjahed H., Isambert N., Clausse V., Rébé C., Bertalet A., Goussot V., Lirussi F., Ghiringhelli F., de Thonel A., Fumoleau P., Seigneux R., Garrido C. Restoring Anticancer Immune Response by Targeting Tumor-Derived Exosomes With a HSP70 Peptide Aptamer. *J Natl Cancer Inst.* 2015; 108(3). doi: 10.1093/jnci/djv330.
22. Никитин К.Д., Барышников А.Ю. Противоопухолевые вакцины на основе белков теплового шока. 2007; 6(2): 3–12. [Nikitin K.D., Baryshnikov A.Yu. Heat shock protein-based anticancer vaccines. *Russian Journal of Biotherapy.* 2007; 6(2): 3–12. (in Russian)].
23. Gastpar R., Gehrmann M., Bausero M.A., Asea A., Gross C., Schroeder J.A., Multhoff G. Heat shock protein 70 surface-positive tumor exosomes stimulate migratory and cytolytic activity of natural killer cells. *Cancer Res.* 2005; 65(12): 5238–47. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3804.
24. Vega V.L., Rodríguez-Silva M., Frey T., Gehrmann M., Diaz J.C., Steinem C., Multhoff G., Arispe N., De Maio A. Hsp70 translocates into the plasma membrane after stress and is released into the extracellular environment in a membrane-associated form that activates macrophages. *J Immunol.* 2008; 180(6): 4299–307. doi: 10.4049/jimmunol.180.6.4299.
25. Chen W., Wang J., Shao C., Liu S., Yu Y., Wang Q., Cao X. Efficient induction of antitumor T cell immunity by exosomes derived from heat-shocked lymphoma cells. *Eur J Immunol.* 2006; 36(6): 1598–607. doi: 10.1002/eji.200535501.
26. Menay F., Herschlik L., De Toro J., Coccoza F., Tsacalian R., Gravisaco M.J., Di Sciullo M.P., Vendrell A., Waldner C.I., Mongini C. Exosomes Isolated from Ascites of T-Cell Lymphoma-Bearing Mice Expressing Surface CD24 and HSP-90 Induce a Tumor-Specific Immune Response. *Front Immunol.* 2017; 8.
27. Pinto A., Pocard M. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with cisplatin and mitomycin C for colorectal cancer peritoneal metastases: A systematic review of the literature. *Pleura and Peritoneum.* 2019; 4(2): 20190006.
28. Théry C., Witwer K.W., Aikawa E., Alcaraz M.J., Anderson J.D., Andriantsitohaina R., Antoniou A., Arab T., Archer F., Atkin-Smith G.K., Ayre D.C., Bach J.M., Bachurski D., Baharvand H., Balaj L., Baldacchino S., Bauer N.N., Baxter A.A., Bebawy M., Beckham C., Bedina Zavec A., Benmoussa A., Berardi A.C., Bergese P., Bielska E., Blenkiron C., Bobis-Wozowicz S., Boilard E., Boireau W., Bongiovanni A., Borràs F.E., Bosch S., Boulanger C.M., Breakefield X., Breglio A.M., Brennan M.A., Brigstock D.R., Brisson A., Broekman M.L., Bromberg J.F., Bryl-Górecka P., Buch S., Buck A.H., Burger D., Busatto S., Buschmann D., Bussolati B., Buzás E.I., Byrd J.B., Camussi G., Carter D.R., Caruso S., Chamley L.W., Chang Y.T., Chen C., Chen S., Cheng L., Chin A.R., Clayton A., Clerici S.P., Cocks A., Cocucci E., Coffey R.J., Cordeiro-da-Silva A., Couch Y., Coumans F.A., Coyle B., Crescitelli R., Criado M.F., D'Souza-Schorey C., Das S., Datta Chaudhuri A., de Candia P., De Santana E.F., De Wever O., Del Portillo H.A., Demaret T., Deville S., Devitt A., Dhondt B., Di Vizio D., Dietrich L.C., Dolo V., Dominguez Rubio A.P., Dominici M., Dourado M.R., Driedonks T.A., Duarte F.V., Duncan H.M., Eichenberger R.M., Ekström K., El Andaloussi S., Elie-Caille C., Erdbrügger U., Falcón-Pérez J.M., Fatima F., Fish J.E., Flores-Bellver M., Förstner A., Frelet-Barrand A., Fricke F., Fuhrmann G., Gabrielsson S., Gámez-Valero A., Gardiner C., Gärtner K., Gaudin R., Gho Y.S., Giebel B., Gilbert C., Gimona M., Giusti I., Goberdhan D.C., Görgens A., Gorski S.M., Greening D.W., Gross J.C., Gualerzi A., Gupta G.N., Gustafson D., Handberg A., Haraszi R.A., Harrison P., Hegyesi H., Hendrix A., Hill A.F., Hochberg F.H., Hoffmann K.F., Holder B., Holthofer H., Hosseinkhani B., Hu G., Huang Y., Huber V., Hunt S., Ibrahim A.G., Ikezu T., Inal J.M., Isin M., Ivanova A., Jackson H.K., Jacobsen S., Jay S.M., Jayachandran M., Jenster G., Jiang L., Johnson S.M., Jones J.C., Jong A., Jovanovic-Talisman T., Jung S., Kalluri R., Kano S.I., Kaur S., Kawamura Y., Keller E.T., Khamari D., Khomyakova E., Khvorova A., Kierulff P., Kim K.P., Kislinger T., Klingeborn M., Klink D.J., Kornek M., Kosanović M.M., Kovács A.F., Krämer-Albers E.M., Kraseemann S., Krause M., Kurochkin I.V., Kusuma G.D., Kuypers S., Laitinen S., Langevin S.M., Languino L.R., Lannigan J., Lässer C., Laurent L.C., Lavie G., Lázaro-Ibáñez E., Le Lay S., Lee M.S., Lee Y.X.F., Lemos D.S., Lenassi M., Leszczynska A., Li I.T., Liao K., Libregts S.F., Ligeti E., Lim R., Lim S.K., Liné A., Linnemannstons K., Llorente A., Lombard C.A., Lorenowicz M.J., Lörinz A.M., Lötvall J., Lovett J., Lowry M.C., Loyer X., Lu Q., Lukomska B., Lunavat T.R., Maas S.L., Malhi H., Marcilla A., Mariano J., Mariscal J., Martens-Uzunova E.S., Martin-Jaular L., Martinez M.C., Martins V.R., Mathieu M., Mathivanan S., Maugeri M., McGinnis L.K., McVey M.J., Meckes DG Jr., Meehan K.L., Mertens I., Minciacci V.R., Möller A., Möller Jørgensen M., Morales-Kastresana A., Morhayim J., Mullier F., Muraca M., Musante L., Mussack V., Muth D.C., Myburgh K.H., Najrana T., Nawaz M., Nazarenko I., Nejsum P., Neri C., Neri T., Nieuwland R., Nimrichter L., Nolan J.P., Nolte-Hoen E.N., Noren Hooten N., O'Driscoll L., O'Grady T., O'Loughlin A., Ochiya T., Olivier M., Ortiz A., Ortiz L.A., Osteikoetxea X., Østergaard O., Ostrowski M., Park J., Pegtel D.M., Peinado H., Perut F., Pfaffl M.W., Phinney D.G., Pieters B.C., Pink R.C., Pisetsky D.S., Pogge von Strandmann E., Polakovicova I., Poon I.K., Powell B.H., Prada I., Pulliam L., Quesenberry P., Radeghieri A., Raffai R.L., Raimondo S., Rak J., Ramirez M.I., Raposo G., Rayyan M.S., Regev-Rudski N., Ricklefs F.L., Robbins P.D., Roberts D.D., Rodriguez S.C., Rohde E., Rome S., Rouschop K.M., Ruggeri A., Russell A.E., Saá P., Sahoo S., Salas-Huenuleo E., Sánchez C., Saugstad J.A., Saul M.J., Schiffelers R.M., Schneider R., Schøyen T.H., Scott A., Shahaj E., Sharma S., Shatnyeva O., Shekari F., Shelke G.V., Shetty A.K., Shiba K., Siljander P.R., Silva A.M., Skowronek A., Snyder O.L., Soares R.P., Sódar B.W., Soekmadji C., Sotillo J., Stahl P.D., Stoorvogel W., Stott S.L., Strasser E.F., Swift S., Tahara H., Tewari M., Timms K., Tiwari S., Tixeira R., Tkach M., Toh W.S., Tomasini R., Torrecillas A.C., Tosar J.P., Toxavidis V., Urbanelli L., Vader P., van Balkom B.W., van der Grein S.G., Van Deun J., van Herwijnen M.J., Van Keulen-Jensen K., van Niel G., van Royen M.E., van Wijnen A.J., Vasconcelos M.H., Vechetti I.J.R., Veit T.D., Vella L.J., Velot E., Verweij F.J., Vestad B., Viñas J.L., Visnovitz T., Vukman K.V., Wahlgrén J., Watson D.C., Wauben M.H., Weaver A., Webber J.P., Weber V., Wehman A.M., Weiss D.J., Welsh J.A., Wendt S., Wheelock A.M., Wiener Z., Witte L., Wolfram J., Xagorari A., Xander P., Xu J., Yan X., Yáñez-Mó M., Yin H., Yuana Y., Zappulli V., Zarubova J., Žekas V., Zhang J.Y., Zhao Z., Zheng L., Zheutlin A.R., Zickler A.M., Zimmermann P., Zivkovic A.M., Zocco D., Zuba-Surma E.K. Minimal information for studies

of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018; 7(1): 1535750. doi: 10.1080/20013078.2018.1535750.

29. Shtam T., Naryzhny S., Samsonov R., Karasik D., Mizgirev I., Kopylov A., Petrenko E., Zaborodskaya Y., Kamyshinsky R., Nikitin D., Sorokin M., Buzdin A., Gil-Henn H., Malek A. Plasma exosomes stimulate breast cancer metastasis through surface interactions and activation of FAK signaling. *Breast Cancer Res Treat*. 2019; 174(1): 129–41. doi: 10.1007/s10549-018-5043-0.

30. O'Neill C.P., Gilligan K.E., Dwyer R.M. Role of Extracellular Vesicles (EVs) in Cell Stress Response and Resistance to Cancer Therapy. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 136. doi: 10.3390/cancers11020136.

31. Albakova Z., Armeev G.A., Kanevskiy L.M., Kovalenko E.I., Sapozhnikov A.M. HSP70 Multi-Functionality in Cancer. *Cells*. 2020; 9(3): 587.

32. Breuninger S., Stangl S., Werner C., Sievert W., Lobinger D., Foulds G.A., Wagner S., Pickhard A., Piontek G., Kokowski K., Pockley A.G., Multhoff G. Membrane Hsp70 – A Novel Target for the Isolation of Circulating Tumor Cells After Epithelial-to-Mesenchymal Transition. *Front Oncol*. 2018; 8: 497.

33. Ingenito F., Roscigno G., Affinito A., Nuzzo S., Scognamiglio I., Quintavalle C., Condorelli G. The Role of Exo-miRNAs in Cancer: A Focus on Therapeutic and Diagnostic Applications. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(19): 4687. doi: 10.3390/ijms20194687.

34. Temoche-Diaz M.M., Shurtleff M.J., Nottingham R.M., Yao J., Fadadu R.P., Lambowitz A.M., Schekman R. Distinct mechanisms of microRNA sorting into cancer cell-derived extracellular vesicle subtypes. *Elife*. 2019; 8. doi: 10.7554/eLife.47544.

35. Stangl S., Gehrman M., Riegger J., Kuhs K., Riederer I., Sievert W., Hube K., Mocikat R., Dressel R., Kremmer E., Pockley A.G., Friedrich L., Vigh L., Skerra A., Multhoff G. Targeting membrane heat-shock protein 70 (Hsp70) on tumors by cmHsp70.1 antibody. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108(2): 733–8. doi: 10.1073/pnas.1016065108.

36. Clayton A., Turkes A., Navabi H., Mason M.D., Tabi Z. Induction of heat shock proteins in B-cell exosomes. *J Cell Sci*. 2005; 118(16): 3631–8. doi: 10.1242/jcs.02494.

37. Chanteloup G., Cordonnier M., Isambert N., Bertaut A., Marcion G., Garrido C., Gobbo J. Membrane-bound exosomal HSP70 as a biomarker for detection and monitoring of malignant solid tumours: A pilot study. *Pilot Feasibility Stud*. 2020.

Поступила/Received 20.01.2021
Принята в печать/Accepted 05.03.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Назарова Инга Валерьевна, научный сотрудник, лаборатория субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-6812-3088.

Забегина Лидия Михайловна, младший научный сотрудник, лаборатория субклеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-0827-1641.

Никифорова Надежда Станиславовна, научный сотрудник, лаборатория субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-7464-4237.

Слюсаренко Мария Александровна, научный сотрудник, лаборатория субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-3677-1558.

Сидина Елена Игоревна, научный сотрудник, лаборатория субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-4174-2839.

Жахов Александр Владимирович, ведущий научный сотрудник, ФГУП «Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-0377-7088.

Ищенко Александр Митрофанович, кандидат биологических наук, начальник лаборатории биохимии белка, ФГУП «Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-6661-6145.

Маргулис Борис Александрович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, лаборатория защитных механизмов клетки, отдел клеточных культур ФГБУ «Институт цитологии» РАН (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-2608-0147.

Гужова Ирина Владимировна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией защитных механизмов клетки и отдела клеточных культур, ФГБУ «Институт цитологии» РАН (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-8775-7713.

Малек Анастасия Валерьевна, кандидат медицинских наук, заведующая научной лабораторией субклеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия); генеральный директор ООО «Онко-система» (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-5334-7292. SPIN-код: 6445-3432.

ВКЛАД АВТОРОВ

Назарова Инга Валерьевна: выделение популяции экзосом, проточная цитометрия, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи.

Забегина Лидия Михайловна: получение данных для анализа методами ОТ и ПЦР, анализ полученных данных.

Никифорова Надежда Станиславовна: получение данных для анализа экспрессии маркеров на поверхности частиц, анализ полученных данных.

Слюсаренко Мария Александровна: получение данных для анализа распределения наночастиц по размеру, анализ полученных данных.

Сидина Елена Игоревна: культивирование клеточных линий, проведение теплового шока.

Жахов Александр Владимирович: синтез моноклональных антител к БТШ70, научное редактирование текста.

Ищенко Александр Митрофанович: синтез моноклональных антител к БТШ70, научное редактирование текста.

Маргулис Борис Александрович: анализ полученных методами ОТ и ПЦР данных, научное редактирование текста.

Гужова Ирина Владимировна: анализ полученных методами ОТ и ПЦР данных, научное редактирование текста.

Малек Анастасия Валерьевна: разработка дизайна эксперимента, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, научное редактирование текста.

Финансирование

Исследование финансировалось Министерством здравоохранения РФ в рамках государственного задания ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» (Разработка и клиническая апробация методов выделения, анализа и модификации состава циркулирующих нановезикул плазмы с целью персонализированного выбора и повышения эффективности стандартных режимов системной терапии онкологических заболеваний) и при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ-мк № 18-29-09101).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Inga V. Nazarova, Researcher, Laboratory of Subcellular Technologies, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-6812-3088.

Lidia M. Zabegina, Junior Researcher, Laboratory of Subcellular Technologies, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-0827-1641.

Nadezhda S. Nikiforova, Researcher, Laboratory of Subcellular Technologies, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-7464-4237.

Maria A. Slyusarenko, Researcher, Laboratory of Subcellular Technologies, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-3677-1558.

Elena I. Sidina, Researcher, Laboratory of Subcellular Technologies, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-4174-2839.

Alexandr V. Zhakhov, Leading Researcher, Institute of Highly Pure Biopreparations (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-0377-7088.

Alexandr M. Ishchenko, PhD, Head of the Protein Biochemistry Laboratory, Institute of Highly Pure Biopreparations (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-6661-6145.

Boris A. Margulis, DSc, Chief Researcher, Principal Investigator, Laboratory of Defense Mechanisms of Cells, the Department of Cell Cultures, Institute of Cytology, RAS (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-2608-0147.

Irina V. Guzhova, DSc, Head of the Laboratory of Defense Mechanisms of Cells and the Department of Cell Cultures, Institute of Cytology, RAS (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-8775-7713.

Anastasia V. Malek, PhD, Head of Laboratory of Subcellular Technologies, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint Petersburg, Russia); General Director, Oncosystem Ltd. (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5334-7292. SPIN-code: 6445-3432.

AUTHOR CONTRIBUTION

Inga V. Nazarova: methodology of isolation of the exosome population, flow cytometry, data collection for analysis using RT and PCR methods, data analysis, review of publications on the topic of the article.

Lidia M. Zabegina: obtaining data for analysis by RT and PCR methods, analysis of the obtained data.

Nadezhda S. Nikiforova: obtaining data for analysis to analyze the expression of surface's markers, analysis of the obtained data.

Maria A. Slyusarenko: obtaining data for analysis to analyze the size distribution of nanoparticles, analysis of the obtained data.

Elena I. Sidina: cultivation of cell lines, heat shock.

Alexandr V. Zhakhov: synthesis of monoclonal antibodies to HSP70, scientific text editing

Alexandr M. Ishchenko: synthesis of monoclonal antibodies to HSP70, scientific text editing.

Boris A. Margulis: analysis of the obtained data by RT and PCR methods, scientific text editing.

Irina V. Guzhova: analysis of the obtained data by RT and PCR methods, scientific text editing.

Anastasia V. Malek: development of the experiment design, analysis of the data obtained, review of publications, scientific text editing.

Funding

The study was funded by the Ministry of Health of the Russian Federation in frame of the state project of FSBI "NMRC of oncology named after N.N. Petrov" (Development and clinical testing of methods for isolation, analysis and modification the composition of circulating plasma nanovesicles for personalization and optimization of the standard approaches of systemic therapy of cancer) and with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (grant RFBR-mk № 18-29-09101).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Мндлян Е.Ю., Семушина С.Г., Ржевский Д.И., Новикова Н.И., Калабина Е.А., Комков Д.С., Масленникова А.Ю., Мурашев А.Н., Холмухамедов Э.Л. Создание ортотопических опухолей в молочной железе мышей BALB/C NUDE клетками рака молочной железы человека MCF-7 и ее VDAC-дефицитными производными. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 72–84. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-72-84

For citation: Mndlyan E. Yu., Semushina S. G., Rzhnevsky D. I., Novikova N. I., Kalabina E. A., Komkov D. S., Maslennikova A. Yu., Murashev A. N., Holmuhamedov E. L. Establishment of an orthotopic tumor model in the mammary gland of BALB/C nude mice using human breast cancer MCF-7 cells and their VDAC-deficient derivatives. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 72–84. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-72-84

СОЗДАНИЕ ОРТОТОПИЧЕСКИХ ОПУХОЛЕЙ В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ МЫШЕЙ BALB/C NUDE КЛЕТКАМИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА MCF-7 И ЕЕ VDAC-ДЕФИЦИТНЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ

Е.Ю. Мндлян¹, С.Г. Семушина², Д.И. Ржевский², Н.И. Новикова²,
Е.А. Калабина², Д.С. Комков³, А.Ю. Масленникова³, А.Н. Мурашев²,
Э.Л. Холмухамедов¹

ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН, г. Пущино, Россия¹

Россия, 142290, г. Пущино, ул. Институтская, 3¹

Филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков

М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, г. Пущино, Россия²

Россия, 142290, г. Пущино, проспект Науки, 6, Россия²

ФГБУН «Институт биологии гена» РАН, г. Москва, Россия³

Россия, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, 34/5³

Аннотация

Цель исследования – изучить опухолеобразующую активность «диких» клеток MCF-7, несущих полный набор поринов (VDAC1, VDAC2, VDAC3), а также их генетически модифицированных клеток, из которых удалена одна из изоформ (MCF-7 VDAC1 KO, MCF-7 VDAC2 KO, MCF-7 VDAC3 KO). **Материал и методы.** Исследование направлено на создание животной модели ортотопических опухолей в молочной железе иммунодефицитных мышей BALB/c Nude путем имплантации суспензии клеток рака молочной железы человека (MCF-7) и производных этих клеток, полученных нокаутом одной из выбранных изоформ митохондриальных поринов (VDAC1, VDAC2 или VDAC3). Опухоли создавались путем инъекции в жировую ткань молочной железы мышей BALB/c Nude суспензии клеточных линий либо диких MCF-7 (содержащих все три изоформы поринов, VDAC1, VDAC2 и VDAC3) либо ее VDAC-дефицитных производных «MCF-7 VDAC1 KO», «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO» в дозе 4×10^5 клеток на одну инъекцию. Проведён патоморфологический анализ места имплантации опухолевых клеток, самой опухоли, а также органов брюшной и грудной полости. **Результаты.** Показана возможность успешного создания ортотопических опухолей в жировой ткани иммунодефицитных голых мышей BALB/c Nude эпителиальными клетками рака молочной железы человека «MCF-7 WT», содержащими полный набор изоформ митохондриальных поринов и ее VDAC-дефицитными производными. Опухолеобразующая активность имплантированных клеток коррелирует с их цитотоксическим действием на внутренние органы животного. По результатам патоморфологического анализа можно сделать вывод о том, что за исключением клеток типа «MCF-7 VDAC1 KO», которые не образовали опухолей, все остальные имплантированные клеточные культуры «MCF-7 WT», «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO» вызвали патологические изменения состояния легких, печени и селезенки, а также наличие других опухолевидных новообразований. **Заключение.** Полученные данные будут использованы для оптимизации объема инъекции и количества клеток, а также для уточнения динамики роста опухолей, пригодного для изучения действия противоопухолевых препаратов на опухолях, образованных клетками рака молочной железы человека (MCF-7) и ее генетически модифицированными VDAC-дефицитными производными.

Ключевые слова: клеточная культура MCF-7, митохондриальные порины (VDAC1, VDAC2, VDAC3), мыши BALB/c NUDE, ортотопическая опухоль.

ESTABLISHMENT OF AN ORTHOTOPIC TUMOR MODEL IN THE MAMMARY GLAND OF BALB/C NUDE MICE USING HUMAN BREAST CANCER MCF-7 CELLS AND THEIR VDAC-DEFICIENT DERIVATIVES

E.Yu. Mndlyan¹, S.G. Semushina², D.I. Rzhevsky², N.I. Novikova²,
E.A. Kalabina², D.S. Komkov³, A.Yu. Maslennikova³, A.N. Murashev²,
E.L. Holmuhamedov¹

FGBUN Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS, Pushchino, Russia¹

3, Institutskaya St., 142290, Pushchino, Russia¹

Branch of the FGBUN Institute of Bioorganic Chemistry named after academicians

M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov RAS, Pushchino, Russia²

6, Science Ave., 142290, Pushchino, Russia²

FGBUN Institute of Gene Biology, RAS, Moscow, Russia³

34/5, Vavilov St., 119334, Moscow, Russia³

Abstract

Purpose to study the tumor-forming activity of wild-type MCF-7 cells carrying a full set of porins (VDAC1, VDAC2, VDAC3), as well as their genetically modified cells, from which one of the isoforms was removed (MCF-7 VDAC1 KO, MCF-7 VDAC2 KO, MCF-7 VDAC3 KO). **Material and Methods.** The study was aimed at establishing of an animal model of orthotopic tumors in the mammary gland of immunodeficient BALB/c nude mice by implanting a suspension of human breast cancer cells (MCF-7) and derivatives of these cells generated by targeted knockout of one of the selected mitochondrial porin isoforms (VDAC1, VDAC2 or VDAC3). Suspensions of either wild-type MCF-7 cell lines containing all three porin isoforms (VDAC1, VDAC2 and VDAC3) or their VDAC-deficient derivatives (MCF-7 VDAC1 KO, MCF-7 VDAC2 KO and MCF-7 VDAC3 KO) were injected into mammary fat pads of BALB/c nude mice at a dose of 4×10^6 cells per injection. A pathomorphological analysis of the place of implantation of tumor cells, the tumor itself, as well as the organs of the abdominal and thoracic cavity was carried out. **Results.** The study shows the feasibility of successful creation of orthotopic tumors in the adipose tissue of immunodeficient BALB/c nude mice with MCF-7 human breast cancer epithelial cells containing a complete set of mitochondrial porin isoforms and their VDAC-deficient derivatives. The tumor-forming activity of the implanted cells was shown to correlate with their cytotoxic effect on the internal organs of animals. Pathological analysis showed that all implanted cell cultures, such as MCF-7 WT, MCF-7 VDAC2 KO and MCF-7 VDAC3 KO, except for MCF-7 VDAC1 KO cells, which did not form tumors, caused pathological changes in the lungs, liver and spleen, as well as the presence of other tumor-like lesions. **Conclusion.** The data obtained will be used to optimize the injection volume and cell number, as well as to refine the dynamics of tumor growth, suitable for studying the effect of anticancer drugs on tumors formed by human breast cancer cells (MCF-7) and its genetically modified VDAC-deficient derivatives.

Key words: cancer cells MCF-7, mitochondrial porins (VDAC1, VDAC2, VDAC3), immunodeficient BALB / c Nude mice, orthotopic tumor.

Введение

Рак молочной железы остается одной из наиболее актуальных проблем современной онкологии, занимая лидирующее положение среди онкологических заболеваний [1]. Поиск и разработка новых препаратов и протоколов лечения проводятся с широким использованием животных моделей, среди которых наиболее распространенными являются модели иммунодефицитных мышей [2–4]. Удобством этих моделей является особый иммунодефицитный статус этих животных, благодаря чему они не способны отторгать чужеродный биологический материал, что позволяет успешно создавать в них опухоли из человеческих кле-

ток или ксенотрансплантатов [5]. Несомненным преимуществом мышиных животных моделей является возможность сравнения опухолеобразующей активности генетически-модифицированных клеточных линий, позволяя, таким образом, создание эффективных доклинических моделей [2, 5, 6]. Дополнительным достоинством животных моделей по сравнению с моделями культуры клеток является то обстоятельство, что опухолевые модели с использованием иммунодефицитных животных представляют клиническую картину более адекватно, чем исследования, выполненные на клеточных культурах [2, 5]. В последние годы резко возрос интерес к роли митохондрий в механизмах

Таблица 1/Table 1

Список последовательностей гидовых РНК для митохондриальных поринов

List of guide RNA sequences for mitochondrial porins

Митохондриальный порин/Mitochondrial porins	Гидовая РНК/Guide RNA
VDAC1	5-gR-VDAC1: CACCGCAACACTCACCATAGCCCT 3-gR-VDAC1: AAACAGGGGCTATGGTGAGTGTTGC
VDAC2	5-gR-VDAC2: CACCGCGCGCGTCGTAAGTAAAGC 3-gR-VDAC2: AAACGCTTTACTTACGACGCGCGC
VDAC3	5-gR-VDAC3: CACCGTTTCCTAGGTACAGTACGT 3-gR-VDAC3: AAACACGTA CTGTGACCTAGGAAAC

инициации и развития опухолей. Особое внимание в этих работах уделяется роли митохондриальных поринов, потенциал-зависимых анионных каналов (Voltage Dependent Anion Channels, VDAC), ответственных за обмен жизненно важными водорастворимыми метаболитами, такими как АТФ, АДФ, аминокислотами и субстратами цикла трикарбоновых кислот между цитоплазмой и митохондриями [7–9]. В клетках млекопитающих эти белки встречаются в трех различных изоформах (VDAC1, VDAC2, VDAC3), которые кодируются тремя разными генами и расположены во внешней мембране митохондрий, обеспечивая таким образом обмен водорастворимых метаболитов [10–12]. В настоящее время накоплено огромное количество публикаций, посвященных роли поринов в инициации и развитии онкологических заболеваний как основного механизма их терапевтического действия [9, 13, 14]. Наряду с исследованием роли поринов в физиологии клеток млекопитающих в условиях *in vitro* [13, 15, 16] имеются и работы *in vivo*, на мышинных моделях [10, 13, 17].

Целью исследования явилось изучение опухолеобразующей активности «диких» клеток MCF-7, несущих полный набор поринов (VDAC1, VDAC2, VDAC3), а также их генетически модифицированных клеток, из которых удалена одна из изоформ (MCF-7 VDAC1 KO, MCF-7 VDAC2 KO, MCF-7 VDAC3 KO).

Экспериментальная часть**Культура клеток MCF-7**

Клеточная линия эпителиальных клеток рака молочной железы человека (MCF-7), экспрессирующих эстрогеновые, прогестероновые и глюкокортикоидные рецепторы, была приобретена из Коллекции культур клеток позвоночных ФГБУ «Институт цитологии» РАН, г. Санкт-Петербург, <<https://www.incras.ru>>. Клетки инкубировали в инкубаторе для культивирования клеток животных и человека, 5 % CO₂/95 %-воздух, 95 % влажности, 37°C, в среде инкубации DMEM (D5648, Sigma USA) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (10500064, Gibco, Germany), гентамицина (2 мл/л, Дальхимфарм) и 1 % смеси пенициллин/стрептомицин, как описано в работе [18].

Получение VDAC-нокаутированных клеточных производных MCF-7

Нокаут генов митохондриальных поринов (*vdac1*, *vdac2* и *vdac3*) в клетках рака молочной железы человека был проведен методом SORTS, как описано в работе [19]. Вкратце, с помощью CRISPR/Cas9 осуществляли биаллельный нокин двух коротких маркеров селекции – эпитопных тагов Flag и HA – в ген-мишень, а последовательности гидовых РНК для митохондриальных поринов были отобраны с использованием ресурса Массачусетского технологического института (MIT) <http://tools.genome-engineering.org>, представлены в табл. 1.

Для экспрессии эпитопных тагов на поверхности клетки их встраивали в короткую молекулу-носитель CD52 и для нокаута гена-мишени после кодирующей части добавляли короткий терминатор транскрипции. Условия и технические детали получения клеток, модифицированных по выбранным генам (изоформам митохондриальных поринов) в клеточной линии MCF-7, приведены в работах [19–21]. Необходимые клетки-нокауты отбирались с помощью антител к эпитопным тагам методом проточной цитофлуориметрии. Таргетные последовательности гидовой РНК выделены жирным курсивом. Прямой и обратный праймеры отжигались друг на друга и клонировались в плазмиду для экспрессии гидовой РНК pKS-gRNA-BB после обработки рестриктазой Bbs I (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26435148/>). Для ПЦР-амплификации донорской ДНК использовали праймеры, приведенные в табл. 2. Красным цветом отмечена замена нуклеотида, инактивирующая эндогенный старт-кодон.

Подготовка клеточных культур

Культуры клеток MCF-7, дикого типа (WT) и VDAC-дефицитные производные этих клеток (VDAC1 KO, VDAC2 KO и VDAC3 KO), высаженные в раздельные чашки Петри, культивировали в течение 4 сут без смены среды инкубации до достижения 80 % конфлюэнтности, как описано в [18]. После трипсинизации и отмывки от трипсина в среде инкубации клетки подсчитывались и переносились в фосфатный буфер для инъекций.

Таблица 2/Table 2

Список праймеров, использованных для ПЦР-амплификации донорской ДНК

List of primers used for PCR amplification of donor DNA

Праймеры/ Primers	Последовательности/Sequences
5'-VDAC1-in	CAATGCATTATTCTGGTGATTCTTTATCATAGCAGAAGTTGGCTGTGCCACCCACGTATGCCGA TCTTGGCAAATCTGCCAGGGATGTCTTCACCAACCATGAAGCGCTTCC
3'-VDAC1-in	GCTGACCTACCCAGGTCTCCTAAACAGTTATCGGTAAAGTCTCAAACATGCCAACTCAGTCTGTG AGCTGAAAGGCACCCCTCTCTGCAACACTCAACACACAAAAAACCAACACAC
5'-VDAC2-in	GGCCCTTTGACCCAGCTTACCGCACTTCTTGTCCCTCCCGCAGATTCCCCTCTCCCGCGGCCCTC GCCITGGCGACCCACGGACAGACTTGC GCGCGCCACCATGAAGCGCTTCC
3'-VDAC2-in	GCAGCCGAATTCCAAGTTCTTGGAAAGATAGGGGAAACAACTGGGTTTCTGGTCGACAGGC TTCGACTCTCCGCCGCCCATCCCGCAGAGATCCACACAAAAAACCAACACAC
5'-VDAC3-in	CACAGGATTAAACAGCAGAAGAACTGTGGGTGAATAATACTAAATGGTTATTTTATTCSTTTGC CCTGTTTTCTTTATAAGATTGTGTAACACACCAACCATGAAGCGCTTCC
3'-VDAC3-in	CACAGTAGGCATTCAACACTAACCTTTACCCCAAACCTGGAAAGTTACAATAGCATACTTACCATAT CCTTTGTTGAAGACATCCTTAGCAGCCTTCCACACACAAAAAACCAACACAC

Животные

В исследовании использованы самки иммунодефицитных мышей BALB/c Nude (SPF Питомник лабораторных животных «Пушино», Россия) в возрасте 20–24 нед. Данная линия мышей является наиболее распространенной при изучении опухолеобразующей активности клеточных линий человека [4, 22, 23]. Животные содержались в стандартных условиях барьерной зоны в соответствии с «Программой по уходу и использованию животных» Лаборатории биологических испытаний ФИБХ РАН (г. Пушино), имеющей аккредитацию AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care). Манипуляции с животными проводили в соответствии с Протоколом-заявкой на животных, рассмотренным и одобренным «Институтской комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных» ФИБХ РАН. Животные были распределены по группам в соответствии с типом культуры клеток (Wild type, VDAC1 KO, VDAC2 KO и VDAC3 KO), и каждая группа содержала по 9 самок мышей BALB/c Nude. До введения опухолевых клеток, а также на протяжении всего эксперимента животные проходили обязательную для создания ортотопических опухолей эстрогенную адаптацию путем наложения на кожу животного пластыря с эстрадиолом для гормонозаместительной терапии Климара® (Bayer Pharmaceuticals, Россия). Пластырь, содержащий 10 мкг активного вещества, накладывали на область холки и спины и закрепляли фиксирующей повязкой вокруг грудной клетки мыши [4, 24, 25]. Эстрогенная адаптация состояла из двух циклов: аппликация 12 дней (пластырь приложен к коже мыши), затем 2 дня перерыва (пластырь снимали), чтобы исключить возможность повреждения кожи. Необходимый уровень эстрогенного фона определяли по наступлению постоянного эструса, который определялся через 24–48 ч после первичного наложения пластыря микроскопией влагалищных мазков [26].

Создание ортотопической опухоли

Для создания ортотопических опухолей в настоящей работе суспензию живых клеток вводили в жировую подушку молочной железы, как описано в работе [6]. Анестезия животных осуществлялась путем внутримышечной инъекции смеси золотил + ксилазин в дозе 20 мг/кг и 5 мг/кг живого веса, соответственно [25]. Наркотизированную мышь фиксировали в положении на спине, делали разрез кожи длиной 3–5 мм на 3–4 мм каудальнее 4-го соска, слегка оттягивая сосок вверх анатомическим пинцетом и аккуратно (без повреждения) небольшую часть жировой подушечки (2–3 мм) вытягивали через полученный разрез. При помощи инсулинового шприца и в соответствии с групповой принадлежностью в жировую ткань мыши инъецировали 50 мкл суспензии 4×10^6 опухолевых клеток в стерильном физиологическом растворе, после инъекции жировую подушечку отпускали, давая ей возможность самопроизвольно вернуться на место, а операционную рану закрывали швом при помощи атравматической хирургической полиамидной нити Капроаг («Репромед», Россия). Дважды в неделю каждое животное взвешивали, определяли размер образовавшихся опухолевых узлов в 2 проекциях с помощью электронного штангенциркуля и полученные данные использовали для оценки динамики роста опухоли.

Патоморфологический анализ органов

Забор органов (образцы опухоли с окружающими тканями молочной железы, регионарные лимфоузлы, легкие, печень и селезенка) осуществляли, предварительно проведя процедуру эвтаназии в CO₂ камере. В каждой группе образцы брали от трёх животных и анализировали индивидуально. Для патоморфологического исследования органы фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Обработку материала проводили по общепринятой методике: последовательное обезживание в растворах спиртов возрастающей концентрации

последующей обработкой хлороформом и заливка в парафиновые блоки. Парафиновые срезы толщиной 10–15 мкм переносили на стекло и окрашивали гематоксилином и эозином. Светооптическое исследование и микрофотосъемку проводили на микроскопе проходящего света DMLA Leica (Германия), видеокамерой Photometrics Cool SNAP cf (США), используя программное обеспечение «Мекос» (Россия). Для оценки выраженности гистологических изменений в органах и морфологической оценки опухолевых узлов использовалась оценочная шкала Эванса [27].

Результаты и обсуждение

Создание опухолей

и динамика роста опухолей

Размеры каждой опухоли в жировой ткани молочной железы мыши измерялись два раза в неделю в 2 проекциях (длина и ширина) с помощью электронного штангенциркуля. Объем опухоли рассчитывали по формуле: $V \text{ (мм}^3\text{)} = \text{длина (мм)} \times \text{ширина (мм)} \times \text{ширина (мм)} \times \frac{1}{2}$ [6]. Результаты динамики роста опухоли в каждой группе животных по каждому типу инокулированных клеток представлены на рис. 1 как среднее значение объема опухоли в каждой группе $\pm$ стандартное отклонение.

Изменение размера опухолей в молочной железе мышей имплантированных клетками дикого типа (WT) и клетками, дефицитными по VDAC1 KO, VDAC2 KO и VDAC3 KO, показано на рис. 1. В жировую ткань молочной железы каждого животного инъецировали 50 мкл суспензии клеток, содержащей 4×10^6 опухолевых клеток в стерильном физиологическом растворе. Показаны средние размеры опухолей $\pm$ StDev, полученные по меньшей мере в трех независимых измерениях.

Интенсивнее всего опухоли развивались в группе животных, которым инокулировали суспензию клеток MCF-7 дикого типа (WT). Скорость роста опухоли в этой группе была наибольшей среди всех инокулированных типов клеток и к пятой

неделе (завершение опыта) достигала величины $1801 \pm 369 \text{ мм}^3$ (рис. 1, кривая «WT», $n=6$). Следующий по интенсивности рост опухолей наблюдался в группе животных, которым опухоли создавались инокуляцией клеток MCF-7, дефицитных по содержанию изоформы VDAC3 (рис. 1, кривая «VDAC3 KO»). Скорость роста опухоли в этой группе животных была ниже той, которая наблюдалась для опухолей, полученных клетками дикого типа, и к пятой неделе после инокуляции суспензии клеток размер опухоли достигал величины $1726 \pm 498 \text{ мм}^3$ (рис. 1, кривая «VDAC3 KO», $n=5$). Также к формированию опухоли привела инокуляция клеток MCF-7, дефицитных по митохондриальному порину VDAC2 (рис. 1, кривая «VDAC2 KO»), и к пятой неделе после инокуляции клеток средний размер опухоли достигал величины, близкой к группе с диким типом клеток, и был равен $1809 \pm 654 \text{ мм}^3$ (рис. 1, кривая «VDAC2 KO», $n=4$). При инокуляции животным клеток MCF-7, дефицитных по митохондриальному порину VDAC1, к пятой неделе после инокуляции опухолей не образовалось (рис. 1, кривая «VDAC1 KO»). Таким образом, из всех четырех типов клеток MCF-7 (WT, VDAC1 KO, VDAC2 KO, VDAC3 KO) только три типа клеток, а именно, дикие клетки MCF-7 (WT), а также две линии «VDAC2» и «VDAC3» дефицитных клеток MCF-7, образовали полноценные твердые опухоли. Сравнение размеров опухолей показало, что дикий тип растет быстрее, чем опухоли из клеток MCF-7 VDAC3 KO и MCF-7 VDAC2 KO (рис. 1, кривые «WT», «VDAC3 KO» и «VDAC2 KO»). Из данных, приведенных на рис. 1, видно, что после 3,5 нед инокуляции клеток, скорости развития образовавшихся опухолей выравнивались, и к моменту проведения патоморфологического анализа животных находились в единой области роста и объема опухолей. У животных, которым были инокулированы клетки MCF-7 VDAC1 KO, появления и развития опухолей в молочной железе в течение месяца не наблюдалось.

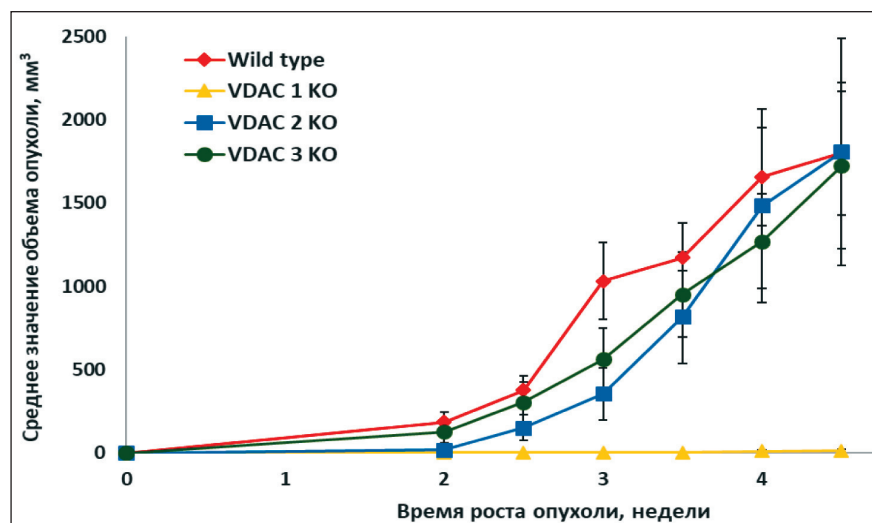


Рис. 1. Графики роста опухолей в группах животных после инокуляции опухолевых клеток MCF-7 и их VDAC-дефицитных производных
Fig. 1. Tumor growth curves in groups of animals after inoculation of MCF-7 tumor cells and their VDAC-deficient derivatives

Выживаемость мышей в группах после инокуляции клеточной линии MCF-7 и VDAC-дефицитных производных

Отслеживание динамики выживаемости животных после инокуляции клеток позволяет определить временные интервалы и правильно распределить сроки лечения. Кривые длительности жизни (выживаемости) животных в каждой группе мышей, которым инокулировали клетки линии MCF-7 или ее модифицированные производные (Wild type, VDAC1 KO, VDAC2 KO или VDAC3 KO), показаны на рис. 2. Наибольшая выживаемость животных в первые три недели наблюдалась у мышей, у которых опухоль создавалась дикими клетками MCF-7 (рис. 2, «Wild type»). Аналогичную картину демонстрировали мыши, в жировую ткань которых были имплантированы клеточные линии, дефицитные по содержанию поринов VDAC1 и VDAC3 (рис. 2, «VDAC1 KO» и «VDAC3 KO»). В этих трех группах за первые 3 нед погибло всего одно животное. Причиной гибели этой мыши могла быть избыточная механическая нагрузка на тело животного, которая создавалась дополнительной фиксирующей повязкой вокруг грудной клетки мыши, необходимой для закрепления эстроген-содержащего пластыря.

Животные в группе с опухолями, образованными клетками, дефицитными по порину 2 («VDAC2 KO»), умирали в течение 2 нед после инокуляции клеток, до формирования опухоли (рис. 2), что может быть также связано с индивидуальными особенностями иммунодефицитных мышей линии BALB/c Nude, а также с гормональной терапией, проходившей на фоне всего эксперимента. Среди всех мышей, инокулированных клеточными линиями, только клетки, дефицитные по порину-1 («VDAC1 KO»), не образовывали опухолей, животные показали устойчивое выживание. Таким образом, полученные данные по переносимости

искусственно созданных ортотопических опухолей в молочных железах животных показали, что наименее агрессивными являются опухоли, образованные имплантированными клетками MCF-7, модифицированными по экспрессии митохондриального порина-1 («VDAC1 KO»), и, напротив, клетки дикого типа MCF-7 и ее клеточные производные, дефицитные по содержанию митохондриального порина-2 и/или порина-3 («Wild type», «VDAC2 KO» или «VDAC3 KO»), способны образовывать солидные опухоли.

Патоморфологический анализ органов мышей

После вскрытия было видно, что у животных в каждой группе подкожно-жировой слой истощён. Для гистологии были взяты образцы ткани с опухолью и прилегающими паховыми лимфоузлами. Опухоли в группах «WT», «VDAC2 KO» и «VDAC3 KO» хорошо визуализировались, плотные узлы, которые часто сращены с брюшной стенкой, и в области между маткой и мочевым пузырём обнаруживались опухолевидные новообразования. На момент проведения некропсии у животных в группе мышей с привитыми клетками «VDAC1 KO» со дня инокуляции суспензии опухолевых клеток не наблюдалось никаких внешних изменений и признаков наличия опухоли. При вскрытии животных в молочных железах и/или жировых тканях мышей заметных опухолевидных образований не обнаруживалось, и единственные и наиболее ярко выраженные изменения были обнаружены в яичниках, а при осмотре была зафиксирована гиперплазия яичников, которая могла быть спровоцирована избыточной эстрогеновой стимуляцией и обусловленным этим состоянием гиперэструса у животных.

Анализ состояния тканей легких показал, что все исследованные ткани имели нормальный

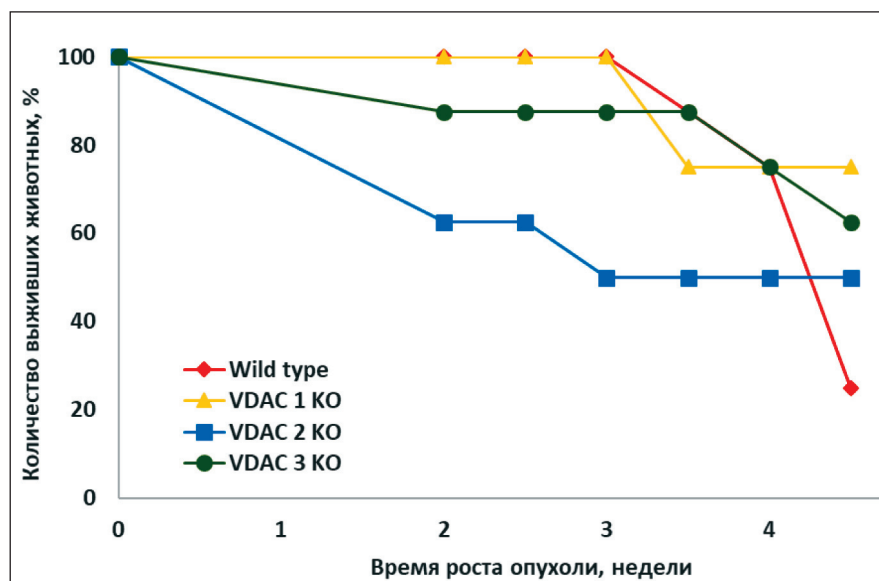


Рис. 2. Выживаемость мышей в группах после инокуляции клеточной линии MCF-7 и VDAC-дефицитных производных в жировую ткань молочной железы
Fig. 2. Survival curves of mice in groups after inoculation of the MCF-7 cells and VDAC-deficient derivatives into mammary fat pads

светло-розовый оттенок, без каких-либо признаков метастазирования. Наиболее характерным и общим для всех исследованных тканей легкого было наличие заметных структурных изменений легких, в результате чего они выглядели спавшимися и деформированными со сросшимися отделами. Такие структурные изменения характерны для условий, когда тело животного оказывается сжатым внешними воздействиями, например, могут быть обусловлены ношением жилетов, поддерживающих гормональный пластырь, которые создавали сдавливание грудной клетки, что, как следствие, могло привести к сращению и слипанию отделов легкого [28].

Состояние печени во всех группах животных, контрольных и имплантированных клетками MCF-7, зависело от типа имплантированных клеток. У всех мышей, которым были инокулированы клетки линии «MCF-7 VDAC1 KO», и у которых мы не обнаружили образование сформированного опухолевого узла, печень внешне выглядела здоровой и по цвету, и по форме находилась в норме. В остальных же трех группах животных, в которых развились опухоли из клеточных линий «MCF-7 WT», «MCF-7 VDAC2 KO», «MCF-7 VDAC3 KO», печень отличалась от печени контрольных животных, заметно видоизменена по форме и была серого цвета. В ткани печени у всех животных из этих трех групп были обнаружены очаговые метастатические зоны, различной величины и формы. Наиболее сильные изменения в морфологии печени были обнаружены в группе мышей с имплантированными клетками «MCF-7 VDAC2 KO», и в печени этих животных преобладали отчетливо обнаруживаемые множественные метастатические области по всей поверхности органа.

Результаты осмотра селезенки животных показали, что развитие опухолей у животных привело к значительным морфологическим изменениям в селезенке. В группе мышей, имплантированных клетками «MCF-7 VDAC1 KO», в которой опухолей не образовалось, селезенка находилась в норме и никаких ярко выраженных внешних изменений цвета и формы не наблюдалось. Наиболее выраженные различия состояния селезенки наблюдались в других группах. Так, у тех мышей, которым были имплантированы клеточные линии «MCF-7 WT», «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO», селезенка внешне выглядела обесцвеченной и рыхлой, с сероватым отливом, со множественными белыми и темными вкраплениями. У некоторых животных в группе «MCF-7 VDAC2 KO» ткань селезенки была рыхлой, бесцветной, со множественными темно-красными вкраплениями.

Суммируя результаты внешнего осмотра животных и результаты некропсии (осмотра тканей и внешнего состояния внутренних органов), можно сделать вывод о том, что за исключением клеток типа «MCF-7 VDAC1 KO», которые не образовали

опухолей, все остальные имплантированные клеточные культуры «MCF-7 WT», «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO» вызывали патологические изменения состояния легких, печени и селезенки. Следует особо отметить наиболее выраженные патологические изменения внешнего вида, состояния ткани, а также образование множественных метастатических узлов в печени и селезенке у животных, у которых опухоль образовывалась из клеточной линии, дефицитной по митохондриальному порину-2 («MCF-7 VDAC2KO»). Необходимо отметить образование и наличие опухолевидных новообразований в различных частях тела животного, таких как подмышечные лимфатические узлы, мочевого пузыря, а также в тканях, окружающих матку. Однако эти новообразования не носили систематического характера и были выявлены только у некоторых животных.

Гистологический анализ тканей

К 4–5-й нед у всех животных BALB/c Nude, которым были имплантированы/инъектированы суспензии клеточных линий «MCF-7 WT» и ее VDAC-дефицитных производных «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO», сформировались подкожные макроскопические опухолевые узлы, которые легко визуализировались при внешнем осмотре гистологических срезов (рис. 3а–в). Большая часть подкожных опухолевых узлов состояла из жизнеспособных опухолевых клеток, и опухолевая ткань была представлена преимущественно округлыми или овальными эпителиоподобными одноядерными или полиплоидными клетками с хорошо выраженными ядрышками (на рис. 3 показано стрелками). Опухолевые клетки имели выраженные признаки плеоморфизма, характерные изменения формы клеток в злокачественных опухолях. На всех срезах опухолевых тканей присутствовало множество клеток с характерными уплотнениями ядерного материала, свидетельствующими о высокой митотической и пролиферативной активности клеток в опухолях (рис. 3). Кроме того, на всех срезах подкожных опухолевых узлов наблюдались участки некротического распада опухолевой ткани, что, скорее всего, связано с недостаточным кровоснабжением опухолевой ткани, обусловленным большими размерами опухоли и высокой плотностью клеток в этих узлах [3, 29–31]. Площадь некротического распада во всех обследуемых опухолевых узлах составляла приблизительно 15–40 % от общей площади, что соответствовало оценкам, составленным по оценочной шкале Эванса степени ПА [32]. Необходимо отметить, что в отличие от клеточных линий «MCF-7 WT» и ее VDAC-дефицитных производных «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO», которые образовывали характерные солидные опухоли в жировой ткани мышей, имплантация в молочную железу животных клеточной линии

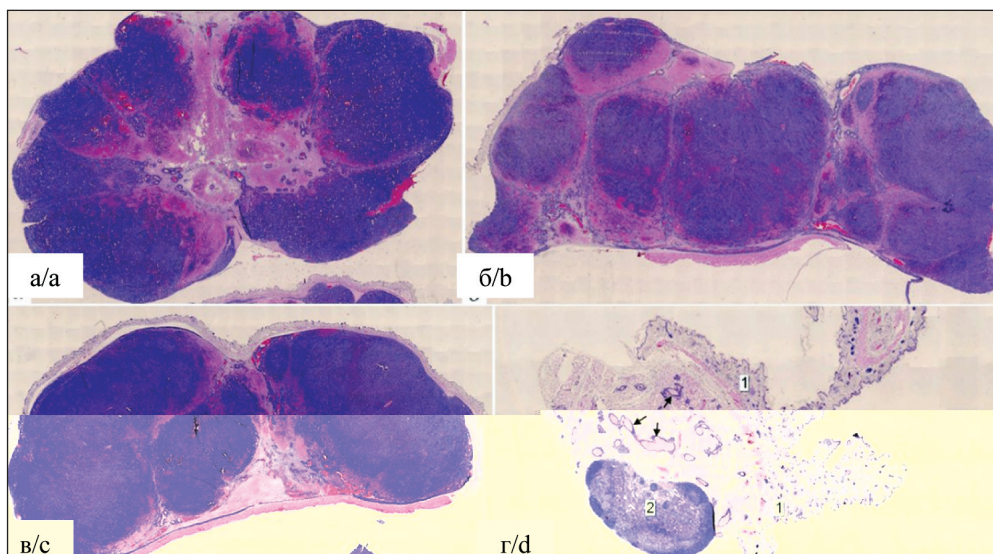


Рис. 3. Микрофото. Обзорный снимок подкожного опухолевого узла у мышей после введения клеточной линии MCF-7 и VDAC KO:

а – WT; б – VDAC2 KO; в – VDAC3 KO; г – область после введения клеточной линии VDAC1 KO. Области, окрашенные в розовый цвет, являются зонами некроза. Область введения представлена кожей (1), структурами молочной железы (показаны стрелками) и регионарным лимфоузлом (2) в состоянии нормы. Снимки сделаны с использованием программы «Виртуальный микроскоп» (объектив $\times 10$, окуляр $\times 10$), окраска гематоксилином и эозином

Fig. 3. Microphoto. Imaging of a subcutaneous tumor in mice after injection of MCF-7 and VDAC KO cells: a – WT, б – VDAC2 KO, в – VDAC3 KO, г – area after injection of VDAC1 KO cells. Areas colored pink are areas of necrosis. The injection area is represented by the skin (1), mammary gland structures (shown by arrows) and the regional lymph node (2) in the normal state. The images were taken using the program «Virtual Microscope» (objective $\times 10$, eyepiece $\times 10$), stained with hematoxylin and eosin

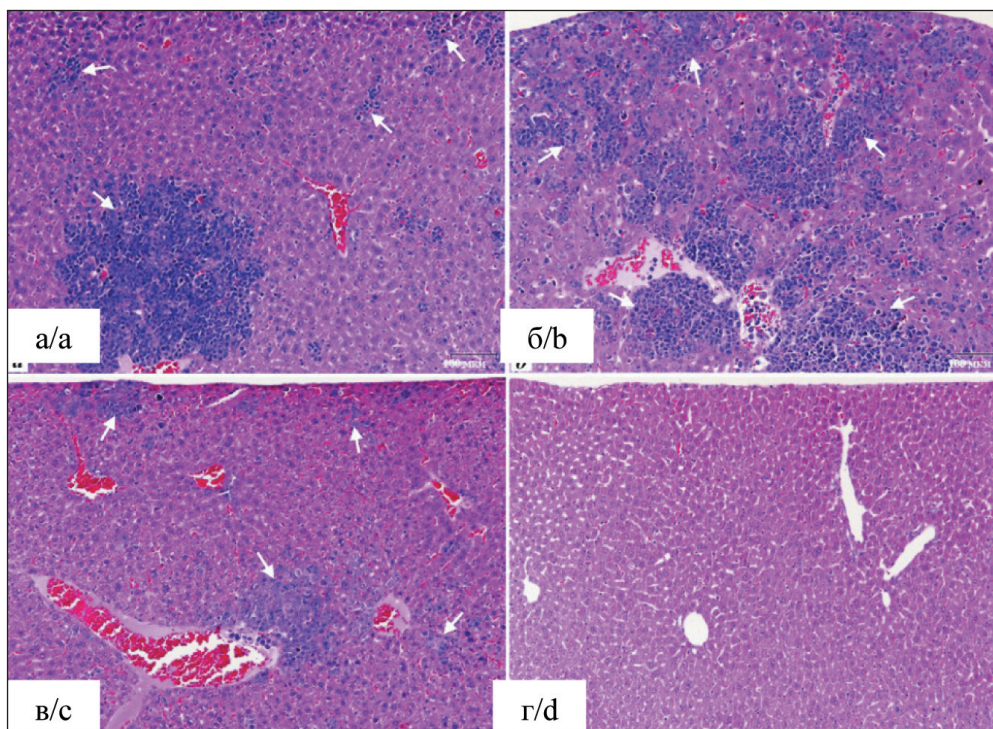


Рис. 4. Микрофото. Гистологические срезы фрагментов печени у мышей после введения клеточной линии MCF-7 и VDAC KO: а – WT; б – VDAC2 KO; в – VDAC3 KO; г – VDAC1 KO; $\times 100$, окраска гематоксилином и эозином.

В печеночной паренхиме отмечены среднеочаговые и многочисленные мелкоочаговые рассеянные клеточные инфильтраты (показаны стрелками) с признаками малигнизации во всех долях печени

Fig. 4. Microphoto. Histological sections of liver fragments from mice after injection of MCF-7 and VDAC KO cells: а – WT; б – VDAC2 KO; в – VDAC3 KO; г – VDAC1 KO; $\times 100$, stained with hematoxylin and eosin.

In the hepatic parenchyma, medium-focal and numerous small-focal scattered cellular infiltrates were noted (shown by arrows) with signs of malignancy in all lobes of the liver

«MCF-7 VDAC1 KO» не вызывала образования пальпируемых ортотопических опухолей, и у этих животных не наблюдалось также образования макроскопических визуализируемых подкожных опухолевых узлов (рис. 3г).

В тканях печени животных из группы мышей, которым имплантировались клеточные линии дикого типа MCF-7 клеток («MCF-7 WT»), при микроскопическом обследовании выявлялись среднеочаговые и многочисленные мелкоочаговые рассеянные клеточные инфильтраты с признаками малигнизации во всех долях печеночной паренхимы (на рис. 4а показано стрелками). В печени у всех мышей с имплантированными «MCF-7 VDAC2 KO» клетками выявлялись клеточные инфильтраты с признаками малигнизации (на рис. 4б показано стрелками).

При этом степень проявления данного морфологического признака изменялась от минимальной до выраженной максимальной. Аналогичные изменения в форме клеточных инфильтратов, с признаками малигнизации обнаруживались также в печени всех мышей, которым были имплантированы клетки линии «MCF-7 VDAC3 KO» (на рис. 4в показано стрелками). Степень проявления данного морфологического признака также может быть разделена на градации от минимальной до

выраженной максимальной. Микроскопическое исследование ткани печени у животных с имплантированными клетками «MCF-7 VDAC1 KO» также не выявило в печеночной паренхиме клеточных инфильтратов с признаками малигнизации (рис. 4г). Необходимо отметить, что аналогично подкожным опухолевым структурам в структуре печени не обнаруживалось патологических изменений, и по внешнему виду обе структуры соответствовали норме.

В группе животных, которым имплантировали дикий тип клеток («MCF-7 WT»), в селезенке выявляются обширные клеточные инфильтраты с признаками малигнизации, как определено в работах [33–35], при этом у одного животного из группы красная и белая пульпа селезенки была почти полностью замещена на опухолевую ткань (на рис. 5а показано стрелками).

В селезенке у мышей с «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO» типом клеток выявлены обширные клеточные инфильтраты с признаками малигнизации. Степень проявления признака – от умеренной до сильно выраженной [36]. У этих животных красная и белая пульпа селезенки была почти полностью замещена на опухолевую ткань (рис. 5б, в). После введения клеточной линии VDAC1 KO ни у одной мыши в этой группе кле-

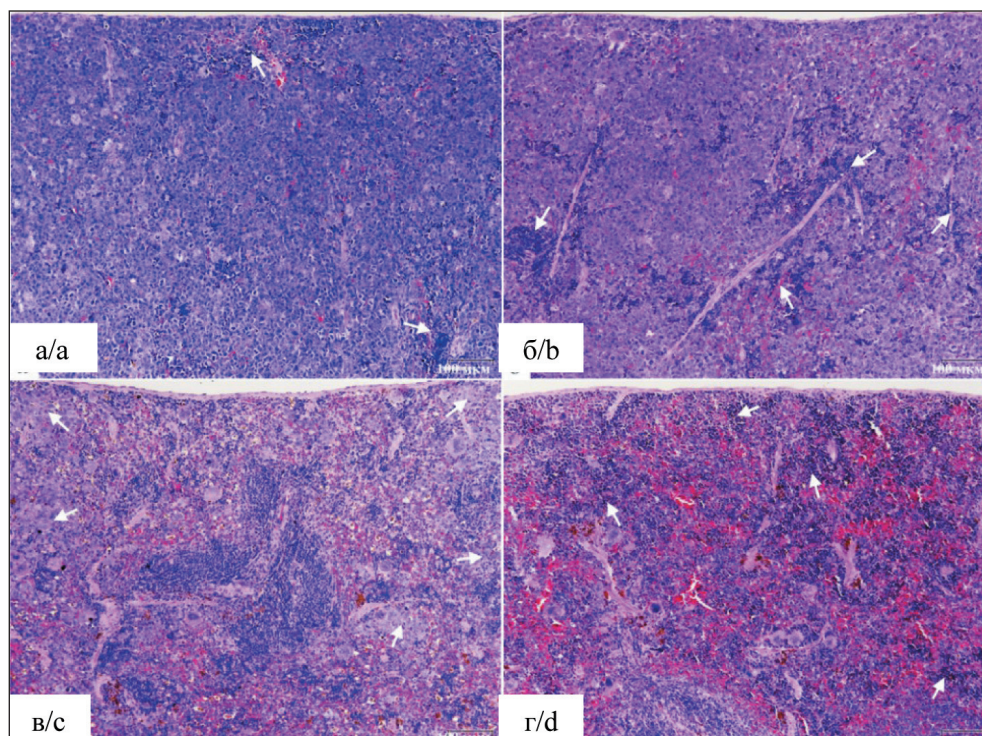


Рис. 5. Микрофото. Гистологические срезы фрагментов селезенки у мышей после введения клеточной линии MCF-7 и VDAC KO: а – WT и б – VDAC2 KO, где небольшие единичные участки сохранившейся селезеночной пульпы показаны стрелками; в – VDAC3 KO, где стрелками отмечены очагово-диффузные клеточные инфильтраты с признаками малигнизации; г – VDAC1 KO, где стрелками показаны некоторые очаги гемопоэза; $\times 100$, окраска гематоксилином и эозином

Fig. 5. Microphoto. Histological sections of spleen fragments from mice after injection of MCF-7 and VDAC KO cells: а – WT and б – VDAC2 KO, where small isolated areas of preserved splenic pulp are shown by arrows; в – VDAC3 KO, where the arrows indicate focal-diffuse cellular infiltrates with signs of malignancy; г – VDAC1 KO, where the arrows show some foci of hematopoiesis; $\times 100$, stained with hematoxylin and eosin

точных инфильтратов с признаками малигнизации в селезенке не выявлено (рис. 5г). В одном случае в этой группе в красной пульпе селезенки отмечен экстрамедуллярный гемопоэз, который характерен для мышей BALB/c Nude. В целом морфологическая структура селезенки соответствовала норме.

Заключение

Таким образом, показана возможность успешного создания ортотопических опухолей в жировой ткани иммунодефицитных голых мышей BALB/c Nude эпителиальными клетками рака молочной железы человека «MCF-7 WT», содержащими полный набор изоформ митохондриальных поринов и ее VDAC-дефицитными производными. Формирование опухолей и размеры образующихся опухолей отслеживались в течение 4 нед, после чего были произведены эвтаназия животных и патоморфологический анализ состояния тканей опухоли, региональных лимфатических узлов, легких, печени и селезенки. Ни в одной группе животных не наблюдалось спонтанного рассасывания опухолей, а малые сроки жизни животных указывают на возможность смерти животного от передозировки количества (4 миллиона на инъекцию) инъецированных клеток, которое определяет скорость роста опухоли. Полученные результаты продемонстрировали образование солидных опухолей человеческими клетками с модифицированным набором функциональных белков митохондрий, и возможность определить оптимальный режим и количество клеток в инъекции, достаточное для получения опухолей для

всех типов клеток. Кривые выживания указывают, что у мышей самок BALB/c Nude после введения клеточных линий «MCF-7 WT», «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO» наблюдалось быстрое (4 нед) формирование злокачественных эпителиоподобных опухолей. В отличие от этих клеточных линий в группе мышей, которым инокулировали клетки линии «MCF-7 VDAC1 KO», опухолевые узлы не сформировались, хотя у половины животных в этой группе в области введения были выявлены небольшие структуры, представленные клеточными инфильтратами с признаками малигнизации и небольшими участками лимфоидной ткани, позволяющими сделать предположение, что данные структуры являлись лимфоузлами. Микроскопическое обследование печени и селезенки у большинства мышей BALB/c Nude после введения клеточных линий «MCF-7 WT», «MCF-7 VDAC2 KO» и «MCF-7 VDAC3 KO» выявило клеточные инфильтраты с признаками малигнизации, тогда как после введения клеточной линии «MCF-7 VDAC1 KO» клеточные инфильтраты с признаками малигнизации не были выявлены. Наиболее выраженные изменения по полученным данным патоморфологии, внешнему виду и состоянию внутренних органов наблюдаются у группы животных, которым были инокулированы клетки «MCF-7 VDAC 2». Эта клеточная линия оказывала на организм животного более выраженное влияние, чем остальные культуры, что обнаруживается по наличию видоизменения и множественных метастазов в печени и селезенке, а также наличию других опухолевидных новообразований.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Momenimovahed Z., Salehiniya H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer* (Dove Med Press) 2019; 11: 151–64. doi:10.2147/BCTT.S176070.
2. Кум О.И., Ващенко Л.Н., Дашкова И.Р., Кутилин Д.С., Максимов А.Ю., Гончарова А.С. Ксенотенные модели рака молочной железы человека в экспериментальных исследованиях. Современные проблемы науки и образования. 2019; (6). [Kit O.I., Vashchenko L.N., Dashkova I.R., Kutilin D.S., Maksimov A.Y., Goncharova A.S. Xenograft models of human breast cancer in experimental studies. *Modern Problems of Science and Education*. 2019; (6). (in Russian)].
3. Koldin I.I., Treshchalina E.M., Sharovskaia I., Dubovaia T.K., Kobliakov V.A. Effect of cell microenvironment on cell functions associated with tumour promotion and progression. *Tsitologiya*. 2013; 55: 328–32.
4. Treshchalina H.M. Immunodeficient mice balb/c nude and modeling of various types of tumor growth for preclinical studies. *Russian Journal of Biotherapy*. 2019; 16: 6–13. doi.org/10.17650/1726-9784-2017-16-3-6-13.
5. Holen I., Speirs V., Morrissey B., Blyth K. In vivo models in breast cancer research: progress, challenges and future directions. *Disease Models Mechanisms*. 2017; 10 (4): 359–71. doi: 10.1242/dmm.028274.
6. Tavera-Mendoza L.E., Brown M. A less invasive method for orthotopic injection of breast cancer cells into the mouse mammary gland. *Lab Anim*. 2017; 51(1): 85–8. doi: 10.1177/0023677216640706.
7. Mazure N.M. VDAC in cancer. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*. 2017; 1858(8): 665–73. doi: 10.1016/j.bbabi.2017.03.002.
8. Shoshan-Barmatz V., Ben-Hail D. VDAC, a multi-functional mitochondrial protein as a pharmacological target. *Mitochondrion*. 2012; 12(1): 24–34. doi: 10.1016/j.mito.2011.04.001.
9. Shteinifer-Kuzmine A., Amsalem Z., Arif T., Zooravlov A., Shoshan-Barmatz V. Selective induction of cancer cell death by VDAC1-based peptides and their potential use in cancer therapy. *Mol Oncol*. 2018; 12 (7): 1077–1103. doi: 10.1002/1878-0261.
10. Raghavan A., Sheiko T., Graham B.H., Craigen W.J. Voltage-dependant anion channels: novel insights into isoform function through genetic models. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1818(6): 1477–85. doi: 10.1016/j.bbame.2011.10.019.
11. Maldonado E.N., Lemasters J.J. Warburg revisited: regulation of mitochondrial metabolism by voltage-dependent anion channels in cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012; 342: 637–41. doi:10.1124/jpet.112.192153.
12. Pedersen P.L. Voltage dependent anion channels (VDACs): a brief introduction with a focus on the outer mitochondrial compartment's roles together with hexokinase-2 in the «Warburg effect» in cancer. *J Bioenerg Biomembr*. 2008; 40 (3): 123–6. doi: 10.1007/s10863-008-9165-7.
13. Yang G., Zhou D., Li J., Wang W., Zhong W., Fan W., Yu M., Cheng H. VDAC1 is regulated by BRD4 and contributes to JQ1 resistance in breast cancer. *Oncol Lett*. 2019; 18 (3): 2340–7. doi: 10.3892/ol.2019.10534.
14. Seo J.H., Chae Y.C., Kossenkova A.V., Lee Y.G., Tang H.Y., Agarwal E., Gabrilovich D.I., Languino L.R., Speicher D.W., Shastrula P.K., Storaci A.M., Ferrero S., Gaudioso G., Caroli M., Tosi D., Giroda M., Vaira V., Rebecca V.W., Herlyn M., Xiao M., Fingerhant D., Martorella A., Skordalakes E., Altieri D.C. MFF Regulation of Mitochondrial Cell Death Is a Therapeutic Target in Cancer. *Cancer Res*. 2019; 79 (24): 6215–26. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-1982.
15. Ralph S.J., Low P., Dong L., Lawen A., Neuzil J. Mitocans: mitochondrial targeted anti-cancer drugs as improved therapies and related patent documents. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*. 2006; 1 (3): 327–46.
16. Shoshan-Barmatz V., Krelm Y., Chen Q. VDAC1 as a Player in Mitochondria-Mediated Apoptosis and Target for Modulating Apoptosis. *Curr Med Chem*. 2017; 24(40): 4435–46. doi: 10.2174/0929867324666170616105200.
17. Wu S., Sampson M.J., Decker W.K., Craigen W.J. Each mammalian mitochondrial outer membrane porin protein is dispensable: effects on cel-

lular respiration. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1452: 68–78. doi:10.1016/S0167-4889(99)00120-2.

18. Solovieva M.E., Shatalin Y.V., Solov'yev V.V., Sazonov A.V., Kutysheiko V.P., Akatov V.S. Hydroxycobalamin catalyzes the oxidation of diethylthiocarbamate and increases its cytotoxicity independently of copper ions. *Redox Biol*. 2019; 20: 28–37. doi:10.1016/j.redox.2018.09.016.

19. Zotova A., Pichugin A., Atemasova A., Knyazhanskaya E., Lopatukhina E., Mitkin N., Holmuhamedov E., Gottikh M., Kuprash D., Filatov A., Mazurov D. Isolation of gene-edited cells via knock-in of short glycoposphatidylinositol-anchored epitope tags. *Sci Rep*. 2019; 9: 3132. doi:10.1038/s41598-019-40219-z.

20. Мазуров Д.В. Селекция редактированных клеток методом SORTS. Главная публичная научно-техническая библиотека Сибирского отделения РАН. Новосибирск, 2020; Глава 22. [Mazurov D.V. Selekcija redaktirovannykh kletok metodom SORTS. Glavnaya publichnaya nauchno-tehnicheskaya biblioteka Sibirskogo otdeleniya RAS. Novosibirsk, 2020; 22. (in Russian)].

21. Tarasevich A., Filatov A., Pichugin A., Mazurov D. Monoclonal antibody profiling of cell surface proteins associated with the viral biofilms on HTLV-1 transformed cells. *Acta Virol*. 2015; 59: 247–56. doi:10.4149/av_2015_03_247.

22. Cheon D.J., Orsulic S. Mouse models of cancer. *Ann Rev Pathol*. 2011; 6: 95–119. doi:10.1146/annurev.pathol.3.121806.154244.

23. Park M.K., Lee C.H., Lee H. Mouse models of breast cancer in preclinical research. *Lab Anim Res*. 2018; 34: 160–5. doi:10.5625/lar.2018.34.4.160.

24. Dall G., Vieusseux J., Unsworth A., Anderson R., Britt K. Low Dose, Low Cost Estradiol Pellets Can Support MCF-7 Tumour Growth in Nude Mice without Bladder Symptoms. *J Cancer*. 2015; 6: 1331–6. doi:10.7150/jca.10890.

25. Кадомцев Д.В. Золетил-ксилазиновый наркоз в экспериментах у крыс. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований 2015; 5: 56–7. [Kadomcev D.V. Zoletyl-xylazine anesthesia in experiments on rats. *International Journal of Applied and Basic Research*. 2015; 5: 56–7. (in Russian)].

26. Владимирская Т.Э., Швед И.А., Криворот С.Г., Вейкина Н.Н., Адамович А.В. Определение фаз эстрального цикла белых крыс по клеточному составу влагалищных мазков. Вестник Национальной Академии Наук Белоруссии, Серия Биологическая. 2011; 4: 88–91. [Vladimirskaia T.E., Shved I.A., Krivorot S.G., Veyalkina N.N., Adamovich A.V. Determination of the phases of the estrous cycle of white rats by the cellular composition of vaginal smears. *News of the National Academy of Sciences of Belarus, Biological Series*. 2011; 4: 88–91. (in Russian)].

27. Miller A.R., Pisters P.W., Lee J.E., Janjan N.A., Abbruzzese J.L., Evans D.B. Preoperative chemoradiation and pancreaticoduodenectomy for adenocarcinoma of the pancreas. *Hepatogastroenterology*. 1998; 45(21): 624–33.

28. Majer J., Kedziora J., Madziala M. A pilot study of mechanical chest compression with the LifeLine ARM device during simulated cardiopulmonary resuscitation. *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2017; 36(4): 249. doi: 10.1016/j.accpm.2017.01.007.

29. Jung Y.Y., Hyun C.L., Jin M.-S., Park I.A., Chung Y.R., Shim B., Lee K.H., Ryu H.S. Histomorphological Factors Predicting the Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Triple-Negative Breast Cancer. *J Breast Cancer*. 2016; 19(3): 261–7. doi: 10.4048/jbc.2016.19.3.261.

30. Sethi D., Sen R., Parshad S., Khetarpal S., Garg M., Sen J. Histopathologic changes following neoadjuvant chemotherapy in various malignancies. *Int J Appl Basic Med Res*. 2012; 2(2): 111–6. doi: 10.4103/2229-516X.106353.

31. Pokrovskii V.S., Treshchalina M.I., Bodiagin D.A., Treshchalina E.M. Hematological toxicity of some combined chemotherapy schemes involving arazo. *Eksp Klin Farmakol*. 2010; 73(5): 36–40.

32. Yao L., Xue X., Yu P., Ni Y., Chen F. Evans Blue Dye: A Revisit of Its Applications in Biomedicine. *Contrast Media; Molecular Imaging*. 2018.

33. Зайцев В.Б., Федоровская Н.С., Дьяконов Д.А., Федоровский А.М., Коледая Е.В., Дорох Л.В., Гамулинская И.Н. Морфофункциональные характеристики селезенки человека. Вятский медицинский вестник. 2011; 3–6. [Zajcev V.B., Fedorovskaja N.S., D'jakonov D.A., Fedorovskij A.M., Koledaeva E.V., Doroh L.V., Gamulinskaja I.N. Morphofunctional characteristics of the human spleen. *Vyatka Medical Bulletin*. 2011; 3–6. (in Russian)].

34. Кирьянов Н.А., Иванова Г.С., Баженов Е.Л., Башмаков А.Б. Частная патология. Часть 2. Патологическая анатомия. Ижевск, 2018. [Kir'janov N.A., Ivanova G.S., Bazhenov E.L., Bashmakov A.B. Particular pathology. Part 2. Pathological anatomy. Izhevsk, Izhevsk, 2018. (in Russian)].

35. Ионкин Д.А., Кармазановский Г.Г., Степанова Ю.А., Шурякова А.Б., Журенкова Т.В., Щеголев А.И., Дубова Е.А. Редкие злокачественные поражения селезенки. Малигнизация эпидермоидной кисты и метастазы в селезенку. Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова 2011; 6: 137–143. [Jonkin D.A., Karmazanovskij G.G., Stepanova Ju.A., Shurakova A.B., Zhurenkova T.V., Shhegolev A.I., Dubova E.A. Rare malignant lesions of the spleen. Malignancy of the epidermoid cyst and metastases to the spleen. *Bulletin of the National Medical and Surgical Center. N.I. Pirogov*. 2011; 6: 137–143. (in Russian)].

Поступила/Received 29.09.2021
Принята в печать/Accepted 04.10.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мндлян Екатерина Юрьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН (г. Пущино, Россия). E-mail: mndlyaneyu@gmail.com. SPIN-код: 3057-8058. Researcher ID (WOS): B-2757-2014. Author ID (Scopus): 57208621972. ORCID: 0000-0003-1823-828X.

Семушина Светлана Геннадиевна, научный сотрудник лаборатории биологических испытаний, Филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН (г. Пущино, Россия). Author ID (Scopus): 6505477187.

Ржевский Дмитрий Иванович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний, Филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН (г. Пущино, Россия). Author ID (Scopus): 6508197891. Researcher ID (WOS): E-6858-2014.

Новикова Надежда Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний, Филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН (г. Пущино, Россия). Author ID (Scopus): 7102157018.

Калабина Елена Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний, Филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН (г. Пущино, Россия). Author ID (Scopus): 57191662416.

Комков Дмитрий Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории генной терапии социально значимых заболеваний, Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, ФГБУН «Институт биологии гена» РАН (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-3431-3147.

Масленникова Александра Юрьевна, младший научный сотрудник лаборатории генной терапии социально значимых заболеваний, ФГБУН «Институт биологии гена» РАН (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): H-5335-2018. ORCID: 0000-0003-0784-3011.

Мурашев Аркадий Николаевич, доктор биологических наук, профессор, лаборатория биологических испытаний, Филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН (г. Пушкино, Россия). Author ID (Scopus): 7004892371. Researcher ID (WOS): E-6321-2014.

Холмухамедов Эхсон Лухманович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории фармакологической регуляции клеточной резистентности, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН (г. Пушкино, Россия). SPIN-код: 1796-4170. Author ID (Scopus): 35576016700. Researcher ID (WOS): P-5228-2016. ORCID: 0000-0002-0809-350X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Мндлян Екатерина Юрьевна: культивирование и подготовка клеточных культур, создание ортотопических опухолей, отслеживание динамики роста и выживаемости животных, патоморфология, анализ и описание полученных результатов.

Семущина Светлана Геннадиевна: создание ортотопических опухолей, патоморфология, анализ и описание полученных результатов.

Ржевский Дмитрий Иванович: отслеживание динамики роста и выживаемости животных, патоморфология, анализ и описание полученных результатов.

Новикова Надежда Ивановна: гистологический анализ образцов опухолевой культуры.

Калабина Елена Андреевна: гистологический анализ образцов опухолевой культуры.

Комков Дмитрий Сергеевич: получение VDAC1, VDAC2, VDAC3 дефицитных клеточных линий MCF-7.

Масленикова Александра Юрьевна: получение VDAC1, VDAC2, VDAC3 дефицитных клеточных линий MCF-7.

Мурашев Аркадий Николаевич: постановка научной задачи, анализ и обсуждение результатов работы, анализ литературы.

Холмухамедов Эхсон Лухманович: постановка научной задачи, анализ и обсуждение результатов работы, анализ литературы.

Финансирование

Это исследование выполнено при поддержке гранта РНФ по соглашению № 19-75-20145.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina Yu. Mndlyan, PhD, Researcher, Laboratory of Pharmacological Regulation of Cell Resistance, FGBUN Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS (Pushchino, Russia). E-mail: mndlyaneyu@gmail.com. SPIN-code: 3057-8058. Researcher ID (WOS): B-2757-2014. Author ID (Scopus): 57208621972. ORCID: 0000-0003-1823-828X.

Svetlana G. Semushina, Researcher, Laboratory of Biological Testing, Branch of the FGBUN Institute of Bioorganic Chemistry named after academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov RAS (Pushchino, Russia). Author ID (Scopus): 6505477187.

Dmitry I. Rzhnevsky, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Biological Testing, Branch of the FGBUN Institute of Bioorganic Chemistry named after academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov RAS (Pushchino, Russia). Author ID (Scopus): 6508197891. Researcher ID (WOS): E-6858-2014.

Nadezhda I. Novikova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Biological Tests, Branch of the FGBUN Institute of Bioorganic Chemistry named after V.I. academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov RAS (Pushchino, Russia). Author ID (Scopus): 7102157018.

Elena A. Kalabina, Junior Researcher, Laboratory of Biological Tests, Branch of the FGBUN Institute of Bioorganic Chemistry named after V.I. academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov RAS (Pushchino, Russia). Author ID (Scopus): 57191662416.

Dmitry S. Komkov, Junior Researcher, Laboratory of Gene Therapy for Socially Significant Diseases, Center for High-Precision Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, FGBUN Institute of Gene Biology, RAS (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-3431-3147.

Alexandra Yu. Maslennikova, Junior Researcher, Laboratory of Gene Therapy of Socially Significant Diseases, FGBUN Institute of Gene Biology, RAS (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): H-5335-2018. ORCID: 0000-0003-0784-3011.

Arkady N. Murashev, Professor, Laboratory of Biological Testing, Branch of the FGBUN Institute of Bioorganic Chemistry named after academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov RAS (Pushchino, Russia). Author ID (Scopus): 7004892371. Researcher ID (WOS): E-6321-2014.

Ekhson L. Holmukhamedov, DSc, Chief Research Scientist, Laboratory of Pharmacological Regulation of Cellular Resistance, FGBUN Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS (Pushchino, Russia). SPIN-code: 1796-4170. Author ID (Scopus): 35576016700. Researcher ID (WOS): P-5228-2016. ORCID: 0000-0002-0809-350X.

AUTHOR CONTRIBUTION

Ekaterina Yu. Mndlyan: preparation of cell cultures, implantation of tumor cell lines, tracking the dynamics of growth and survival of animals, pathomorphology, analysis and description of the results.

Svetlana G. Semushina: implantation of tumor cell lines, pathomorphology, analysis and description of the results.

Dmitry I. Rzhnevsky: tracking the dynamics of growth and survival of animals, pathomorphology, analysis and description of the results.

Nadezhda I. Novikova: histology of tumors and tissue samples.

Elena A. Kalabina: histology of tumors and tissue samples.

Dmitry S. Komkov: generation of VDAC1, VAC2, VDAC3 deficient MCF-7 cell lines.

Alexandra Yu. Maslennikova: generation of VDAC1, VAC2, VDAC3 deficient MCF-7 cell lines.

Arkady N. Murashev: data analysis and interpretation.

Ekhson L. Holmukhamedov: data analysis and interpretation.

Funding

This research was carried out with the support of a grant from the Russian Science Foundation under agreement No. 19-75-20145.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-85-90
УДК: 616.24-006.6-089:616.23-089.87

Для цитирования: Аксарин А.А., Тер-Ованесов М.Д., Копейка С.М. Бронхопластические операции в лечении больных немелкоклеточным раком лёгкого. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 85–90. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-85-90

For citation: Aksarin A.A., Ter-Ovanesov M.D., Kopeyka S.M. Bronchoplastic surgery in the treatment of patients with non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 85–90. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-85-90

БРОНХОПЛАСТИЧЕСКИЕ ОПЕРАЦИИ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЁГКОГО

А.А. Аксарин^{1,2}, М.Д. Тер-Ованесов³, С.М. Копейка¹

БУ «Сургутская окружная клиническая больница», г. Сургут, Россия¹
Россия, 628408, г. Сургут, ул. Энергетиков, 24/2. E-mail: alexaa1971@mail.ru¹
БУ ВО «Сургутский государственный университет», г. Сургут, Россия²
Россия, 628412, г. Сургут, пр. Ленина, 1²
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»³
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6³

Аннотация

Цель исследования – изучить отдалённые результаты органосохраняющих бронхопластических операций у больных немелкоклеточным раком лёгкого. **Материал и методы.** Проанализированы результаты хирургического лечения 740 больных с немелкоклеточным раком лёгкого I–III стадии в Югре с 2002 по 2015 г. Лоб- и билобэктомия выполнены 477 больным, пневмонэктомия – 263, бронхопластическая лобэктомия – 32 пациентам. Всем больным проводилось срочное интраоперационное гистологическое исследование долевых лимфоузлов (12-я группа) остающейся доли лёгкого. При отсутствии метастатического поражения данной группы лимфоузлов выполняли бронхопластическую лобэктомию. При наличии метастазов в 12-й группе лимфоузлов остающейся доли выполняли пневмонэктомию. Все бронхопластические органосохраняющие операции выполнены больным мужского пола. Средний возраст – $55,3 \pm 9,9$ года. В 19 (59,4 %) случаях операции выполнялись справа, в 13 (40,6 %) – слева. Бронхопластических лобэктомий типа А выполнено 15, типа В – 9, типа С – 4 и типа D – 4 пациентам. У 4 больных выполнена циркулярная резекция лёгочной артерии. В 16 случаях (50,0 %) отсутствовали регионарные метастазы (pN0), pN1 отмечена в 19 (31,3 %), pN2 – в 6 (18,7 %) случаях. **Результаты.** Послеоперационной летальности при бронхопластических лобэктомиях не было. В отдалённом периоде у 3 (9,4 %) пациентов развился умеренный стеноз бронхиального анастомоза. При органосохраняющих операциях с бронхопластическим компонентом отдалённые результаты были лучше, чем при пневмонэктомии. Медиана выживаемости после бронхопластических лобэктомий составила 66 мес, после пневмонэктомий – 34 мес ($p=0,01$). Общая выживаемость при бронхопластических лобэктомиях: 5-летняя – 52,9 %, 10-летняя – 36,2 %; при пневмонэктомиях – 38,0 и 31,9 % соответственно. **Заключение.** Органосохраняющие бронхопластические операции при хирургическом лечении больных НМРЛ, при соблюдении онкологических принципов, по сравнению с пневмонэктомией не ухудшают отдалённые результаты.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак лёгкого, хирургическое лечение, бронхопластическая лобэктомия, отдалённые результаты.

BRONCHOPLASTIC SURGERY IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

A.A. Aksarin^{1,2}, M.D. Ter-Ovanesov³, S.M. Kopeyka¹

Surgut District Clinical Hospital, Surgut, Russia¹

24/2, Energetikov St., 628408, Surgut Russia. E-mail: alexaa1971@mail.ru¹

Surgut State University, Surgut, Russia²

1, Lenina Ave., 628412, Surgut Russia²

RUDN University, Moscow Russia³

6, Miklukho-Maklaya St., 117198, Moscow, Russia³

Abstract

Aim. To study the effect of organ-preserving bronchoplastic surgery on long-term treatment outcomes of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Material and Methods.** The long-term results of surgical treatment of 740 patients with stage I–III NSCLC, who were treated in Ugra from 2002 to 2015, were analyzed. Lobectomy and bilobectomy were performed in 477 patients, and pneumonectomy was performed in 263 patients. Thirty-two patients underwent bronchoplastic lobectomy and bilobectomy. Intraoperative pathological frozen sections of lymph nodes (# 12) of the remaining lobe of the lung were examined in all patients. If metastases in these lymph nodes were not detected, we performed bronchoplastic lobectomy. If metastases in lymph nodes of the remaining lobe were detected, we performed pneumonectomy. The median age of the patients (only male patients) was 55.3 ± 9.9 years. In 19 (59.4 %) patients, sleeve resections were performed on the right side and in 13 (40.6 %) patients, these resections were performed on the left side. There were 15 bronchoplastic lobectomies of type A, 9 of type B, 4 of type C, and 4 of type D. Sleeve resection of the pulmonary artery was performed in 4 patients. In 16 cases (50.0 %), there were no regional metastases (pN0). In 10 (31.3 %) cases, there was pN1, in six – pN2 (18.7 %). **Results.** There were no cases of postoperative death. Late complications (asymptomatic bronchial stenosis) occurred in 3 (9.4 %) patients. Long-term treatment outcomes were better in patients who underwent organ-preserving bronchoplastic surgery than in patients who underwent pneumonectomy. Median survival was 66 months after bronchoplastic lobectomies and 34 months after pneumonectomies ($p=0.01$). The 5- and 10-year survival rates in patients who underwent bronchoplastic lobectomies were 52.9 % and 36.2 %, respectively. The corresponding values in patients who underwent pneumonectomies were 38.0 % and 31.9 %, respectively. **Conclusion.** Organ-preserving bronchoplastic surgery compared to pneumonectomy does not worsen long-term outcomes in patients with NSCLC.

Key words: non-small cell lung cancer, surgical treatment, bronchoplastic lobectomy, long-term results.

Введение

Рак лёгкого (РЛ) – одна из главных медицинских и социальных проблем современной онкологии. Чрезвычайно высокий уровень заболеваемости (свыше 2 млн в год) и самый высокий уровень смертности среди онкологических больных (свыше 1,8 млн в год) требуют всестороннего подхода к решению этой медико-социальной проблемы. Несмотря на то, что в целом в Российской Федерации замедлился рост заболеваемости РЛ, в ряде экологически неблагоприятных территорий наблюдается неуклонный рост рака лёгкого [1]. К таким территориям относится Югра. Стандартизованный показатель заболеваемости раком лёгкого в Югре в 2019 г. составил 30,5 на 100 тыс населения, в то время как в РФ – 22,7 на 100 тыс. [1].

Свыше 70 % вновь диагностированных случаев рака лёгкого приходится на распространённую и местнораспространённую стадии (III и IV стадии). Основными операциями при РЛ являются лобэктомия и пневмонэктомия с систематической лимфодиссекцией. Бронхопластическая лобэктомия является альтернативой пневмонэктомии при центральном

РЛ, особенно при немелкоклеточном раке лёгкого (НМРЛ). Во многих публикациях представлены благоприятные результаты бронхопластических лобэктомий, которые определялись отдалёнными результатами, сопоставимыми с пневмонэктомией, при низких показателях послеоперационной летальности. Бронхопластическая лобэктомия также связана с улучшением качества жизни за счёт сохранения паренхимы легких [2–11]. Однако проспективных рандомизированных исследований, сравнивающих бронхопластическую лобэктомию и пневмонэктомию, не проводилось [12–17]. Таким образом, идеальная хирургическая процедура для центрально расположенного НМРЛ оставалась спорной, а показания зависели от каждого случая и, в частности, от оперирующего хирурга.

Цель исследования – изучить отдалённые результаты бронхопластических операций у больных немелкоклеточным раком лёгкого.

Материал и методы

С 1999 по 2015 г. в Югре впервые зарегистрировано 6349 больных со злокачественными

новообразованиями лёгких. Распространенность опухолей по стадиям TNM у всех больных была определена по классификации Международного противоракового союза (UICC). В исследование были включены 740 больных с немелкоклеточным раком лёгкого IA – IIIB стадий, которым выполнили радикальные хирургические вмешательства в объёме лобэктомии, билобэктомии и пневмонэктомии с различными вариантами медиастинальной лимфодиссекции. У 477 больных выполнены лоб- и билобэктомии, у 263 – пневмонэктомия. Наблюдение за отдалёнными результатами осуществлялось в сроки до 01.01.2021.

Кроме «типичных» вмешательств, у 101 (13,6 %) пациента с НМРЛ были выполнены комбинированные операции, которые были условно разделены на три типа: трахеобронхопищеводные, сосудисто-предсердные и париетально-диафрагмальные. У 5 больных выполнены комбинированные операции с резекцией разных соседних органов. Таким образом, всего выполнено 106 комбинированных операций у 101 пациента. Больше всего было комбинированных операций сосудисто-предсердного типа – 52. Париетально-диафрагмальных операций – 14. Трахеобронхопищеводных операций –

40, у одного пациента при прорастании опухоли в пищевод потребовалась его резекция. Случаи с резекцией трахеи не включались в исследование, так как они сопровождались пневмонэктомией.

У 32 пациентов выполнены органосохраняющие бронхопластические операции (табл. 1). Показанием для циркулярной резекции главного бронха являлись опухоли устья долевого бронха или опухоли, распространяющиеся по главному бронху на устье долевого бронха с соседней доли. Окончательное решение о возможности выполнения циркулярной резекции бронха или артерии принималось интраоперационно. Всем больным, которым выполнялись бронхопластические операции, проводили срочное интраоперационное гистологическое исследование долевых лимфоузлов (12-я группа) остающейся доли лёгкого. При отсутствии метастатического поражения 12-й группы лимфоузлов выполняли лоб- либо билобэктомию с бронхопластикой. При наличии метастазов в 12-й группе лимфоузлов остающейся доли выполняли пневмонэктомию. После удаления доли проводили срочное гистологическое исследование краёв резекции бронха.

Бронхопластические органосохраняющие операции выполнены больным мужского пола. Сред-

Таблица 1/Table 1

Общая характеристика пациентов с бронхопластическими лобэктомиями

Patient characteristics with bronchoplastic lobectomy

Характеристики/Characteristics		Бронхопластическая лобэктомия/ Bronchoplastic lobectomy	Лобэктомия/ Lobectomy	Пневмонэктомия/ Pneumonectomy
Пол/Sex	Мужской/Men	32 (100 %)	353 (79,3 %)	243 (92,4 %)
	Женский/Women	–	92 (20,7 %)	20 (7,6 %)
Возраст, лет/Age, years		55,3 ± 9,9	55,6 ± 8,4	54,2 ± 7,6
Сторона/Side	Справа/Right	19 (59,4 %)	282 (63,4 %)	120 (45,6 %)
	Слева/Left	13 (40,6 %)	163 (36,6 %)	143 (54,4 %)
pT	T1	6 (18,8 %)	189 (42,5 %)	9 (3,4 %)
	T2	18 (56,3 %)	240 (53,9 %)	166 (63,1 %)
	T3	6 (18,8 %)	16 (3,6 %)	52 (19,8 %)
	T4	2 (6,3 %)	–	36 (13,7 %)
pN	N0	16 (50,0 %)	317 (71,2 %)	119 (45,2 %)
	N1	10 (31,3 %)	65 (14,6 %)	44 (16,7 %)
	N2	6 (18,7 %)	63 (14,2 %)	95 (36,1 %)
	N3	–	–	5 (1,9 %)
Стадия, pTNM/ Stage, pTNM/	IA	3 (9,4 %)	151 (33,9 %)	5 (1,9 %)
	IB	9 (28,1 %)	157 (35,3 %)	77 (29,3 %)
	IIA	1 (3,1 %)	25 (5,6 %)	1 (0,4 %)
	IIIB	10 (31,3 %)	47 (10,6 %)	52 (19,8 %)
	IIIA	7 (21,9 %)	65 (14,6 %)	88 (33,4 %)
	IIIB	2 (6,2 %)	–	40 (15,2 %)
	Верхняя доля справа/RUL	13 (40,7 %)	161 (36,2 %)	45 (17,1 %)
	Верхняя доля слева/LUL	9 (28,1 %)	112 (25,2 %)	67 (25,5 %)
Локализация опухоли/ Localization tumor	Средняя доля/RML	2 (6,2 %)	22 (4,9 %)	12 (4,6 %)
	Нижняя доля справа/RLL	4 (12,5 %)	99 (22,2 %)	33 (12,6 %)
	Нижняя доля слева/LLL	4 (12,5 %)	51 (11,4 %)	48 (18,2 %)
	Правый главный бронх/RMB	–	–	30 (11,4 %)
	Левый главный бронх/LMB	–	–	28 (10,6 %)

ний возраст – $55,3 \pm 9,9$ года. В 59,4 % операции выполнялись при опухолях правого лёгкого. В 16 (50,0 %) случаях отсутствовали регионарные лимфогенные метастазы. У 10 (31,3 %) больных было поражение регионарных лимфоузлов первого порядка, у 6 (18,7 %) пациентов – поражение средостенных лимфоузлов. У 4 больных выполнена циркулярная резекция лёгочной артерии. В 2 случаях при прорастании опухоли и в двух случаях при прорастании метастазов из лимфоузлов.

У подавляющего числа больных (78,2 %) морфологическая структура опухоли представлена плоскоклеточным раком. Аденокарцинома была у 4 (12,5 %) пациентов, крупноклеточный рак – у 2 (6,2 %), аденосквамозный рак – у 1 (3,1 %). У 2 пациентов после планового исследования гистологического материала выявлены опухолевые клетки по краю резекции (R1). Им проведена адъювантная лучевая терапия.

При формировании межбронхиального анастомоза на мембранозную часть бронхов накладывали непрерывный шов, на хрящевую часть – узловые швы. При большом различии в диаметре бронхов применяли методику телескопического анастомоза и гофрирующие швы на мембранозную часть главного бронха.

В работе использовали следующие типы бронхопластических операций: тип А, В, С, D в модифицированной классификации М. Okada (R. Waseda et al.) [15]. Бронхопластическая лобэктомия типа А осуществлена у 15 (46,9 %) больных, из них у 13 с локализацией опухоли в верхнедолевом бронхе справа и поражением главного бронха выполнена верхняя лобэктомия с резекцией правого главного бронха и наложением анастомоза между главным бронхом и промежуточным бронхом. Двоим больным с раком среднедолевого бронха и распространением опухоли по промежуточному бронху на верхнедолевой бронх справа выполнена верхняя билобэктомия с резекцией главного и промежуточного бронхов и наложением анастомоза между главным и нижнедолевым бронхом. У двух больных из этой группы также выполнена циркулярная резекция лёгочной артерии из-за прорастания метастатически поражённых лимфоузлов в артерию. У одного из них также выполнена циркулярная резекция лёгочной артерии из-за прорастания опухоли в артерию.

Бронхопластические лобэктомии типа В осуществлены у 9 (28,1 %) пациентов при центральном раке левого верхнедолевого бронха с переходом на левый главный бронх. После резекционного этапа наложен анастомоз между главным бронхом и нижнедолевым бронхом. У 2 больных выполнена циркулярная резекция лёгочной артерии.

У 4 (12,5 %) больных выполнены бронхопластические лобэктомии типа С. При раке нижней доли левого лёгкого с переходом на главный бронх произведена нижняя лобэктомия с циркулярной резекцией главного бронха и наложением анасто-

моза между главным бронхом и верхнедолевым бронхом.

Бронхопластическая лобэктомия типа D выполнена у 4 (12,5 %) пациентов. При распространении опухоли нижнедолевого бронха справа по промежуточному на устье верхнедолевого бронха произведена нижняя билобэктомия с резекцией главного бронха и наложением анастомоза между главным бронхом и верхнедолевым бронхом.

Каждый тип бронхопластической операции имеет свои особенности. Операции типа А и В обычно требуют протяжённой резекции бронхов от уровня правого главного бронха до устья В6 или бронхов базальной пирамиды. Для профилактики осложнений со стороны анастомоза требуется уменьшение натяжения. Для этого мы выполняли освобождение перибронхиальных тканей и рассекали перикард вокруг нижней легочной вены. При операциях типа С и D всегда накладывали телескопический анастомоз и гофрирующие швы на мембранозную часть главного бронха. При наложении межбронхиальных анастомозов использовали васкуляризированные лоскуты для профилактики несостоятельности: лоскут медиастинальной плевры с клетчаткой, лоскут перикарда, межрёберный мышечный лоскут либо лоскут из диафрагмы.

У 25 (78,1 %) больных выполнена систематическая лимфодиссекция, у 4 (12,5 %) – селективная лимфодиссекция, у 3 (9,4 %) лимфодиссекция не производилась. Хирургический метод лечения применён у 12 (37,5 %) больных. Адъювантная химиотерапия назначалась 18 (56,3 %) пациентам, 5 из них также проведена лучевая терапия. 2 пациентам проведена адъювантная лучевая терапия.

Статистическая обработка данных и анализ результатов исследования выполнены в программе IBM SPSS Statistics 20. Показатель вариабельности $\pm m$ представляет среднеквадратическое отклонение. Отдалённые результаты оценены по лог-ранговому критерию (log rank, Mantel-Cox).

Результаты и обсуждение

В 3 (9,4 %) случаях послеоперационный период протекал с осложнениями. У 1 пациента развилась тромбоэмболия мелких ветвей лёгочной артерии. У 2 больных послеоперационный период осложнился пневмонией оставшейся доли лёгкого. Во всех случаях проведено успешное консервативное лечение. Послеоперационной летальности при бронхопластических операциях не было.

В отдалённом периоде у 3 (9,4 %) пациентов развился умеренный стеноз бронхиального анастомоза, из них в 2 случаях проводилась адъювантная лучевая терапия. Дополнительных лечебных мероприятий данные нежелательные явления не потребовали, так как клинических проявлений стеноза не было. У 3 (9,4 %) пациентов развились локорегионарные рецидивы: у 2 – в межбронхиальном анастомозе (R1), у 1 – в средостении.

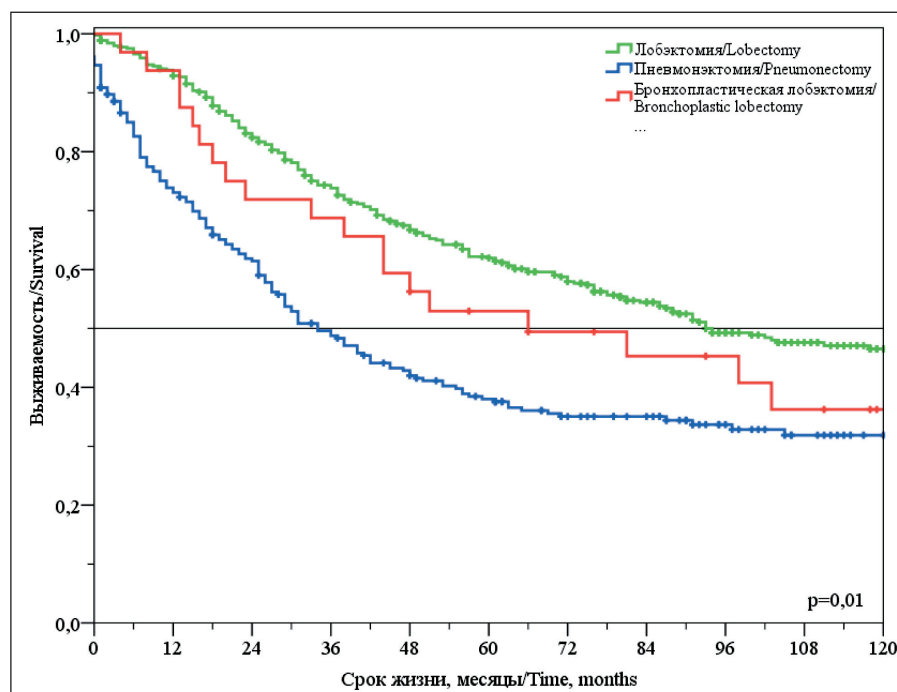


Рис. 1. Общая выживаемость больных НМРЛ с бронхопластическими лобэктомиями

Fig. 1. Overall survival of patients with NSCLC with bronchoplastic lobectomy

Общая десятилетняя выживаемость у пациентов с бронхопластическими лобэктомиями зависела от стадии заболевания: при IA стадии данный показатель составил 66,7 %, при IB стадии – 55,6 %, IIB стадии – 40,0 %, IIIA стадии – 28,6 %. Единственный пациент со ПА стадией прожил 33 мес. При IIIB стадии максимальный срок жизни составил 15 мес. На общую выживаемость существенное влияние оказывало наличие регионарных лимфогенных метастазов. Общая 5- и 10-летняя выживаемость при pN0 составила 61,9 и 45,8 %, при pN1 – 50,0 и 26,7 % соответственно. При pN2 общая пятилетняя выживаемость составила 33,3 %.

При анализе отдалённых результатов отмечено, что при бронхопластических операциях эти показатели были значимо выше, чем при пневмонэктомии (log rank, $p=0,01$). Общая выживаемость при бронхопластических лобэктомиях составила: 5-летняя – 52,9 %, 10-летняя – 36,2 %, при пневмонэктомиях – 38,0 и 31,9 % соответственно (рис. 1).

Медиана выживаемости при бронхопластических лобэктомиях составила 66 мес, при пневмонэктомиях – 34 мес. Безрецидивная выживаемость при бронхопластических операциях (5-летняя – 49,6 %, 10-летняя – 41,2 %) также была лучше, чем при пневмонэктомиях (5-летняя – 34,9 %, 10-летняя – 26,2 %) (log rank, $p<0,05$). Медиана выживаемости при бронхопластических операциях БПЛ составила 57 мес, при пневмонэктомиях – 22 мес.

Заключение

Органосохраняющие бронхопластические операции у больных немелкоклеточным раком лёгкого не ухудшают отдалённые результаты по сравнению с пневмонэктомией. Использование органосохраняющих операций позволяет у части больных выполнить радикальную операцию, улучшить качество жизни и последующую реабилитацию, особенно у пациентов с низкими функциональными резервами легких.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Мордовский А.А., Аксарин А.А., Парсаданян А.М., Тер-Ованесов М.Д., Троян П.П. Эпидемиологическая характеристика заболеваемости и смертности от рака легкого в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре. Сибирский онкологический журнал. 2021; 20(4): 30–8. [Mordovskiy A.A., Aksarin A.A., Parsadanyan A.M., Ter-Ovanesov M.D., Troyan P.P. Lung cancer incidence and mortality in the Khanty-Mansi autonomous okrug – Yurga. Siberian Journal of Oncology. 2021; 20(4): 30–8. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-4-30-38.
2. Левченко Е.В., Левченко Н.Е., Юрин Р.И., Михнин А.Е., Ергян С.М., Барчук А.С., Горохов Л.В., Слугин Е.Н., Гринкевич М.В. Отдалённые результаты бронхопластических оперативных вмешательств по сравнению с пневмонэктомиями при раке лёгкого. Вопросы онкологии. 2017; 63(2): 234–9. [Levchenko E.V., Levchenko N.E., Jurin R.I., Mihnin A.E., Ergnjan S.M., Barchuk A.S., Gorohov L.V., Slugin E.N., Grinkevich M.V. Long-term results of bronchoplastic surgical interventions in comparison with pneumonectomies in lung cancer. Problems in Oncology. 2017; 63(2): 234–9. (in Russian)].
3. Решетов А.В., Елькин А.В., Николаев Г.В., Степанов С.С. Бронхо- и ангиопластическая лобэктомия как альтернатива пневмонэктомии в лечении немелкоклеточного рака легкого. Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2018; 177(3): 19–24. [Reshetov A.V., El'kin A.V., Nikolaev G.V., Stepanov S.S. Broncho- and angioplasty lobectomy as an alternative to pneumonectomy in treatment of non-small cell lung cancer. Grekov's Bulletin of Surgery. 2018; 177(3): 19–24. (in Russian)]. doi: 10.24884/0042-4625-2018-177-3-19-24.

4. Andersson S.E.M., Rauma V.H.S., Sihvo E.I., Rasanen J.V., Ilonen I.K., Salo J.A. Bronchial sleeve resection or pneumonectomy for non-small cell lung cancer: a propensity-matched analysis of long-term results, survival and quality of life. J Thorac Dis 2015; 7(10): 1742–8. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.10.62.
5. Berhet J.-P., Paradelo M., Jimenez M.J., Molins L., Gomez-Caro A. Extended Sleeve Lobectomy: One More Step Toward Avoiding Pneumonectomy in Centrally Located Lung Cancer. Ann Thorac Surg. 2013; 96: 1988–97.
6. D'Andrilli A., Maurizi G., Andreotti C., Ciccone A.M., Ibrahim M., Piraino A., Mariotta S., Venuta F., Rendina E.A. Sleeve Lobectomy Versus Standard Lobectomy for Lung Cancer: Functional and Oncologic Evaluation. Ann Thorac Surg. 2016; 101(5): 1936–42. doi: 10.1016/j.athoracsurg.2015.11.057.
7. Hishida T., Aokage K., Yoshida J., Miyoshi T., Tsuboi M. Extended bronchoplasty for locally advanced left lower lobe lung cancer: surgical

technique and outcomes. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2018; 27(4): 602–5. doi: 10.1093/icvts/ivy081.

8. Maurizi G., D'Andrilli A., Venuta F., Rendina E.A. Reconstruction of the bronchus and pulmonary artery. *J Thorac Dis.* 2016; 8: 168–80.

9. Maurizi G., D'Andrilli A., Venuta F., Rendina E.A. Bronchial and arterial sleeve resection for centrally-located lung cancers. *J Thorac Dis.* 2016; 8: 872–81. doi: 10.21037/jtd.2016.06.48.

10. Nagayasu T., Yamasaki N., Tsuchiya T., Matsumoto K., Miyazaki T., Hatachi G., Watanabe H., Tomoshige K. The evolution of bronchoplasty and broncho-angioplasty as treatments for lung cancer: evaluation of 30 years of data from a single institution. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016 Jan; 49(1): 300–6. doi: 10.1093/ejcts/ezv065.

11. Okada M. [Bronchoplasty for lung cancer]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi.* 2016; 117(4): 283–8.

12. Rea F., Marulli G., Schiavon M., Zuin A., Hamad A-M., Rizzardi G., Perissinotto E., Sartori F. A quarter of a century experience with sleeve lobectomy for non-small cell lung cancer. *Eur J Card Thorac Surg.* 2008; 34: 488–92.

13. Sarsam O.M., Dunning J., Pochulu B., Baste J.M. Robot-assisted bronchoplasty using continuous barbed sutures. *J Vis Surg.* 2018; 4(1): 3. doi: 10.21037/jovs.2017.12.14.

14. Umeda Y., Marui T., Murakawa S., Matsumoto S. Our tips for bronchoplasty using suture holder and tourniquet. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2019; 67(4): 370–1. doi: 10.1007/s11748-018-01061-8.

15. Waseda R., Iwasaki A. Extended sleeve lobectomy: its place in surgical therapy for centrally located non-small cell lung cancer and a review of technical aspects. *J Thorac Dis.* 2018; 10 (26): 103–8. doi: 10.21037/jtd.2018.07.40.

16. Yazgan S., Gursoy S., Ucvet A., Yagci T., Unal M., Samancilar O., Erbaycu A.E. Long-term results of sleeve lobectomy with continuous suture technique in non-small cell lung cancer. *Turk J Thorac Cardiovasc Surg.* 2019; 27(1): 93–100. doi: 10.5606/tgkdc.dergisi.2019.16324.

17. Yokota K., Okuda K., Fukai I., Nakanishi R. Extended Bronchoplasty Anastomosed between the Left Main and the Superior Segmental Bronchi for Locally Advanced Left Upper Lobe Lung Cancer with Invasion of the Basal Segment. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2020 Aug; 12(8): 4082–89. doi: 10.5761/atcs.cr.20-00215.

Поступила/Received 28.11.2021
Принята в печать/Accepted 31.01.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Аксарин Алексей Александрович, кандидат медицинских наук, руководитель онкологического центра БУ «Сургутская окружная клиническая больница»; ассистент кафедры хирургических болезней, БУ ВО «Сургутский государственный университет» (г. Сургут, Россия). E-mail: alexaa1971@mail.ru. SPIN-код: 3942-3223. ORCID: 0000-0002-7441-9846.

Тер-Ованесов Михаил Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии и гематологии факультета повышения квалификации медицинских работников, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5400-1301.

Копейка Сергей Михайлович, заведующий онкологическим отделением № 2, БУ «Сургутская окружная клиническая больница» (г. Сургут, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Аксарин Алексей Александрович: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, составление рукописи, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Тер-Ованесов Михаил Дмитриевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Копейка Сергей Михайлович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Aleksei A. Aksarin, MD, PhD, Head of Oncology Center, Surgut District Clinical Hospital, Surgut, Russia; Assistant of the Department of Surgical Diseases, Surgut State University (Surgut, Russia). E-mail: alexaa1971@mail.ru. SPIN-code: 3942-3223. ORCID: 0000-0002-7441-9846.

Mikhail D. Ter-Ovanesov, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncology and Hematology, Faculty of Advanced Medical Education, RUDN University (Moscow, Russia). SPIN-code: 5400-1301.

Sergei M. Kopeyka, MD, Head of the Department № 2 of the Oncology Center, Surgut District Clinical Hospital (Surgut, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Aleksei A. Aksarin: study conception, data analysis, drafting of the manuscript, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Mikhail D. Ter-Ovanesov: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Sergei M. Kopeyka: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Хамди О., Аталла Х., Рос М.Х., Метвалли И.Х. Влияние ожирения на онкологические и хирургические результаты лечения саркомы мягких тканей бедра. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 91–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-91-98

For citation: Hamdy O., Atallah Kh., Ros M.H., Metwally I.H.. Impact of obesity on the oncological and surgical outcomes of thigh soft tissue sarcoma. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 91–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-91-98

IMPACT OF OBESITY ON THE ONCOLOGICAL AND SURGICAL OUTCOMES OF THIGH SOFT TISSUE SARCOMA

O. Hamdy¹, Kh. Atallah¹, M.H. Ros², I.H. Metwally¹

Surgical Oncology Unit, Oncology Center Mansoura University (OCMU), Mansoura, Egypt.

E-mail; omarhamdy87@gmail.com¹

Mansoura University Hospitals, Mansoura, Egypt²

Abstract

Background. Malignant soft tissue tumors are a heterogeneous group with variable prognosis and with a tendency to recurrence and distant spread, mainly to the lungs. Also, obesity is a known risk factor for many diseases and cancers and is currently a global problem. While the thigh is one of the main fat deposition areas, it is one of the commonest sites for the incidence of soft tissue sarcoma. We tried to illustrate the impact of obesity on the outcomes of thigh soft tissue sarcoma patients. **Material and Methods.** We retrospectively recruited data of extremity sarcomas treated at our hospital from January 2008 to January 2020. The epidemiological and clinical data of all the included patients was analyzed, then the surgical and oncological outcomes between obese and non-obese patients were compared (defining obesity as BMI more than 30). We hypothesized that fat deposition in the thigh in obese patients may delay the diagnosis of soft tissue sarcoma, lead to the discovery of the masses at a larger size and stage, and hence may affect the disease-free survival and the overall survival. **Results.** Obese patients had significantly larger size tumors (median: 14.7 vs 9.9 cm) and as such significantly higher T stage. Another significant finding was that the mean diameter of liposarcoma tumours was 15.1 cm, while that of non-liposarcomas was 11.3 cm (p-value=0.023). Also, although they did not have a higher prevalence of distant metastasis at initial diagnosis, their metastasis tends to be isolated in the lung. Postoperative complications occurred more frequently in obese patients in comparison to non-obese patients (p-value=0.025). Neither overall nor disease-free survivals were different among both groups, although obese patients tend to have shorter DFS. **Conclusion.** Obesity added complexity to the diagnosis and treatment of extremity sarcoma, but seems not to affect survival.

Key words: soft tissue tumours, extremity tumours, obesity, survival.

ВЛИЯНИЕ ОЖИРЕНИЯ НА ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ И ХИРУРГИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ САРКОМЫ МЯГКИХ ТКАНЕЙ БЕДРА

О. Хамди¹, Х. Аталла¹, М.Х. Рос², И.Х. Метвалли¹

Отделение хирургической онкологии, онкологический центр Университета Мансуры,

Мансура, Египет. E-mail; omarhamdy87@gmail.com¹

Университетские больницы Мансуры, Мансура, Египет²

Аннотация

Актуальность. Злокачественные опухоли мягких тканей являются гетерогенной группой опухолей с разным прогнозом и тенденцией к частому рецидивированию и отдаленному метастазированию, преимущественно в легкие. Ожирение представляет собой глобальную проблему, являясь известным фактором риска многих заболеваний, в том числе злокачественных новообразований. Хотя бедро представляет собой одну из основных областей отложения жира, оно является одним из наиболее

частых зон возникновения саркомы мягких тканей. Мы проанализировали влияние ожирения на исходы лечения у пациентов с саркомой мягких тканей (СМТ) бедра. **Материал и методы.** Представлен ретроспективный анализ результатов лечения больных с саркомами конечностей за период с января 2008 г. по январь 2020 г. Изучены эпидемиологические и клинические данные, а также хирургические и онкологические результаты лечения больных СМТ бедра с ожирением (ИМТ более 30) и без него. Мы предположили, что отложение жира в области бедра у пациентов с ожирением может затруднить диагностику СМТ и привести к выявлению опухолей большего размера и стадии, что может повлиять на безрецидивную выживаемость и общую выживаемость. **Результаты.** Пациенты с ожирением имели опухоли значимо большего размера (медиана – 14,7 против 9,9 см) и более высокую стадию Т. Средний диаметр новообразований при липосаркомах составлял 15,1 см, при опухолях иного гистотипа – 11,3 см ($p=0,023$). Чаще всего наблюдались отдаленные метастазы в легких, однако их частота в сравниваемых группах значимо не различалась. Послеоперационные осложнения чаще возникали у пациентов с ожирением ($p=0,025$). Общая и безрецидивная выживаемость (БРВ) не отличались между группами, хотя пациенты с ожирением, как правило, имеют меньшую БРВ. **Заключение.** Ожирение усложняло диагностику и лечение сарком конечностей, но, по-видимому, оно не оказывало влияния на показатели выживаемости.

Ключевые слова: опухоли мягких тканей, опухоли конечностей, ожирение, отдаленная выживаемость.

Introduction

Soft tissue sarcomas (STS) are rare neoplasms of mesenchymal origin that can occur at any anatomical site, but the most common sites are the extremities. STS are highly aggressive with a high risk of developing distant metastasis, and their management should be carried out on a multidisciplinary basis in specialized centers. The best management scenario includes wide local excision of the primary with maximal functional preservation of the limb, in addition to perioperative radiotherapy and/or chemotherapy in indicated cases [1–3]. Early diagnosis of extremity STS is crucial for the success of the treatment plan [4].

Meanwhile, obesity is an expanding epidemic that has a negative impact on cancer patients leading to increased incidence of some cancers and poorer treatment outcomes. While the thigh is one of the main fat deposition areas, it is one of the commonest sites for the incidence of soft tissue sarcoma [5, 6].

We hypothesized that fat deposition in the thigh in obese patients may delay the diagnosis of soft tissue sarcoma, lead to the discovery of the masses at a larger size and stage, and hence may affect the disease-free survival and the overall survival.

Material and Methods

This is a retrospective study, where the institutional registry at our Center, was thoroughly revised for thigh soft tissue sarcoma cases that attended the hospital from January 2008 to January 2020.

The inclusion criteria were 1) Pathological proven soft tissue sarcoma. 2) The thigh was the primary site. 3) BMI was recorded. Patients were excluded if pathology is uncertain or insufficient data were found on the registration system.

We analyzed the epidemiological and clinical data of all the included patients, then we compared the surgical and oncological outcomes between obese and non-obese patients (defining obesity as BMI more than 30).

The data of these patients were analyzed using SPSS version 22 (Inc, Chicago, IL). Continuous variables are presented as mean and standard deviation. Categorical variables are presented as proportions. Categorical variables among both groups were compared using the chi-square test and Fischer's exact test if sum less than 5; however, continuous parametric variables were compared using an independent student t-test. Survival analysis was done using a Kaplan Meier curve and significance determined by a log-rank test. $P\text{-value}<0,05$ was considered significant.

We conducted this study in compliance with the principles of the Declaration of Helsinki.

Results

Out of the total number of sarcoma patients treated in our center (more than 330), the study included 41 patients diagnosed with thigh sarcoma. Females were dominating (24: 17). The mean age at diagnosis was 47.7 years, while the mean BMI was 32.1. The most common pathological subtype was liposarcoma followed by synovial sarcoma.

Eleven patients were initially treated by systemic therapy. Bearing in mind that 8 of them were metastatic as such receiving on palliative bases, the neoadjuvant therapy was infrequently used (3 patients only). Moreover, the therapy used was dominantly chemotherapy only, except in 1 patient where combined chemoradiotherapy was given.

All operated cases even those with clinically positive nodes turned node negative in the final paraffin sections.

After a median follow-up for 13 months (0–47), recurrence was infrequent (3 cases) and all recurrences were combined local and distant, affecting the lungs in all cases, in addition to non-regional nodes in 2 cases. The clinical and pathological data of the included patients were summarized in Table 1.

The body mass index showed a linear correlation to the tumor size (Pearson correlation coefficient=0.691,

Table 1/Таблица 1

The clinical and pathological data of the included patients

Клинические и патологические данные пациентов

	Parameter/Параметр	Value/Значение
	Age, years/Возраст, лет	47,7 ± 19,1
	BMI/Индекс массы тела	32,1 ± 8,0
Gender/Пол	Male/Мужской	17 (41,5 %)
	Female/Женский	24 (58,5 %)
Histopathologic type/ Гистотип	Liposarcoma/Липосаркома	15 (36,6 %)
	Synovial sarcoma/Синовиальная саркома	11 (26,8 %)
	Pleomorphic sarcoma/Плеоморфная саркома	4 (9,8 %)
	Leiomyosarcoma/Лейомиосаркома	4 (9,8 %)
	Rhabdomyosarcoma/Рабдомиосаркома	2 (4,9 %)
	Spindle cell sarcoma/Веретеноклеточная саркома	2 (4,9 %)
	Epithelioid sarcoma/ Эпителиоидная саркома	1 (2,4 %)
	Malignant peripheral nerve sheath/ Злокачественная опухоль оболочек периферического нерва	1 (2,4 %)
	Peripheral neuroectodermal tumour/ Периферическая нейроэктодермальная опухоль	1 (2,4 %)
T stage/Т стадия	T1	2 (4,9 %)
	T2	14 (34,1 %)
	T3	13 (31,7 %)
	T4	12 (29,3 %)
Clinical N stage/ Клиническая N стадия	N0	33 (80,5 %)
	N1	8 (19,5 %)
	Pathologic N stage/ypN стадия	All operated were node-negative/ Все оперированные N-негативны
M stage/ M стадия	M0	33 (80,5 %)
	M1	8 (19,5 %)
	Isolated lung metastasis/Метастазы в легкие	4 (50,0 %)*
	Lung & non-regional nodes/ Метастазы в легкие и нерегионарные лимфоузлы	2 (25,0 %)*
	Lung & liver metastasis/Метастазы в легкие и печень	1 (12,5 %)*
	Lung & brain metastasis/ Метастазы в легкие и головной мозг	1 (12,5 %)*
Primary therapy/ Предоперационная терапия	No/Нет	30 (73,2 %)
	Yes/Да	11 (26,8 %)
	Chemotherapy alone/Химиотерапия	10 (90,9 %)*
	Chemoradiotherapy/Химиолучевая терапия	1 (9,1 %)*
Surgery/ Операция	No/Нет	8 (19,5 %)
	WLE	29 (70,7 %)
	WLE & lymph node dissection/WLE и лимфодиссекция	3 (7,3 %)
	Above-knee amputation/Ампутация выше колена	1 (2,4 %)
Complications**/ Осложнения**	No/Нет	15 (36,6 %)
	Yes/Да	14 (34,1 %)
Adjuvant therapy/ Адьювантная терапия	No/Нет	7 (17,1 %)
	Yes/Да	26 (63,4 %)
	Radiotherapy/Лучевая терапия	18 (69,2 %)*
	Chemoradiotherapy/Химиолучевая терапия	8 (30,8 %)*
Recurrence in operated patients/ Рецидивы после операций	No/Нет	28 (63,3 %)
	Yes/Да	3 (7,3 %)

Notes: * – valid percent; ** – available registered data.

Примечания: * – допустимый процент; ** – доступные зарегистрированные данные.

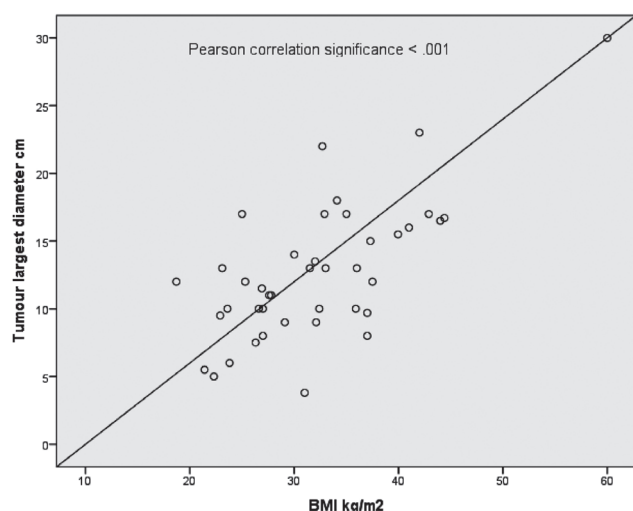


Fig. 1. Scatter graph showing the correlation between BMI and tumor size

Рис. 1. Диаграмма рассеяния, показывающая корреляцию между ИМТ и размером опухоли

p-value<0.001) (fig. 1). Obese patients had significantly larger size tumors (mean 14.7 vs 9.9 cm, p-value=0.002) and as such significantly higher T stage (11 patients diagnosed with T4 tumors vs only one patient in the non-obese group) according to AJCC 8th edition (p-value=0.035). Also, although they did not have a higher prevalence of distant metastasis at initial diagnosis, their metastasis tends to be isolated in the lung. Another significant finding was that the mean diameter of liposarcoma tumours was 15.1 cm, while that of non-liposarcomas was 11.3 cm (p-value=0.023).

In addition, postoperative complications occurred more frequently in obese patients in comparison to non-obese patients (p-value=0.025). The commonest complication in obese patients was wound dehiscence followed by seroma. Complications were mostly Clavien-Dindo (CD) 3 and 4, however; there was no significant difference either in type or CD grade of complications between the two groups. Neither overall nor disease-free survivals were different among both groups, although obese patients tend to have shorter DFS (fig. 2, 3). The comparison between the group of obese and non-obese patients is summarized in Table 2.

Discussion

Soft tissue sarcoma is a rare category of neoplasms that accounts for about 1 % of adult malignant tumors. It occurs mainly in the extremities, trunk, and retroperitoneum. STS family includes many pathological subtypes exhibiting various clinical presentations and necessitating different approaches for management putting into consideration the molecular and histological characteristics, clinical presentation, staging, and other patient-related factors. Management

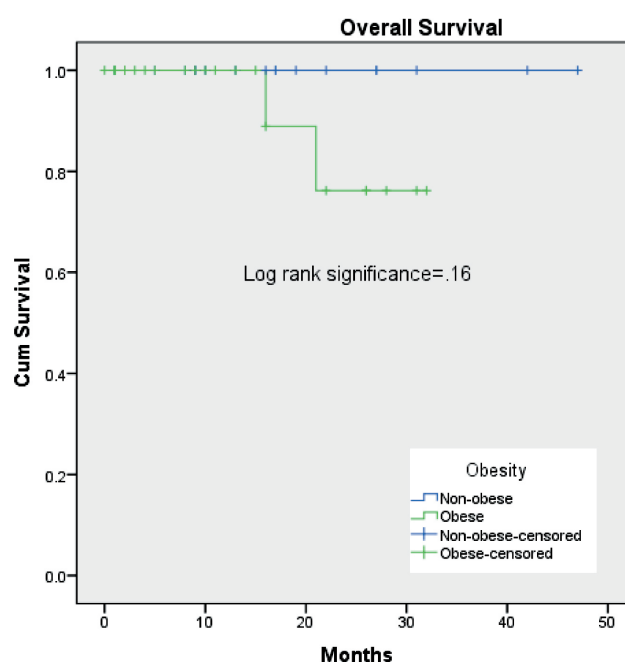


Fig. 2. Kaplan–Meier curve comparing overall survival between obese and non-obese patients

Рис. 2. Кривая Каплана–Мейера, сравнивающая общую выживаемость между пациентами с ожирением и без него

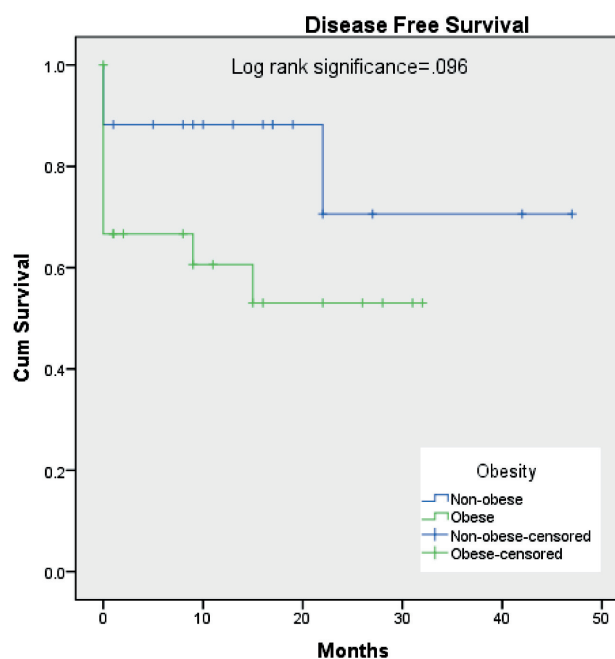


Fig. 3. Kaplan–Meier curve comparing disease-free survival between obese and non-obese patients

Рис. 3. Кривая Каплана–Мейера, сравнивающая безрецидивную выживаемость между пациентами с ожирением и без него

Table2/Таблица 2

The comparison between the group of obese and non-obese patients
Сравнение между группами пациентов с ожирением и без ожирения

Parameter/Параметр		Obese/Ожирение (n=24)	Control/Контроль (n=17)	Significance/ Значимость
Age mean, years/Средний возраст, лет		52,0 ± 16,5	41,6 ± 21,3	0,086
Gender/Пол	Male/Мужской	7 (29,2 %)	10 (58,8 %)	0,12
	Female/Женский	17 (70,8 %)	7 (41,2 %)	
Histopathologic type/ Гистотип	Liposarcoma/ Липосаркома	11 (45,8 %)	4 (23,5 %)	0,19
	Others/Другие	13 (54,2 %)	13 (76,5 %)	
Tumour size mean, cms/Средний размер опухоли, см		14,7 ± 5,4	9,9 ± 3,0	0,002
T stage/ Т стадия	T1	1 (4,1 %)	1 (5,9 %)	0,035
	T2	5 (20,8 %)	9 (52,9 %)	
	T3	7 (29,2 %)	6 (35,3 %)	
	T4	11 (45,8 %)	1 (5,9 %)	
N stage/ N стадия	N0	18 (75 %)	15 (88,2 %)	0,43
	N1	6 (25 %)	2 (11,8 %)	
	M0	18 (75,0 %)	15 (88,2 %)	
M stage/ M стадия	M1	6 (25 %)	2 (11,8 %)	0,46
	Lung metastasis/Метастазы в легкие	4 (66,7 %)	–	
	Lung & non-regional nodes/Метастазы в легкие и нерегионарные лимфоузлы	2 (33,3 %)	–	
	Lung & liver metastasis/ Метастазы в легкие и печень	–	1 (50,0 %)	
	Lung & brain metastasis/ Метастазы в легкие и головной мозг	–	1 (50,0 %)	
Primary therapy/ Предоперационная терапия	No/Нет	15 (62,5 %)	15 (88,5 %)	0,085
	Yes/Да	9 (37,5 %)	2 (11,8 %)	
Surgical treatment/ Хирургическое лечение	No/Нет	6 (25,0 %)	2 (11,8 %)	0,52
	WLE	15 (62,5 %)	14 (82,3 %)	
	WLE & LND/WLE и лимфодиссекция	2 (8,4 %)	1 (5,9 %)	
	AKA/Ампутация выше колена	1 (4,1 %)	–	
Adjuvant therapy/ Адьювантная терапия	No/Нет	7 (30,4 %)	4 (21,7 %)	1
	Yes/Да	16 (69,6 %)	11 (73,3 %)	
Postoperative complications/ Послеоперационные осложнения	No/Нет	5 (31,3 %)	10 (76,9 %)	0,025
	Yes/Да	11 (68,7 %)	3 (23,1 %)	
	Seroma/Серома	3 (27,3 %)	2 (66,7 %)	
	Bleeding/ Кровотечение	1 (9,1 %)	–	
	Wound dehiscence/Расхождение раны	6 (54,5 %)	1 (33,3 %)	
Clavein–Dindo score of complications/ Степень тяжести по Clavein–Dindo	Infection/Инфекция	1 (9,1 %)	–	0,77
	I	1	–	
	II	4	2	
	III	5	1	
Recurrence/ Рецидив	IV	1	1	1
	No/Нет	14 (87,5 %)	14 (93,3 %)	
	Yes/Да	2 (12,5 %)	1 (6,7 %)	
Overall survival/Общая выживаемость		NA	NA	0,16
Disease free survival mean/Безрецидивная выживаемость		18,6 months/мес	37,1 months/мес	0,096

of STS is preferably carried out on a multidisciplinary basis in specialized centers [7, 8].

Nearly, 40–60 % of STS occur in the extremities. 80 % of extremity STS occur in the lower limb. The most common pathological subtypes are undifferentiated pleomorphic sarcoma, leiomyosarcoma, liposarcoma, angiosarcoma, epithelioid sarcoma, and synovial

sarcoma. The pathological subtype is considered an important prognostic factor in addition to the tumor grade and size. Old patient's age, margin status, and the deep location of the tumor affect prognosis as well [3, 7, 9–11]. The most common pathological subtype in our group was liposarcoma followed by synovial sarcoma.

Management of extremity STS is built on MDT decision. The cornerstone for management in non-metastatic cases is a wide-margin oncologic resection that preserves the limb function. Amputation is reserved for non-candidates for limb-sparing surgery after neoadjuvant therapy or for local recurrent selected cases. Preoperative or postoperative radiation is recommended in stages II, IIIA & IIIB. Neoadjuvant and adjuvant chemotherapy is not the standard of care, but it can be considered in selected cases. Isolated limb perfusion/infusion may have a role in locally advanced non-metastatic tumors [7–10, 12–15]. Upfront surgery with wide margins following a limb preserving strategy was the most common intervention performed in our patients' group.

Extremity soft tissue sarcoma usually presents as a painless mass with a slow rate of growth. The gradual size progression is the single most important warning sign. Large size more than 5 centimeters, pain, being deep to the deep fascia, and recurrence after resection are important alarms as well [9, 16]. In our research, we hypothesized that obesity may hinder palpation of the mass and may delay the discovery of deep masses leading to the presentation of the disease at a more advanced stage the body fat deposition may mask the discovery of the swelling [11].

Obesity is a major health problem with increasing incidence worldwide. It affects -along with overweight- more than one-third of the world population. Obesity is considered the second leading cause of preventable death in the United States after cigarette smoking. This increasing incidence led to considering obesity as an "epidemic" disease which led to many health and economic challenges. Obesity increases the risk of chronic disease incidence and morbidities such as diabetes mellitus, depression, cardiovascular diseases, shortened life expectancy, and mortality. It is linked also to increased incidence of some cancers as well as cancer-related complications. Body mass index (BMI) is used as an acceptable index to define obesity which starts from a BMI of more than 30 [17–21]. In our locality, the prevalence of obesity reaches up to 46 % in females and 22 % in males [22].

The thigh is considered one of the body fat stores which include the abdominal and the subscapular areas as well [6]. We supposed that being a fat store, the fat deposition in the thigh may hinder the discovery of small-sized soft tissue masses leading to a delayed discovery of soft tissue sarcoma. That was clear as regards the size of tumors at the initial discovery in obese versus non-obese patients. Obese patients

present with larger-sized tumors and a higher T stage. Also, the larger diameter of liposarcoma tumours VS. non-liposarcomatous tumours can share in explanation of the greater size of the tumors in the obese group being more of the lipocyte originating sarcoma type.

Obesity has been related to poorer outcomes in patients with extremity soft tissue sarcoma as STS in obese patients is associated with larger tumor sizes, increased surgical complexity, and complications [10]. It has been reported to increase the incidence of STS as well [23, 24]. Despite the effect on incidence, Alamanda and his colleagues reported that there was no negative impact on survival for obese patients with extremity soft tissue sarcoma [5]. The same results were confirmed by Houdek et al. and Montgomery et al., who reported that obesity does not have a negative impact on functional and oncological outcomes, but they reported an increased incidence of postoperative infection and wound complications in morbidly obese patients necessitating re-admission to the operative theater with the possibility of increased perioperative morbidity and even mortality [11, 24]. In our study, obesity did not affect overall survival or disease-free survival. Yet, obese patients tend to have shorter disease-free survival and coping with published literature – a higher incidence of postoperative complications.

Our study has limitations; being retrospective, the relatively low number of patients, the non-uniform treatment protocols over the years, and the absence of the measurement of thigh circumference.

Conclusion

Obese patients with thigh soft tissue sarcoma present with larger-sized tumors, a significantly higher T stage, a tendency for isolated lung metastasis, and a higher rate of perioperative complications. Overall survival and disease-free survival are not affected by BMI, although obese patients tend to have shorter disease-free survival.

Ethical approval & consent to participate

All procedures performed in the study were following the ethical standards of the institutional research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments. This is a retrospective study for which a specific ethical committee approval is not needed.

Availability of data and materials

All the clinical, radiological & pathological data used in this manuscript is available on our University database medical system.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Hasley I., Gao Y., Blevins A.E., Miller B.J. The Significance of a «Close» Margin in Extremity Sarcoma: A Systematic Review. Iowa Orthop J. 2018; 38: 123–30.
2. Jacobs A.J., Michels R., Stein J., Levin A.S. Improvement in Overall Survival from Extremity Soft Tissue Sarcoma over Twenty Years. Sarcoma. 2015; 2015: 279601. doi: 10.1155/2015/279601.
3. Atean I., Pointreau Y., Rosset P., Garaud P., De-Pinieux G., Calais G. Prognostic factors of extremity soft tissue sarcoma in adults. A single institutional analysis. Cancer/Radiothérapie. 2012; 16(8): 661–6.

4. Park J.H., Kang C.H., Kim C.H., Chae I.J., Park J.H. Highly malignant soft tissue sarcoma of the extremity with a delayed diagnosis. World J Surg Oncol. 2010; 8: 84. doi: 10.1186/1477-7819-8-84.

5. Alamanda V.K., Moore D.C., Song Y., Schwartz H.S., Holt G.E. Obesity does not affect survival outcomes in extremity soft tissue sarcoma. Clin Orthop Relat Res. 2014; 472(9): 2799–806. doi: 10.1007/s11999-014-3714-7.

6. Karastergiou K., Smith S.R., Greenberg A.S., Fried S.K. Sex differences in human adipose tissues – the biology of pear shape. Biol Sex Differ. 2012; 3(1): 13. doi: 10.1186/2042-6410-3-13.

7. Gamboa A.C., Gronchi A., Cardona K. Soft-tissue sarcoma in adults: An update on the current state of histiotype-specific management in an era of personalized medicine. *CA Cancer J Clin.* 2020; 70(3): 200–29. doi: 10.3322/caac.21605.
8. Casali P.G., Abecassis N., Aro H.T., Bauer S., Biagini R., Bielack S., Bonvalot S., Boukovinas I., Bovee J.V.M.G., Brodowicz T., Broto J.M., Buonadonna A., De Alava E., Dei Tos A.P., Del Muro X.G., Dileo P., Eriksson M., Fedenko A., Ferraresi V., Ferrari A., Ferrari S., Frezza A.M., Gasperoni S., Gelderblom H., Gil T., Grignani G., Gronchi A., Haas R.L., Hassan B., Hohenberger P., Issels R., Joensuu H., Jones R.L., Judson I., Jutte P., Kaal S., Kasper B., Kopeckova K., Krákorová D.A., Le Cesne A., Lugowska I., Merimsky O., Montemurro M., Pantaleo M.A., Piana R., Picci P., Piperno-Neumann S., Pousa A.L., Reichardt P., Robinson M.H., Rutkowski P., Safwat A.A., Schöffski P., Sleijfer S., Stacchiotti S., Sundby Hall K., Unk M., Van Coevorden F., van der Graaf W.T.A., Whelan J., Wardelmann E., Zaikova O., Blay J.Y.; ESMO Guidelines Committee and EURACAN. Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2018; 29. doi: 10.1093/annonc/mdy096.
9. Puri A., Gulia A. Management of extremity soft tissue sarcomas. *Indian J Orthop.* 2011; 45(4): 301–6. doi: 10.4103/0019-5413.82332.
10. Brinkmann E.J., Ahmed S.K., Houdek M.T. Extremity Soft Tissue Sarcoma: Role of Local Control. *Curr Treat Options Oncol.* 2020; 21(2): 13. <https://doi.org/10.1007/s11864-020-0703-9>.
11. Montgomery C., Harris J., Siegel E., Suva L., Wilson M., Morell S., Nicholas R. Obesity is associated with larger soft-tissue sarcomas, more surgical complications, and more complex wound closures (obesity leads to larger soft-tissue sarcomas). *J Surg Oncol.* 2018; 118(1): 184–91. doi: 10.1002/jso.25119.
12. Stevenson M.G., Musters A.H., Geertzen J.H.B., van Leeuwen B.L., Hoekstra H.J., Been L.B. Amputations for extremity soft tissue sarcoma in an era of limb salvage treatment: Local control and survival. *J Surg Oncol.* 2018; 117(3): 434–42. doi: 10.1002/jso.24881.
13. Byerly S., Chopra S., Nassif N.A., Chen P., Sener S.F., Eisenberg B.L., Tseng W.W. The role of margins in extremity soft tissue sarcoma. *J Surg Oncol.* 2016; 113(3): 333–8. doi: 10.1002/jso.24112.
14. Al-Refaie W.B., Habermann E.B., Jensen E.H., Tuttle T.M., Pisters P.W., Virnig B.A. Surgery alone is adequate treatment for early stage soft tissue sarcoma of the extremity. *Br J Surg.* 2010; 97(5): 707–13. doi: 10.1002/bjs.6946.
15. Endo M., Lin P.P. Surgical margins in the management of extremity soft tissue sarcoma. *Chin Clin Oncol.* 2018; 7(4): 37. doi: 10.21037/cco.2018.08.10.
16. Umer H.M., Umer M., Qadir I., Abbasi N., Masood N. Impact of unplanned excision on prognosis of patients with extremity soft tissue sarcoma. *Sarcoma.* 2013. doi: 10.1155/2013/498604.
17. Hales C.M., Carroll M.D., Fryar C.D., Ogden C.L. Prevalence of Obesity and Severe Obesity Among Adults: United States, 2017–2018. 2020; (360): 1–8.
18. Wang Y., Beydoun M.A., Min J., Xue H., Kaminsky L.A., Cheskin L.J. Has the prevalence of overweight, obesity and central obesity levelled off in the United States? Trends, patterns, disparities, and future projections for the obesity epidemic. *Int J Epidemiol.* 2020; 49 (3): 810–23. doi: 10.1093/ije/dyz273.
19. Wolin K.Y., Carson K., Colditz G.A. Obesity and cancer. *Oncologist.* 2010; 15(6): 556–65. doi: 10.1634/theoncologist.2009-0285.
20. Nguyen D.M., El-Serag H.B. The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am.* 2010; 39(1): 1–7. doi: 10.1016/j.gtc.2009.12.014.
21. Hruby A., Hu F.B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics.* 2015; 33(7): 673–89. doi: 10.1007/s40273-014-0243-x.
22. Alebshehy R., Shuaib N.M., Mbako J.D., Barffo D., Nuotol R.K. Determinant Analysis of Obesity among Adult Females in Egypt. *Egypt J Hosp Med.* 2016; 65(1): 662–9. doi: 10.12816/0033779.
23. Tavani A., Soler M., La Vecchia C., Negri E., Gallus S., Franceschi S. Body weight and risk of soft-tissue sarcoma. *Br J Cancer.* 1999; 81(5): 890–2. doi: 10.1038/sj.bjc.6690781.
24. Houdek M.T., Hevesi M., Griffin A.M., Wunder J.S., Ferguson P.C. Morbid Obesity Is Associated With an Increased Risk of Wound Complications and Infection After Lower Extremity Soft-tissue Sarcoma Resection. *J Am Acad Orthop Surg.* 2019; 27(21): 807–15. doi: 10.5435/JAAOS-D-18-00536.

Поступила/Received 06.08.2021
Принята в печать/Accepted 04.10.2021

ABOUT THE AUTHORS

Omar Hamdy, MD, Lecturer, Surgical Oncology Unit, Oncology Center Mansoura University (OCMU) (Mansoura, Egypt). Researcher ID (WOS): W-8287-2019. Author ID (Scopus): 57200278486. ORCID: 0000-0002-2924-4207.
Khalid Atallah, MSc, Assistant Lecturer, Surgical Oncology Unit, Oncology Center Mansoura University (OCMU) (Mansoura, Egypt). Author ID (Scopus): 57208687994. ORCID: 0000-0001-6503-4867.
Mohamed H. Ros, MB BCH, Medical Intern, Mansoura University Hospitals (Mansoura, Egypt). Author ID (Scopus): 57208507986. ORCID: 0000-0002-7150-9424.
Islam H. Metwally, MD, MRCS, Lecturer, Surgical Oncology Unit, Oncology Center Mansoura University (OCMU) (Mansoura, Egypt). Author ID (Scopus): 57142135100. ORCID: 0000-0002-5981-9614.

AUTHOR CONTRIBUTION

Omar Hamdy: conceived the study, analyzed the data, and wrote the manuscript.
Khalid Atallah: collected the data and approved the manuscript.
Mohamed H. Ros: collected the data and approved the manuscript.
Islam H. Metwally: reviewed the statistics, and all authors discussed the manuscript.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Омар Хамди, MD, преподаватель, Отделение хирургической онкологии, онкологический центр Университета Мансуры (Мансура, Египет). Researcher ID (WOS): W-8287-2019. Author ID (Scopus): 57200278486. ORCID: 0000-0002-2924-4207.
Халид Аталла, MSc, преподаватель, Отделение хирургической онкологии, онкологический центр Университета Мансуры (Мансура, Египет). Author ID (Scopus): 57208687994. ORCID: 0000-0001-6503-4867.
Мохамед Х. Рос, MB BCH, медицинский стажер, Университетские больницы Мансуры (Мансура, Египет). Author ID (Scopus): 57208507986. ORCID: 0000-0002-7150-9424.

Ислам Х. Метвалли, MD, MRCS, член Королевской коллегии хирургов, Отделение хирургической онкологии, онкологический центр Университета Мансуры (Мансура, Египет). Author ID (Scopus): 57142135100. ORCID: 0000-0002-5981-9614.

ВКЛАД АВТОРОВ

Омар Хамди: разработка концепции научной работы, сбор и обработка данных, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Халид Аталла: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Мохамед Х. Рос: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Ислам Х. Метвалли: анализ полученных результатов, статистическая обработка.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-99-106
УДК: 618.19-006.6-08-059:616.98

Для цитирования: Каприн А.Д., Зикийяходжаев А.Д., Босиева А.Р., Самсонов Ю.В., Костин А.А. Комбинированное и комплексное лечение больных раком молочной железы в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 99–106. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-99-106
For citation: Kaprin A.D., Zakiryakhodzhayev A.D., Bosieva A.R., Samsonov Yu.V., Kostin A.A. Combination treatment of breast cancer patients during the COVID-19 pandemic. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 99–106. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-99-106

КОМБИНИРОВАННОЕ И КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19)

А.Д. Каприн^{1,2,3}, А.Д. Зикийяходжаев^{2,4}, А.Р. Босиева²,
Ю.В. Самсонов^{2,3}, А.А. Костин^{1,3}

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Москва, Россия¹

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3¹

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Москва, Россия²

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3. E-mail: ms.bosieva@mail.ru²

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия³

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6³

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия⁴

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2, Россия⁴

Аннотация

Цель исследования – изучить результаты наиболее значимых исследований, представляющие основные принципы диагностики и лечения больных раком молочной железы (РМЖ) в период пандемии COVID-19. **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников был осуществлен в системах PubMed, Cochrane Library, Web of Science, изучены публикации за 2019–20 гг., 48 из которых были использованы для написания данного обзора. **Результаты.** В период пандемии COVID-19 необходимо на определённый промежуток времени приостановить проведение скрининговых обследований, больных ранним и метастатическим РМЖ следует перевести на амбулаторное лечение в лечебных учреждениях (ЛУ), находящихся по месту их проживания. Обследования и консультативные приемы пациентов, находящихся в процессе гормонотерапии, должны быть отложены или проводиться с использованием телемедицинских технологий. Лечение больных РМЖ в период пандемии должно проводиться согласно клиническим рекомендациям и протоколам, но минимизируя количество посещений в ЛУ. **Заключение.** Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) представляет серьезную проблему для здравоохранения и специалистов во всем мире. Все решения по выработке тактики лечения должны приниматься с учетом рисков и преимуществ в контексте каждого этапа пандемии, в индивидуальном порядке и с учетом предпочтений больных.

Ключевые слова: рак молочной железы, новая коронавирусная инфекция, COVID-19.

COMBINATION TREATMENT OF BREAST CANCER PATIENTS DURING THE COVID-19 PANDEMIC

A.D. Kaprin^{1,2,3}, A.D. Zakiryakhodzhaev^{2,4}, A.R. Bosieva²,
Yu.V. Samsonov^{2,3}, A.A. Kostin^{1,3}

NMITs radiology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia¹

3, 2nd Botkinsky Ave., 125284, Moscow, Russia¹

The Moscow Research Institute of Oncology named after P.A. Herzen – branch of the NMITs radiology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia²

3, 2nd Botkinsky Ave., 125284, Moscow, Russia. E-mail: ms.bosieva@mail.ru²

RUDN University, Moscow, Russia³

6, Miklukho-Maklaya St., 117198, Moscow, Russia³

Sechenov University, Moscow, Russia⁴

8/2, Trubetskaya St., 119991, Moscow, Russia⁴

Abstract

The aim of the study was to analyze the most significant studies representing the basic principles of diagnosis and treatment of patients with breast cancer (BC) during the COVID-19 pandemic. **Material and Methods.** The search for relevant sources was carried out in PubMed, Cochrane Library, Web of Science systems, publications for 2019–2020 were studied, 48 of which were used to write this review. **Results.** During the COVID-19 pandemic, it is necessary to suspend screening examinations for a certain period of time; patients with early and metastatic breast cancer should be transferred to outpatient treatment in the LUs located in their place of residence. Examinations and consultations of patients undergoing hormone therapy should be postponed or carried out using telemedicine technologies. Treatment of breast cancer patients during a pandemic should be carried out according to clinical guidelines and protocols, but minimizing the number of visits to the hospitals. **Conclusion.** The pandemic of the novel coronavirus infection (COVID-19) is a serious problem for healthcare and professionals around the world. All treatment decisions must be based on risks and benefits in the context of each stage of the pandemic, on an individual basis and taking into account the preferences of patients.

Key words: breast cancer, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, COVID-19.

Введение

Тяжелый острый респираторный синдром, вызван коронавирусом 2 (SARS-CoV-2) – новым оболочечно-однопочечным РНК-содержащим вирусом, относящимся к роду *Betacoronavirus*. Впервые вспышка данной вирусной инфекции возникла в декабре 2019 г. в Китае, городе Ухань. Самыми тяжелыми клиническими проявлениями являются вирусная пневмония с лихорадкой, кашель, одышка. По данным Китайского центра по контролю и профилактике, 80 % заболевших перенесли заболевание в легкой форме, 14 % – в тяжелой форме (одышка, развитие гипоксии, поражение более 50 % легочной ткани), 5 % – находились в критическом состоянии (дыхательная и/или полиорганная недостаточность) [1]. Примерно 20–30 % больных, которые были госпитализированы с подтвержденной коронавирусной пневмонией, нуждались в интенсивной дыхательной поддержке [2, 3]. Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) – общее осложнение вирусных пневмоний, включающее пневмонию, обусловленное высокопатогенными коронавирусами SARS-CoV и MERS-CoV [4]. Из 1099 больных, госпитализированных с подтвержденной коронавирусной

пневмонией, ОРДС диагностирован в 15,6 % [5]. По данным исследования, проведенного в Нью-Йорке, являющемся эпицентром COVID-19 в США, из 2634 больных, госпитализированных с 1 марта по 4 апреля 2020 г., 14,2 % нуждались в интенсивной терапии, 12,2 % находились на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), в 21 % случаев наступили летальные исходы. Смертность среди больных, находящихся на ИВЛ, составила 88,1 % [6].

Факторы, вызывающие воспалительную реакцию, недостаточно изучены, а развитие некоторых инфекционных заболеваний зависит не только от вирусной нагрузки. Чрезмерный воспалительный ответ на SARS-CoV-2 обуславливает тяжесть течения заболевания, развитие летальных исходов, что связано с высоким уровнем циркулирующих цитокинов, глубокой лимфопенией, стойкой инфильтрацией мононуклеарами легких, сердца, селезенки, лимфатических узлов, почек [8, 9].

Пандемия новой коронавирусной инфекции привела к перегрузке больничных систем во всех пострадавших регионах [10–12]. Ресурсы здравоохранения (как человеческие, так и материальные) были реорганизованы для лечения большого числа пациентов, нуждающихся в интенсивной терапии,

ИБЛ, а в некоторых случаях – экстракорпоральной мембранной оксигенации [13]. Даже в тех странах, где COVID-19 не достиг очень высокого уровня заболеваемости, проводятся мероприятия, направленные на предотвращение дальнейшего распространения инфекции. Пандемия COVID-19 привела к внезапному изменению и прекращению оказания обычной медицинской помощи, в том числе лечения онкологических больных, являющихся особенно уязвимой группой населения [14]. Одной из острых проблем в период пандемии стал кадровый дефицит в онкологических учреждениях в результате перепрофилирования отделений, перераспределения медицинского и вспомогательного персонала, а также в результате самоизоляции сотрудников с подозрительными симптомами и/или положительным тестом на SARS-CoV-2 [15, 16]. Большинство амбулаторных приемов были заменены на консультации с использованием телемедицинских технологий либо отложены на более поздний срок. Вне зависимости от того, находится больной в лечебно-профилактическом учреждении общего или онкологического профиля, необходимо принимать меры по защите пациентов, медицинского персонала, создать безопасные условия для реализации схемы лечения онкологических больных, которые инфицированы COVID-19.

Целью исследования явилось изучение наиболее значимых публикаций, представляющих основные принципы диагностики и лечения больных раком молочной железы (РМЖ) в период пандемии COVID-19, а также выделение критериев оказания медицинской помощи и определение приоритетов лечения в соответствии с пандемическим сценарием в каждой стране/регионе.

1.1. Стратификация факторов риска [17, 18]

I. Больные РМЖ, у которых диагноз установлен впервые.

II. Больные РМЖ, находящиеся в процессе комбинированного/комплексного лечения (в процессе химиотерапии, иммунотерапии, таргетной и гормональной терапии).

III. Больные РМЖ, находящиеся в процессе динамического наблюдения или в процессе гормональной терапии.

Дополнительные факторы риска:

- возраст старше 60 лет;
- сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания;
- сопутствующие заболевания органов дыхательной системы;
- вредные привычки (курение).

1.2. Рекомендации общего характера

1. Соблюдение всеми больными основных мер предосторожности: социального дистанцирования, использования средств индивидуальной защиты

(маски, респираторы, перчатки) при посещении лечебных учреждений (ЛУ).

2. Важное значение имеет раннее выявление симптомов, подозрительных на SARS-CoV-2, а также симптомов или нежелательных явлений, вызванных противоопухолевым лечением. Термометрия должна осуществляться при входе в ЛУ. Пациенты с симптомами, подозрительными на SARS-CoV-2, должны проходить тестирование на COVID-19.

3. Онкологических пациентов необходимо госпитализировать в стационары, где не проходят лечение больные COVID-19 или с подозрением на COVID-19.

4. Запрещение посещения родственников или сопровождающих лиц в онкологический стационар.

5. Необходимо организовать работу медицинского персонала посменно, с целью сокращения количества работающих одновременно до минимально необходимого.

6. Все больные должны проходить тестирование на SARS-CoV-2 перед госпитализацией в онкологический стационар на хирургическое лечение либо для выполнения любой инвазивной диагностической/лечебной процедуры. При положительном результате проведения хирургического лечения и/или инвазивных процедур необходимо отложить до получения двух отрицательных результатов [19].

1.3. Диагностика и скрининг

Проведение маммографического скрининга необходимо приостановить как из-за сокращения материальных и кадровых ресурсов, так и для обеспечения безопасности больных, медицинского персонала до окончания пандемии COVID-19 [13, 14, 20, 21].

Диагностические процедуры необходимо планировать с учетом доступности и ресурсов в каждом регионе. Следует предпринять усилия, направленные на избежание задержек верификации диагноза при наличии симптомов, подозрительных на рак [BIRADS 5 (высокий приоритет) или BIRADS 4 (средний приоритет)] [13, 14, 18, 20–23]. Важен баланс между поддержанием высокого качества лечения РМЖ, не ставящего под угрозу исходы лечения, и минимизацией риска как заражения SARS-CoV-2, так и осложнений противоопухолевого лечения.

1.4. Хирургическое лечение РМЖ

Согласно многим исследованиям, рекомендуется распределять больных РМЖ, которым показано хирургическое лечение, на 4 категории [22, 24–26]:

Больные РМЖ, которым показано хирургическое лечение в срочном порядке (в течение 2 нед):

- пациентки со значительной опухолевой нагрузкой, у которых отсутствует ответ на системное лекарственное лечение;

- РМЖ у беременных;
- местнораспространённый РМЖ, не поддающийся системной лекарственной терапии (СЛТ).

Больные с высоким приоритетом (проведение хирургического лечения в течение 4 нед):

- с ранним локорегионарным рецидивом (в течение 48 мес после первичного лечения);
- имеющие противопоказания к проведению СЛТ.

Больные со средним приоритетом (проведение хирургического лечения в течение 8 нед):

- больные РМЖ, которым на первом этапе проведена неоадъювантная лекарственная терапия (НАЛТ) (желательно выполнение хирургического лечения через 4–6 нед после завершения НАЛТ);
- больные люминальным типом РМЖ, находящиеся в пременопаузальном периоде, не имеющие показаний к НАЛТ.

Больные с низким приоритетом (проведение хирургического лечения спустя 8 нед):

- РМЖ *in situ* (однако больные с ER, PR-негативными опухолями или при наличии обширных микрокальцинатов могут попадать в категорию промежуточных приоритетов в зависимости от каждой конкретной клинической ситуации);
- больные РМЖ люминальным типом А, находящиеся в постменопаузе. У данной группы больных может быть начата неоадъювантная гормональная терапия и отложено хирургическое лечение.

1.5. Дистанционная лучевая терапия (ДЛТ)

Важным подходом в период пандемии при лечении онкологических заболеваний является использование ресурсоемких методов лечения при наличии данных, подтверждающих их безопасность. Данные рекомендации могут быть рассмотрены и приняты для каждого конкретного случая, с учетом факторов, способствующих предотвращению распространения вирусной инфекции [27]:

1. Отложить ДЛТ до 3 мес при высокой степени и до 6 мес при промежуточной степени риска заболевания. До недавнего времени для повышения эффективности лечения клинические протоколы были основаны на принципе начала ДЛТ в максимально короткое время после завершения хирургического этапа. Однако согласно результатам недавних исследований, более ранние сроки начала ДЛТ не ассоциированы с улучшением онкологических результатов [28].

2. Проведение умеренного гипофракционирования на область молочной железы или переднебоковой грудной стенки, зоны регионарного лимфооттока в СОД 40 Гр (15 фракций в течение 3 нед) [28–30]. Использование умеренного гипофракционирования уже является стандартом лечения во многих странах, а в период пандемии COVID-19 должно быть альтернативным вариантом лечения для всех больных РМЖ, в том числе после реконструктивно-пластических операций.

3. Проведение ДЛТ в течение 5 фракций при отрицательном нодальном статусе и при отсутствии показаний к проведению дополнительной лучевой терапии на зону буста: СОД 28–30 Гр за одну неделю, общей продолжительностью 5 нед или 26 Гр ежедневно в течение недели, согласно исследованиям FAST и FAST Forward, соответственно. Авторы данных исследований планируют в ближайшее время представить данные по 5-летней безрецидивной выживаемости. Стоит отметить, что данные токсического воздействия этих схем лечения на здоровые ткани эквивалентны схеме лечения – 40 Гр в течение 15 фракций [31–33].

4. Возможна отмена дополнительной ЛТ на зону буста у большинства больных РМЖ, кроме пациенток моложе 40 лет или с выраженными факторами риска рецидивирования [34].

5. Отказ от ДЛТ должен рассматриваться у больных пожилого возраста и с низкой степенью риска рецидивирования [35–38].

1.6. Системная лекарственная терапия

При проведении системной лекарственной терапии повышается риск развития иммуносупрессии, что может иметь негативные последствия во время пандемии COVID-19. Авторами нескольких исследований были предложены следующие меры по снижению данных рисков [40]:

При проведении схем полихимиотерапии со средним и высоким уровнем развития иммуносупрессии (препаратами антрациклинового ряда, платиносодержащая терапия) следует назначить гемопоэтические факторы роста для снижения риска развития нейтропении.

Сократить количество посещений в ЛУ, предпочтительными схемами лечения должны быть 2- или 3-недельные режимы химиотерапии.

При тройном негативном РМЖ необходимо принять во внимание высокую гематологическую токсичность и риск иммуносупрессии при добавлении платиносодержащих препаратов к антрациклам и таксанам.

При Her2/neu-позитивном типе РМЖ, согласно международным стандартам и протоколам лечения, необходимо продолжение таргетной терапии, учитывая ее положительное влияние на безрецидивную и общую выживаемость и отсутствие негативного влияния в период пандемии COVID-19. Пациенткам с низкой степенью риска возможно сокращение сроков таргетной терапии до 6 мес, исключая тех больных, которые получают паклитаксел в еженедельном режиме с трастузумабом [41].

Адювантную гормонотерапию, включающую оварияльную супрессию у женщин в пременопаузе, следует проводить согласно стандартным рекомендациям, так как отсутствуют дополнительные риски.

1.7. Системная лекарственная терапия при метастатическом раке молочной железы (мРМЖ) [42]

При Er, Pg-позитивных или Her2/neu-негативных опухолях гормонотерапия является предпочтительной для большинства больных мРМЖ.

Одним из самых сложных моментов лечения в период пандемии COVID-19 является добавление ингибиторов CDK 4/6 ввиду их выраженного иммуносупрессивного действия.

При добавлении ингибиторов mTOR или PI3K-ингибиторов к гормонотерапии должны учитываться их иммуносупрессивное действие и риск развития пневмонитов, а также других выраженных побочных явлений. В период пандемии решение о добавлении ингибиторов mTOR или PI3K-ингибиторов к гормонотерапии необходимо принимать, учитывая темпы прогрессирования заболевания и возможность их дальнейшего использования спустя некоторое время.

При химиотерапии следует отдавать предпочтение препаратам с более низким риском иммуносупрессии (например, капецитабин), в том числе при тройном негативном или Her2/neu-позитивном мРМЖ.

В тех случаях, когда использование препаратов с высоким иммуносупрессивным действием

необходимо, предпочтение следует отдавать 3-недельному режиму введения липосомальных форм антрациклинов с использованием таксанов или платиносодержащих препаратов.

При Her2/neu-позитивном мРМЖ рекомендуется продолжение таргетной терапии согласно международным стандартам лечения [43–48].

Заключение

В период пандемии COVID-19 необходимо на определённый промежуток времени приостановить скрининговые обследования, больных ранним и метастатическим РМЖ следует перевести на амбулаторное лечение в ЛУ по месту проживания. Обследования и консультативные приемы пациентов в процессе гормонотерапии должны быть отложены или проводиться с использованием телемедицинских технологий. Лечение больных РМЖ в период пандемии должно проводиться согласно клиническим рекомендациям и протоколам, минимизируя количество посещений ЛУ. Все решения по выработке тактики лечения должны приниматься с учетом рисков и преимуществ в контексте каждого этапа пандемии, в индивидуальном порядке и с учетом предпочтений больных.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wu C., Chen X., Cai Y., Xia J., Zhou X., Xu S., Huang H., Zhang L., Zhou X., Du C., Zhang Y., Song J., Wang S., Chao Y., Yang Z., Xu J., Zhou X., Chen D., Xiong W., Xu L., Zhou F., Jiang J., Bai C., Zheng J., Song Y. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020; 180(7): 934–43. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.
2. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395(10223): 507–13. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
3. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo T., Jiang R., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395(10223): 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
4. Channappanavar R., Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2017; 39(5): 529–39. doi: 10.1007/s00281-017-0629-x.
5. Yue H., Bai X., Wang J., Yu Q., Liu W., Pu J., Wang X., Hu J., Xu D., Li X., Kang N., Li L., Lu W., Feng T., Ding L., Li X., Qi X; Gansu Provincial Medical Treatment Expert Group of COVID-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in Gansu province, China. *Ann Palliat Med.* 2020; 9(4): 1404–12. doi: 10.21037/apm-20-887.
6. Richardson S., Hirsch J.S., Narasimhan M., Crawford J.M., McGinn T., Davidson K.W.; the Northwell COVID-19 Research Consortium; Barnaby D.P., Becker L.B., Chelico J.D., Cohen S.L., Cookingham J., Coppa K., Diefenbach M.A., Dominello A.J., Duer-Hefele J., Falzon L., Gitlin J., Hajizadeh N., Harvin T.G., Hirschwerk D.A., Kim E.J., Kozel Z.M., Marrast L.M., Mogavero J.N., Osorio G.A., Qiu M., Zanos T.P. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA.* 2020; 323(20): 2052–9. doi: 10.1001/jama.2020.6775.
7. Hadjadj J., Yatim N., Barnabei L., Corneau A., Boussier J., Smith N., Péré H., Charbit B., Bonnet V., Chenevier-Gobeaux C., Breillat P., Carlier N., Gauzit R., Morbieu C., Pène F., Marin N., Roche N., Szwed T.-A., Merkling S.H., Trehuier J.-M., Veyer D., Mouthon L., Blanc C., Tharaux P.-L., Rozenberg F., Fischer A., Duffy D., Rieux-Laucat F., Kernès S., Terrier B. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science.* 2020; 369(6504): 718–24. doi: 10.1126/science.abc6027.
8. Mehta P., McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J.; HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020; 395(10229): 1033–4. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0.
9. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H., Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.-S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020; 8(4): 420–2. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
10. Livingston E., Bucher K. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Italy. *JAMA.* 2020; 323(14): 1335. doi: 10.1001/jama.2020.4344.
11. Onder G., Rezza G., Brusaferro S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. *JAMA.* 2020; 323(18): 1775–6. doi: 10.1001/jama.2020.4683.
12. Remuzzi A., Remuzzi G. COVID-19 and Italy: what next? *The Lancet.* 2020; 395(10231): 1225–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30627-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30627-9).
13. Hollander J.E., Carr B.G. Virtually Perfect? Telemedicine for COVID-19. *N Engl J Med.* 2020; 382(18): 1679–81. doi: 10.1056/NEJMp2003539.
14. Ueda M., Martins R., Hendrie P.C., McDonnell T., Crews J.R., Wong T.L., McCreery B., Jagels B., Crane A., Byrd D.R., Pergam S.A., Davidson N.E., Liu C., Stewart F.M. Managing Cancer Care During the COVID-19 Pandemic: Agility and Collaboration Toward a Common Goal. *J Natl Compr Canc Netw.* 2020; 20: 1–4. doi: 10.6004/jnccn.2020.7560.
15. Exance A. COVID-19 and long term conditions: what if you have cancer, diabetes, or chronic kidney disease? *BMJ.* 2020; 368. doi: 10.1136/bmj.m1174.
16. Deming W.E. Out of the crisis. 1986.
17. Liang W., Guan W., Chen R., Wang W., Li J., Xu K., Li C., Ai Q., Lu W., Liang H., Li S., He J. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol.* 2020; 21(3): 335–7. doi: 10.1016/S1473-2445(20)30096-6.
18. Patel K., Choudhury A., Hoskin P., Varughese M., James N., Huddart R., Birtle A. Clinical Guidance for the Management of Patients with Urothelial Cancers During the COVID-19 Pandemic – Rapid Review. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2020; 32(6): 347–53. doi: 10.1016/j.clon.2020.04.005.
19. Biganzoli L., Cardoso F., Beishon M., Cameron D., Cataliotti L., Coles C.E., Delgado Bolton R.C., Trill M.D., Erdem S., Fjell M., Geiss R., Goossens M., Kuhl C., Marotti L., Naredi P., Oberst S., Palussière J.,

Ponti A., Rosselli Del Turco M., Rubio I.T., Sapino A., Senkus-Konefka E., Skelin M., Sousa B., Saarto T., Costa A., Poortmans P. The requirements of a specialist breast centre. *Breast*. 2020; 51: 65–84. doi: 10.1016/j.breast.2020.02.003.

20. ASBrS ACR. ASBrS and ACR joint statement on breast screening exams during the COVID-19 pandemic. 2020.

21. ASCO. Care of individuals with cancer during COVID-19. 2020.

22. ASBrS. Recommendations for prioritization, treatment and triage of breast cancer patients during the COVID-19 pandemic: executive summary. 2020.

23. ECCO. Statement on COVID-19 from the European cancer organization's board of directors. 2020.

24. ACS. COVID-19. Guidance for triage of non-emergent surgical procedures. 2020.

25. ACS. COVID-19. Recommendations for management of elective surgical procedures. 2020.

26. ASPS. Statement on breast reconstruction in the face of COVID-19 pandemic. 2020.

27. Coles C.E., Aristei C., Bliss J., Boersma L., Brunt A.M., Chatterjee S., Hanna G., Jaggi R., Kaidar Person O., Kirby A., Mjaaland I., Meattini I., Luis A.M., Marta G.N., Offersen B., Poortmans P., Rivera S. International Guidelines on Radiation Therapy for Breast Cancer During the COVID-19 Pandemic. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2020 May; 32(5): 279–81. doi: 10.1016/j.clon.2020.03.006.

28. van Maaren M.C., Bretveld R.W., Jobsen J.J., Veenstra R.K., Groothuis-Oudshoorn C.G., Struikmans H., Maduro J.H., Strobbe L.J., Poortmans P.M., Siesling S. The influence of timing of radiation therapy following breast-conserving surgery on 10-year disease-free survival. *Br J Cancer*. 2017; 117(2): 179–88. doi: 10.1038/bjc.2017.159.

29. Haviland J.S., Owen J.R., Dewar J.A., Agrawal R.K., Barrett J., Barrett-Lee P.J., Dobbs H.J., Hopwood P., Lawton P.A., Magee B.J., Mills J., Simmons S., Sydenham M.A., Venables K., Bliss J.M., Yarnold J.R.; START Trialists' Group. The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) trials of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: 10-year follow-up results of two randomised controlled trials. *Lancet Oncol*. 2013; 14(11): 1086–94. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70386-3.

30. Whelan T.J., Pignol J.-P., Levine M.N., Julian J.A., MacKenzie R., Parpia S., Shelley W., Grimard L., Bowen J., Lukka H., Perera F., Fyles A., Schneider K., Gulavita S., Freeman C. Long-term results of hypofractionated radiation therapy for breast cancer. *N Engl J Med*. 2010; 362(6): 513–20. doi: 10.1056/NEJMoa0906260.

31. Brunt A.M., Haviland J., Sydenham M., Algurafi H., Alhasso A., Bliss P., Bloomfield D., Emson M., Goodman A., Harnett A., Passant H., Tsang Y.M., Wheatley D., Bliss J., Yarnold J. FAST phase III RCT of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: 10-year results (CRUKE/04/015). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2018; 102(5): 1603–4.

32. Brunt A.M., Wheatley D., Yarnold J., Somaiah N., Kelly S., Harnett A., Coles C., Goodman A., Bahl A., Churn M., Zotova R., Sydenham M., Griffin C.L., Morden J.P., Bliss J.M.; FAST-Forward Trial Management Group. Acute skin toxicity associated with a 1-week schedule of whole breast radiotherapy compared with a standard 3-week regimen delivered in the UK FAST-Forward Trial. *Radiother Oncol*. 2016; 120(1): 114–8. doi: 10.1016/j.radonc.2016.02.027.

33. Leong N., Truong P.T., Tankel K., Kwan W., Weir L., Olivetto I.A. Hypofractionated Nodal Radiation Therapy for Breast Cancer Was Not Associated With Increased Patient-Reported Arm or Brachial Plexopathy Symptoms. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2017; 99(5): 1166–72. doi: 10.1016/j.ijrobp.2017.07.043.

34. Brunt A.M., Haviland J., Sydenham M.A., Al-hasso A., Bloomfield D., Chan C., Churn M., Cleator S., Coles C., Emson M., Goodman A., Griffin C.L., Harnett A., Hopwood P., Kirby A.M., Kirwan C., Morris C., Sawyer E., Somaiah N., Syndikus I., Wilcox M., Zotova R., Wheatley D., Bliss J., Yarnold J. OC-0595: FAST-Forward phase 3 RCT of 1-week hypofractionated breast radiotherapy: 3-year normal tissue effects. *Radiother Oncol* 2018; 127: 311–2.

35. Bartelink H., Maingon P., Poortmans P., Weltens C., Fourquet A., Jager J., Schinagel D., Oei B., Rodenhuis C., Horiot J.-C., Struikmans H., Van Limbergen E., Kirova Y., Elkhuizen P., Bongartz R., Miralbell R., Morgan D., Dubois J.-B., Remouchamps V., Mirimanoff R.-O., Collette S., Collette L.; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Radiation Oncology and Breast Cancer Groups. Whole-breast irradiation with or without a boost for patients treated with breast-conserving surgery for early breast cancer: 20-year follow-up of a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015; 16(1): 47–56. doi: 10.1016/S1470-2045(14)71156-8.

36. Coles C.E., Griffin C.L., Kirby A.M., Titley J., Agrawal R.K., Alhasso A., Bhattacharya I.S., Brunt A.M., Ciurlionis L., Chan C., Dono-

van E.M., Emson M.A., Harnett A.N., Haviland J.S., Hopwood P., Jefford M.L., Kaggwa R., Sawyer E.J., Syndikus I., Tsang Y.M., Wheatley D.A., Wilcox M., Yarnold J.R., Bliss J.M.; IMPORT Trialists. Partial-breast radiotherapy after breast conservation surgery for patients with early breast cancer (UK IMPORT LOW trial): 5-year results from a multicentre, randomised, controlled, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet*. 2017; 390(10099): 1048–60. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31145-5.

37. Livi L., Meattini I., Marrazzo L., Simontacchi G., Pallotta S., Saieva C., Paia F., Scotti V., De Luca Cardillo C., Bastiani P., Orzalesi L., Casella D., Sanchez L., Nori J., Fambrini M., Bianchi S. Accelerated partial breast irradiation using intensity-modulated radiotherapy versus whole breast irradiation: 5-year survival analysis of a phase 3 randomised controlled trial. *Eur J Cancer*. 2015; 51(4): 451–63. doi: 10.1016/j.ejca.2014.12.013.

38. Veronesi U., Orecchia R., Maisonneuve P., Viale G., Rotmensz N., Sangalli C., Luini A., Veronesi P., Galimberti V., Zurrida S., Leonardi M.C., Lazzari R., Cattani F., Gentilini O., Intra M., Caldarella P., Ballardini B. Intraoperative radiotherapy versus external radiotherapy for early breast cancer (ELIOT): a randomised controlled equivalence trial. *Lancet Oncol*. 2013; 14(13): 1269–77. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70497-2.

39. Kunkler I.H., Williams L.J., Jack W.J., Cameron D.A., Dixon J.M.; PRIME II investigators. Breast-conserving surgery with or without irradiation in women aged 65 years or older with early breast cancer (PRIME II): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2015; 16(3): 266–73. doi: 10.1016/S1470-2045(14)71221-5.

40. Cardoso F., Kyriakides S., Ohno S., Penault-Llorca F., Poortmans P., Rubio I.T., Zackrisson S., Senkus E.; ESMO Guidelines Committee. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019; 30(10): 1674. doi: 10.1093/annonc/mdz189.

41. Earl H.M., Hiller L., Vallier A.L., Loi S., McAdam K., Hughes-Davies L., Harnett A.N., Ah-See M.L., Simcock R., Rea D., Raj S., Woodings P., Harries M., Howe D., Raynes K., Higgins H.B., Wilcox M., Plummer C., Mansi J., Gounaris I., Mahler-Araujo B., Provenzano E., Chhabra A., Abraham J.E., Caldas C., Hall P.S., McCabe C., Hulme C., Miles D., Wardley A.M., Cameron D.A., Dunn J.A.; PERSEPHONE Steering Committee and Trial Investigators. 6 versus 12 months of adjuvant trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (PERSEPHONE): 4-year disease-free survival results of a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*. 2019; 393(10191): 2599–2612. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30650-6.

42. Cardoso F., Senkus E., Costa A., Papadopoulos E., Aapro M., André F., Harbeck N., Aguilar Lopez B., Barrios C.H., Bergh J., Biganzoli L., Boers-Doets C.B., Cardoso M.J., Carey L.A., Cortés J., Curigliano G., Diéras V., El Saghir N.S., Eniu A., Fallowfield L., Francis P.B., Gelmon K., Johnston S.R.D., Kaufman B., Koppikar S., Krop I.E., Mayer M., Nakigudde G., Offersen B.V., Ohno S., Pagani O., Paluch-Shimon S., Penault-Llorca F., Prat A., Rugo H.S., Sledge G.W., Spence D., Thomssen C., Vorobiof D.A., Xu B., Norton L., Winer E.P. 4th ESO-ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 4). *Ann Oncol*. 2018; 29(8): 1634–57. doi: 10.1093/annonc/mdy192.

43. D'Ippolito S., Shams M., Ambrosini E., Cali G., Pastorelli D. R1 – the effect of loneliness on cancer mortality. *Ann Oncol*. 2017; 28: 82–88. doi: 10.1093/annonc/mdx434.

44. Hill E.M., Hamm A. Intolerance of uncertainty, social support, and loneliness in relation to anxiety and depressive symptoms among women diagnosed with ovarian cancer. *Psychooncology*. 2019; 28(3): 553–60. doi: 10.1002/pon.4975.

45. Holt-Lunstad J., Smith T.B., Baker M., Harris T., Stephenson D. Loneliness and social isolation as risk factors for mortality: a meta-analytic review. *Perspect Psychol Sci*. 2015; 10(2): 227–37. doi: 10.1177/1745691614568352.

46. Bortolato B., Hyphantis T.N., Valpione S., Perini G., Maes M., Morris G., Kubera M., Köhler C.A., Fernandes B.S., Stubbs B., Pavlidis N., Carvalho A.F. Depression in cancer: The many biobehavioral pathways driving tumor progression. *Cancer Treat Rev*. 2017; 52: 58–70. doi: 10.1016/j.ctrv.2016.11.004.

47. Reis J.C., Antoni M.H., Travado L. Emotional distress, brain functioning, and biobehavioral processes in cancer patients: a neuroimaging review and future directions. *CNS Spectr*. 2020; 25(1): 79–100. doi: 10.1017/S1092852918001621.

48. Annunziata M. A., Muzzatti B., Bidoli E., Flaiban C., Bomben F., Piccinin M., Gipponi K.M., Mariutti G., Busato S., Mella S. Hospital anxiety and depression Scale (HADS) accuracy in cancer patients. *Support Care Cancer*. 2019; 28: 3921–6. https://doi.org/10.1007/s00520-019-05244-8.

Поступила/Received 14.09.2020
Принята в печать/Accepted 13.01.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Каприн Андрей Дмитриевич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАО, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; директор, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; заведующий кафедрой урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии медицинского факультета ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», главный уролог АН РФ (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1759-8101. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

Зикиряходжаев Азизжон Дильшодович, доктор медицинских наук, заведующий отделением онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; доцент кафедры онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Института клинической медицины ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8421-0364. ORCID: 0000-0001-7141-2502.

Босиева Алана Руслановна, аспирант отделения онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: ms.bosieva@mail.ru. SPIN-код: 1090-7281. ORCID: 0000-0003-0993-8866.

Самсонов Юрий Владимирович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Российского центра информационных технологий и эпидемиологических исследований в области онкологии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; доцент кафедры урологии, онкологии и радиологии ФПК МР Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-2971-5873.

Костин Андрей Александрович, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; первый проректор – проректор по научной работе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8073-0899. ORCID: 0000-0002-0792-6012.

ВКЛАД АВТОРОВ

Каприн Андрей Дмитриевич: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста.

Зикиряходжаев Азизжон Дильшодович: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста.

Босиева Алана Руслановна: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста, сбор данных, написание текста.

Самсонов Юрий Владимирович: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста.

Костин Андрей Александрович: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Andrey D. Kaprin, MD, Professor, Academician of the RAS, Corresponding Member of the RAE, General Director, NMITS radiology of the Ministry of Health of Russia; Director of The Moscow Research Institute of Oncology named after P.A. Herzen – branch of the NMITS radiology of the Ministry of Health of Russia; Head of Urology Department, RUDN University; Chief Oncologist of the Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 1759-8101. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

Azizjon D. Zikiryakhodzaev, MD, DSc, Head of the Department of Oncology and Reconstructive Surgery for Breast and Skin, The Moscow Research Institute of Oncology named after P.A. Herzen – branch of the NMITS radiology of the Ministry of Health of Russia; Associate Professor, Department of Oncology, Radiotherapy and Reconstructive Surgery, Sechenov University, Department of Oncology, Radiotherapy and Plastic Surgery (Moscow, Russia). SPIN-code: 8421-0364. ORCID: 0000-0001-7141-2502.

Alana R. Bosieva, MD, Postgraduate, Department of Oncology and Reconstructive Surgery for Breast and Skin, The Moscow Research Institute of Oncology named after P.A. Herzen – branch of the NMITS radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). E-mail: ms.bosieva@mail.ru. SPIN-code: 1090-7281. ORCID: 0000-0003-0993-8866.

Yuri V. Samsonov, MD, PhD, Leading Researcher, Russian Center for Information Technologies and Epidemiological Research in Oncology, The Moscow Research Institute of Oncology named after P.A. Herzen – branch of the NMITS radiology of the Ministry of Health of Russia; Associate Professor of the Department of Urology, Oncology and Radiology, RUDN University (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-2971-5873.

Andrey A. Kostin, MD, DSc, Corresponding Member of the RAS, Deputy Director of NMITS radiology of the Ministry of Health of Russia; Vice-Rector for Research, RUDN University (Moscow, Russia). SPIN-code: 8073-0899. ORCID: 0000-0002-0792-6012.

AUTHOR CONTRIBUTION

Andrey D. Kaprin: study conception and design, editing of the manuscript.

Azizjon D. Zikiryakhodzhaev: study conception and design, editing of the manuscript.

Alana R. Bosieva: study conception and design, data collection, writing of the manuscript.

Yuri V. Samsonov: study conception and design, editing of the manuscript.

Andrey A. Kostin: study conception and design, data collection, writing of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Аксёненко В.О., Фролова И.Г., Гарбуков Е.Ю., Григорьев Е.Г., Рамазанова М.П., Усынин Е.А., Вторушин С.В., Алайчиев Н.А. Возможности оценки роли микрокальцинатов в первичной опухоли с позиции прогностической значимости. Обзор литературы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 107–114. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-107-114

For citation: Aksenenko V.O., Frolova I.G., Garbukov E.Yu., Grigoryev E.G., Ramazanov M.P., Usynin E.A., Vtorushin S.V., Alaichiev N.A. Prognostic significance of microcalcifications in breast cancer (literature review). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 107–114. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-107-114

ВОЗМОЖНОСТИ ОЦЕНКИ РОЛИ МИКРОКАЛЬЦИНАТОВ В ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ С ПОЗИЦИИ ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

**В.О. Аксёненко, И.Г. Фролова, Е.Ю. Гарбуков, Е.Г. Григорьев,
М.П. Рамазанова, Е.А. Усынин, С.В. Вторушин, Н.А. Алайчиев**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: veronikavesnina@gmail.com

Аннотация

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) – одно из самых распространенных онкологических заболеваний в мире. По данным ВОЗ, в 2020 г. заболеваемость РМЖ, составив 2,26 млн случаев, возглавила рейтинг распространенности злокачественных новообразований, опередив рак лёгких. В России прирост новых случаев РМЖ в период с 2005 по 2015 г. составил 31,76 %. Одним из ранних проявлений рака молочной железы могут быть микрокальцинаты, которые, являясь значимой диагностической находкой, позволяют предположительно судить о прогнозе развития заболевания у конкретной пациентки. Детальное понимание морфогенеза микрокальцинатов в молочной железе может улучшить знания о ранних стадиях онкогенеза, но пока нет данных, которые объединяют результаты клинических и фундаментальных научных исследований. **Цель исследования** – провести анализ литературных данных о прогностической значимости микрокальцинатов при раке молочной железы. **Материал и методы.** Проведен поиск доступных литературных источников, опубликованных в базе данных Medline, Elibrary и др. за период с 2015 г. Всего было найдено 250 источников, посвященных анализу морфогенеза микрокальцинатов, их диагностической ценности, из которых 37 были включены в данный обзор.

Ключевые слова: рак молочной железы, микрокальцинаты, маммография, BI-RADS, ультразвуковое исследование, магнитно-резонансная томография, рецепторный статус опухоли.

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF MICROCALCIFICATIONS IN BREAST CANCER (LITERATURE REVIEW)

**V.O. Aksenenko, I.G. Frolova, E.Yu. Garbukov, E.G. Grigoryev,
M.P. Ramazanov, E.A. Usynin, S.V. Vtorushin, N.A. Alaichiev**

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
5, Kooperativny Street, Tomsk, 634009, Russia. E-mail: veronikavesnina@gmail.com

Abstract

Abstract. Breast cancer is one of the most commonly diagnosed cancers worldwide. According to the World Health Organization, the incidence of breast cancer was 2.26 million in 2020, overtaking the incidence of lung cancer. In Russian Federation, the increase in new cases of breast cancer over the ten years from 2005 to 2015 was 31.76 %. Microscopic calcium deposits within breast tissue, microcalcifications, can be early signs of breast cancer. Being a significant diagnostic finding, microcalcifications allow the assessment of the extent of the disease. A detailed understanding of the morphogenesis of microcalcifications can improve knowledge about early stages of breast cancer, but there is no studies that would combine the results of the latest basic scientific research and current knowledge about their clinical significance. **The aim of the study** was to analyze and summarize the available data on the prognostic value of microcalcifications in patients with breast cancer. **Material and Methods.** A search was carried out for available literary sources published in the Medline, Elibrary, etc. databases for the period since 2015. A total of 250 sources devoted to the analysis of the morphogenesis of microcalcifications and their diagnostic value were found. Of them, 37 were included in this review.

Key words: breast cancer, microcalcifications, mammography, BI-RADS, ultrasound, magnetic resonance imaging, tumor receptor status.

Рак молочной железы (РМЖ) – абсолютный лидер по онкологической заболеваемости и смертности женщин. В 2020 г. в мире зарегистрировано 2,26 млн впервые выявленных случаев рака молочной железы. Это наиболее часто диагностируемая злокачественная опухоль у женщин в 154 странах (из 185), а также основная причина смерти от рака в более чем 100 странах [1]. Внедрение маммологического скрининга способствовало повышению ранней выявляемости РМЖ до 70,4 %, что снизило стандартизованный показатель смертности на 14,5 %. При этом увеличивается выявляемость самых ранних стадий РМЖ, в том числе *in situ*, что позволяет расширить показания для органосохраняющих операций, увеличить продолжительность и качество жизни больных [2–4].

Одной из наиболее сложных форм для дифференциальной диагностики является РМЖ в виде локального скопления микрокальцинатов, что обусловлено сходством рентгенологической картины участков микрокальцинатов при доброкачественных и злокачественных заболеваниях молочной железы. При этом микрокальцинаты в структуре непальпируемого рака составляют 15–21 % [5]. Рентгенологически видимые микрокальцинаты встречаются в 40 % злокачественных образований, при этом в 55 % – это непальпируемые опухоли молочных желез, в 85–95 % всех случаев – протоковая карцинома *in situ* [6]. Таким образом, правильная интерпретация кальцинатов, видимых на маммограммах, позволяет выявлять РМЖ на доклинической стадии, что определяет лучший прогноз выживаемости [7].

Кальцинаты, обнаруженные при маммографии, могут быть охарактеризованы на основе ряда признаков, включая строение, размер и распределение. Основываясь на этих признаках, рентгенологи относят кальцинаты к категории BI-RADS, указываящей на вероятность их злокачественности. К кальцинатам с низким риском злокачественности относятся структуры по типу попкорна, яичной

скорлупы или дистрофические, в то время как крупные неоднородные или мелкие линейные образования имеют повышенный риск злокачественности [8].

Помимо морфологии, пространственное распределение микрокальцинатов в ткани молочной железы также может давать клиническую информацию. Кальцинаты, сгруппированные в линейную (формирование кальцинированных отложений вдоль протока) или сегментарную структуру (отложение кальция в протоке и связанных с ним ветвях, распространяющихся в доле молочной железы), более вероятно представляют собой злокачественное новообразование, чем сгруппированные кальцинаты (5 кальцинатов на 1 см³). В свою очередь, сгруппированные кальцинаты (промежуточная категория) считаются более подозрительными в отношении РМЖ, чем кальцинаты с диффузным (случайное распределение в пределах железы) или регионарным (распространение в объеме, большем 2 см³) распределением [9].

Некоторые кальцинаты (например, сосудистые или крупные линейные) могут иметь линейное распределение, но все же их можно считать доброкачественными на основании лежащей в их основе морфологии. Это подчеркивает необходимость учитывать как морфологию, так и распределение кальцинатов при оценке вероятности развития злокачественных новообразований [10].

При РМЖ обызвествления чаще всего носят мелкоочечный характер, напоминая песчинки неправильной формы, размеры которых составляют 100–600 мкм. С увеличением числа микрокальцинатов на единицу площади вероятность рака возрастает. Так, при количестве 15 микрокальцинатов на 1 см² и более вероятность рака достигает 80 %. Обнаружение микрокальцинатов даже при отсутствии опухолевого узла подозрительно на наличие злокачественной опухоли, поскольку нередко они являются единственным признаком наличия РМЖ [11, 12]. Метаанализ 40 исследова-

ний, включающих данные о 10 665 пациентках с маммографически выявленными кальцинатами, показал, что для крупных неоднородных структур риск злокачественности составляет 13 %, для аморфных – 27 %, для плеоморфных – 50 %, для тонких линейных кальцинатов – 78 % [13].

Известковые включения могут выявляться и при других заболеваниях молочной железы, локализуясь в соединительной ткани, сосудах, полости кист, фиброаденомах, цистаденопапиломах, галактоцеле, коже, ацинусах и млечных протоках. В зависимости от этого кальцинаты имеют различные размеры и форму, что позволяет дифференцировать их принадлежность к тому или иному заболеванию [12]. Например, тонкие округлые кальцинаты по типу «яичной скорлупы» часто встречаются в стенках кист и при жировом некрозе; крупнозернистые кальцинаты по типу «попкорна» (крупные массы кальция) обычно определяются при дегенеративных процессах в старых фиброаденомах; тонкие линейные расположенные кальцинаты по типу «железнодорожных путей» встречаются при обызвествлениях сосудов в молочных железах; тонкие кальцинаты по типу «кофейной чашки» «milk of calcium» соответствуют маленьким кистам и определяются преимущественно в косой и боковой проекциях. Вместе с тем, не всегда удается точно дифференцировать микрокальцинаты при злокачественных новообразованиях, что приводит к диагностическим ошибкам [14–16].

Диагностическая точность биопсии микрообызвествлений молочных желез снижается по сравнению с таковой при биопсии объемных образований. Частота соответствий результатов кор-биопсии данным открытой биопсии для микрокальцинатов составляет 66–72 %, тогда как для объемных образований – 84–87 %. При выполнении кор-биопсии участка скопления кальцинатов отмечена статистически значимая высокая вероятность получения ложноотрицательного результата. Согласно данным исследований в 20 медицинских центрах США, число ложноотрицательных результатов при наличии только микрокальцинатов было в 4 раза выше, чем тот же показатель при существующей опухоли [17–19].

Несмотря на развитие технологий визуализации в последние десятилетия, лучшим методом диагностики кальцинатов в молочных железах остается рентгеновская маммография, в первую очередь благодаря тому, что данный метод позволяет выявить микрокальцинаты. Благодаря хорошей визуализации микрокальцинатов возможна маммографическая стереотаксическая биопсия (трепан-биопсия и вакуумная аспирационная биопсия), которая, однако, несёт лучевую нагрузку и является крайне дискомфортной для пациентки [20, 21].

В литературе широко обсуждается вопрос о возможностях эхографии в выявлении микро-

кальцинатов молочных желез. При использовании высокоразрешающей ультразвуковой аппаратуры с правильно сфокусированными датчиками можно обнаружить крохотные гиперэхогенные точки внутри образования, которые соответствуют маммографическому изображению кальцинатов. Почти всегда небольшие кальцинаты не дают акустической тени. Эхографически микрокальцинаты трудно выявить на фоне эхогенной железистой ткани или тканей с большим количеством отражающих поверхностей [22, 23].

В настоящее время разрабатывается методика оптимизации ультразвукового распознавания микрокальцинатов – MicroPure, предложенная японской фирмой Toshiba (установка Aplio 500). Режим MicroPure представляет собой цифровую модификацию эхограммы. При данной методике микрокальцинаты выделяются (при помощи статистических корреляций) среди окружающих тканей и акустического шума и визуализируются в виде точечных участков белого цвета среди тёмно-синего окружения (за счёт применения Blue Layer method – метода «синего слоя»), оптимизирующего визуализацию микрокальцинатов. Применение данной методики позволяет повысить роль эхографии в диагностике РМЖ [24].

МРТ считается лучшим диагностическим вариантом для выявления непальпируемых РМЖ, однако чувствительность ее в выявлении микрокальцинатов ниже, чем у маммографии. Кроме того, в силу своей высокой стоимости и большого количества технических условий использования МРТ не является скрининговым методом [25].

Для уточнения диагноза на предоперационном этапе применяют прицельную биопсию под рентгено- или сонографическим контролем, рентген- или УЗИ-ассистированную вакуумную аспирационную биопсию (ВАБ). Мнения авторов об эффективности той или иной технологии противоречивы, нет четких алгоритмов диагностики, что побуждает к поиску уточняющих методик [25, 26].

Трудности дифференциальной диагностики непальпируемых заболеваний доброкачественной и злокачественной природы, сопровождающихся скоплением микрокальцинатов, обусловлены многообразием их гистологического строения, что определяет необходимость применения комплекса эффективных лучевых технологий для их выявления, а также патоморфологических и молекулярно-генетических методов – для уточнения природы изменений. Рядом авторов изучалась взаимосвязь между рентгеновской семиотикой рака молочной железы и уровнем экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и Her2. Установлено, что протоковые кальцинаты отрицательно коррелировали с уровнем экспрессии рецепторов прогестерона. Наличие кальцинатов, сопровождающих объемное образование, положительно коррелировало с уровнем экспрессии рецепторов эстрогена и от-

рицательно коррелировало с уровнем экспрессии рецепторов прогестерона [27].

Механизмы, которые вызывают формирование микрокальцинатов при раке молочной железы, до сих пор неясны. Исследования последних лет показали, что патологическая кальцификация может быть похожа на процесс образования гетеротопической кости. L. Zhang et al. проанализировали экспрессию и роль BMP-2, Runx2 и остеопонтина (OPN), которые являются ключевыми индикаторами в остеогенных путях, в тканях с микрокальцинатами. Авторы показали, что прогноз у пациенток с микрокальцинатами был неблагоприятным. При РМЖ с микрокальцинатами высокий уровень экспрессии BMP-2 был связан с неблагоприятным прогнозом. В связи с высокой частотой рецидивов у больных РМЖ с микрокальцинатами предполагалось, что высокая экспрессия таких белков, как BMP-2 и Runx2, может способствовать инвазии и метастазированию опухолевых клеток [23]. О.Э. Якобс и соавт. выявили повышение экспрессии мРНК генов GRB7, Her2/neu при РМЖ, сопровождающееся скоплением микрокальцинатов, в отличие от РМЖ без них [24].

В последнее время появляется ряд работ, в которых указывается, что при наличии кальцинатов в опухолевом узле прогноз выживаемости ухудшается, что может повлиять на выбор тактики лечения [28, 29]. Ряд авторов отмечают связь между микрокальцинатами и повышенным риском местного рецидива, при этом в большинстве исследований показано увеличение риска прогрессирования в 2–5 раз. X. Qi et al. [18] по данным обследования 409 пациенток с РМЖ, которым проводились органосохраняющие операции отметили, что у больных с маммографически выявленными кальцинатами в первичной опухоли местные рецидивы наблюдаются в 2,46 раза чаще, чем у пациенток без них. G.M. Rauch et al. обнаружили 5,2-кратное увеличение частоты местных рецидивов у пациенток с линейными микрокальцинатами [13]. L. Holmberg et al. также обнаружили значительное увеличение риска рецидива у больных с протоковыми микрокальцинатами по сравнению с пациентками без них [30]. При отдельном анализе случаев инвазивных карцином и протоковых карцином *in situ* было установлено, что это увеличение в основном ограничивается когортой протоковых карцином *in situ* [28, 29].

Кальцинаты могут быть связаны с метастазированием в лимфатическую систему, хотя не все исследователи с этим согласны. В частности, L. Tabar et al. обнаружили, что риск лимфогенного метастазирования в 3,29 раза больше при линейных микрокальцинатах, чем при звездчатой опухоли без кальцинатов [31]. Ряд исследователей отмечают повышенный риск поражения лимфатических узлов у пациенток с кальцинатами, хотя другие авторы не смогли подтвердить подобную связь. Кальцинаты

могут также предсказать ответ на неоадьювантную терапию, хотя до настоящего времени доказательств относительно слабые [32, 33].

Оценка рецепторного статуса опухоли необходима для прогнозирования течения и планирования лечения при распространенном РМЖ. В исследованиях, изучавших связь между микрокальцинатами и рецепторным статусом опухоли, получены противоречивые результаты. G. Griniatsos et al. обнаружили у пациенток с маммографически выявленными микрокальцинатами опухоли, положительные как по рецепторам эстрогена, так и прогестерона [34]. Аналогично, M.V. Karamouzis et al. выявили микрокальцинаты более чем в 65 % эстроген-положительных и более 46 % прогестерон-положительных РМЖ [35]. Напротив, C. Ferranti et al. обнаружили обратную связь между маммографически выявленными микрокальцинатами и РМЖ с положительным рецепторным статусом [36]. C. Gajdos et al. [32] и M. Naseem et al. [12] показали, что наличие микрокальцинатов не связано с рецепторным статусом опухоли. Вопросы о прогностическом значении экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона являлись предметом дискуссий в течение многих лет. В настоящее время научные данные свидетельствуют о том, что эстроген/прогестерон-отрицательные РМЖ в целом имеют худший прогноз [23, 28].

Сильная корреляция между наличием микрокальцинатов и степенью дифференцировки, гистотипом опухоли и плотностью железистой ткани молочной железы подчеркивает их прогностическое значение. M. Naseem et al. показали, что у пациенток с РМЖ высокой степени злокачественности обнаружена более высокая распространенность микрокальцинатов, чем при опухолях низкой степени злокачественности [12]. Эти данные подтверждают предыдущие исследования, в частности, I. Palka et al. показали тесную связь между микрокальцинатами и низкодифференцированными РМЖ [37]. Напротив, H.P. Dinkel et al. сочли эту корреляцию неубедительной [38].

В ряде исследований сравнивалось соотношение между плотностью железы при маммографии и наличием микрокальцинатов. Соотношение тканей в молочной железе варьируется у каждой женщины, пропорции жировой, соединительной и фиброзной ткани, протоковых и дольковых элементов вносят свой вклад в различия маммографической плотности органа, при этом чем больше количество фиброглангулярной ткани, тем плотнее железа. S.S. Skandalis et al. обнаружили увеличение количества микрокальцинатов у пациенток с плотной молочной железой и низкодифференцированными опухолями. Микрокальцинаты значительно чаще встречаются в железах неоднородной плотности с большим количеством фиброглангулярной ткани [39]. Связь между степенью злокачественности опухоли и плотностью

молочной железы подчеркивают некоторые молекулярные факторы, приводящие к образованию тучных клеток и способствующие онкогенезу. L. Tabar [31] et al. и A. Dean [40] предполагали, что протоковые карциномы высокой степени злокачественности подвергаются процессу, называемому неодуктогенезом, способствующему инвазии сосудов, с чрезмерным лимфатическим и гематогенным распространением, что приводит к ухудшению прогноза. Большое количество фиброглангулярной ткани может привести к увеличению накопления версикана – гликопротеина, связанного с РМЖ высокой степени злокачественности и инвазивными опухолями у больных с плотной железой и маммографически выявленными микрокальцинатами.

Примерно 90 % протоковых карцином *in situ* проявляются в виде скопления микрокальцинатов, до 40 % которых прогрессируют до инвазивного РМЖ. При инвазивных карциномах микрокальцинаты чаще встречаются при мультицентричных (47,9 %), чем при единичных опухолях (36,1 %). При анализе влияния фокальности опухоли на отдаленные результаты лечения РМЖ установлено, что наивысший уровень 10-летней выживаемости наблюдается у больных с единичными новообразованиями. Мультицентричные опухоли имеют плохой прогноз, а их связь с микрокальцинатами

еще больше подтверждает роль последних в качестве плохого прогностического фактора [41].

Возможно, наиболее значимым в этих исследованиях является тесная связь между наличием микрокальцинатов и повышенной экспрессией Her2. Недавний анализ микроочипов показал, что ген *ERBB2* является одним из наиболее дифференцированно значимых у больных с очень подозрительными кальцинатами по сравнению с пациентками без них [33]. Метаанализ, включающий 17745 случаев РМЖ, показал, что повышенная экспрессия Her2 определялась независимо от того, сочетались ли кальцинаты с опухолью или определялись самостоятельно [27]. Несмотря на то, что показана тесная связь между Her2 и микрокальцинатами, точная природа этих отношений остается неизученной [42, 43].

Заключение

Использование лучевых методов для анализа микрокальцинатов в молочной железе явно недостаточно. В свете последних научных данных становится понятно, что врач-диагност должен не только достоверно распознавать и характеризовать кальцинаты, чтобы установить диагноз, но и иметь возможность предоставить информацию о сопровождающих их молекулярно-генетических изменениях для определения тактики лечения и прогноза течения рака молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., 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. Якобс О.Э., Рожкова Н.И., Каприн А.Д., Бурдина И.И., Запирова С.Б., Мазо М.Л., Прокопенко С.П. Рентгеногемативный непальпируемый рак молочной железы. Возможности современной лучевой диагностики. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2019; 8(3): 153–160. [Yakobs O.E., Rozhkova N.I., Kaprin A.D., Burdina I.I., Zapirova S.B., Mazo M.L., Prokopenko S.P. X-ray negative nonpalpable breast cancer. the possibilities of current radiodiagnosis. *P.A. Herzen Journal of Oncology*. 2019; 8(3): 153–160. (in Russian)].
3. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Скуридин В.С. Опыт разработки инновационных радиофармпрепаратов в Томском НИИ онкологии. *Сибирский онкологический журнал*. 2015; S2: 45–47. [Chernov V.I., Medvedeva A.A., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Bragina O.D., Skuridin V.S. Experience in the development of innovative radiopharmaceuticals at the Tomsk Research Institute of Oncology. *Siberian Journal of Oncology*. 2015; Suppl 2: 45–47. (in Russian)].
4. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзоннов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных образований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17(1): 220–231. [Chernov V.I., Medvedev A.A., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Bragina O.D., Choyznzonov E.L. Nuclear medicine as a tool for diagnosis and targeted cancer therapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17(1): 220–231. (in Russian)]. doi: 10.20538/1682-0363-2018-1-220-231.
5. Якобс О.Э., Рожкова Н.И., Каприн А.Д. Возможности соноэластографии при дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы, сопровождающихся скоплением микрокальцинатов. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучение*. 2017; 1(15): 69–75. [Yakobs O.E., Rozhkova N.I., Kaprin A.D. Possibilities of sonoelastography in diagnosing of the breast diseases with microcalcifications of different origin. *Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training*. 2017; 1(15): 69–75. (in Russian)].
6. Henrot P., Leroux A., Barlier C., Génin P. Breast microcalcifications: the lesions in anatomical pathology. *Diagn Interv Imaging*. 2014 Feb; 95(2): 141–52. doi: 10.1016/j.diii.2013.12.011.
7. Оксанчук Е.А., Меских Е.В., Колесник А.Ю., Нуднов Н.В. Кальцинаты молочной железы: дифференциальная диагностика и прогностическое значение. *Медицинская визуализация*. 2016; (5): 120–127. [Oksanchuk E.A., Meskih E.V., Kolesnik A.Yu., Nudnov N.V. Breast Calcifications: Etiology, Classification, Prognosis. *Medical Visualization*. 2016; (5): 120–127. (in Russian)].
8. Подгорнова Ю.А., Садыков С.С. Сравнительный анализ алгоритмов сегментации для выделения микрокальцинатов на маммограммах. Сборник трудов ИТНТ-2019. 2019; 171–177. [Podgornova Yu.A., Sadykov S.S. Comparative analysis of segmentation algorithms for the isolation of microcalcifications on mammograms. *Proceedings of ITNT-2019*. 2019; 171–177. (in Russian)].
9. Wilkinson L., Thomas V., Sharma N. Microcalcification on mammography: approaches to interpretation and biopsy. *Br J Radiol*. 2017 Jan; 90(1069): 20160594. doi: 10.1259/bjr.20160594.
10. O'Grady S., Morgan M.P. Microcalcifications in breast cancer: From pathophysiology to diagnosis and prognosis. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2018 Apr; 1869(2): 310–320. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.04.006.
11. Bundred S.M., Zhou J., Whiteside S., Morris J., Wilson M., Hurley E., Bundred N. Impact of full-field digital mammography on pre-operative diagnosis and surgical treatment of mammographic microcalcification. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Jan; 143(2): 359–66. doi: 10.1007/s10549-013-2803-8.
12. Naseem M., Murray J., Hilton J.F., Karamchandani J., Muradali D., Faragalla H., Polenz C., Han D., Bell D.C., Brezden-Masley C. Mammographic microcalcifications and breast cancer tumorigenesis: a radiologic-pathologic analysis. *BMC Cancer*. 2015; 15: 307. doi: 10.1186/s12885-015-1312-z.
13. Rauch G.M., Hobbs B.P., Kuerer H.M., Scoggins M.E., Benveniste A.P., Park Y.M., Caudle A.S., Fox P.S., Smith B.D., Adrada B.E., Krishnamurthy S., Yang W.T. Microcalcifications in 1657 Patients with Pure Ductal Carcinoma in Situ of the Breast: Correlation with Clinical, Histopathologic, Biologic Features, and Local Recurrence. *Ann Surg Oncol*. 2016; 23(2): 482–9. doi: 10.1245/s10434-015-4876-6.
14. Zheng K., Tan J.X., Li F., Wei Y.X., Yin X.D., Su X.L., Li H.Y., Liu Q.L., Ma B.L., Ou J.H., Li H., Yang S.S., Jiang A.M., Ni Q., Liu J.L., Liu J.P., Zheng H., Song Z.J., Wang L., He J.J., Zou T.N., Jiang J., Ren G.S. Relationship between mammographic calcifications and the clinicopathologic characteristics of breast cancer in Western China: a retrospective

multi-center study of 7317 female patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2017 Nov; 166(2): 569–582. doi: 10.1007/s10549-017-4406-2.

15. Murata A., Sannomiya N., Miyamoto N., Ueda N., Kamida A., Koyanagi Y., Nagira H., Matsuda E., Hashimoto Y., Sato K., Hirooka Y., Hosoya K., Takagi Y., Tanaka Y., Araki K., Ishiguro K., Hirooka Y. Microcalcification of Tumor is a Predictor of Response to Neoadjuvant Chemotherapy for Invasive Breast Carcinoma. *Yonago Acta Med.* 2015 Jun; 58(2): 85–8.

16. Kim K.I., Lee K.H., Kim T.R., Chun Y.S., Lee T.H., Choi H.Y., Park H.K. Changing patterns of microcalcification on screening mammography for prediction of breast cancer. *Breast Cancer.* 2016 May; 23(3): 471–8. doi: 10.1007/s12282-015-0589-8.

17. Ling H., Liu Z.B., Xu L.H., Xu X.L., Liu G.Y., Shao Z.M. Malignant calcification is an important unfavorable prognostic factor in primary invasive breast cancer. *Asia Pac J Clin Oncol.* 2013 Jun; 9(2): 139–45. doi: 10.1111/j.1743-7563.2012.01572.x.

18. Qi X., Chen A., Zhang P., Zhang W., Cao X., Xiao C. Mammographic calcification can predict outcome in women with breast cancer treated with breast-conserving surgery. *Oncol Lett.* 2017 Jul; 14(1): 79–88. doi: 10.3892/ol.2017.6112.

19. Понедельникова Н.В., Корженкова Г.П., Лелягин В.П., Петровский А.В., Вишневская Я.В., Кузьмичева Е.Ю. Возможности чрескожных методов биопсии в верификации микрокальцинатов молочной железы на дооперационном этапе. Опухоли женской репродуктивной системы. 2011; 2: 16–21. [Ponedelnikova N.V., Korzhenkova G.P., Lelyagin V.P., Petrovsky A.V., Vishnevskaya Ya.V., Kuzmicheva E.Yu. Capabilities of percutaneous biopsy methods to preoperatively verify breast microcalcifications. *Tumors of the Female Reproductive System.* 2011; 2: 16–21. (in Russian)].

20. Zhang D., Zhang J., Hu W., Li H., Niu F., Liu J., Zhao Z., Han X., Zhang J., Zhang H., Wang Y. Clinical application of mammography-guided wire localization plus ultrasound-guided core-needle biopsy for breast microcalcification. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2014 Aug 26; 94(32): 2519–21.

21. Lee J., Park H.Y., Jung J.H., Kim W.W., Hwang S.O., Kwon T.J., Chung J.H., Bae Y. Non-stereotactic method involving combination of ultrasound-guided wire localization and vacuum-assisted breast biopsy for microcalcification. *Gland Surg.* 2016 Jun; 5(3): 300–5. doi: 10.21037/gs.2015.12.02.

22. Scripcaru G., Zardawi I.M. Mammary ductal carcinoma in situ: a fresh look at architectural patterns. *Int J Surg Oncol.* 2012; 2012: 979521. doi: 10.1155/2012/979521.

23. Zhang L., Hao C., Wu Y., Zhu Y., Ren Y., Tong Z. Microcalcification and BMP-2 in breast cancer: correlation with clinicopathological features and outcomes. *Oncotargets Ther.* 2019 Mar; 12: 2023–2033. doi: 10.2147/OTT.S187835.

24. Якобс О.Э., Кудинова Е.А., Рожкова Н.И., Боженко В.К. Радиологические технологии и биогенетические маркеры в дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы, сопровождающихся скоплениями микрокальцинатов. Вестник РНЦПР. 2017; 17(1): 6. [Jacobs O.E., Kudinova E.A., Rozhkova N.I., Bozhenko V.K. Radiological technologies and biogenetic markers in the differential diagnosis of breast diseases accompanied by accumulations of microcalcifications. *Bulletin of the RNTSRR.* 2017; 17(1): 6. (in Russian)].

25. Корженкова Г.П. Стандартизация интерпретации маммографического изображения. Кубанский научный медицинский вестник. 2013; 1: 107–111. [Korzhenkova G.P. Standardization of interpretation mammography. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2013; 1: 107–111. (in Russian)].

26. Митина Л.А., Фисенко Е.П., Казакевич В.И., Заболотская Н.В. Лучевая диагностика патологии молочных желез с использованием системы BIRADS. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2013; 2(3): 17–19. [Mitina L.A., Kazakevich V.I., Fisenko E.P., Zabolotskaia N.V. Breast disease radiodiagnosis using the BI-RADS. *P.A. Herzen Journal of Oncology.* 2013; 2(3): 17–19. (in Russian)].

27. Elias S.G., Adams A., Wisner D.J., Esserman L.J., van't Veer L.J., Mali W.P., Gilhuijs K.G., Hylton N.M. Imaging features of HER2 overexpression in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014 Aug; 23(8): 1464–83. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-1170.

28. Alvarado R., Lari S.A., Roses R.E., Smith B.D., Yang W., Mitten-dorf E.A., Arun B.K., Lucci A., Babiera G.V., Wagner J.L., Caudle A.S., Meric-Bernstam F., Hwang R.F., Bedrosian I., Hunt K.K., Kuerer H.M. Biology, treatment, and outcome in very young and older women with DCIS. *Ann Surg Oncol.* 2012 Nov; 19(12): 3777–84. doi: 10.1245/s10434-012-2413-4.

29. Amichetti M., Vidali C. Radiotherapy after conservative surgery in ductal carcinoma in situ of the breast: a review. *Int J Surg Oncol.* 2012; 2012: 635404. doi: 10.1155/2012/635404.

30. Holmberg L., Wong Y.N., Tabár L., Ringberg A., Karlsson P., Arnes-son L.G., Sandelin K., Anderson H., Garmo H., Emdin S. Mammography casting-type calcification and risk of local recurrence in DCIS: analyses from a randomised study. *Br J Cancer.* 2013 Mar 5; 108(4): 812–9. doi: 10.1038/bjc.2013.26.

31. Tabar L., Tony Chen H.H., Amy Yen M.F., Tot T., Tung T.H., Chen L.S., Chiu Y.H., Duffy S.W., Smith R.A. Mammographic tumor features can predict long-term outcomes reliably in women with 1-14-mm invasive breast carcinoma. *Cancer.* 2004 Oct 15; 101(8): 1745–59. doi: 10.1002/cncr.20582.

32. Gajdos C., Tartter P.I., Bleiweiss I.J., Hermann G., de Csepe J., Estabrook A., Rademaker A.W. Mammographic appearance of nonpalpable breast cancer reflects pathologic characteristics. *Ann Surg.* 2002 Feb; 235(2): 246–51. doi: 10.1097/0000658-200202000-00013.

33. Shin S.U., Lee J., Kim J.H., Kim W.H., Song S.E., Chu A., Kim H.S., Han W., Ryu H.S., Moon W.K. Gene expression profiling of calcifications in breast cancer. *Sci Rep.* 2017 Sep 12; 7(1): 11427. doi: 10.1038/s41598-017-11331-9.

34. Griniatsos J., Vassilopoulos P.P., Kelessis N., Agelatos R., Apostolikas N. The prognostic significance of breast tumour microcalcifications. *Eur J Surg Oncol.* 1995 Dec; 21(6): 601–3. doi: 10.1016/s0748-7983(95)95090-7.

35. Karamouzis M.V., Likaki-Karatza E., Ravazoula P., Badra F.A., Koukouras D., Tzorakoleftherakis E., Papavassiliou A.G., Kalofonos H.P. Non-palpable breast carcinomas: correlation of mammographically detected malignant-appearing microcalcifications and molecular prognostic factors. *Int J Cancer.* 2002 Nov 1; 102(1): 86–90. doi: 10.1002/ijc.10654.

36. Ferranti C., Coopmans de Yoldi G., Biganzoli E., Bergonzi S., Mariani L., Scaperrotta G., Marchesini M. Relationships between age, mammographic features and pathological tumour characteristics in non-palpable breast cancer. *Br J Radiol.* 2000 Jul; 73(871): 698–705. doi: 10.1259/bjr.73.871.11089459.

37. Pálka I., Ormándi K., Gáál S., Boda K., Kahán Z. Casting-type calcifications on the mammogram suggest a higher probability of early relapse and death among high-risk breast cancer patients. *Acta Oncol.* 2007; 46(8): 1178–83. doi: 10.1080/02841860701373611.

38. Dinkel H.P., Gassel A.M., Tschammler A. Is the appearance of microcalcifications on mammography useful in predicting histological grade of malignancy in ductal cancer in situ? *Br J Radiol.* 2000 Sep; 73(873): 938–44. doi: 10.1259/bjr.73.873.11064645.

39. Skandalis S.S., Labropoulou V.T., Ravazoula P., Likaki-Karatza E., Dobra K., Kalofonos H.P., Karamanos N.K., Theocharis A.D. Versican but not decorin accumulation is related to malignancy in mammographically detected high density and malignant-appearing microcalcifications in non-palpable breast carcinomas. *BMC Cancer.* 2011 Jul; 11: 314. doi: 10.1186/1471-2407-11-314.

40. Dean A. Primary breast cancer: risk factors, diagnosis and management. *Nurs Stand.* 2008 Jun; 22(40): 47–55. doi: 10.7748/ns2008.06.22.40.47.c6572.

41. Tot T., Gere M., Pekár G., Tarján M., Hofmeyer S., Hellberg D., Lindquist D., Chen T.H., Yen A.M., Chiu S.Y., Tabár L. Breast cancer multifocality, disease extent, and survival. *Hum Pathol.* 2011 Nov; 42(11): 1761–9. doi: 10.1016/j.humpath.2011.02.002.

42. Cen D., Xu L., Li N., Chen Z., Wang L., Zhou S., Xu B., Liu C.L., Liu Z., Luo T. BI-RADS 3-5 microcalcifications can preoperatively predict breast cancer HER2 and Luminal A molecular subtype. *Oncotarget.* 2017; 8(8): 13855–62. doi: 10.18632/oncotarget.14655.

43. Nakashoji A., Matsui A., Nagayama A., Iwata Y., Sasahara M., Murata Y. Clinical predictors of pathological complete response to neo-adjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Oncol Lett.* 2017; 14(4): 4135–41. doi: 10.3892/ol.2017.6692.

Поступила/Received 14.04.2021
Принята в печать/Accepted 20.09.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Аксёненко Вероника Олеговна, аспирант отделения лучевой диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: veronikavesnina@gmail.com.

Фролова Ирина Георгиевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением лучевой диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9800-9777. Researcher ID (WOS): C-8212-2012. Author ID (Scopus): 7006413170. ORCID: 0000-0001-5227-006X.

Гарбуков Евгений Юрьевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3630-2324. Researcher ID (WOS): C-8299-2012. Author ID (Scopus): 6504255124. ORCID: 0000-0002-2917-8158.

Григорьев Евгений Геннадьевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения лучевой диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2079-2370. Researcher ID (WOS): C-8959-2012. Author ID (Scopus): 56612273600. ORCID: 0000-0003-3187-3659.

Рамазанова Мария Павловна, аспирант отделения лучевой диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия).

Усынин Евгений Анатольевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1804-0292. Researcher ID (WOS): D-1505-2012. Author ID (Scopus): 56204320500. ORCID: 0000-0001-7127-0188.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2442-4720. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Алайчиев Нурсултан Абдыжапарович, аспирант отделения общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Аксёненко Вероника Олеговна: сбор и обработка материала, работа с базами данных, оформление рукописи.

Фролова Ирина Георгиевна: разработка концепции и дизайна, редактирование окончательного варианта статьи, проверка критически важного интеллектуального содержания статьи.

Гарбуков Евгений Юрьевич: разработка концепции, дизайна и структуры, анализ статьи с точки зрения интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации.

Григорьев Евгений Геннадьевич: участие в разработке концепции и дизайна, оформление рукописи.

Рамазанова Мария Павловна: сбор и обработка материала, работа с базами данных.

Усынин Евгений Анатольевич: разработка концепции, дизайна и структуры, анализ статьи с точки зрения интеллектуального содержания.

Вторушин Сергей Владимирович: участие в разработке концепции и дизайна, оформление рукописи.

Алайчиев Нурсултан Абдыжапарович: сбор и обработка материала, работа с базами данных.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Veronika O. Aksenenko, MD, Postgraduate, Diagnostic Imaging Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk, Russia). E-mail: veronikavesnina@gmail.com.

Irina G. Frolova, MD, DSc, Professor, Head of Diagnostic Imaging Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk, Russia). SPIN-code: 9800-9777. Researcher ID (WOS): C-8212-2012. Author ID (Scopus): 7006413170. ORCID: 0000-0001-5227-006X.

Evgeniy Yu. Garbukov, MD, PhD, Senior Researcher, General Oncology Department, Cancer Research Institute, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). SPIN-code: 3630-2324. Researcher ID (WOS): C-8299-2012. Author ID (Scopus): 6504255124. ORCID: 0000-0002-2917-8158.

Evgeniy G. Grigoriev, MD, PhD, Senior Researcher, Diagnostic Imaging Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). SPIN-code: 2079-2370. Researcher ID (WOS): C-8959-2012. Author ID (Scopus): 56612273600. ORCID: 0000-0003-3187-3659.

Maria P. Ramazanov, MD, Postgraduate, Diagnostic Imaging Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk, Russia).

Evgeniy A. Usynin, MD, DSc, Head of General Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). SPIN-code: 1804-0292. Researcher ID (WOS): D-1505-2012. Author ID (Scopus): 56204320500. ORCID: 0000-0001-7127-0188.

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Professor, Head of the Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). SPIN-code: 2442-4720. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Nursultan A. Alaichiev, MD, Postgraduate, General Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Veronika O. Aksenenko: data collection and analysis, literature search, writing of the manuscript.

Irina G. Frolova: study conception and design, critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval.

Evgeniy Yu. Garbukov: study conception and design, critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript.

Evgeniy G. Grigoryev: study conception and design, revision of the manuscript.

Maria P. Ramazanova: data collection and analysis, literature search.

Evgeniy A. Usynin: study conception and design, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Sergey V. Vtorushin: study conception and design, critical revision of the manuscript.

Nursultan A. Alaichiev: data collection and analysis, literature search.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Лактионов К.К., Казаков А.М., Саранцева К.А., Щербо Д.С., Коваль А.П. Мутация в гене KRAS как предиктор эффективности иммунотерапии при немелкоклеточном раке лёгкого. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 115–121. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-115-121

For citation: Laktionov K.K., Kazakov A.M., Sarantseva K.A., Scherbo D.S., Koval A.P. Mutation in the kras gene as a predictor of the effectiveness of immunotherapy for non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 115–121. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-115-121

МУТАЦИЯ В ГЕНЕ KRAS КАК ПРЕДИКТОР ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЁГКОГО

К.К. Лактионов^{1,2}, А.М. Казаков¹, К.А. Саранцева¹, Д.С. Щербо², А.П. Коваль²

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина»

Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23. E-mail: lkoskos@mail.ru¹

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва, Россия²

Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1. E-mail: nastiakoalst@gmail.com²

Аннотация

Цель исследования – провести систематический анализ данных, имеющихся в современной литературе, об эффективности и целесообразности применения информации о наличии мутации в гене KRAS (в различных кодонах), ко-мутационном статусе (мутации в генах TP53 (KP), STK11/LKB1 (KL), и KEAP1) и ассоциации KRASm с PD-L1 статусом у больных немелкоклеточным раком легкого в качестве предиктора эффективности иммунотерапии ингибиторами контрольных точек иммунитета. **Материал и методы.** В обзор включены данные рандомизированных клинических исследований и метаанализов, в которых содержится информация о предиктивном значении мутации KRAS и ко-мутационного статуса при иммунотерапии у больных немелкоклеточным раком легкого за последние 10 лет. **Результаты.** Наличие корневой мутации в гене KRAS может претендовать на предиктивное значение при иммунотерапии, поскольку в ряде исследований показано преимущество от ее применения у KRASm пациентов. Сочетание мутации KRAS с ко-мутацией TP53 (KP) является предиктором лучшего ответа на иммунотерапию, тогда как сочетание с STK11/LKB1 (KL) и KEAP1 является предиктором худшего ответа (уменьшение частоты ответа и общей и безрецидивной выживаемости). У PD-L1-положительных пациентов наличие KRAS мутации ассоциируется с лучшим прогнозом при применении иммунотерапии. Кроме того, наличие мутации в гене KRAS ассоциируется с худшим ответом на химиотерапию как в первую, так и в последующие линии, что также говорит о более перспективном применении иммунотерапии у таких пациентов. **Заключение.** Определение ко-мутационного статуса (TP53 (KP), STK11/LKB1 (KL), и KEAP1) и наличия мутации в гене KRAS в дополнение к определению PD-L1 статуса позволит более селективно отбирать пациентов, которые получат максимальное преимущество от использования иммунотерапии. Кроме того, возможность определять мутацию в гене KRAS и ко-мутационный статус при применении жидкостной биопсии (с приемлемой специфичностью и чувствительностью) позволяет применять данный метод определения чувствительности к иммунотерапии тогда, когда получение опухолевого материала не представляется возможным (для определения экспрессии PD-L1).

Ключевые слова: иммунотерапия, KRAS мутация, PD-L1 статус, ко-мутации, жидкостная биопсия.

MUTATION IN THE KRAS GENE AS A PREDICTOR OF THE EFFECTIVENESS OF IMMUNOTHERAPY FOR NON-SMALL CELL LUNG CANCER

K.K. Laktionov^{1,2}, A.M. Kazakov¹, K.A. Sarantseva¹, D.S. Scherbo², A.P. Koval²

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia¹

23, Kashirskoye HWY, 115478, Moscow, Russia. E-mail: lkoskos@mail.ru¹

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia²

1, Ostrovityanova St., 117997, Moscow, Russia. E-mail: nastiakovalst@gmail.com²

Abstract

The purpose of the study: to conduct a systematic literature review on the effectiveness and feasibility of using information on the presence of KRAS gene mutations (in different codons), TP53 (KP), STK11/LKB1 (KL), and KEAP1 mutations and the association of KRASm with PD-L1 status in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) as a predictor of the effectiveness of immunotherapy with immune checkpoint inhibitors. **Material and Methods.** The review includes data from randomized clinical trials and meta-analyses on the predictive value of KRAS mutation status for response to immunotherapy in patients with NSCLC over the past 10 years. **Results.** The presence of KRAS mutations in NSCLC patients could be a predictive factor for their response to immunotherapy, as several studies have demonstrated benefit from immunotherapy in these patients. The combination of KRAS mutation with TP53 (KP) co-mutation predicts a better response to immunotherapy, while a combination with STK11/LKB1 (KL) and KEAP1 predicts a worse response (reduced response rate and overall and disease-free survival). In PD-L1-positive patients, the presence of KRAS mutation is associated with a better prognosis after treatment with immunotherapy. Moreover, the presence of KRAS mutation is associated with a worse response to first-line and subsequent-line chemotherapy, thus indicating a more promising use of immunotherapy in these patients. **Conclusion.** Identification of TP53 (KP), STK11/LKB1 (KL), and KEAP1 co-mutations and the presence of KRAS mutation in addition to determination PD-L expression enable selection of patients who will obtain the greatest benefit from immunotherapy. In addition, the ability to determine KRAS mutation and co-mutation status using a liquid biopsy (with acceptable specificity and sensitivity) makes it possible to use this method for determining sensitivity to immunotherapy when it is not possible to obtain tumor sample (to determine PD1-L1 expression).

Key words: immunotherapy, KRAS mutation, PD1-L1 status, co-mutations, liquid biopsy.

Введение

Рак лёгкого является одной из основных причин смерти от злокачественных новообразований во всем мире. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет более 80 % всех злокачественных новообразований легких, что делает выработку тактики и выявление предикторов эффективности его лечения необходимой и актуальной задачей. На данный момент всё большее распространение приобретает иммунотерапия (ИТ) ингибиторами контрольных точек, использующаяся как самостоятельно, так и в комбинации с химио- и лучевой терапией. При ИТ применяют ингибиторы PD1 (ниволумаб, пембролизумаб), ингибиторы PD-L1 (атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб, BMS-936559) [1].

Использование дурвалумаба в поддерживающем режиме после химиолучевой терапии для пациентов с НМРЛ III стадии позволило достичь 3-летней общей выживаемости (ОВ), равной 57 %, для сравнения при хирургическом лечении пациентов с НМРЛ III стадии 3-летняя ОВ составляет около 42 % [2, 3]. Однако, как и при применении большинства противоопухолевых препаратов,

эффективность иммунотерапии зависит от ряда параметров опухоли – предикторов ответа, к которым относятся: наличие/высокая экспрессия PD1/PD-L1, высокая мутационная нагрузка (ТМБ), длительный стаж курения, лучевая терапия на первичный опухолевый очаг в анамнезе, выраженная лимфоидная инфильтрация опухоли с преобладанием CD8 Т-лимфоцитов, а также, потенциально, наличие корневой мутации KRAS в опухолевой ткани [4]. Именно данной мутации и её значению в качестве предиктора эффективности иммунотерапии и будет посвящена данная статья.

Является ли само по себе наличие мутации в гене KRAS предиктором эффективности иммунотерапии?

Мутация в гене KRAS встречается примерно в 15–20 % случаев НМРЛ. В 90–95 % наблюдается при аденокарциноме и в 5 % при плоскоклеточном раке. Данная мутация чаще встречается в западных странах (США, Канада, Западная Европа), у мужчин с длительным стажем курения [5]. Белок KRAS представляет собой ГТФазу, которая при

воздействии сигналов извне клетки, полученных условной рецепторной тирозинкиназой (EGFR и др.), связывается с молекулой ГТФ (гуанозинтрифосфат), дефосфорилируя её в ГДФ (гуанозиндифосфат). Когда KRAS связан с ГТФ, он находится в активной форме и посредством активации каскада сигнальных путей RAS-RAF-MER-ERK (MAPK) активирует рост и пролиферацию клеток [6]. При мутации KRAS теряет способность гидролизовать ГТФ и остаётся в конститутивно активном состоянии, бесконтрольно активируя каскад нижестоящих сигнальных путей [7]. Помимо вышеуказанного сигнального пути (MAPK), KRAS также участвует в активации пути PI3K-AKT-mTOR, задействованного в стимуляции клеточной пролиферации. Избыточная стимуляция RAS-сигнального пути приводит к повышению экспрессии PD-L1 посредством активации фосфорилирования тристетрапролина – белка, связывающегося с AU-богатой 3'-нетранслируемой областью мРНК PD-L1, что приводит к деградации последней. Фосфорилирование тристетрапролина снижает его активность и, как следствие, увеличивает трансляцию PD-L1. Помимо этого, наличие мутации в гене KRAS ассоциируется с высокой мутационной нагрузкой из-за наличия дефектов в системе репарации ДНК (нарушение репарации ошибочно спаренных нуклеотидов, эксцизионной репарации оснований и др.) и контрольных точек клеточного цикла (механизмы апоптоза, ареста клеточного цикла) [8]. Именно поэтому наличие мутации в гене KRAS и может быть использовано в качестве предиктора эффективности иммунотерапии [9]. Одним из первых крупных исследований, в котором было оценено влияние мутации на прогноз при НМРЛ, является исследование CheckMate-057 (ниволумаб vs доцетаксел у предлеченных пациентов с аденокарциномой). В подгрупповом анализе было показано преимущество от применения ниволумаба в группе KRASm пациентов [10].

Исследование KEYNOTE-042 показало, что применение иммунотерапии у PD-L1-положительных пациентов с аденокарциномой (уровень экспрессии PD-L1 > 1 %) увеличивало общую и безрецидивную выживаемость по сравнению с применением химиотерапии независимо от статуса KRAS. Однако степень выигрыша в общей выживаемости от применения ИТ у KRASm и KRASwt пациентов сильно отличалась. Медиана ОБ в когорте с мутацией KRAS составила 28 мес при применении пембролизумаба против 11 мес при химиотерапии. В когорте без мутаций KRAS медианная ОБ составляла 15 мес против 12 мес при использовании пембролизумаба и химиотерапии соответственно [11].

По данным метаанализа, проведенного С.К. Lee et al., в который вошло более 3000 человек, получавших лечение ингибиторами контрольных точек иммунитета (ниволумаб, пембролизумаб,

атезолизумаб), было показано, что применение ИТ хоть и увеличивало общую выживаемость в группе KRASm пациентов, но различий в коэффициенте риска между мутантной и немутантной подгруппами не оказалось: KRASm HR=0,86 vs KRASwt HR=0,65; p=0,24 [12]. Другой метаанализ, объединивший результаты 3 крупных исследований (CheckMate 057, POPLAR, OAK), по сравнению ниволумаба или атезолизумаба с доцетакселем у ранее леченных пациентов НМРЛ показал, что иммунотерапия повышала общую выживаемость у пациентов с выявленными мутациями в гене KRAS (HR=0,64 [95 % CI 0,43–0,96], p=0,03) [13]. Влияние наличия мутации в гене KRAS на эффективность иммунотерапии косвенно подтверждают и результаты крупного метаанализа (более 5326 пациентов), который показал, что KRASm-статус чаще ассоциируется с наличием экспрессии PD-L1, по сравнению с KRASwt (OR=1,87; 95 % CI 1,34–2,61; p=0,0002) [14].

Проспективное исследование влияния мутационного статуса у 44 пациентов с аденокарциномой НМРЛ на эффективность иммунотерапии показало, что наличие мутации в гене KRAS является независимым положительным прогностическим фактором для иммунотерапии ингибиторами PD-1 (пембролизумаб, ниволумаб, синтилимаб). Мутация в гене KRAS значимо чаще встречалась в группе полного и частичного ответа на иммунотерапию по сравнению с группой прогрессирования (в течение первых 6 мес от начала лечения) (p<0,001). Безрецидивная выживаемость в течение 1 года также была статистически значимо выше в группе KRASm и составила 60 vs 12 % в группе KRASm и KRASwt соответственно (p=0,00015) [15]. Другое ретроспективное исследование пациентов с НМРЛ (n=29, аденокарцинома), также получавших ингибиторы PD-1 (пембролизумаб), показало значимое различие в медианах БРВ в группах KRASm и KRASwt – 14,7 vs 3,5 мес (p=0,003) [16].

Суммируя вышеизложенное, можно сказать, что присутствие мутации в гене KRAS имеет определённое прогностическое значение при проведении иммунотерапии у пациентов с НМРЛ, которое требует дальнейшего изучения для потенциального использования в клинической практике.

Гетерогенность KRAS мутированных опухолей

В гене KRAS встречается несколько активирующих точечных мутаций, наиболее частыми являются мутации в 12, 13 и 61 кодонах – G12C, G12V, G12D, G13C, G13D, Q61 [17]. При НМРЛ чаще встречается мутация G12C – примерно в 40 % случаев. Гетерогенность опухолей лёгкого, мутированных по гену KRAS, связана не только с подтипом самой мутации гена KRAS, но и с наличием сопутствующих альтераций в других генах

Таблица 1/ Table 1 [19, 21–23, 25]

Зависимость эффекта иммунотерапии от KRAS и ко-мутационного статуса

Dependence of the immunotherapy effect on KRAS and co-mutation status

KRAS-статус/ KRAS-status	PD-L1 статус/ PD-L1-status	Ко-мутационный статус/ Co-mutation status	Предполагаемый эффект от иммунотерапии/ Estimated effect of immunotherapy
KRASm 12C	PD-L1>1 %	TP53 (KP)	Максимальный/ Maximum
KRASm G12 V, G12D, G13C, G13D, Q61	PD-L1=0 %	CDKN2A/2B, STK11/ LKB1 (KL), и KEAP1	Минимальный/ Minimum

(ко-мутаций) – TP53 (KP), CDKN2A/2B, STK11/LKB1 (KL), и KEAP1 [18].

Данные о прогностическом значении мутаций в различных кодонах следует рассматривать с позиции вида планируемого лечения (химио- или иммунотерапия), поскольку мутация в одном и том же кодоне может иметь различное прогностическое значение для применения иммунотерапии и химиотерапии. Например, J.V. Aredo et al. в своём исследовании (n=186) показали значимую связь между наличием мутации в кодоне G12D и меньшей общей выживаемостью у пациентов с аденокарциномой легкого, получавших иммунотерапию (анти PD/PD-L1), в то время как мутация в кодоне 12C ассоциировалась с лучшим ответом на ИТ [19]. L. Tao et al. в исследовании предиктивного значения мутаций в различных кодонах KRAS у пациентов с аденокарциномой легкого (n=256), получавших стандартное лечение (хирургическое, химиотерапевтическое, лучевое), показали, что мутация в кодоне G12C (одновременно с позитивным PD-L1-статусом) ассоциируется с худшим прогнозом: ОБ – 5,7 vs 12,8 мес (p=0,007), в то время как мутации в других исследованных кодонах G12V и G12D не показали какого-либо предиктивного значения [20].

Ко-мутационный статус также имеет важное предиктивное значение, изученное в основном с позиции применения иммунотерапии у KRAS-положительных пациентов [21]. Наличие ко-мутации STK11/LKB1 ассоциируется с менее выраженной лимфоидной инфильтрацией опухоли, худшим ответом на иммунотерапию. Опухоли, несущие ко-мутацию TP53, имеют более выраженную лимфоидную инфильтрацию с преобладанием CD8-Т лимфоцитов, более выраженную экспрессию PD-L1 и лучший ответ на иммунотерапию. Данная ассоциация показана на группе пациентов (n=174) с НМРЛ (аденокарциномой), получавших иммунотерапию, у которых KRAS и ко-мутационный статус был определён в рамках проекта SU2C (Stand Up To Cancer). Показано, что объективный ответ в группе пациентов с ко-мутацией KL был равен 7,4 vs 35,7 % (p< 0,001) с ко-мутацией KP. Аналогичное сравнение было проведено на базе пациентов,

входивших в исследование CheckMate-057, – объективный ответ 0 % KL vs 57,1 % KP (p=0,047) [22]. Важно отметить, что наличие ко-мутации STK11/LKB1 ассоциировалось со значительно меньшей БРВ и ОБ независимо от PD-L1-статуса – группы PD-L1≥50 % и PD-L1<50 % показали одинаковые результаты [23]. STK11 также показал себя как отрицательный прогностический маркер и в группах пациентов, получавших комбинированную химио-иммунотерапию [24]. Также в подгрупповом ретроспективном анализе данных KEYNOTE-001 выявлено, что пациенты с TP53 или KRASm продемонстрировали значительно более длительное время безрецидивной выживаемости по сравнению с группой без данных мутаций, получавших пембролизумаб (медиана БРВ TP53m по сравнению с KRASm и по сравнению с WT группой: 14,5 vs 14,7 vs 3,5 мес (p=0,012) [15].

Исследование большой группы пациентов (n=330) с KRAS-мутантным НМРЛ выявило, что мутация KEAP1 является независимым прогностическим маркером более низкой общей выживаемости (HR=1,96; p<0,001) и ассоциируется с меньшей частотой ответа на химиотерапию (HR=1,64; p=0,03) и иммунотерапию (HR=3,54; p=0,003) [25].

Таким образом, гетерогенность KRASm-пациентов по наличию различных ко-мутаций позволяет, во-первых, объяснить результаты некоторых исследований, говорящих о слабой предиктивной роли KRASm, поскольку в них не оценивались ко-мутации и группы скорее всего были разнородными на количеству «положительных» и «отрицательных» прогностических ко-мутаций, во-вторых, даёт возможность в дальнейшем на основе тестирования на мутацию KRAS и соответствующие ко-мутации выявлять группы пациентов, получающих максимальную эффективность от иммунотерапии как в первой, так и в последующих линиях (табл. 1).

Потенциальное применение анализа KRAS-статуса

KRAS-статус может быть определен как при исследовании опухолевой ткани, так и путём ана-

лиза цоДНК, полученной в результате жидкостной биопсии [26]. Конечно, на данный момент PD-L1-статус является более точным прогностическим фактором эффективности иммунотерапии и является необходимым критерием для её назначения (пембролизумаб). Однако при невозможности получения опухолевого материала для тестирования на уровень экспрессии PD-L1 при помощи иммуногистохимического анализа, альтернативной опцией в перспективе может служить проведение жидкостной биопсии с определением KRAS-статуса, а в идеале и ко-мутационного статуса. В случае выявления KRASm выбор терапии будет склоняться в сторону иммунотерапии, поскольку наличие мутации в гене KRAS является предиктором её эффективности. К тому же, по данным ряда исследований, KRASm-пациенты хуже отвечают на химиотерапию (платиновый дублет) как в 1-й линии, так и в последующих (доцетаксел, пеметрексед) [27, 28].

Специфичность, чувствительность и конкордантность жидкостной биопсии при тестировании на KRAS, по ряду источников, составляют примерно 100, 69, 80 %, что схоже с чувствительностью жидкостной биопсии при тестировании на EGFR-статус и является приемлемым для использования в клинической практике [29]. При этом жидкостная биопсия потенциально об-

ладает рядом преимуществ: во-первых, цоДНК из плазмы крови может содержать более полную информация обо всех клонах опухоли, чем ДНК из небольшого опухолевого фрагмента при классической биопсии; во-вторых, жидкостная биопсия дает возможность мониторинга опухолевого статуса через небольшие промежутки времени за счёт малой инвазивности процедуры. Основной проблемой при этом является низкое содержание опухолевой фракции в ДНК плазмы крови, а также высокая вариабельность этого параметра. Однако в основе современных тест-систем для жидкостной биопсии лежат технологии, обладающие крайне высокой чувствительностью: цифровая капельная ПЦР, мутационноспецифичная ПЦР, технологии высокопроизводительного секвенирования с применением обогащения мутантными фрагментами или подавления ошибок секвенирования при помощи уникальных молекулярных баркодов. Данные приемы делают возможным определение очень низких частот мутантных аллелей вплоть до 0,02 % для гена KRAS и 0,01–0,02 % для EGFR, то есть фактически до единичных молекул в образце [30]. Это позволит внедрить в клиническую практику определение KRAS-статуса при помощи жидкостной биопсии в тех случаях, когда данный анализ может сыграть роль в выборе тактики лечения.

ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

- Corrales L., Scilla K., Caglevic C., Miller K., Oliveira J., Rolf C. Immunotherapy in Lung Cancer: A New Age in Cancer Treatment. *Adv Exp Med Biol.* 2018; 995: 65–95. doi: 10.1007/978-3-030-02505-2_3.
- Antonia S.J., Villegas A., Daniel D., Vicente D., Murakami S., Hui R., Kurata T., Chiappori A., Lee K.H., de Wit M., Cho B.C., Bourhaba M., Quantin X., Tokito T., Mekhail T., Planchard D., Kim Y.C., Karapetis C.S., Hiet S., Ostoros G., Kubota K., Gray J.E., Paz-Ares L., de Castro Carpeño J., Faivre-Finn C., Reck M., Vansteenkiste J., Spigel D.R., Wadsworth C., Melillo G., Taboada M., Dennis P.A., Özgüroğlu M.; PACIFIC Investigators. Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. *N Engl J Med.* 2018; 379(24): 2342–50. doi: 10.1056/NEJMoa1809697.
- Berry M.F., Worni M., Pietrobon R., D'Amico T.A., Akushevich I. Variability in the treatment of elderly patients with stage IIIA (N2) non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2013; 8(6): 744–52. doi: 10.1097/JTO.0b013e31828916aa.
- Liu C., Zheng S., Jin R., Wang X., Wang F., Zang R., Xu H., Lu Z., Huang J., Lei Y., Mao S., Wang Y., Feng X., Sun N., Wang Y., He J. The superior efficacy of anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy in KRAS-mutant non-small cell lung cancer that correlates with an inflammatory phenotype and increased immunogenicity. *Cancer Lett.* 2020; 470: 95–105. doi: 10.1016/j.canlet.2019.10.027.
- Ricciuti B., Leonardi G.C., Metro G., Grignani F., Pagliarunga L., Bellezza G., Baglivo S., Mencaroni C., Baldi A., Zicari D., Crinò L. Targeting the KRAS variant for treatment of non-small cell lung cancer: potential therapeutic applications. *Expert Rev Respir Med.* 2016; 10(1): 53–68. doi: 10.1586/17476348.2016.1115349.
- Jancik S., Drábek J., Radzioch D., Hajdúch M. Clinical relevance of KRAS in human cancers. *J Biomed Biotechnol.* 2010; 150960. doi: 10.1155/2010/150960.
- Riely G.J., Marks J., Pao W. KRAS mutations in non-small cell lung cancer. *Proc Am Thorac Soc.* 2009; 6(2): 201–5. doi: 10.1513/pats.200809-107LC.
- Castellano E., Downward J. RAS Interaction with PI3K: More Than Just Another Effector Pathway. *Genes Cancer.* 2011; 2(3): 261–74. doi: 10.1177/1947601911408079.
- Coelho M.A., de Carné Trécesson S., Rana S., Zecchin D., Moore C., Molina-Arcas M., East P., Spencer-Dene B., Nye E., Barnouin K., Snijders A.P., Lai W.S., Blackshear P.J., Downward J. Oncogenic RAS Signaling Promotes Tumor Immunoresistance by Stabilizing PD-L1 mRNA. *Immunity.* 2017; 47(6): 1083–99. doi: 10.1016/j.immuni.2017.11.016.
- Borghaei H., Paz-Ares L., Horn L., Spigel D.R., Steins M., Ready N.E., Chow L.Q., Vokes E.E., Felip E., Holgado E., Barlesi F., Kohlhäuf M., Arrieta O., Burgio M.A., Fayette J., Lena H., Poddubskaya E., Gerber D.E., Gettinger S.N., Rudin C.M., Rizvi N., Crinò L., Blumenschein G.R. Jr, Antonia S.J., Dorange C., Harbison C.T., Graf Finckenstein F., Brahmer J.R. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015; 373(17): 1627–39. doi: 10.1056/NEJMoa1507643.
- Ternyila D. Pembrolizumab Boosts Survival in Metastatic Nonsquamous NSCLC Regardless of KRAS Mutations. *Target oncology.* 2019.
- Lee C.K., Man J., Lord S., Cooper W., Links M., Gebbski V., Herbst R.S., Gralla R.J., Mok T., Yang J.C. Clinical and Molecular Characteristics Associated With Survival Among Patients Treated With Checkpoint Inhibitors for Advanced Non-Small Cell Lung Carcinoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2018; 4(2): 210–6. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.4427.
- Kim J.H., Kim H.S., Kim B.J. Prognostic value of KRAS mutation in advanced non-small-cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis and review. *Oncotarget.* 2017; 8(29): 48248–52. doi: 10.18632/oncotarget.17594.
- Liu C., Zheng S., Jin R., Wang X., Wang F., Zang R., Xu H., Lu Z., Huang J., Lei Y., Mao S., Wang Y., Feng X., Sun N., Wang Y., He J. The superior efficacy of anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy in KRAS-mutant non-small cell lung cancer that correlates with an inflammatory phenotype and increased immunogenicity. *Cancer Lett.* 2020; 470: 95–105. doi: 10.1016/j.canlet.2019.10.027.
- Song P., Yang D., Wang H., Cui X., Si X., Zhang X., Zhang L. Relationship between the efficacy of immunotherapy and characteristics of specific tumor mutation genes in non-small cell lung cancer patients. *Thorac Cancer.* 2020; 11(6): 1647–54. doi: 10.1111/1759-7714.13447.
- Dong Z.Y., Zhong W.Z., Zhang X.C., Su J., Xie Z., Liu S.Y., Tu H.Y., Chen H.J., Sun Y.L., Zhou Q., Yang J.J., Yang X.N., Lin J.X., Yan H.H., Zhai H.R., Yan L.X., Liao R.Q., Wu S.P., Wu Y.L. Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2017; 23(12): 3012–24. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2554.

17. Román M., Baraibar I., López I., Nadal E., Rolfo C., Vicent S., Gil-Bazo I. KRAS oncogene in non-small cell lung cancer: clinical perspectives on the treatment of an old target. *Mol Cancer*. 2018; 17(1): 33. doi: 10.1186/s12943-018-0789-x.
18. Skoulidis F., Byers L.A., Dia L., Papadimitrakopoulou V.A., Tong P., Izzo J., Behrens C., Kadara H., Parra E.R., Canales J.R., Zhang J., Giri U., Gudikote J., Cortez M.A., Yang C., Fan Y., Peyton M., Girard L., Coombes K.R., Toniatti C., Heffernan T.P., Choi M., Frampton G.M., Miller V., Weinstein J.N., Herbst R.S., Wong K.K., Zhang J., Sharma P., Mills G.B., Hong W.K., Minna J.D., Allison J.P., Futreal A., Wang J., Wistuba I.I., Heymach J.V. Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS-mutant lung adenocarcinoma with distinct biology, immune profiles, and therapeutic vulnerabilities. *Cancer Discov*. 2015; 5(8): 860–77. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1236.
19. Aredo J.V., Padda S.K., Kunder C.A., Han S.S., Neal J.W., Shrager J.B., Wakelee H.A. Impact of KRAS mutation subtype and concurrent pathogenic mutations on non-small cell lung cancer outcomes. *Lung Cancer*. 2019; 133: 144–50. doi: 10.1016/j.lungcan.2019.05.015.
20. Tao L., Sun J., Mekhail T., Meng L., Fang Ch., Du Yu., Socinski M.A., Allen A., Rzeszutko B.L., Chang C.C. The prognostic value of KRAS mutation subtypes and PD-L1 expression in patients with lung adenocarcinoma. *Clin Lung Cancer*. 2021 Jul; 22(4): e506-e511. doi: 10.1016/j.clcc.2020.07.004.
21. Scheffler M., Ihle M.A., Hein R., Merkelbach-Bruse S., Scheel A.H., Siemanowski J., Brägelmann J., Kron A., Abedpour N., Ueckerth F., Schüller M., Koleczko S., Michels S., Fassunke J., Pasternack H., Heydt C., Serke M., Fischer R., Schulte W., Gerigk U., Nogova L., Ko Y.D., Abdulla D.S.Y., Riedel R., Kambartel K.O., Lorenz J., Sauerland I., Randerath W., Kaminsky B., Hagmeyer L., Grohé C., Eisert A., Frank R., Gogl L., Schaepeers C., Holzem A., Hellmich M., Thomas R.K., Peifer M., Sos M.L., Büttner R., Wolf J. K-ras Mutation Subtypes in NSCLC and Associated Co-occurring Mutations in Other Oncogenic Pathways. *J Thorac Oncol*. 2019; 14(4): 606–16. doi: 10.1016/j.jtho.2018.12.013.
22. Adderley H., Blackhall F.H., Lindsay C.R. KRAS-mutant non-small cell lung cancer: Converging small molecules and immune checkpoint inhibition. *EBioMedicine*. 2019; 41: 711–16. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.02.049.
23. Skoulidis F., Goldberg M.E., Greenawalt D.M., Hellmann M.D., Awad M.M., Gainer J.F., Schrock A.B., Hartmaier R.J., Trabucco S.E., Gay L., Ali S.M., Elvin J.A., Singal G., Ross J.S., Fabrizio D., Szabo P.M., Chang H., Sasson A., Srinivasan S., Kirov S., Szustakowski J., Vitazka P., Edwards R., Bufile J.A., Sharma N., Ou S.I., Peled N., Spigel D.R., Rizvi H., Aguilar E.J., Carter B.W., Erasmus J., Halpenny D.F., Plodkowski A.J., Long N.M., Nishino M., Denning W.L., Galan-Cobo A., Hamdi H., Hirz T., Tong P., Wang J., Rodriguez-Canales J., Villalobos P.A., Parra E.R., Kalhor N., Sholl L.M., Sauter J.L., Jungbluth A.A., Mino-Kenudson M., Azimi R., Elamin Y.Y., Zhang J., Leonardi G.C., Jiang F., Wong K.K., Lee J.J., Papadimitrakopoulou V.A., Wistuba I.I., Miller V.A., Frampton G.M., Wolchok J.D., Shaw A.T., Jänne P.A., Stephens P.J., Rudin C.M., Geese W.J., Albacker L.A., Heymach J.V. STK11/LKB1 Mutations and PD-1 Inhibitor Resistance in KRAS-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discov*. 2018; 8(7): 822–35. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-0099.
24. Skoulidis F., Arbour K.C., Hellmann M.D., Patil P.D., Marmarelis M.E., Awad M.M., Murray J.Ch., Hellyer J., Gainer J.F., Dimou A., Bestvina Ch.M., Shu C.A., Riess J.W., Blakely C.M., Pecot Ch.V., Mezquita L., Tabbò F., Scheffler M., Papadimitrakopoulou V., Heymach J. Association of STK11/LKB1 genomic alterations with lack of benefit from the addition of pembrolizumab to platinum doublet chemotherapy in non-squamous non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2019; 37: 102. doi: 10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.102.
25. Arbour K.C., Jordan E., Kim H.R., Dienstag J., Yu H.A., Sanchez-Vega F., Lito P., Berger M., Solit D.B., Hellmann M., Kris M.G., Rudin C.M., Ni A., Arcila M., Ladanyi M., Riely G.J. Effects of Co-occurring Genomic Alterations on Outcomes in Patients with KRAS-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2018; 24(2): 334–40. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1841.
26. Sacher A.G., Pawletz C., Dahlberg S.E., Alden R.S., O'Connell A., Feeney N., Mach S.L., Jänne P.A., Oxnard G.R. Prospective validation of rapid plasma genotyping as a sensitive and specific tool for guiding lung cancer care. *JAMA Oncol*. 2016; 2(8): 1014–22. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.0173.
27. Marabese M., Ganzzini M., Garassino M.C., Shepherd F.A., Piva S., Caiola E., Macerelli M., Bettini A., Lauricella C., Floriani I., Farina G., Longo F., Biondi L., Fabbri M.A., Veronesi S., Marsoni S., Brogini M., Rulli E. KRAS mutations affect prognosis of non-small-cell lung cancer patients treated with first-line platinum containing chemotherapy. *Oncotarget*. 2015; 20: 6(32): 34014–22. doi: 10.18632/oncotarget.5607.
28. Svaton M., Fiala O., Pesek M., Bortlicek Z., Minarik M., Benešová L., Topolcan O. The Prognostic Role of KRAS Mutation in Patients with Advanced NSCLC Treated with Second- or Third-line Chemotherapy. *Anticancer Res*. 2016; 36(3): 1077–82.
29. Rolfo C., Mack P.C., Scagliotti G.V., Baas P., Barlesi F., Bivona T.G., Herbst R.S., Mok T.S., Peled N., Pirker R., Raez L.E., Reck M., Riess J.W., Sequist L.V., Shepherd F.A., Sholl L.M., Tan D.S.W., Wakelee H.A., Wistuba I.I., Wynes M.W., Carbone D.P., Hirsch F.R., Gandara D.R. Liquid Biopsy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): A Statement Paper from the IASLC. *J Thorac Oncol*. 2018; 13(9): 1248–68. doi: 10.1016/j.jtho.2018.05.030.
30. Poole J.C., Wu S.F., Lu T.T., Vibat C.R.T., Pham A., Samuels E., Patel M., Chen J., Daher T., Singh V.M., Arnold L.J. Analytical validation of the Target Selector ctDNA platform featuring single copy detection sensitivity for clinically actionable EGFR, BRAF, and KRAS mutations. *PLoS One*. 2019; 14(10). doi: 10.1371/journal.pone.0223112.

Поступила/Received 26.05.2020
Принята в печать/Accepted 18.06.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Лактионов Константин Константинович, доктор медицинских наук, заведующий отделением лекарственных методов лечения № 17, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ; профессор кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета, ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: lkoskos@mail.ru. SPIN-код: 7404-5133. ORCID: 0000-0003-4469-502x.

Казаков Алексей Михайлович, клинический ординатор, отделение лекарственных методов лечения № 17, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3774-8783. ORCID: 0000-0002-9534-2729.

Саранцева Ксения Андреевна, кандидат медицинских наук, врач-онколог, отделение лекарственных методов лечения № 17, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5275-1127. ORCID: 0000-0002-7817-8429.

Щербо Дмитрий Сергеевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной онкологии ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4463-1721.

Коваль Анастасия Павловна, кандидат биологических наук, сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8553-7009.

ВКЛАД АВТОРОВ

Лактионов Константин Константинович: разработка концепции научного обзора.

Казаков Алексей Михайлович: анализ отечественных и зарубежных исследований, написание работы.

Саранцева Ксения Андреевна: критический пересмотр, внесение поправок.

Щербо Дмитрий Сергеевич: консультация, окончательная доработка статьи.

Коваль Анастасия Павловна: консультация, окончательная доработка статьи.

Финансирование

Исследование поддержано грантом РФФ 20-75-10008.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Konstantin K. Laktionov, MD, DSc, Head of the Department of Medicinal Methods of Treatment, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia; Professor of the Department of Oncology and Radiation Therapy, Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia). E-mail: lkoskos@mail.ru. SPIN-code: 7404-5133. ORCID: 0000-0003-4469-502x.

Alexey M. Kazakov, MD, Clinical Resident of the Department of Medicinal Methods of Treatment, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 3774-8783. ORCID: 0000-0002-9534-2729.

Ksenia A. Sarantseva, MD, PhD, Oncologist, Department of Medicinal Methods of Treatment № 17, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 5275-1127. ORCID: 0000-0002-7817-8429.

Dmitry S. Scherbo, PhD, Head of the Laboratory of Molecular Oncology, Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia). SPIN-код: 4463-1721.

Anastasia P. Koval, PhD, Employee of the Laboratory of Molecular Oncology, Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia). SPIN-code: 8553-7009.

AUTHOR CONTRIBUTION

Konstantin K. Laktionov: study conception and design.

Alexey M. Kazakov: data collection and analysis.

Ksenia A. Sarantseva: critical revision with important intellectual content, manuscript editing.

Dmitry S. Scherbo: final approval of the manuscript.

Anastasia P. Koval: final approval of the manuscript.

Funding

The study was supported by the RSF grant 20-75-10008.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Солодкий В.А., Фомин Д.К., Гончаров С.В., Кукушкина С.А. Современные подходы к лечению перитонеального канцероматоза при раке желудка (обзор литературы). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 122–129. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-122-129

For citation: Solodkiy V.A., Fomin D.K., Goncharov S.V., Kukushkina S.A. Modern approaches to the treatment of peritoneal carcinomatosis from gastric cancer (literature review). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 122–129. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-122-129

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО КАНЦЕРОМАТОЗА ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В.А. Солодкий, Д.К. Фомин, С.В. Гончаров, С.А. Кукушкина

ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России,

г. Москва, Россия

Россия, 117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, 86. E-mail: sonia_efremova@mail.ru

Аннотация

Актуальность. Рак желудка занимает одно из первых мест по заболеваемости в России и мире среди всех злокачественных новообразований. В 40 % случаев постановка диагноза происходит лишь на поздних стадиях развития – от Т3 и выше, что ведет к увеличению риска отдаленного метастазирования. Перитонеальный канцероматоз при раке желудка является одним из самых частых путей диссеминации с медианой выживаемости не более 6 мес. **Цель исследования** – изучить различные современные подходы к лечению перитонеального канцероматоза при раке желудка. **Материал и методы.** Поиск литературы производился в системах Medline, Cochrane Library, E-library, Scopus, PubMed. **Результаты.** Существует большое разнообразие комбинированных подходов к лечению метастатического рака желудка. Разрабатываются различные варианты циторедуктивных операций, дополненных неоадьювантной и адьювантной химиотерапией, внутрибрюшным введением цитостатиков, лучевой терапией. Однако результаты исследований в вопросе увеличения выживаемости и снижения рецидивов при диссеминированном процессе противоречивы. Наиболее неоднозначную группу при выборе тактики лечения представляют пациенты, у которых морфологически и цитологически доказано наличие свободных опухолевых клеток в перитонеальном смыве с брюшной полости при отсутствии визуализируемых очагов внутрибрюшного метастатического поражения. Рецидив рака желудка в данной группе развивается в течение 2 лет. Кроме того, показано, что 5-летняя выживаемость у пациентов с наличием макроскопических очагов и с выявленными свободными опухолевыми диссеминатами в смывных водах сопоставима и составляет 2 %. Одной из наиболее эффективных экспериментальных тактик лечения перитонеального канцероматоза при раке желудка и яичников являлась внутрибрюшная радионуклидная терапия с применением коллоидных радиофармпрепаратов на основе ¹⁹⁸Au. Основным достоинством метода являлось полное прекращение формирования выпота в брюшную полость при асцитных формах заболевания. Однако из-за высокой кишечной токсичности препаратов радиоактивного золота и лучевой нагрузки на пациентов и медицинский персонал дальнейшая работа в этом направлении была остановлена. **Заключение.** На настоящий момент продолжается поиск наиболее эффективной тактики лечения больных с перитонеальным канцероматозом при раке желудка, направленной на улучшение выживаемости.

Ключевые слова: диссеминированный рак желудка, перитонеальный канцероматоз, свободные опухолевые клетки, внутрибрюшная радионуклидная терапия, коллоидный радиофармпрепарат, асцит, химиотерапия, циторедуктивные операции.

MODERN APPROACHES TO THE TREATMENT OF PERITONEAL CARCINOMATOSIS FROM GASTRIC CANCER (LITERATURE REVIEW)

V.A. Solodkiy, D.K. Fomin, S.V. Goncharov, S.A. Kukushkina

Russian Scientific Center of Rentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russia, Moscow, Russia
86, Profsoyuznaya St., 117997, Moscow, Russia. E-mail: sonia_efremova@mail.ru

Abstract

Background. Gastric cancer (GS) is one of the most common and deadly cancers in Russia and worldwide. In 40 % of cases, GC is diagnosed at an advanced stage, thus increasing the risk of distant metastasis. Peritoneal carcinomatosis from GC is one of the most common pathways of dissemination, with a median survival time of less than 6 months. **Aim.** To study various modern approaches to the treatment of peritoneal carcinomatosis in gastric cancer. **Material and Methods.** Literature search was performed in Medline, Cochrane Library, Elibrary, Scopus, PubMed systems. **Results.** Currently, there is a wide variety of approaches to combined modality treatment of metastatic GC. Various options of cytoreductive surgeries are being developed. These surgeries are combined with neoadjuvant/adjuvant, intra-abdominal chemotherapy and radiation therapy. However, the results of studies on improving survival and reducing recurrence in patients with advanced GC are contradictory. Currently, patients with morphologically and cytologically confirmed free cancer cells in the peritoneal lavage without visualized intra-abdominal metastatic lesions are the most controversial group for the choice of appropriate treatment. Gastric cancer recurrence in these patients occurs within 2 years. In addition, the 5-year survival rate in patients with the presence of free cancer cells in peritoneal washings amounts for 2 %. One of the most effective experimental treatments for peritoneal carcinomatosis in gastric and ovarian cancers was intra-abdominal radionuclide therapy using colloidal ^{198}Au . The main advantage of the method was the complete cessation of the formation of effusion into the abdominal cavity in ascites forms of the disease. However, due to the high intestinal toxicity of radioactive gold tracer and radiation exposure to patients and medical staff, further work was stopped. **Conclusion.** Thus, the search of the most effective tactic of peritoneal carcinomatosis treatment in patients with advanced GC is still in progress.

Key words: disseminated gastric cancer, peritoneal carcinomatosis, free tumor cells, intra-abdominal radionuclide therapy, colloidal radiopharmaceutical, ascites, chemotherapy, cytoreductive surgery.

Удельный вес рака желудка (РЖ) составляет приблизительно 10 % среди злокачественных новообразований во всем мире и, по данным 2018 г., занимает 6-е место в структуре онкологической заболеваемости в Российской Федерации (5,8 %). Заболевание характеризуется крайне высокой смертностью на первом году наблюдения, достигая почти 50 %. Пик заболеваемости приходится на возраст старше 50 лет, в возрастной группе 30–59 лет доля РЖ – 5 % от общего числа злокачественных заболеваний. Течение характеризуется длительным бессимптомным периодом и отсутствием специфических клинических проявлений, что у 40 % больных в России приводит к выявлению заболевания на поздних стадиях [1, 2]. Прогрессирование проявляется в виде локорегионального рецидива, отдаленного или гематогенного метастазирования, перитонеального канцероматоза [3]. Диссеминация по брюшине считается одним из самых неблагоприятных путей распространения заболевания с медианой выживаемости 3–6 мес. Основными факторами риска развития перитонеального канцероматоза при РЖ являются инвазия серозной оболочки органа опухолью, низкая

степень дифференцировки, диффузный тип рака, поражение регионарных лимфатических узлов и наличие свободных опухолевых клеток в брюшной полости, в том числе вследствие ее обсеменения при радикальном хирургическом лечении [4–7]. По литературным данным, в 12–40 % случаев канцероматоз брюшины может быть единственным проявлением диссеминации РЖ [8–11].

При раке желудка наиболее широко применяется хирургическое лечение, в России 2018 г. только оперативное вмешательство было проведено у 67,4 % операбельных пациентов [1]. Радикальное лечение при РЖ предусматривает полное удаление первичной опухоли и зон возможной метастатической диссеминации [12]. При стадии T2 и выше с экспансивным характером роста рекомендован край резекции, располагающийся на расстоянии не менее 3 см от опухоли, при инфильтративном поражении – на расстоянии не менее 5 см. Для крупных очагов или располагающихся по малой кривизне желудка предпочтительнее выполнение тотальной гастрэктомии [13]. По данным литературы, 5-летняя выживаемость после указанного объема лечения при РЖ I (T1N0M0) стадии составляет 85–90 %,

при РЖ II (T2–3N0M0) стадии – 45–50 %, при РЖ III (T1–3N1–3M0) стадии – 5–20 %, при РЖ IV (T1–3N1–3M1) стадии – 3 % [14, 15].

В некоторых работах продемонстрированы преимущества лапароскопической тотальной гастрэктомии в сравнении с хирургическим вмешательством на открытой брюшной полости, к которым относятся значительное снижение кровопотери, что может увеличить риск внутрибрюшной диссеминации [16], а также более быстрое восстановление пациентов и уменьшение частоты послеоперационных осложнений [17, 18]. Однако мнения исследователей расходятся в вопросе о роли оперативного доступа в обсеменении брюшной полости свободными опухолевыми клетками. По данным Y. Nao et al., частота выявления свободных раковых клеток в брюшной полости в зависимости от оперативного доступа при цитологическом анализе перитонеального смыва достоверно не различалась и находилась в пределах 39–42 %. Внутрибрюшное распространение клеток определялось глубиной инвазии опухоли, площадью пораженной серозной оболочки и вовлечением регионарных лимфоузлов [19–21]. При этом по результатам других исследований отмечался меньший риск диссеминации при лапароскопической операции, при которой вероятность обсеменения возрастала на 10–25 %, в то время как после «открытого» вмешательства – на 60 % [21–24]. Согласно последним исследованиям, у 40–60 % пациентов рецидив РЖ развивается в течение 2 лет, а среднее время до первого проявления возврата заболевания составляет 14–29 мес [19, 20, 25–27].

В вопросе об оптимальном объеме лимфодиссекции при перитонеальном канцероматозе единого мнения также не сформировано. Данные некоторых исследований свидетельствуют о том, что при отсутствии видимых признаков канцероматоза брюшины требуется достижение радикализма за счет включения в объем хирургического лечения лимфодиссекции на порядок выше, чем уровень пораженных метастазами узлов (не менее 16) [28, 29]. В работе H. Baba et al. показано, что при операции в объеме D2/D3 в случае отсутствия вторичного очагового поражения брюшины достоверно увеличивается продолжительность жизни больных в среднем до 23,6 мес по сравнению с 11,0 мес после лимфодиссекции D1 [30]. С другой стороны, ряд исследователей утверждают, что расширение объема операции, включая лимфодиссекцию, достоверно не влияет на частоту и структуру рецидивов и не позволяет обеспечить удовлетворительные отдаленные результаты [31–34].

Для повышения эффективности лечения распространенного РЖ разрабатываются комбинированные подходы – циторедуктивные хирургические операции в сочетании с различными вариантами внутрибрюшной химиотерапии при обязательном тщательном отборе больных [7]. Благодаря вве-

дению препаратов непосредственно в брюшную полость достигается их большая концентрация непосредственно в брюшине по сравнению с внутривенным введением, а следовательно, повышается терапевтическая эффективность [35]. По данным O. Glehen et al., полнота циторедукции достоверно влияла на выживаемость больных раком желудка с канцероматозом после внутрибрюшной гипертермической химиотерапии (HIPEC) [36]. Полная циторедукция в объеме CC0–CC1 (очаги <2,5 мм) позволяет рассчитывать на достижение более высокого уровня выживаемости при лечении метастатической диссеминации с использованием внутрибрюшной химиотерапии. Также, по данным ряда авторов, при перитонеальном канцероматозе циторедукция может включать перитонеумэктомию [37–39], что, по мнению P. Sugarbaker et al., позволяет увеличить медиану выживаемости до 12 мес, а общую 5-летнюю выживаемость до 11–20 % [40]. Однако, несмотря на более обнадеживающие результаты применения комбинированных схем лечения, продолжительность жизни пациентов с диссеминированным РЖ не удается значительно увеличить, медиана выживаемости остается в пределах 8–12 мес [35].

Системная химиотерапия (ХТ) является одним из основных методов лечения метастатического РЖ. В рандомизированных исследованиях показано, что ее эффективность достоверно выше по сравнению с симптоматической терапией, за счет увеличения медианы выживаемости до 8–13 мес. Однако положительные изменения при использовании современных химиопрепаратов наблюдаются менее чем у 40 % пациентов из-за гемато-перитонеального барьера и низкой чувствительности РЖ к цитостатикам, особенно на стадиях T3–4 [10, 35, 41, 42]. Согласно метаанализу 13 рандомизированных контролируемых исследований, включавших 1914 больных РЖ, проведенному A.D. Wagner et al., установлено, что ответ опухоли на комбинированные схемы химиотерапии более выражен по сравнению с монорежимами (HR 0,82; 95 % CI 0,74–0,90), медиана выживаемости – 8,3 против 6,7 мес соответственно. Однако ценой этого преимущества является более выраженная токсичность комбинированных схем химиотерапии [43].

Наиболее распространенным препаратом для монотерапии РЖ является 5-фторурацил (5-ФУ). Его терапевтическая эффективность составляет приблизительно 20 % [43]. Самыми применяемыми схемами полихимиотерапии являются: PF (цисплатин, 5-ФУ); ELF (этопозид, лейковорин, 5-ФУ); ECF (эпидоксорубин, цисплатин, 5-ФУ); FAMTX (5-ФУ, доксорубин, метотрексат) [41]. В России в качестве стандартных схем химиотерапии первой линии рака желудка рассматриваются комбинации производных платины с фторпиримидинами – CF, CX, XELOX, альтернативными комбинациями

являются IF, FOLFOX. Данные режимы обладают сходной эффективностью, различаясь по профилю токсичности [44]. Рядом авторов показано значимое повышение общей выживаемости при использовании трехкомпонентной схемы 5-ФУ + цисплатин + антрациклин перед двухкомпонентными режимами 5-ФУ + цисплатин и 5-ФУ + антрациклин (HR 0,77; 95 % CI 0,62–0,95 и HR 0,82; 95 % CI 0,73–0,92 соответственно). Однако медиана выживаемости увеличивалась всего на 1–2 мес. Аналогичные результаты получены в исследовании P. Ross et al. при сравнении схем ECF и MCF [45].

На данный момент благодаря проведению рандомизированных исследований II и III фазы произошло расширение спектра комбинаций химиотерапевтических препаратов за счет таксанов, оксалиплатина, пероральных фторпиримидинов и иринотекана. К основным схемам ХТ добавлены DCF (доцетаксел, цисплатин, 5-ФУ), IFL (иринотекан, лейковорин, 5-ФУ) и EOX (эпирубицин, оксалиплатин, капецитабин). Данные препараты позволили улучшить результаты лечения и снизить токсичность, а также сделали проведение ХТ более удобной [41]. В монорежиме эффективность этих препаратов находилась в пределах 21–24 %. Согласно результатам исследований II фазы комбинации паклитаксела и доцетаксела в двух- и трехкомпонентных схемах с препаратами платины и 5-ФУ в первой и второй линиях терапии, оба препарата показали большую общую эффективность (22–65 % и 17,1–56 %) и медиану выживаемости (6–14 мес и 5,8–11 мес). Сходные данные получены для схем с иринотеканом. По данным исследования REAL-2, в котором проводили сравнение оксалиплатина/цисплатина/капецитабина/5-ФУ по схеме 2×2, выявлено, что достоверная разница в эффективности четырех режимов отсутствует. По мнению авторов, более приемлемым является выбор комбинации с меньшей гематологической токсичностью [41, 46]. В рандомизированном исследовании III фазы V306 меньшая частота побочных явлений выявлена при сравнении комбинации IFL (иринотекан, 5-ФУ, лейковорин) с режимом PF при отсутствии достоверных преимуществ в эффективности воздействия. Нейтропения III–IV степени выявлена в 25 % случаев при использовании IFL и в 50 % – при PF, стоматит в 2 и 17 % соответственно [47]. Таким образом, несмотря на разнообразие режимов лечения, ни одна из изученных комбинаций не показала преимуществ и не выбрана в качестве стандарта лечения диссеминированного РЖ [43].

Комбинированное лечение РЖ на различных этапах может быть дополнено лучевой терапией (ЛТ). Однако при раке желудка абсолютное прецизионное подведение излучения к органам верхнего этажа брюшной полости традиционными методами радиотерапии не представляется возможным, а необходимые дозы значительно превышают толерантность окружающих желудок тканей и органов,

неизбежно попадающих в поле облучения. Исходя из этого, максимальная доза составляет 45–50,4 Гр по 1,8 Гр на фракцию [48]. Вместе с тем РЖ обладает относительно низкой радиочувствительностью [31]. С учетом всех этих факторов доказано, что ЛТ не может использоваться как самостоятельный вид лечения.

Основным преимуществом неоадьювантной ЛТ является воздействие на первичную опухоль с сохраненной васкуляризацией и отсутствием фиброзных изменений в очаге поражения, снижающих эффективность противоопухолевого воздействия. В рандомизированном исследовании Z.X. Zhang et al. при сравнении комбинированного режима с неоадьювантной ЛТ и хирургического лечения рака желудка отмечены повышение показателя резектабельности опухоли и значимая регрессия стадии («down-staging») РЖ, в том числе с метастазами в регионарных лимфатических узлах. По сравнению с контрольной группой увеличилось количество случаев pT1–2 (13,5 % против 4,5 %, $p<0,01$), снизилось число больных pT4 (40,3 % против 51,3 %, $p<0,05$) и с поражением регионарных лимфатических узлов (38,6 % против 54,6 %, $p<0,005$). После предоперационной лучевой терапии показатель резектабельности вырос на 10 % ($p<0,01$). Вместе с тем послеоперационная летальность и частота несостоятельности швов анастомозов не различались, а показатели 5- и 10-летней выживаемости оказались значимо выше при комбинированном лечении [49]. Недостатком предоперационной дистанционной лучевой терапии (ДЛТ) является отсутствие достоверных данных о стадии опухолевого процесса на этом этапе, что может привести к проведению ЛТ у больных, которым она не показана – при ранних формах рака желудка или при наличии отдаленных метастазов. Помимо этого, последствиями облучения являются лучевые реакции, которые в ряде случаев не позволяют завершить лечение [31].

В исследовании CROSS изучались области рецидивирования у 422 пациентов с аденокарциномой желудка после предоперационной химиолучевой терапии и при хирургическом лечении. Химиотерапия состояла из пяти циклов одновременного введения паклитаксела и карбоплатина. Общая доза облучения 41,4 Гр подводилась в 23 фракциях по 1,8 Гр, по 5 фракций в неделю, начиная с первого дня химиотерапии. Всех пациентов лечили с помощью дистанционного излучения с использованием трехмерной техники конформного излучения. Общий объем опухоли, который состоял из первичной опухоли и любых увеличенных регионарных лимфатических узлов, определяли на каждом соответствующем срезе КТ. По результатам исследования на фоне предоперационной химиолучевой терапии снижался риск локорегионарного метастазирования с 34 до 14 % ($p<0,001$) и развития перитонеального канцероматоза с 14 до 4 % ($p<0,001$) [50].

Метод интраоперационной лучевой терапии (ИОЛТ) дает возможность подвести высокую дозу ионизирующего излучения во время оперативного вмешательства непосредственно к патологическому очагу или на «ложе» удаленной опухоли в виде высокой однократной дозы ионизирующего излучения. Прецизионное облучение «мишени», а также защита окружающих органов и тканей дают возможность значительно уменьшить риск развития лучевых осложнений. К достоинствам метода ИОЛТ можно отнести значительное уменьшение срока лечения. Показано, что однократное единовременное подведение 20 Гр по своему биологическому эффекту соответствует полному курсу послеоперационного лучевого воздействия в 40–50 Гр в течение 1,5 мес. Кроме того, комбинированное лечение с ИОЛТ позволяет улучшить 5-летнюю выживаемость на 25 % и наиболее эффективно при местнораспространенном, низко- и недифференцированном раке желудка [31, 51]. S. Fu et al. оценили последствия при комплексном лечении рака желудка, состоящем из гастрэктомии с D2-лимфодиссекцией, ИОЛТ (доза облучения – 12–15 Гр), и послеоперационной химиолучевой терапии. Показано, что количество послеоперационных осложнений и общая токсичность лечения не различались относительно группы больных без ИОЛТ, а 3-летний показатель локорегионарного контроля был значимо выше у пациентов с интраоперационным воздействием. Трехлетняя общая и безрецидивная выживаемость в группе ДЛТ составили 47 и 36 %, в группе ДЛТ + ИОЛТ – 56 и 44 % соответственно ($p > 0,05$) [34].

На данный момент оптимальная схема применения лучевой и химиолучевой терапии для лечения больных раком желудка не найдена. Вклад лучевой терапии в лечение РЖ с перитонеальным канцероматозом ограничен из-за высокого риска кишечной и гематогенной токсичности.

В середине XX века возможным методом комбинированного лечения метастатического поражения брюшины и паллиативной терапии рефрактерного асцита при различных злокачественных новообразованиях (рак яичников, рак толстой кишки, рак желудка) рассматривалась интраперитонеальная радионуклидная терапия, при которой в брюшную полость вводились препараты на основе

радиоактивного коллоидного ^{198}Au с периодом полураспада 2,7 сут. Излучение ^{198}Au на 95 % состоит из β -частиц (0,98 MeV) с максимальной проникающей способностью 3,8 мм (медианой – 0,4 мм) и γ -излучения (0,41 MeV). Эффективное β -излучение, испускаемое ^{198}Au , воздействует только на ткани, находящиеся в непосредственном контакте с радионуклидом. Коллоидное золото нерастворимо и химически неактивно [52]. При введении суспензии коллоидных частиц золота в серозную полость, содержащую жидкость, происходит быстрая диффузия вещества и затем оседание частиц на поверхности серозной оболочки и в субэндотелиальной соединительной ткани. Также они захватываются фагоцитами, что обеспечивает действие ионизирующего излучения в основном непосредственно в пределах тканей серозной оболочки [53]. Частицы радиоактивного коллоидного золота, захваченные макрофагами, воздействовали менее активно на опухолевые клеточные диссеминаты, чем радионуклид, распределенный по поверхности брюшной полости [54]. Поверхностная доза ионизирующего излучения (при введении 100 мКи ^{198}Au) резко снижается с ростом объема свободной жидкости в брюшной полости при асците за счет самопогашения β -излучения в ее толще [52, 55, 56]. В ряде исследований было показано, что внутрибрюшная радионуклидная терапия при злокачественном асците в 10–23 % случаев приводила к полному прекращению формирования выпота [53, 56, 57]. Основным недостатком внутрибрюшной радионуклидной терапии явилась техническая невозможность обеспечения управляемого равномерного распределения препарата по брюшной полости, что вызывало высокую кишечную токсичность, а также значительную лучевую нагрузку на пациентов и на медицинский персонал из-за несовершенства средств противорадиационной защиты, что привело к прекращению исследований [53, 57].

До настоящего времени ни один из предлагаемых методов лечения канцероматоза брюшины при раке желудка не позволил значительно повысить выживаемость пациентов. Выбор тактики лечения носит экспериментальный характер и требует тщательного анализа всех факторов риска и разработки комбинированного лечебного подхода [58–60].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. М., 2019. 236 с. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Status of oncological care for the population of Russia in 2018. Moscow. 2019; 236 p. (in Russian)].
- Юдин С.С. Этюды желудочной хирургии. М., 1955. 264 с. [Judin S.S. Gastric surgery essays. Moscow, 1955. 264 p. (in Russian)].
- Liu D., Lu M., Li J., Yang Z., Feng Q., Zhou M., Zhang Z., Shen L. The patterns and timing of recurrence after curative resection for gastric cancer in China. *World J Surg Oncol*. 2016. 14: 305. doi:10.1186/s12957-016-1042-y.
- Молчанов С.В., Коломиец Л.А., Фролова И.Г., Вяткина Н.В., Бакланова Н.С. Перитонеальный канцероматоз при раке яичников: эхо-семиотика, классификация. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

- 2014; 25(1–2): 14–20. [Molchanov S.V., Kolomiets L.A., Frolova I.G., Vyatkina N.V., Baklanova N.S. Peritoneal carcinomatosis in patients with ovarian cancer: echosemiotics and classification. *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*. 2014; 25(1–2): 14–20. (in Russian)].

5. Сенчик К.Ю., Беспалов В.Г., Стуков А.Н., Беляева О.А., Панченко А.П., Киреева Г.С., Аристова В.А., Трашков А.П. Химиоперфузионное лечение канцероматоза брюшины. Вестник Российской военной медицинской академии. 2013; (4): 222–8. [Senchik K.Yu., Bepalov V.G., Stukov A.N., Belyaeva O.A., Panchenko A.P., Kireeva G.S., Aristova V.A., Trashkov A.P. Chemoperfusion treatment of peritoneal carcinomatosis. *Vestnik of the Russian Military Medical Academy*. 2013; (4): 222–8. (in Russian)].

6. Sugarbaker P.H. Intraperitoneal chemotherapy and cytoreductive surgery for the prevention and treatment of peritoneal carcinomatosis and sarcomatosis. *Semin Surg Oncol*. 1998; (14): 254–61. doi:10.1002/(sici)1098-2388(199804/05)14:3<254::aid-ssu10>3.0.co;2-u.
7. Хомяков В.М., Рябов А.Б., Болотина Л.В., Соболев Д.Д., Уткина А.Б., Кузнецова О.С. Лечение больных раком желудка с канцероматозом брюшины. Современный взгляд и перспективы. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2017; 6(6): 4–13. [Khomyakov V.M., Ryabov A.B., Bolotina L.B., Sobolev D.D., Utkina A.B., Kuznetsova O.S. Treatment of stomach cancer patients with peritoneal carcinomatosis. Modern view and perspectives. *P.A. Herzen Journal of Oncology*. 2017; 6(6): 4–13. (in Russian)].
8. Cotte E., Passot G., Gilly F.N., Glehen O. Selection of patients and staging of peritoneal surface malignancies. *World J Gastrointest Oncol*. 2010; 2(1): 31–5. doi: 10.4251/wjgo.v2.i1.31.
9. Чиссов В.И., Ватакмадзе Л.А., Бутенко А.В., Пикин О.В., Ложкин М.В. Возможность хирургического лечения резектабельного рака желудка IV стадии. *Российский онкологический журнал*. 2003; (6): 4–6. [Chissov V. I., Vashakmadze L.A., Butenko A.V., Pikin O.V., Lozhkin M.V. Surgical potentialities in resectable gastric cancer stage IV. *Russian Journal of Oncology*. 2003; (6): 4–6. (in Russian)].
10. Thomassen I., van Gestel Y.R., van Ramshorst B., Luyer M.D., Bosscha K., Nienhuis S.W., Lemmens V.E., de Hingh I.H. Peritoneal carcinomatosis of gastric origin: A population-based study on incidence, survival and risk factors. *Int J Cancer*. 2014; 134(3): 622–8. doi:10.1002/ijc.28373.
11. Yoo C.H., Noh S.H., Shin D.W., Choi S.H., Min J.S. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. *BJS Open*. 2000; 87(2): 236–42. doi: 10.1046/j.1365-2168.2000.01360.x.
12. Харнас С.С., Левкин В.В., Мусаев Г.Х. Рак желудка (клиника, диагностика, лечение). М., 2006. [Harnas S.S., Levkin V.V., Musayev G.H. Cancer of stomach (clinic, diagnostics, treatment). М., 2006. (in Russian)].
13. Cocolini F., Montori G., Ceresoli M., Cima S., Valli M., Nita G., Heyer A., Catena F., Ansaloni L. Advanced gastric cancer: what we know and what we still have to learn. *World J Gastroenterol*. 2016; 22(3): 1139–59. doi: 10.3748/wjg.v22.i3.1139.
14. Madden M.V., Price S.K., Learmonth G.M., Dent D.M. Surgical staging of gastric carcinoma: sources and consequences of error. *BJS Open*. 1987; 74: 119–21. doi: 10.1002/bjs.1800740217.
15. Ziegler K., Sanft C., Zimmer T., Zeitz M., Felsenberg D., Stein H., Germer C., Deutschmann C., Riecken E.O. Comparison of computed tomography, endosonography, and intraoperative assessment in TN staging of gastric carcinoma. *Gut*. 1993; 34: 604–10. doi: 10.1136/gut.34.5.604.
16. Arita T., Ichikawa D., Konishi H., Komatsu S., Shiozaki A., Hiramoto H., Hamada J., Shoda K., Kawaguchi T., Hirajima S., Nagata H., Fujiwara H., Okamoto K., Otsuji E. Increase in peritoneal recurrence induced by intraoperative hemorrhage in gastrectomy. *Ann Surg Oncol*. 2015; 22(3): 758–64. doi: 10.1245/s10434-014-4060-4.
17. Hayashi H., Ochiai T., Shimada H., Gunji Y. Prospective randomized study of open versus laparoscopy-assisted distal gastrectomy with extraperigastric lymph node dissection for early gastric cancer. *Surg Endoscopy*. 2005; 19: 1172–6. doi: 10.1007/s00464-004-8207-4.
18. Kim Y.W., Baik Y.H., Yun Y.H., Nam B.H., Kim D.H., Choi I.J., Bae J.M. Improved quality of life outcomes after laparoscopy-assisted distal gastrectomy for early gastric cancer: results of a prospective randomized clinical trial. *Ann Surg*. 2008; 248: 721–7. doi: 10.1097/SLA.0b013e318185e62e.
19. Aurello P., Petrucciani N., Antolino L., Giulitti D., D'Angelo F., Ramacciato G. Follow-up after curative resection for gastric cancer: Is it time to tailor it? *World J Gastroenterol*. 2017; 23(19): 3379–87. doi: 10.3748/wjg.v23.i19.3379.
20. Nakagawa M., Kojima K., Inokuchi M., Kato K., Sugita H., Kawano T., Sugihara K. Patterns, timing and risk factors of recurrence of gastric cancer after laparoscopic gastrectomy: reliable results following long-term follow-up. *Eur J Surg Oncol*. 2014; 40: 1376–82. doi: 10.1016/j.ejso.2014.04.015.
21. Hao Y., Yu P., Qian F., Zhao Y., Shi Y., Tang B., Zeng D., Zhang C. Comparison of laparoscopy-assisted and open radical gastrectomy for advanced gastric cancer: A retrospective study in a single minimally invasive surgery center. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Jun; 95(25). doi:10.1097/MD.00000000000003936.
22. Одишелдидзе Н.В., Чистяков С.С., Габуния З.П. Значение диагностики субклинической интраперитонеальной диссеминации у больных раком желудка. *Российский медицинский журнал. Приложение Онкология*. 2011; 2: 49 [Odishelidze N.V., Chistyakov S.S., Gabunia Z.P. Significance of the diagnosis of subclinical intraperitoneal dissemination in patients with gastric cancer. *Russian Medical Journal*. 2011; 2: 49. (in Russian)].
23. 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)].
24. Максимов М.О., Тузиков С.А., Стрижак Г.Н., Родионов Е.О. Результаты лечения проксимального рака желудка в зависимости от объема хирургического вмешательства. *Сибирский онкологический журнал*. 2017; 16(5): 5–11. [Maksimov M.O., Tuzikov S.A., Strizhakov G.N., Rodionov E.O. Treatment outcomes of proximal gastric cancer depending on the extent of surgical resection. *Siberian Journal of Oncology*. 2017; 16(5): 5–11. (in Russian)].
25. Barchi L.C., Yagi O.K., Jacob C.E., Mucerino D.R., Ribeiro U., Marrelli D., Roviello F., Ceconello I., Zilberstein B. Predicting recurrence after curative resection for gastric cancer: External validation of the Italian Research Group for Gastric Cancer (GIRCG) prognostic scoring system. *Eur J Surg Oncol*. 2016; 42: 123–31. doi: 10.1016/j.ejso.2015.08.164.
26. Li F., Zhang R., Liang H., Liu H., Quan J. The pattern and risk factors of recurrence of proximal gastric cancer after curative resection. *J Surg Oncol*. 2013; 107: 130–5. doi:10.1002/jso.23252.
27. Weledji E.P. The principles of the surgical management of gastric cancer. *Int J Surg Oncol*. 2017; 2(7). doi: 10.1097/IJ9.0000000000000011.
28. Seevaratnam R., Bocicariu A., Cardoso R., Yohanathan L., Dixon M., Law C., Helyer L., Coburn N.G. How many lymph nodes should be assessed in patients with gastric cancer? A systematic review. *Gastric Cancer*. 2012; 15: 70–88. doi:10.1007/s10120-012-0169-y.
29. Ichikura T., Ogawa T., Chochi K., Kawabata T., Sugawara H., Mochizuki H. Minimum number of lymph nodes that should be examined for the International Union Against Cancer/American Joint Committee on Cancer TNM classification of gastric carcinoma. *World J Surg*. 2003; 27(3): 330–3. doi:10.1007/s00268-002-6730-9.
30. Baba H., Maehara Y., Inutsuka S., Takeuchi H., Oshiro T., Adachi Y., Sugimach K. Effectiveness of extended lymphadenectomy in noncurative gastrectomy. *Am J Surg*. 1995; 169(2): 261–5. doi:10.1016/S0002-9610(99)80147-0.
31. Скоропад В.Ю. Рациональная тактика лечения местнораспространенного рака желудка: место лучевой терапии. *Практическая онкология*. 2009; 10(1): 28–35. [Scoropad V.Yu. Rational therapeutic approach for locally advanced gastric cancer: the role of radiation therapy. *Practical Oncology*. 2009; 10(1): 28–35. (in Russian)].
32. D'Angelica M., Gonen M., Brennan M.F., Turnbull A.D., Bains M., Karpeh M.S. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2004; 240: 808–16. doi: 10.1097/01.sla.0000143245.28656.15.
33. Hartgrink H.H., van de Velde C.J., Putter H., Bonenkamp J., Kranenburg E.K., Songun I., Welvaart K., van Krieken J.V., Meijer S., Plukker J., van Elk P.V., Obertop H., Gouma D., van Lanschoot J.V., Taat C.W., de Graaf P.D., von Meyenfeldt M.V., Tilanus H., Sasako M. Extended lymph node dissection for gastric cancer: who may benefit? Final results of the randomized Dutch gastric cancer group trial. *J Clin Oncol*. 2004; 22(11): 2069–77. doi: 10.1200/JCO.2004.08.026.
34. Fu S., Lu J.J., Zhang Q., Yang Z., Peng L., Xiong F. Intraoperative radiotherapy combined with adjuvant chemoradiotherapy for locally advanced gastric adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008; 72: 1488–94. doi:10.1016/j.ijrobp.2008.03.012.
35. Чулкова С.В., Клименков А.А., Петерсон С.Б., Егорова А.В., Лепкова Н.В. Методы лечения распространенного рака желудка. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2010; 6: 45–9. [Chulkova S.V., Klimenkov A.A., Peterson S.B., Egorova A.B., Lepkova N.V. Treatments for advanced stomach cancer. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2010; 6: 45–9. (in Russian)].
36. Glehen O., Gilly F.N., Boutitie F., Bereder J. M., Quenet F., Sideris L., Mansvel B., Lorimier G., Msika S., Elias D., French Surgical Association. Toward curative treatment of peritoneal carcinomatosis from nonovarian origin by cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy: a multi-institutional study of 1,290 patients. *Cancer*. 2010; 116(24): 5608–18. doi:10.1002/cncr.25356.
37. Sugarbaker P.H., Yu W., Yonemura Y. Gastrectomy, peritonectomy, and perioperative intraperitoneal chemotherapy the evolution of treatment strategies for advanced gastric cancer. *Semin Surg Oncol*. 2003; 21: 233–48. doi: 10.1002/ssu.10042. doi: 10.1002/ssu.10042.
38. Давыдов М.И., Тер-Ованесов М.Д., Буйденко Ю.В., Полоцкий Б.Е., Горбунова В.А., Абдуллаев А.Г. Гипертермическая интраоперационная интраперитонеальная химиотерапия при раке желудка: существует ли реальная возможность изменить прогноз? *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2010; 21(1): 11–20 [Davydov M.I., Ter-Ovanesov M.D., Buydenok Yu.V., Polotsky B.E., Gorbunova V.A., Abdullayev A.G. Intraoperative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in gastric cancer: a real possibility to improve the prognosis? *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*. 2010; 21(1): 11–20. (in Russian)].
39. Yonemura Y., Bandou E., Kinoshita K., Kawamura T., Takahashi S., Endou Y., Sasaki T. Effective therapy for peritoneal dissemination in gastric cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2003; 12(3): 635–48. doi: 10.1016/S1055-3207(03)00035-8.

40. Sugarbaker P.H. Comprehensive management of peritoneal surface malignancy using cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: the Washington Cancer Institute approach. *Expert Opin Pharmacother*. 2009; 10(12): 1965–77. doi:10.1517/14656560903044974.

41. Волков Н.М. Лекарственная терапия метастатического рака желудка. Практическая онкология. 2009; 10(1): 41–8. [Volkov N.M. Drug therapy for metastatic stomach cancer. *Practical Oncology*. 2009; 10(1): 41–8. (in Russian)].

42. Тюляндин С.А. Химиотерапия рака желудка. Практическая онкология. 2001; 3(7): 44–51. [Tyulandin S.A. Stomach cancer chemotherapy. *Practical Oncology*. 2001; 3(7): 44–51. (in Russian)].

43. Wagner A.D., Unverzagt S., Grothe W., Kleber G., Grothey A., Haerting J., Fleig W.E. Chemotherapy for advanced gastric cancer. The Cochrane database of systematic reviews. 2010; 3. doi: 10.1002/14651858.CD004064.pub3.

44. Самцов Е.Н., Лунева С.В., Величко С.А. Возможности комплексной эхографии в оценке внутристеночного распространения рака желудка. Сибирский онкологический журнал. 2006; 3(19): 64–7. [Samstov E.N., Luneva S.V., Velichko S.A. Capabilities of complex echography in the assessment of intramural spread of gastric cancer. *Siberian Journal of Oncology*. 2006; 3(19): 64–7. (in Russian)].

45. Ross P., Nicolson M., Cunningham D., Valle J., Seymour M., Harper P., Price T., Anderson H., Iveson T., Hickish T., Lofts F., Norman A. Prospective randomized trial comparing mitomycin, cisplatin, and protracted venous-infusion fluorouracil (PVI 5-FU) with epirubicin, cisplatin, and PVI 5-FU in advanced esophagogastric cancer. *J Clin Oncol*. 2002; 20(8): 1996–2004. doi: 10.1200/JCO.2002.08.105.

46. Ajani J. Evolving Chemotherapy for Advanced Gastric Cancer. *Oncologist*. 2005; 10(3): 49–58. doi:10.1634/theoncologist.10-90003-49.

47. Jeon Y., Yoon S., Shin S., Kim B.S., Mok Y.J., Kim C.S., Hyun J.H., Kim J.S., Kim Y.H. Phase II trial of epirubicin, cisplatin, oral uracil and tegafur, and leucovorin in patients with advanced gastric carcinoma. *Cancer*. 2001; 91(12): 2288–93.

48. Yang Y., Yang J., Yan J. Radiotherapy in Gastric Cancer with Peritoneal Carcinomatosis. In: Wei J., Liu B. (eds) *Personalized Management of Gastric Cancer*. Springer. 2017. doi:10.1007/978-981-10-3978-2_7.

49. Zhang Z.X., Gu X.Z., Yin W.B., Huang G.J., Zhang D.W., Zhang R.G. Randomized clinical trial on the combination of preoperative irradiation and surgery in the treatment of adenocarcinoma of gastric cardia (AGC) report on 370 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1998; 42: 929–34. doi:10.1016/S0360-3016(98)00280-6.

50. Oppedijk V., van der Gaast A., van Lanschot J.J., van Hagen P., van Os R., van Rij C.M., van der Sangen M.J., Beukema J.C., Rütten H.,

Spruit P.H., Reinders J.G., Richel D.J., van Berge Henegouwen M.I., Hulshof M.C. Patterns of recurrence after surgery alone versus preoperative chemoradiotherapy and surgery in the CROSS trials. *J Clin Oncol*. 2014; 32(5): 385–91. doi:10.1200/JCO.2013.51.2186.

51. Qin H.L., Lin C.H., Zhang X.L. Evaluation of intraoperative radiotherapy for gastric carcinoma with D2 and D3 surgical resection. *World J Gastroenterol*. 2006; 12: 7033–7. doi: 10.3748/wjg.v12.i43.7033.

52. Ariel I.M., Oropesa R., Pack G.T. Intracavitary administration of radioactive isotopes in the control of effusions due to cancer: Results in 267 patients. *Cancer*. 1966; 19(8): 1096–1102. doi: 10.1002/1097-0142(196608)19:8<1096::AID-CNCR2820190808>3.0.CO;2-N.

53. Osborne M.P., Copeland B.E. Intracavitary Administration of Radioactive Colloidal Gold (Au198) for the Treatment of Malignant Effusions: A Report of Thirty-One Cases and an Appraisal of Results. *New Engl J Med*. 1956; 255(24): 1122–8.

54. Goldie H., Watkins F.B., Powell C., Hahn P.F. Factors Influencing Effect of Radioactive Colloidal Gold on Free Tumor Cells in Peritoneal Fluid. *Exp Biol Med*. 1951; 76(3): 477–80. doi:10.3181/00379727-76-18529.

55. Goldie H., Hahn P.F. Distribution and effect of colloidal radioactive gold in peritoneal fluid containing free sarcoma 37 cells. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1950; 74(3): 638–42. doi:10.3181/00379727-74-18001.

56. Mackay N. Radioactive colloidal gold in the treatment of pleural and peritoneal effusions of malignant origin: review of 235 cases. *Lancet*. 1957; 270(6999): 761–4. doi:10.1016/S0140-6736(57)90873-5.

57. Allen W. A Manual, the Properties and Experimental Use of Radioactive Colloidal Gold 198. Abbott Laboratories. 1951; 13–6.

58. Wei J., Wu N.D., Liu B.R. Regional but fatal: Intraperitoneal metastasis in gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2016; 22: 7478–85. doi: 10.3748/wjg.v22.i33.7478.

59. Montori G., Cocolini F., Ceresoli M., Catena F., Colaianni N., Poletti E., Ansaloni L. The treatment of peritoneal carcinomatosis in advanced gastric cancer: state of the art. *Int J Surg Oncol*. 2014; 912418. doi: 10.1155/2014/912418.

60. Афанасьев С.Г., Добродеев А.Ю. Циторедуктивные операции (Нужно ли удалять первичную опухоль? Где предел разумной циторедукции? Практическая онкология. 2014; 15(2): 93–100. [Afanasyev S.G., Dobrodeev A.Yu. Cytoreductive surgery (Should the primary tumor be removed? (What is the optimal cytoreduction?). *Practical Oncology*. 2014; 15(2): 93–100. (in Russian)].

Поступила/Received 10.09.2020
Принята в печать/Accepted 20.01.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Солодкий Владимир Алексеевич, доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, директор ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9556-6556. Researcher ID (WOS): T-6803-2017. Author ID (Scopus): 57204298158. ORCID: 0000-0002-1641-6452.

Фомин Дмитрий Кириллович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий клиникой ядерной медицины, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: dkfomin@yandex.ru. SPIN-код: 4593-1292. ORCID: 0000-0002-7316-3519.

Гончаров Сергей Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий хирургическим отделением абдоминальной онкологии с койками хирургии (хирургическое отделение № 3), ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2722-7264.

Кукушкина Софья Алексеевна, врач-радиолог, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-8389-0165.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Солодкий Владимир Алексеевич: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации.

Фомин Дмитрий Кириллович: разработка концепции, анализ и интерпретация данных, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации.

Гончаров Сергей Владимирович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Кукушкина Софья Алексеевна: обзор публикаций по теме статьи, сбор и обработка материала, анализ и интерпретация данных, составление рукописи.

ABOUT THE AUTHORS

Vladimir A. Solodkiy, MD, DSc, Academician of the RAS, Professor, Director, Russian Scientific Center of Rentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 9556-6556. Researcher ID (WOS): T-6803-2017. Author ID (Scopus): 57204298158. ORCID: 0000-0002-1641-6452.

Dmitri K. Fomin, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Nuclear Medicine, Russian Scientific Center of Rentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia). E-mail: dkfomin@yandex.ru. SPIN-code: 4593-1292. ORCID: 0000-0002-7316-3519.

Sergey V. Goncharov, MD, PhD, Head of the Surgical Department of Abdominal Oncology, Russian Scientific Center of Rentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia). SPIN-code: 2722-7264.

Sofya A. Kukushkina, MD, Radiologist, Russian Scientific Center of Rentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-8389-0165.

AUTHOR CONTRIBUTION

Vladimir A. Solodkiy: verification of the critically important intellectual content, final approval of the version of the manuscript for publication.

Dmitri K. Fomin: contribution to the concept, data analysis and interpretation, verification of the critically important intellectual content, final approval of the version of the manuscript for publication.

Sergey V. Goncharov: verification of the critically important intellectual content.

Sofya A. Kukushkina: review of publications, data collection and processing, data analysis and interpretation, writing of the manuscript.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Кит О.И., Максимов А.Ю., Новикова И.А., Гончарова А.С., Лукбанова Е.А., Ситковская А.О., Воловик В.Г., Чапек С.В. Применение биосовместимых композитных структур (скаффолдов) в онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 130–136. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-130-136

For citation: Kit O.I., Maksimov A.Yu., Novikova I.A., Goncharova A.S., Lukbanova E.A., Sitkovskaya A.O., Volovik V.G., Chappek S.V. The use of biocompatible composite scaffolds in oncology. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 130–136. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-130-136

ПРИМЕНЕНИЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ КОМПОЗИТНЫХ СТРУКТУР (СКАФФОЛДОВ) В ОНКОЛОГИИ

О.И. Кит¹, А.Ю. Максимов¹, И.А. Новикова¹, А.С. Гончарова¹,
Е.А. Лукбанова¹, А.О. Ситковская¹, В.Г. Воловик¹, С.В. Чапек²

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России,

г. Ростов-на-Дону, Россия¹

Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63. E-mail: fateyeva_a_s@list.ru¹

ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет» Минздрава России,

г. Ростов-на-Дону, Россия²

Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1²

Аннотация

Современные подходы тканевой инженерии направлены на разработку конструкций (скаффолдов), способствующих развитию всего разнообразия межклеточных взаимодействий, имитирующих таковые в реальном объекте. **Цель исследования** заключалась в сборе и обобщении данных по созданию и использованию трехмерных клеточных матриц. **Материал и методы.** Выполнен поиск тематических статей с использованием ключевых слов как в международных базах данных PubMed и Medline, так и в отечественных – Cyber Leninka и Elibrary. В результате литературного поиска нами было отобрано 315 статей по изучаемой тематике, далее по результатам детального анализа текстов было взято 37 публикаций, результаты которых послужили предметом обсуждения данного обзора. **Результаты.** Проведен обзор исследований, посвященных разработке трехмерных композитных структур (скаффолдов) и их применению в области клеточных технологий. Рассмотрены способы изготовления биосовместимых конструкций с использованием как естественных биоматериалов, так и синтетических, в том числе различных гидрогелей и титановых сплавов, а также обсуждаются их некоторые физические и химические характеристики. В обзоре обсуждаются возможные варианты применения трехмерных композитных структур в онкологии в качестве одного из возможных инструментов для расширения фундаментальных представлений о закономерностях развития злокачественного процесса, а также и для использования в работах по разработке эффективных методов лечения и поиску новых лекарственных средств. Обозначены перспективы применения скаффолдов в области экспериментальной онкологии, а именно в создании различного рода опухолевых моделей. Освещено применение специализированных клеточных матриц с целью реконструкции поврежденных тканей. **Заключение.** В настоящее время трехмерные культуральные системы приходят на смену двумерным моделям. Успехи в этом направлении связаны с созданием и разработкой различных вариантов клеточных матриц, способствующих решению ряда прикладных задач в области создания трехмерных опухолевых моделей *in vitro* и *in vivo*, терапии злокачественных опухолей и восстановительной медицины.

Ключевые слова: скаффолд, клеточные матрицы, 3D-моделирование, опухолевые модели.

THE USE OF BIOCOMPATIBLE COMPOSITE SCAFFOLDS IN ONCOLOGY

O.I. Kit¹, A.Yu. Maksimov¹, I.A. Novikova¹, A.S. Goncharova¹, E.A. Lukbanova¹,
A.O. Sitkovskaya¹, V.G. Volovik¹, S.V. Chapek²

National Medical Research Institute of Oncology, the Ministry of Health of the Russia,
Rostov-on-Don, Russia¹

63, 14th Line St., 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: fateyeva_a_s@list.ru¹

Don State Technical University, the Ministry of Health of the Russia, Rostov-on-Don, Russia²
1, Gagarin Sq., 344001, Rostov-on-Don, Russia²

Abstract

Modern tissue engineering approaches are aimed at developing scaffolds that contribute to the development of the whole variety of intercellular interactions that imitate those in a real object. **The purpose of the study** was to collect and summarize the data on the creation and use of three-dimensional cellular matrices. **Material and Methods.** A systematic literature search was conducted in the PubMed, Medline, Cyber Leninka and Elibrary databases. Out of the 315 articles searched, 38 were selected for this review. **Results.** A review of studies devoted to the development of three-dimensional composite structures (scaffolds) and their application in the field of cellular technologies was carried out. Methods for the manufacture of biocompatible structures using both natural biomaterials and synthetic ones, including various hydrogels and titanium alloys, were considered, and some physical and chemical characteristics were also discussed. The review discussed possible applications of 3D composite structures in oncology as one of the possible tools for expanding the fundamental understanding of the patterns of development of the malignant process, but also for use in the development of effective methods of treatment and the search for new drugs. The prospects for the use of scaffolds in the field of experimental oncology, namely in the creation of various types of tumor models, were outlined. **Conclusion.** Currently, three-dimensional culture systems are replacing two-dimensional models. Advances in this direction are associated with the creation and development of various variants of cell matrices that contribute to the solution of a number of applied problems in the field of creating three-dimensional tumor models in vitro and in vivo, therapy of malignant tumors and restorative medicine.

Key words: scaffold, cellular matrices, 3D modeling, tumor models.

Введение

Одним из наиболее активно развивающихся направлений в медицине являются разработка и использование специализированных биосовместимых и биodeградируемых композитных материалов для применения в области восстановительной хирургии, тканевой инженерии, создания биоискусственных органов и 3D-моделирования различных биологических процессов. Многочисленные работы по созданию искусственных матриц ведутся также и с целью создания трехмерных культуральных систем для изучения биологии рака [1]. К основным требованиям, предъявляемым к материалам для создания таких матриц, относят способность обеспечивать механическую поддержку, адгезию, дифференцировку и пролиферацию клеток, возможность имитировать биологические функции объекта, биосовместимость и биобезопасность по отношению к тканям и клеткам, окружающим композитную структуру [2].

Достижения в области тканевой инженерии ориентированы на разработку культуральных систем на основе скаффолдов (пористых ячеистых тел) или других клеточных матриц (гидрогелей), необходимых для создания моделей, достаточно точно отра-

жающих физические и биохимические особенности естественного внеклеточного матрикса. Одним из главных результатов работ в этой области является возможность наблюдать функциональные свойства клеток, а также проводить различные воздействия в 3D-объектах в той степени, которая невозможна на животных моделях, поэтому трехмерное культивирование с использованием скаффолдов и клеточных матриц сыграло такую значительную роль в развитии тканевой инженерии и восстановительной медицины [3, 4].

Несмотря на то, что 3D-модели не могут полностью воспроизвести колоссальную сложность всего спектра биологических процессов, они способны стать необходимым связующим звеном между традиционными двухмерными методами культивирования клеток и трудоемким моделированием *in vivo*.

В обзоре проанализирована отечественная и зарубежная литература, посвященная разработке клеточных матриц и способам их применения в экспериментальной и клинической онкологии. Выполнен поиск тематических статей в базе данных Cyber Leninka с использованием следующих поисковых запросов: скаффолд, ксенографты,

3D-моделирование, опухолевые модели, а также в базе данных MEDLINE с использованием поисковых запросов: scaffold, cell matrix, 3D modeling, tumor models, xenografts.

Биоматериалы, используемые для создания трехмерных клеточных моделей

Процессы, протекающие в нормальных тканях, во многом зависят от межклеточных взаимодействий и влияния внеклеточного или экстрацеллюлярного матрикса (extracellular matrix, ECM), представляющего собой пространственно организованную сеть макромолекул, состоящую из коллагена, протеогликанов, гликозаминогликанов, гликопротеинов, характеризующую различными физическими, механическими и биохимическими функциями [1, 5]. Благодаря связыванию с рецепторами клеточной поверхности компоненты ECM служат лигандами для регуляции клеточных функций, таких как выживание, рост, миграция и дифференцировка [6], что оказывает непосредственное влияние на развитие опухоли [7].

Многие исследовательские группы, занимающиеся изучением биологии рака, используют для создания клеточных матриц естественные биоматериалы, такие как богатый ламинином внеклеточный матрикс природного происхождения. Хотя эти биоматериалы имеют одинаковые микро- и наноразмеры фибрилл, схожие с нативным ECM, их основным недостатком является содержание факторов роста в остаточных количествах или наличие в составе неопределенных веществ. Такие биоматериалы также могут иметь вариативные характеристики в зависимости от партии поставки, что усложняет сравнение и сопоставление результатов разных исследовательских групп [8]. Следовательно, для достижения успеха в этой области необходимо создать легко воспроизводимые трехмерные системы культивирования клеток, обладающие устойчивыми характеристиками и имеющие четко определенные составляющие.

Хотя молекулярный состав ECM является общеизвестным регулятором клеточных реакций, физические свойства матрицы в 3D-моделях также могут иметь важное значение. В частности, последние данные указывают на прямую роль жесткости и эластичности ECM в регулировании нескольких клеточных функций, что выражается в двунаправленном взаимодействии клеток и ECM [9, 10]. Плотность микросреды очень изменчива, она может быть достаточно рыхлой в соединительных тканях; мягкой в тканях печени, почек, кожи, легких; твердой в губчатой и кортикальных костях, зубах; различаться по плотности в опухолях ранних или поздних стадий. Следовательно, возможность регулировать в соответствии с поставленными задачами механические параметры скаффолдов с плотной структурой и клеточных матриц на основе

гидрогеля позволяет исследовать различные популяции опухолевых клеток в 3D-формате. Одной из основных задач тканевой инженерии является разработка матриц, которые могут имитировать ключевые функции ECM и в то же время обеспечивать возможность изменять их физические и биохимические свойства [9, 10].

Четко охарактеризованные биоматериалы привлекательны в качестве платформы для работ в области клеточных технологий, так как от партии к партии они демонстрируют однородность, а также управляемую и воспроизводимую архитектуру, предсказуемые темпы деградации и механические свойства. Современные биополимеры отвечают вышеперечисленным критериям и могут предложить подходящую альтернативу для преодоления некоторых ограничений в исследованиях рака. Для создания биодеградирующих матриц наиболее часто используют следующие материалы: сложный моноэтилэфир фумаровой кислоты, полипропилен фумарат, d,l-лактид олигомер, N-винил-2-пирролидон-d,l-лактид, полимеры молочной кислоты, полиметилметакрилат, полибутилен тетрафталат, поликапролактон [11, 12], также широко применяют коллаген, коллаген с гликозаминогликанами, желатин, шелк [13, 14]. В качестве трехмерной матрицы для исследования раковых клеток описано применение коммерчески доступной субстанции экстрагель, состоящей из химически модифицированных молекул гиалуронана и желатина, сшитых полиэтиленгликолем (PEG) [15], альгинатных гелей, матригеля – сложной смеси белков, протеогликанов и факторов роста межклеточного матрикса [16–18], а также пептидных систем, которые могут организовываться в гидрогель при изменении pH [19]. Конструктивно субстанции на основе пептидов напоминают ECM, некоторые их модификации могут влиять на инициацию клеточных ответов [19].

Помимо перечисленных вариантов синтетических гидрогелей, выполняющих функцию подложки, достаточно широко в качестве клеточных инкубаторов и матриц используют скаффолды, сконструированные на основе титана. Такие матрицы удобны в использовании, устойчивы к механическому и химическому воздействию, легко стерилизуются методом автоклавирования [2, 20, 21]. Титановые скаффолды часто применяют для разработки и создания различных вариантов костных конструкций, которые можно использовать как в моделировании некоторых биологических процессов, характерных для этого типа тканей, так и в восстановительной медицине с целью реконструкции костных дефектов. Недавние исследования продемонстрировали, что важны не только механические и биомиметические характеристики подобных матриц, но и такие параметры, как размер и количество пор [2, 21]. От этих факторов во многом зависит, каким образом клетки будут взаи-

модействовать с матрицей и между собой. Развитая шероховатая поверхность инкубатора создает условия для закрепления и роста клеточных колоний, а его пористопроницаемая структура обеспечивает проникновение питательных веществ из внешней среды. Именно архитектура, а не химический состав скаффолда влияет на скорость клеточной адгезии, что, следовательно, определяет плотность заселения, распространение и миграцию клеток в матрице. Также размер пор, их удаленность друг от друга и взаимосвязь посредством каналов влияют на клеточную дифференцировку из-за изменения сигнальной дистанции [2, 22].

Тем не менее результаты ряда исследований продемонстрировали противоречивые данные, свидетельствующие о значении крупных или мелких пор в формировании костной ткани. Вероятно, эти противоречия можно объяснить разницей в размере и геометрии используемых в работе скаффолдов, а также принципиальными различиями условий *in vivo* и *in vitro*.

Создание трехмерных опухолевых моделей *in vitro* и *in vivo* с использованием клеточных матриц

Традиционные подходы, используемые в исследованиях рака *in vitro*, включают культивирование опухолевых клеток в двухмерном формате, что значительно упрощает биологический контекст опухоли, на который влияют внутренние молекулярные особенности и внешние сигналы от окружающей микросреды [23]. Соответственно, 2D-модели не могут быть физиологически релевантными по отношению к опухолям, возникающим в организме человека, так как в реальных ситуациях злокачественные новообразования имеют сложный гетерогенный клеточный и молекулярный состав [24].

Клетки, выращенные в 2D-культуре, демонстрируют профили экспрессии ключевых генов, участвующих в ангиогенезе, миграции и инвазии, отличные от таковых, характерных для клеток с естественным микроокружением. Трехмерные модели *in vitro* имеют значительные преимущества перед клеточными культурами, так как не страдают от недостатка 3D-контекста, не имеют ограничений, сопутствующих *in vivo* моделированию, являясь, таким образом, популярным инструментом для исследования злокачественных опухолей [23].

3D-клеточные конструкции с использованием матриц применяют для изучения многих биологических процессов, а также для тестирования новых противоопухолевых препаратов. Таким исследованиям посвящено большое количество работ [25, 26]. Например, в работе S. Cruz-Neves et al. (2017) скаффолды, представляющие собой децеллюляризованные с помощью детергента каркасы биоптатов РМЖ, заселяли клетками MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7 – эпителиоподобная клеточная линия, полученная из инвазивной аде-

нокарциномы протоков молочной железы человека). Далее исследовали экспрессию ряда генов, в результате чего было показано, что экспрессия маркеров стволовых клеток, таких как Oct4, Sox2 и CD49F, была выше в рецеллюлированном скаффолде по сравнению со сниженными показателями, характеризующими клетки, растущие в монослое. Судя по этим результатам, можно говорить о том, что подобные трехмерные модели могут дать возможность ускорить дальнейшую разработку эффективных методов лечения и позволят улучшить процесс исследования лекарственных средств [26]. D.W. Nutmacher et al. (2010) использовали скаффолды в качестве платформы для изучения развития процесса метастазирования в кости [3]. Также клеточные матрицы и подложки применяют при создании ксеногенных опухолевых моделей *in vivo* с целью повышения вероятности трансплантации опухолевого материала в организм реципиента. Это, с одной стороны, позволяет имплантировать меньшее количество клеток необходимой культуры, а с другой – гарантирует успешное закрепление клеток в новом объекте [27–29].

Использование скаффолдов в терапии злокачественных опухолей

Результаты ряда клинических исследований показали, что в ближайшем будущем клеточная терапия (трансплантация костного мозга, инъекции клеточных фракций) может стать одним из наиболее эффективных способов лечения онкологических заболеваний. Такие методы, как введение пациентам CAR-T, которые представляют собой опухоль-специфичные цитотоксические лимфоциты с химерным антигенным рецептором (CAR или chimeric antigen receptor) [30], или аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (allo-HSCT allogeneic hematopoietic stem cells transplantation) чаще используются для лечения гематологических раковых заболеваний – лейкомии, лимфомы и миеломы [31–33]. По предварительным оценкам, применение клеточной терапии позволяет ожидать длительную ремиссию у больных, не ответивших на предыдущее лечение, однако в некоторых работах отмечено, что эффекты таких препаратов могут быть нестабильными и непродолжительными, в том числе и из-за быстрой гибели и элиминации донорских клеток в организме-хозяине [21].

Использование скаффолдов позволит сохранять введенные клетки длительное время и пролонгировать действие препарата за счет маскировки имплантированных клеток от собственной иммунной системы [21, 34]. В пользу этого предположения свидетельствуют результаты исследования О.В. Кокорева и соавт. (2015), в котором продемонстрирован более выраженный противоопухолевый и антиметастатический эффект при имплантации инкубатора, заселенного клетками костного мозга,

чем при внутрибрюшинной инъекции таких же клеток животному-опухоленосителю. Выживаемость животных также была выше в случае воздействия клетками, иммобилизованными на скаффолде. В результате показано, что скаффолды из никелида титана способствуют увеличению срока действия клеточной терапии за счет создания на их основе высокоинтегрированных тканевых биосистем и продления жизнедеятельности трансплантируемых клеток [21].

Применение скаффолдов в восстановительной медицине

Специализированные клеточные матрицы на основе биосовместимых композиционных материалов в онкологии применяют с целью реконструкции тканей. Установку титановых пластин достаточно давно используют в нейроонкологии, ортопедии, челюстно-лицевой хирургии для восстановления или замещения поврежденных фрагментов кости [35, 36]. Применение в настоящее время стандартных унифицированных имплантатов в некоторых случаях проблематично, так как «подгонка» титановых пластин по месту во время операции значительно увеличивает ее длительность, а также приводит к деформациям в имплантате и в костной ткани вследствие возникновения зон напряжений [37]. Обнадеживающей альтернативой является использование сложнопрофильных имплантатов, индивидуально спроектированных и изготов-

ленных с помощью современных технологий. В.В. Епишевым с соавт. (2016) описан положительный опыт применения подобных конструкций на примере двух клинических случаев. Авторы отметили в качестве несомненных преимуществ точное соответствие формы и размеров имплантата анатомическим характеристикам пациента, а также высокую скорость формирования тканей слизистой оболочки (65 % поверхности за 30 дней), что, видимо, связано с особенностями материала, а именно его пористостью. К недостаткам можно отнести требования к наличию специального оборудования (для создания компьютерной модели объекта шаг сканирования компьютерного томографа должен быть менее 1 мм), а также необходимость высокого профессионализма специалистов (программистов, врачей, инженеров) [36].

Заключение

В результате многочисленных современных исследований в области изучения и моделирования биологических процессов произошел переход от традиционной двухмерной культуральной системы к трехмерной. Успехи в этом направлении, связанные с созданием и разработкой различных вариантов клеточных матриц, могут помочь продвинуться в решении ряда прикладных задач в области создания трехмерных моделей *in vitro* и *in vivo*, а также терапии злокачественных опухолей и восстановительной медицины.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Fong E.L., Harrington D.A., Farach-Carson M.C., Yu H. Herald- ing a new paradigm in 3D tumor modeling. *Biomaterials*. 2016 Nov; 108: 197–213. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.08.052.
2. Садовой М.А., Ларионов П.М., Самохин А.Г., Рожнова О.М. Клеточные матрицы (скаффолды) для целей регенерации кости: современное состояние проблемы. *Хирургия позвоночника*. 2014; (2): 79–86. [Sadovoy M.A., Larionov P.M., Samokhin A.G., Rozhnova O.M. Cellular matrices (scaffolds) for bone regeneration: the current state of the problem. *Spine Surgery*. 2014; (2): 79–86. (in Russian)].
3. Hutmacher D.W. Biomaterials offer cancer research the third dimension. *Nature materials*. 2010 Feb; 9(2): 90–3. doi:10.1038/nmat2619.
4. Kankala R.K., Xu X.M., Liu C.G., Chen A.Z., Wang S.B. 3D-printing of microfibrillar porous scaffolds based on hybrid approaches for bone tissue engineering. *Polymers (Basel)*. 2018; 10(7). doi: 10.3390/polym10070807.
5. Farach-Carson M.C., Warren C.R., Harrington D.A., Carson D.D. Border patrol: insights into the unique role of perlecan/heparan sulfate proteoglycan 2 at cell and tissue borders. *Matrix Biol*. 2014 Feb; 34: 64–79. doi: 10.1016/j.matbio.2013.08.004.
6. Theocharis A.D., Skandalis S.S., Gialeli C., Karamanos N.K. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016 Feb; 97: 4–27. doi: 10.1016/j.addr.2015.11.001.
7. Grindel B.J., Martinez J.R., Pennington C.L., Muldoon M., Stave J., Chung L.W., Farach-Carson M.C. Matrilysin/matrix metalloproteinase-7(MMP7) cleavage of perlecan/HSPG2 creates a molecular switch to alter prostate cancer cell behavior. *Matrix Biol*. 2014; 36: 64–76. doi: 10.1016/j.matbio.2014.04.005.
8. Sabeh F., Shimizu-Hirota R., Weiss S.J. Protease-dependent versus-independent cancer cell invasion programs: three-dimensional amoeboid movement revisited. *J Cell Biol*. 2009 Apr; 185(1): 11–9. doi: 10.1083/jcb.200807195.
9. Shoval H., Karsch-Bluman A., Brill-Karniely Y., Stern T., Zamir G., Hubert A., Benny O. Tumor cells and their crosstalk with endothelial cells in 3D spheroids. *Sci Rep*. 2017 Sep 5; 7(1): 10428. doi: 10.1038/s41598-017-10699-y.
10. Panzetta V., Musella I., Rapa I., Volante M., Netti P.A., Fusco S. Mechanical phenotyping of cells and extracellular matrix as grade and stage markers of lung tumor tissues. *Acta Biomaterialia*. 2017 Jul; 57: 334–41. doi: 10.1016/j.actbio.2017.05.002.
11. Kim K., Dean D., Mikos A.G., Fisher J.P. Effect of initial cell seeding density on early osteogenic signal expression of rat bone marrow stromal cells cultured on crosslinked poly(propylene fumarate) disks. *Biomacromolecules*. 2009; 10: 1810–7. doi: 10.1021/bm900240k.
12. Melchels F.P., Feijen J., Grijpma D.W. A poly (D,L-lactide) resin for the preparation of tissue engineering scaffolds by stereolithography. *Biomaterials*. 2009 Aug; 30(23–24): 3801–9. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.03.055.
13. Osmond M., Bernier S.M., Pantcheva M.B., Krebs M.D. Collagen and collagen-chondroitin sulfate scaffolds with uniaxially aligned pores for the biomimetic, three dimensional culture of trabecular meshwork cells. *Biotechnol Bioengin*. 2017 Apr; 114(4): 915–23. doi: 10.1002/bit.26206.
14. Tiffany A.S., Gray D.L., Woods T.J., Subedi K., Harley B.A.C. The inclusion of zinc into mineralized collagen scaffolds for craniofacial bone repair applications. *Acta Biomaterialia*. 2019 Jul; 93: 86–96. doi: 10.1016/j.actbio.2019.05.031.
15. Prestwich G.D. Simplifying the extracellular matrix for 3-D cell culture and tissue engineering: a pragmatic approach. *J Cell Biochem*. 2007 Aug 15; 101(6): 1370–83. doi: 10.1002/jcb.21386.
16. Lam N.T., Lam H., Sturdivant N.M., Balachandran K. Fabrication of a matrigel-collagen semi-interpenetrating scaffold for use in dynamic valve interstitial cell culture. *Biomedical Materials*. 2017 Jul 24; 12(4): 045013. doi: 10.1088/1748-605X/aa71be.
17. Anguiano M., Castilla C., Maska M., Ederra C., Pelaez R., Morales X., Munoz-Arrieta G., Mujika M., Kozubek M., Munoz-Barrutia A., Rouzaud A., Arana S., Garcia-Aznar J.M., Ortiz-de-Solorzano C. Characterization of three-dimensional cancer cell migration in mixed collagen-Matrigel scaffolds using microfluidics and image analysis. *PloS one*. 2017 Feb 6; 12(2). doi: 10.1371/journal.pone.0171417.
18. Maru Y., Tanaka N., Itami M., Hippo Y. Efficient use of patient-derived organoids as a preclinical model for gynecologic tumors. *Gynecol Oncol*. 2019 Jul; 154(1): 189–98. doi: 10.1016/j.ygyno.2019.05.005.
19. Li P., Sakuma K., Tsuchiya S., Sun L., Hayamizu Y. Fibroin-like peptides self-assembling on two-dimensional materials as a molecular scaffold for potential biosensing. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2019 Jun 12; 11(23): 20670–7. doi: 10.1021/acsami.9b04079.

20. Кокорев О.В., Ходоренко В.Н., Аникеев С.Г., Дамбаев Г.Ц., Гюнтер В.Э. Особенности использования пористо-проницаемых инкубаторов из никелида титана в качестве носителей клеточных культур поджелудочной железы. Вестник новых медицинских технологий. 2014; (1): 47. [Kokorev O.V., Khodorenko V.N., Anikeev S.G., Dambaev G.Ts., Gunter V.E. Features of the use of porous-permeable incubators made of titanium nickelide as carriers of pancreatic cell cultures. Bulletin of New Medical Technologies. 2014; (1): 47. (in Russian)]. doi: 10.12737/46813.
21. Кокорев О.В., Ходоренко В.Н., Дамбаев Г.Ц., Гюнтер В.Э. Функциональная характеристика тканевых эквивалентов различных тканей с использованием пористо-проницаемых инкубаторов из никелида титана. Acta Biomedica Scientifica. 2015; (2): 73–9. [Kokorev O.V., Khodorenko V.N., Dambaev G.Ts., Gunter V.E. Functional characterization of tissue equivalents of various tissues using porous-permeable titanium nickelide incubators. Acta Biomedica Scientifica. 2015; (2): 73–9. (in Russian)].
22. Murphy C.M., Haugh M.G., O'Brien F.J. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials. 2010 Jan; 31(3): 461–6. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.09.063.
23. Carvalho M.R., Lima D., Reis R.L., Corrello V.M., Oliveira J.M. Evaluating biomaterial and microfluidic-based 3D tumor models. Trends Biotechnol. 2015; 33(11): 667–78. doi: 10.1016/j.tibtech.2015.09.009.
24. Галимова Э.С., Галагудза М.М. Двухмерные и трехмерные модели культур клеток опухолей in vitro: преимущества и недостатки. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 17(3): 188–96. [Galimova E.S., Galagudza M.M. Two-dimensional and three-dimensional cell culture models in vitro: pros and cons. Bulletin of Siberian Medicine. 2018; 17(3): 188–96. (in Russian)]. doi: 10.20538/1682-0363-2018-3-188-196.
25. Liu G., Wang B., Li S., Jin Q., Dai Y. Human breast cancer decellularized scaffolds promote epithelial-to-mesenchymal transitions and stemness of breast cancer cells in vitro. J Cell Physiol. 2019; 234(6): 9447–56. doi: 10.1002/jcp.27630.
26. Cruz-Neves S., Ribeiro N., Graca I., Jeronimo C., Sousa S.R., Monteiro F.J. Behavior of prostate cancer cells in a nanohydroxyapatite/collagen bone scaffold. J Biomed Mater Res A. 2017; 105(7): 2035–46. doi: 10.1002/jbma.a.36070.
27. Gock M., Kühn F., Mullins C.S., Krohn M., Prall F., Klar E., Linnebacher M. Tumor Take Rate Optimization for Colorectal Carcinoma Patient-Derived Xenograft Models. Biomed Res Int. 2016; 2016: 1715053. doi: 10.1155/2016/1715053.
28. Moshe A., Izraelly S., Sagi-Assif O., Prakash R., Telerman A., Meshel T., Carmichael T., Witz I.P. Cystatin C takes part in melanoma-microglia cross-talk: possible implications for brain metastasis. Clin Exp Metastasis. 2018; 35(5–6): 369–78. doi: 10.1007/s10585-018-9891-0.
29. Кит О.И., Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Протасова Т.П., Гончарова А.С., Лукбанова Е.А. Методы создания ортотопических моделей рака пищевода и их применение в доклинических исследованиях. Современные проблемы науки и образования. 2019; (2): 96. [Kit O.I., Kolesnikov E.N., Maksimov A.Yu., Protasova T.P., Goncharova A.S., Lukbanova E.A. Methods for creating orthotopic models of esophageal cancer and their application in preclinical studies. Modern Problems of Science and Education. 2019; (2): 96. (in Russian)].
30. Павлова А.А., Масчан М.А., Пономарев В.Б. Адоптивная иммунотерапия генетически модифицированными Т-лимфоцитами, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы. Онкогематология. 2017; 12(1): 17–32. [Pavlova A.A., Maschan M.A., Ponomarev V.B. Adoptive immunotherapy with genetically engineered T-lymphocytes modified to express chimeric antigen receptors. Oncohematology. 2017; 12(1): 17–32. (in Russian)]. doi: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-17-32.
31. Morishita S., Tsubaki A., Hotta K., Fu J.B., Fuji S. The benefit of exercise in patients who undergo allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. J Int Soc Phys Rehabil Med. 2019; 2(1): 54–61. doi: 10.4103/jisprm.jisprm_2_19.
32. Melief C.J.M. Cancer: precision T-cell therapy targets tumours. Nature. 2017; 547(7662): 165–7. doi: 10.1038/nature23093.
33. Bonifant C.L., Jackson H.J., Brentjens R.J., Curran K.J. Toxicity and management in CAR T-cell therapy. Mol Ther Oncolytics. 2016; 3: 16011. doi: 10.1038/mto.2016.11.
34. Rose F.R., Oreffo R.O. Bone tissue engineering: hope vs hype. Biochem Biophys Res Commun. 2002; 292(1): 1–7. doi: 10.1006/bbrc.2002.6519.
35. Farshadi M., Johari B., Erfani Ezadyar E., Gholipourmalekabad M., Azami M., Madanchi H., Haramshahi S.M.A., Yari A., Karimzade A., Nekouian R., Samadikuchaksaraei A. Nanocomposite scaffold seeded with mesenchymal stem cells for bone repair. Cell Biol Int. 2019 Feb 27. doi: 10.1002/cbin.11124.
36. Енушев В.В., Петрова Л.Н., Аладин А.С., Смирнов В.А., Сулацкая Е.Ю., Эрлих В.В., Важеннин А.В. Опыт применения индивидуальных титановых имплантатов для восстановления анатомической структуры носа. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2016; 18(3): 107–15. [Epishev V.V., Petrova L.N., Aladin A.S., Smirnov V.A., Sulatskaya E.Yu., Erlikh V.V., Vazhenin A.V. Experience of using individual titan implants in nasal reconstruction surgery. Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs. 2016; 18(3): 107–15. (in Russian)]. doi: 10.15825/1995-1191-2016-3-107-115.
37. So E., Mandas V.H., Hlad L. Large osseous defect reconstruction using a custom three-dimensional printed titanium truss implant. J Foot Ankle Surg. 2018; 57(1): 196–204. doi: 10.1053/j.jfas.2017.07.019.

Поступила/Received 02.10.2019

Принята в печать/Accepted 15.11.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кит Олег Иванович, член-корреспондент РАН, профессор, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1728-0329. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Максимов Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7322-5589. Author ID (Scopus): 56579049500.

Новикова Инна Арнольдовна, кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4810-2424. Researcher ID (WOS): E-7710-2018. Author ID (Scopus): 57202252773. ORCID: 0000-0002-6496-9641.

Гончарова Анна Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующая отделением «Испытательный лабораторный центр», ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: fateyeva_a_s@list.ru. SPIN-код: 7512-2039. ORCID: 0000-0003-0676-0871.

Лукбанова Екатерина Алексеевна, научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4078-4200. ORCID: 0000-0002-3036-6199.

Ситковская Анастасия Олеговна, заведующая отделением «Лаборатория клеточных технологий», ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1659-6976. Researcher ID (WOS): E-7496-2018. Author ID (Scopus): 56381527400. ORCID: 0000-0002-6035-1756.

Воловик Вячеслав Георгиевич, аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-0120-7244.

Чапек Сергей Валентинович, эксперт научно-исследовательской лаборатории «Инженерные технологии в медицине», ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6689-3406. ORCID: 0000-0001-8172-8666.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кит Олег Иванович: планирование научной работы, разработка концепции.

Максимов Алексей Юрьевич: разработка концепции, финальное редактирование рукописи.

Новикова Инна Арнольдовна: анализ рукописи, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Гончарова Анна Сергеевна: анализ литературных данных, написание рукописи.

Лукбанова Екатерина Алексеевна: анализ литературных данных, написание рукописи.

Ситковская Анастасия Олеговна: анализ литературных данных, написание рукописи.

Воловик Вячеслав Георгиевич: работа с базами данных, подбор литературных источников, анализ литературных данных.

Чапек Сергей Валентинович: работа с базами данных, подбор литературных источников, анализ литературных данных, уточнение сведений литературы по отдельным темам обзора.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oleg I. Kit, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Academy of Medical Sciences, General Director of National Medical Research Institute of Oncology, the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 1728-0329. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Aleksey Yu. Maksimov, MD, DSc, Professor, Deputy Director of National Medical Research Institute of Oncology, the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 7322-5589. Author ID (Scopus): 56579049500.

Inna A. Novikova, MD, PhD, Deputy Director for Science, National Medical Research Institute of Oncology, the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 4810-2424. Researcher ID (WOS): E-7710-2018. Author ID (Scopus): 57202252773. ORCID: 0000-0002-6496-9641.

Anna S. Goncharova, PhD, Head of Testing Laboratory Center, National Medical Research Institute of Oncology, the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: fateyeva_a_s@list.ru. SPIN-code: 7512-2039. ORCID: 0000-0003-0676-0871.

Ekaterina A. Lukbanova, Researcher, National Medical Research Institute of Oncology, the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 4078-4200. ORCID: 0000-0002-3036-6199.

Anastasiya O. Sitkovskaya, Head of Cell Technology Laboratory, National Medical Research Institute of Oncology, the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 1659-6976. Researcher ID (WOS): E-7496-2018. Author ID (Scopus): 56381527400. ORCID: 0000-0002-6035-1756.

Vyacheslav G. Volovik, Postgraduate, National Medical Research Institute of Oncology, the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-0120-7244.

Sergey V. Chapek, Expert of the Laboratory of Engineering Technologies in Medicine, Don State Technical University, the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). SPIN-code: 6689-3406. ORCID: 0000-0001-8172-8666.

AUTHOR CONTRIBUTION

Oleg I. Kit: study conception and design.

Aleksey Yu. Maksimov: study conception, final editing of the manuscript.

Inna A. Novikova: final approval of the manuscript, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Anna S. Goncharova: data analysis, writing of the manuscript.

Ekaterina A. Lukbanova: data analysis, writing of the manuscript

Anastasiya O. Sitkovskaya: data analysis, writing of the manuscript

Vyacheslav G. Volovik: selection of literary sources, data analysis.

Sergey V. Chapek: selection of literature sources, data analysis and interpretation.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-137-143

УДК: 618.19-006.6-033.2-08

Для цитирования: Куликов Е.П., Головкин Е.Ю., Мерцалов С.А., Виноградов И.И., Борисова М.В., Вагапова С.Х. Клиническое наблюдение торпидного течения метастатического трижды негативного рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 137–143. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-137-143

For citation: Kulikov E.P., Golovkin E.Yu., Mertsalov S.A., Vinogradov I.I., Borisova M.V., Vagapova S.Kh. Clinical case of torpid course of metastatic triple negative breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 137–143. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-137-143

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ТОРПИДНОГО ТЕЧЕНИЯ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.П. Куликов¹, Е.Ю. Головкин^{1,2}, С.А. Мерцалов^{1,2}, И.И. Виноградов^{1,2},
М.В. Борисова^{1,2}, С.Х. Вагапова¹

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова»,
г. Рязань, Россия¹

Россия, 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9. E-mail: sabina_1396@mail.ru¹

ГБУ РО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Рязань, Россия²

Россия, 390011, г. Рязань, ул. Дзержинского, 11²

Аннотация

Актуальность. Рак молочной железы занимает лидирующую позицию в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований среди женского населения в мире. Наличие неблагоприятного молекулярно-биологического подтипа значительно ухудшает прогноз, что делает необходимым индивидуализировать тактику лечения каждой пациентки. **Цель исследования** – демонстрация длительной ремиссии при лечении метастатического трижды негативного рака молочной железы (ТНРМЖ). **Описание клинического случая.** Пациентка С., 42 лет, в октябре 2006 г. обратилась в Рязанский онкологический диспансер с жалобами на уплотнение в левой молочной железе. При обследовании установлен диагноз: рак левой молочной железы cT2N0M0, трижды негативный подтип, 18.10.06 выполнена радикальная мастэктомия по Маддену слева. В июне 2009 г. выявлены метастазы в лёгкие и лимфоузлы средостения, проведено 6 курсов полихимиотерапии по схеме FAC с положительной динамикой. В феврале 2011 г. обнаружен метастаз рака молочной железы в головном мозге, 4.03.11 выполнено его хирургическое удаление с последующей химиотерапией в метрономном режиме. Через 6 мес дальнейшее прогрессирование – рецидив метастаза в головном мозге. Проведен курс дистанционной лучевой терапии с регрессией опухолевых очагов и продолжена метрономная химиотерапия с положительным эффектом. В течение 6 лет пациентка находилась под динамическим наблюдением, данных за прогрессирование не было. В июле 2019 г. при контрольном обследовании выявлен рак правой молочной железы cT2N0M0, трижды негативный подтип. Проведено комбинированное лечение: радикальная мастэктомия по Маддену справа и 8 курсов адъювантной полихимиотерапии (4 курса AC + 4 курса паклитаксел). В настоящее время состояние больной удовлетворительное, данных за прогрессирование нет. **Заключение.** В представленном клиническом наблюдении использовался персонализированный подход в лечении ТНРМЖ. С момента выявления первой опухоли прошло 15 лет. За это время трижды отмечались явления прогрессирования болезни, был диагностирован рак молочной железы с противоположной стороны. Помимо системной лекарственной терапии в отношении метастатических очагов использовались методы локального лечения: хирургический и радиотерапевтический. Активная тактика позволила добиться удовлетворительных результатов. В настоящее время по данным ПЭТ-КТ пациентка не имеет признаков рецидива заболевания.

Ключевые слова: рак молочной железы, трижды негативный подтип, рецидивирующий рак молочной железы, комплексное лечение.

CLINICAL CASE OF TORPID COURSE OF METASTATIC TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER

E.P. Kulikov¹, E.Yu. Golovkin^{1,2}, S.A. Mertsalov^{1,2}, I.I. Vinogradov^{1,2},
M.V. Borisova^{1,2}, S.Kh. Vagapova¹

Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russia¹

9, Vysokovolt'naya Street, 390011, Ryazan, Russia. E-mail: sabina_1396@mail.ru¹

Ryazan Regional Clinical Oncology Dispensary, Ryazan, Russia²

11, Dzerzhinskogo Street, 390026, Ryazan, Russia²

Abstract

Background. Breast cancer is the most common cancer and the leading cause of cancer death in women worldwide. The presence of an unfavorable molecular biological subtype significantly worsens the prognosis, making it necessary to individualize treatment strategy for each patient. **The aim of the study** was to demonstrate the achievement of long-term remission in the treatment of metastatic triple-negative breast cancer. **Case description.** A 42-year-old patient presented to Ryazan Oncologic Dispensary in October 2006 with complaints of lump in her left breast. She was diagnosed with stage cT2N0M0 triple-negative carcinoma of the left breast. She underwent radical mastectomy for left breast cancer (October, 2006). Disease progression (metastases to lungs and mediastinal lymph nodes) occurred in June 2009. The patient received 6 courses of polychemotherapy according to the FAC regimen with a favorable response. In February 2011, the patient was found to have metastatic lesion in the brain, which was surgically removed in March, 2011. She received metronome chemotherapy. Recurrence of brain metastasis occurred 6 months after chemotherapy. The patient received external beam radiation therapy, which resulted in tumor regression, and metronomic chemotherapy was continued with a positive effect. The patient was followed up for 6 years with no evidence of disease progression. In July 2019, the follow-up examination revealed stage cT2N0M0 triple-negative cancer in the right breast. The patient underwent radical mastectomy for the right breast and 8 courses of adjuvant polychemotherapy (4 courses of AC + 4 courses of paclitaxel). The patient is alive with no signs of disease progression. **Conclusion.** This clinical case demonstrated personalized approach to the treatment of patients with triple-negative breast cancer. Fifteen years had passed since the detection of the primary tumor. During this time, the disease progressed three times, and breast cancer was diagnosed on the opposite side. Combined modality treatment including chemotherapy, surgery and radiotherapy allowed satisfactory results to be achieved. The patient is still alive with no signs of disease progression.

Key words: breast cancer, triple-negative breast cancer, recurrent breast cancer, combined modality treatment.

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований женского населения России [1]. Однако благодаря развитию методов ранней диагностики и терапии РМЖ отмечается постепенное улучшение результатов лечения [2].

Рак молочной железы является гетерогенным заболеванием, при котором выделяют несколько молекулярно-биологических подтипов, определяемых по результатам иммуногистохимического исследования: люминальный А, люминальный В HER2 отрицательный, люминальный В HER2 положительный, HER2 положительный (не люминальный) и базальноподобный (трижды негативный) [3]. Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) составляет 10–20 % [4]. Он является одним из наиболее агрессивных подтипов РМЖ и отличается быстрым развитием рецидивов и отдаленных метастазов [5]. Очевидно, что отсутствие рецепторов для целенаправленной терапии – фак-

тор неблагоприятного прогноза. Это делает необходимым поиск возможностей персонализации лечебной тактики для данной категории больных [6]. Среди всех возможных видов лекарственного лечения чаще всего используются разнообразные варианты полихимиотерапии (ПХТ) [7]. В соответствии с клиническими рекомендациями 2021 г. в отношении ТНРМЖ используются химиотерапевтические схемы, включающие алкилирующие препараты, таксаны, антрациклины. В настоящее время разрабатываются новые подходы к лечению ТНРМЖ, в связи с чем появляется возможность применения у части пациентов таргетной и иммунотерапии, например использования таких препаратов, как бевацизумаб, атезолизумаб [8].

Основной причиной гибели больных РМЖ являются висцеральные метастазы, чаще в головном мозге, легких и печени [9]. Общая выживаемость при отдаленных метастазах ТНРМЖ значительно меньше, чем при других молекулярно-биологических подтипах [10]. Поражение головно-

го мозга считается фатальным, при использовании только радиотерапевтического метода лечения медиана выживаемости у данной категории пациентов составляет 3,1 мес [11].

Единого подхода к лечению пациентов с диссеминированным и рецидивным РМЖ не существует. Выбор тактики ведения должен быть индивидуализированным, учитывающим морфологические и молекулярно-биологические особенности опухоли, стадию процесса, виды и режимы предшествующей терапии. Основным методом лечения остается противоопухолевая лекарственная терапия. Для улучшения результатов используют способы локального воздействия: хирургическое лечение или лучевую терапию. У пациентов с метастатическим поражением головного мозга ТНРМЖ возможно применение нейрохирургического или лучевого лечения, которое может быть реализовано в виде облучения всего головного мозга (ОВГМ), стереотаксической радиотерапии, а также системной лекарственной терапии. При этом выбор местного воздействия на метастатический очаг осуществляется на основе инструментальных методов диагностики, общего состояния пациента и выраженности неврологической симптоматики [12, 13]. В литературе встречаются отдельные упоминания о достижении длительной ремиссии у больных с метастатическим РМЖ, в том числе и при ТНРМЖ, сопровождающимся развитием висцеральных метастазов [14, 15].

Цель исследования – демонстрация достижения длительной ремиссии при лечении метастатического ТНРМЖ.

Описание клинического случая

Пациентка С., 42 лет, в октябре 2006 г. обратилась в Рязанский онкологический диспансер с жалобами на уплотнение в левой молочной железе. В результате проведения маммографического исследования в верхнем наружном квадранте левой молочной железы выявлена опухоль диаметром до 3 см с относительно четкими контурами. Регионарные лимфатические узлы не увеличены. По данным дополнительных методов диагностики

признаки отдаленных метастазов не обнаружены. Верифицирован рак левой молочной железы cT2N0M0. У больной отягощенный наследственный анамнез: у матери – рак левой молочной железы, у родной сестры – рак обеих молочных желез. У дочери при исследовании на BRCA1/2-мутацию, обнаружена мутация в гене BRCA1. Данный анализ у самой пациентки не проводился.

18.10.06 выполнена радикальная мастэктомия по Маддену слева. При патогистологическом исследовании препарата выявлен медуллярный рак молочной железы, гиперплазия лимфатических узлов (рис. 1). При ИГХ-исследовании в клетках опухоли: рецепция эстрогена – отрицательная, рецепция прогестерона – отрицательная, статус HER2 – 0 (рис. 2). В дальнейшем пациентка находилась под динамическим наблюдением.

В июне 2009 г. при плановом рентгенологическом исследовании органов грудной клетки выявлены метастатические очаги в правом легком и лимфатических узлах средостения (рис. 3). Проведена бронхоскопия с биопсией из патологического очага и последующим ИГХ-исследованием. Гистологически подтверждены метастазы рака молочной железы в легкое. Рецепция эстрогена – отрицательная, рецепция прогестерона – отрицательная в клетках опухоли. Статус HER2 0. Проведено 6 курсов полихимиотерапии по схеме

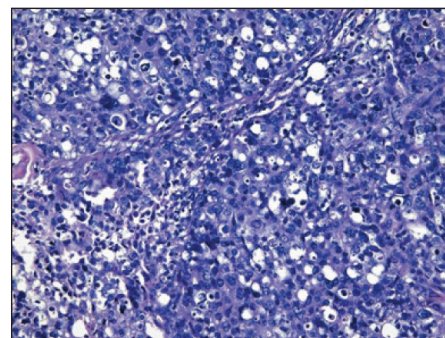


Рис. 1. Микрофото. Медуллярный рак левой молочной железы, окраска гематоксилином и эозином, ×200
Fig. 1. Microphoto. Medullary carcinoma of the left breast, hematoxylin and eosin staining, ×200

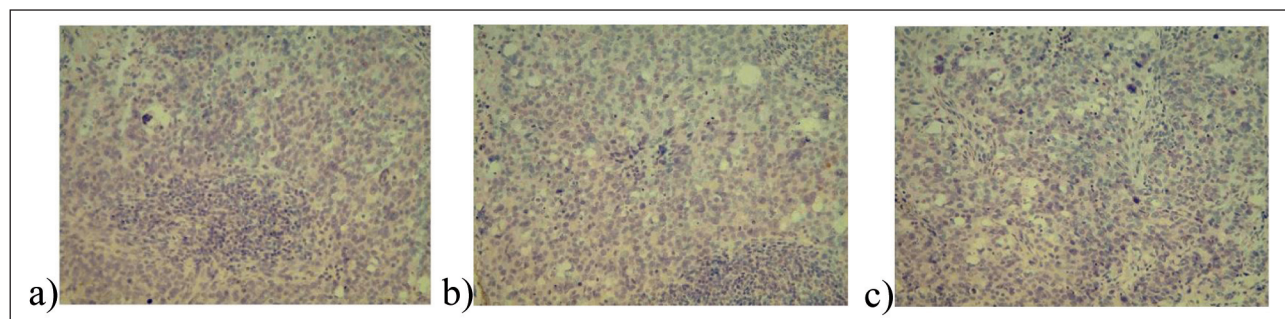


Рис. 2. Микрофото. Иммуногистохимическое исследование операционного препарата левой молочной железы: а) рецепция эстрогена отрицательная; б) рецепция прогестерона отрицательная; в) статус HER2 – 0, ×200
Fig. 2. Microphoto. Immunohistochemical reaction, histological pattern of the removed left breast: a) estrogen receptor negative; b) progesterone receptor negative; c) HER2 status 0, ×200

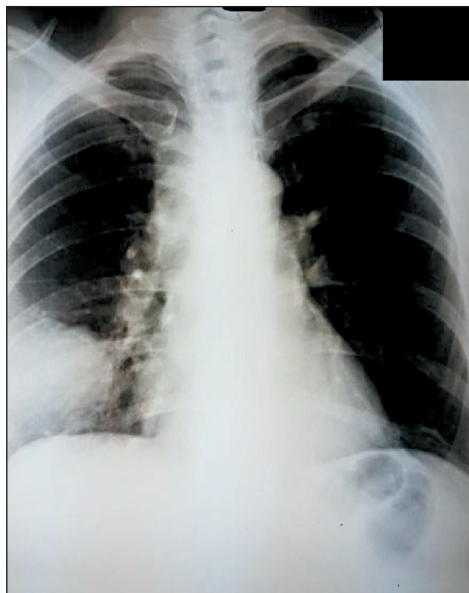


Рис. 3. Рентгенография легких. Метастазы в правое легкое и лимфатические узлы средостения
Fig. 3. X-ray image of the lungs. Metastases in the right lung and mediastinal lymph nodes

FAС (5-фторурацил – 500 мг/м² + доксорубицин – 50 мг/м² + циклофосфан – 500 мг/м²) с положительной динамикой. При КТ грудной клетки (февраль 2011 г.): в средней доле справа участки ограниченного пневмофиброза.

В феврале 2011 г. в связи с появлением неврологических симптомов выполнена МРТ головного мозга, при которой выявлено объемное образование в теменно-височной области слева с выраженным масс-эффектом (рис. 4). 04.03.11 проведено хирургическое удаление метастатического опухолевого очага. Гистологически и иммуногистохимически подтвержден метастаз недифференцированной карциномы в головной мозг, трижды негативный подтип (рис. 5). В течение 17 мес проводился курс метрoномной химиотерапии: метотрексат – 2,5 мг × 2 раза/сут, эндоксан – 50 мг × 1 раз/сут. С мая 2011 г. при МРТ-контроле отмечалась стабилизация опухолевого процесса.

Через 6 мес после хирургического лечения, в октябре 2011 г. при МРТ головного мозга выявлено дальнейшее прогрессирование: рецидив опухоли

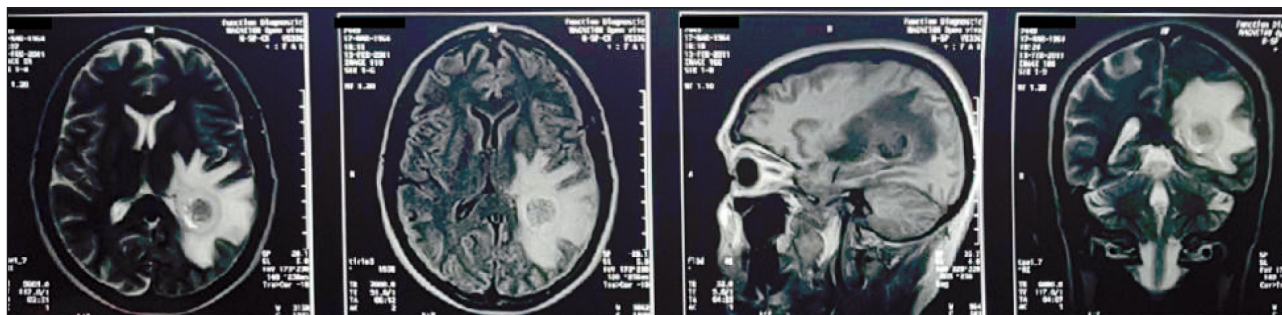


Рис. 4. МРТ головного мозга. Объемное образование в теменно-височной области слева с выраженным масс-эффектом
Fig. 4. MRI of the brain. Large left parietotemporal lesion with mass effect

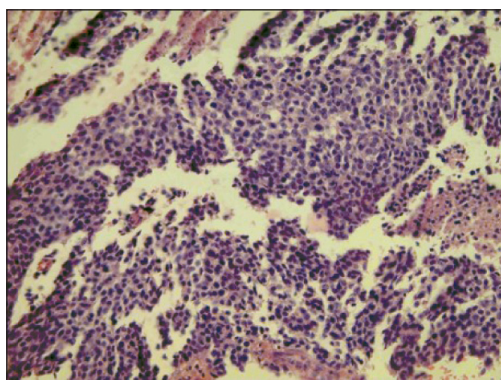


Рис. 5. Микрофото. Метастаз карциномы неспецифического типа в головной мозг, окраска гематоксилином и эозином, ×200

Fig. 5. Microphoto. Brain metastasis from non-specific lung carcinoma, hematoxylin and eosin staining, ×200

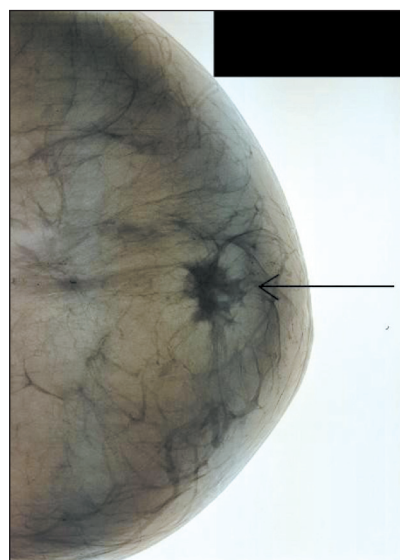


Рис. 6. Маммография. Опухолевидное образование верхне-наружного квадранта правой молочной железы

Fig. 6. The mammography image. Tumor-like lesion in the upper outer quadrant of the right breast

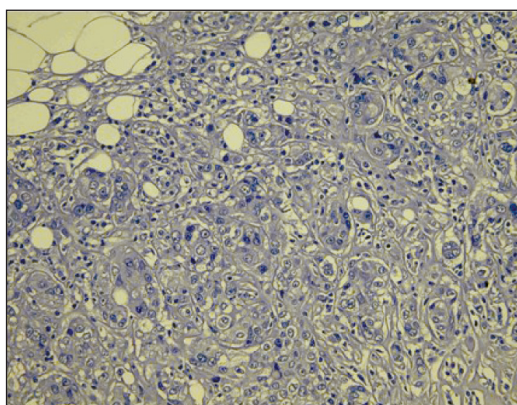


Рис. 7. Микрофото. Инвазивная карциномы неспецифического типа, G-3, окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$
 Fig. 7. Microphoto. Invasive carcinoma of non-specific type, G-3, hematoxylin and eosin staining, $\times 400$

у заднего рога левого бокового желудочка. Проводился курс дистанционной лучевой терапии на область метастатического очага СОД 38 Гр (февраль 2012 г.), который был прерван в связи с ухудшением соматического и неврологического состояния. После отмены специального лечения состояние больной стабилизировалось. При МРТ-контроле (март 2013 г.): послеоперационные кистозно-глиозные изменения в левой теменной доле, умеренно выраженная моноventрикулярная гидроцефалия.

В течение 6 лет пациентка находилась под динамическим наблюдением, данных о прогрессировании опухолевого процесса нет.

В июле 2019 г. при ПЭТ/КТ у пациентки выявлено образование в правой молочной железе. При дообследовании верифицирован рак правой молочной железы cT2N0M0 (рис. 6). Патоморфологическое исследование: инвазивная карцинома неспецифического типа. ИГХ-исследование: рецепция эстрогена – отрицательная, рецепция прогестерона – отрицательная в клетках опухоли, статус HER2 1+, индекс Ki67 – 70 % (рис. 7, 8). С учетом данных анамнеза проведено комбинированное лечение: радикальная мастэктомия по Маддену справа (26.07.19) и 8 курсов адъювантной ПХТ по схеме AC 4 курса (доксорубицин – 60 мг + циклофосфамид – 600 мг в/в) + 4 курса паклитаксел – 80 мг/м². В настоящее время состояние пациентки – удовлетворительное, при ПЭТ-КТ в режиме «всё тело» данных за прогрессирование нет.

Заключение

В представленном клиническом наблюдении использовался персонифицированный подход в лечении пациентки с ТНРМЖ. С момента выявления первой опухоли прошло 15 лет. За это время трижды отмечалось прогрессирование заболевания, был диагностирован рак молочной железы с противоположной стороны. Помимо системной лекарствен-

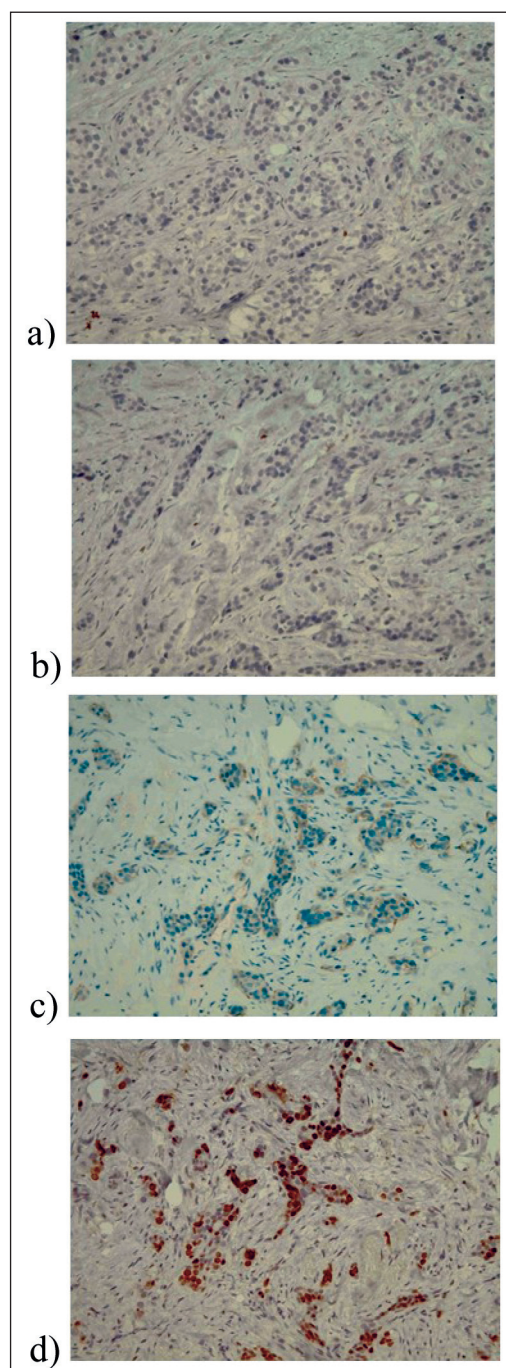


Рис. 8. Микрофото. Иммуногистохимическое исследование операционного препарата молочной железы:

a) рецепция эстрогена – отрицательная; b) рецепция прогестерона – отрицательная; c) статус HER2 1+; d) индекс Ki67 – 70 %, $\times 200$

Fig. 8. Microphoto. Immunohistochemical reaction, histological pattern of the removed right breast:

a) estrogen reception – negative; b) progesterone reception – negative; c) HER2 1+ status; d) Ki67 index – 70 %, $\times 200$

ной терапии в отношении метастатических очагов использовались методы локального лечения: хирургический и радиотерапевтический. Активная тактика позволила добиться удовлетворительных результатов, в настоящее время по данным ПЭТ-КТ нет признаков рецидива заболевания.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Коваленко М.С., Кошулько П.А., Короткова Н.В. Катепсины как маркеры злокачественных новообразований молочных желёз. Наука молодых – Eruditio Juvenium. 2019; 7(2): 301–6. [Kovalenko M.S., Koshulko P.A., Korotkova N.V. Cathepsins as markers of malignant tumors of the mammary glands. Science of the young – Eruditio Juvenium. 2019; 7(2): 301–6. (in Russian)]. doi: 10.23888/HMJ201972301-306
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М., 2020. 239 с. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Shakhzadova A.O. The state of cancer care for the population of Russia in 2019. Moscow, 2020. 239 p. (in Russian)].
3. Мнихович М.В. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в карциномах молочной железы: современное состояние проблемы. Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2014; 22(2): 152–61. [Mnikhovich M.V. Cell and cell-matrix interactions in breast carcinoma: the present state of problems. I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald. 2014; 22(2): 152–61. (in Russian)]. doi: 10.17816/PAVLOVJ20142152-161.
4. Al-Mahmood S., Sapiezynski J., Garbuzenko O.B., Minko T. Metastatic and triple-negative breast cancer: challenges and treatment options. Drug Deliv Transl Res. 2018; 8(5): 1483–1507. doi: 10.1007/s13346-018-0551-3.
5. Han Y., Yu X., Li S., Tian Y., Liu C. New Perspectives for Resistance to PARP Inhibitors in Triple-Negative Breast Cancer. Front Oncol. 2020; 10: 578095. doi: 10.3389/fonc.2020.578095.
6. Lee A., Djangoz M.B.A. Triple negative breast cancer: Emerging therapeutic modalities and novel combination therapies. Cancer Treat Rev. 2018; 62: 110–22. doi: 10.1016/j.ctrv.2017.11.003.
7. Hon J.D., Singh B., Sahin A., Du G., Wang J., Wang V.Y., Deng F.M., Zhang D.Y., Monaco M.E., Lee P. Breast cancer molecular subtypes: from TNBC to QNBC. Am J Cancer Res. 2016; 6(9): 1864–72.
8. Ганьшина И.П., Гордеева О.О., Манукян М.Ш. Современные возможности терапии метастатического трижды негативного рака молочной железы. Современная онкология. 2020; 22(4): 56–61. [Ganshina I.P., Gordeeva O.O., Manukyan M.Sh. Novel therapeutic strategies for patients with metastatic triple-negative breast cancer. Journal of Modern Oncology. 2020; 22(4): 56–61. (in Russian)]. doi: 10.26442/18151434.2020.4.200495
9. Ващенко Л.Н., Бакулина С.М., Черникова Е.Н., Тетерников А.В. Современные возможности лечения метастатического рака молочной железы. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018; 4: 165–70. [Vaschenko L.N., Bakulina S.M., Chernikova E.N., Teternikov A.V. Current treatment options for metastatic breast cancer. International Journal of Applied and Basic Research. 2018; 4: 165–70. (in Russian)].
10. Wang R., Zhu Y., Liu X., Liao X., He J., Niu L. The Clinicopathological features and survival outcomes of patients with different metastatic sites in stage IV breast cancer. BMC Cancer. 2019; 19(1): 1091. doi: 10.1186/s12885-019-6311-z.
11. Znidaric T., Gugic J., Marinko T., Gojkovic Horvat A., Paulin Kosić M.S., Golo D., Ivanetic Pantar M., Ratosa I. Breast cancer patients with brain metastases or leptomeningeal disease: 10-year results of a national cohort with validation of prognostic indexes. Breast J. 2019; 25(6): 1117–25. doi: 10.1111/tbj.13433.
12. Ассоциация онкологов России, общероссийская общественная организация «Российское общество онкоммаммологов», общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии». Клинические рекомендации. Рак молочной железы. 2021. [Russian Oncology Association, Russian Breast Cancer Society, Russian Clinical Oncology Society. Clinical Guidelines. Secondary malignant neoplasm of the brain and meninges. 2021. (in Russian)].
13. Насхлеташвили Д.Р., Банов С.М., Бекашев А.Х., Борисова Т.Н., Ветлова Е.Р., Голанов А.В., Зайцев А.М., Кобяков Г.Л., Смолин А.В. Практические рекомендации по лекарственному лечению метастатических опухолей головного мозга. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. 2020; 10: 141–8. [Nashletashvili D.R., Banov S.M., Bekjashev A.H., Borisova T.N., Vellova E.R., Golanov A.V., Zajcev A.M., Kobjakov G.L., Smolin A.V. Practical recommendations for the drug treatment of metastatic brain tumors. Malignant Tumors: Practical Recommendations of RUSSCO. 2020; 10: 141–8. (in Russian)]. doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-08
14. Nieder C., Walter K., Nestle U., Schnabel K. Ten years disease-free survival after solitary brain metastasis from breast cancer. J Cancer Res Clin Oncol. 1996; 122(9): 570–2. doi: 10.1007/BF01213556.
15. Володина Л.Н., Куликов Е.П., Григорьев А.В., Бубликова М.П., Журавлева О.П., Чернова В.В., Колобаева Р.Е., Сашина Е.Л., Сониная Л.А., Мерцалов С.А., Мирчетич А.С., Виноградов И.Ю., Холчев М.Ю. Длительная биотерапия трастузумабом больной раком молочной железы. Российский онкологический журнал. 2015; 20(5): 31–3. [Volodina L.N., Kulikov E.P., Grigoryev A.V., Bublikova M.P., Zhuravleva O.P., Chernova V.V., Kolobaeva R.E., Sashina E.L., Sonina L.A., Mertsalov S.A., Mirchetich A.S., Vinogradov I.Yu., Kholchev M.Yu. Long-term trastuzumab biotherapy of a breast cancer patient. Russian journal of oncology. 2015; 20 (5): 31–3. (In Russian)].

Поступила/Received 28.04.21
Принята в печать/Accepted 11.05.21

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Куликов Евгений Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» (г. Рязань, Россия). SPIN-код: 8925-0210. ORCID: 0000-0003-4926-6646.

Головкин Евгений Юрьевич, кандидат медицинских наук, врач-онколог, ГБУ РО «Областной клинический онкологический диспансер»; доцент курса ФДПО, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» (г. Рязань, Россия). SPIN-код: 3270-6698. ORCID: 0000-0001-7795-3721.

Мерцалов Сергей Александрович, кандидат медицинских наук, врач-онколог, ГБУ РО «Областной клинический онкологический диспансер»; доцент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» (г. Рязань, Россия). SPIN-код: 3925-4546. ORCID: 0000-0002-8804-3034.

Виноградов Илья Игоревич, кандидат медицинских наук, заведующий патогистологическим отделением, ГБУ РО «Областной клинический онкологический диспансер»; доцент кафедры гистологии, патологической анатомии и медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» (г. Рязань, Россия). SPIN-код: 3889-1000. ORCID: 0000-0002-4341-6992.

Борисова Марина Витальевна, кандидат медицинских наук, врач-онколог, ГБУ РО «Областной клинический онкологический диспансер»; ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» (г. Рязань, Россия). SPIN-код: 9754-8748 ORCID: 0000-0001-5427-139X.

Вагапова Сабина Хамзаевна, ординатор по специальности «Онкология», ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» (г. Рязань, Россия). E-mail: sabina_1396@mail.ru. SPIN-код: 4017-0473. ORCID: 0000-0002-5275-6390.

ВКЛАД АВТОРОВ

Куликов Евгений Петрович: анализ научной работы и её структуризация, критическая оценка, с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение версии, подлежащей опубликованию.

Головкин Евгений Юрьевич: клиническая работа с пациентом, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Мерцалов Сергей Александрович: клиническая работа с пациентом, разработка концепции, проекта и дизайна работы, научное редактирование статьи, составление черновика рукописи.

Виноградов Илья Игоревич: непосредственная реализация морфологического и иммуногистохимического исследования в данной работе, предоставление микрофотографий.

Борисова Марина Витальевна: разработка концепции лечебного подхода, общее руководство подготовки клинического случая, предоставление первичной документации и первичного визуального материала.

Вагапова Сабина Хамзаевна: сбор материала, поиск и анализ источников литературы, клиническая работа с пациентом, разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeny P. Kulikov, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncology, Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov (Ryazan, Russia). SPIN-code: 8925-0210. ORCID: 0000-0003-4926-6646.

Evgeny Yu. Golovkin, MD, PhD, Oncologist, Regional Clinical Oncological Dispensary; Assistant Professor, FDPO course, Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov (Ryazan, Russia). SPIN-code: 3270-6698. ORCID: 0000-0001-7795-3721.

Sergei A. Mertsalov, MD, PhD, Oncologist, Regional Clinical Oncological Dispensary; Assistant Professor, Department of Oncology, Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov (Ryazan, Russia). SPIN-code: 3925-4546. ORCID: 0000-0002-8804-3034.

Il'ya I. Vinogradov, MD, PhD, Head of Pathology Department, Regional Clinical Oncological Dispensary; Assistant Professor, Department of Histology, Pathological Anatomy and Medical Genetics, Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov (Ryazan, Russia). SPIN-code: 3889-1000. ORCID: 0000-0002-4341-6992.

Marina V. Borisova, MD, PhD, Oncologist, Regional Clinical Oncological Dispensary; Assistant, Department of Oncology, Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov (Ryazan, Russia). SPIN-code: 9754-8748 ORCID: 0000-0001-5427-139X.

Sabina Kh. Vagapova, MD, Resident in the specialty «Oncology», Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov (Ryazan, Russia). E-mail: sabina_1396@mail.ru. SPIN-code: 4017-0473. ORCID: 0000-0002-5275-6390.

AUTHOR CONTRIBUTION

Evgeny P. Kulikov: research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the version to be published.

Evgeny Yu. Golovkin: research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content

Sergei A. Mertsalov: study conception and design, editing of the manuscript, drafting of the manuscript.

Il'ya I. Vinogradov: data collection and analysis

Marina V. Borisova: study conception, data collection and interpretation

Sabina Kh. Vagapova: data collection and analysis, study conception, drafting of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Киреева Т.А., Гуменецкая Ю.В., Гоголин Д.В., Гордон К.Б., Гулидов И.А., Лепилина О.Г. Протонная терапия в лечении диффузной астроцитомы ствола головного мозга. Случай из практики. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 144–150. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-144-150

For citation: Kireeva T.A., Gumenetskaya Yu.V., Gogolin D.V., Gordon K.B., Gulidov I.A., Lepilina O.G. Proton therapy in the treatment of diffuse astrocytoma of the brain stem. Case report. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 144–150. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-144-150

ПРОТОННАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ДИФFUЗНОЙ АСТРОЦИТОМЫ СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА. СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ

Т.А. Киреева, Ю.В. Гуменецкая, Д.В. Гоголин, К.Б. Гордон,
И.А. Гулидов, О.Г. Лепилина

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия
Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королёва, 4

Аннотация

Актуальность. Несмотря на то, что астроцитома головного мозга относится к глиальным опухолям низкой степени злокачественности (Grade II), она часто является причиной инвалидизации и смерти пациентов. Локализация опухоли определяет выраженность клинической симптоматики заболевания, что существенно влияет на его прогноз. Важнейшей проблемой до настоящего времени остается выбор оптимальной тактики лечения астроцитомы, локализуемой в стволе головного мозга. Расположение опухоли в данной области позволяет относить абсолютное большинство пациентов к категории неоперабельных. В связи с чем основным методом лечения таких больных является лучевая терапия или химиолучевое лечение. При планировании лучевой терапии серьёзной проблемой является локализация опухоли в непосредственной близости от жизненно важных центров. Как известно, подведение высоких доз излучения в таких случаях сопряжено с высоким риском развития осложнений лечения. **Описание клинического случая.** Представлено клиническое наблюдение успешного лечения молодого, 20-летнего пациента с диффузной астроцитомой ствола головного мозга. В связи с невозможностью проведения радикального хирургического лечения больному была предложена лучевая терапия. Морфология, размеры и локализация первичной опухоли представляли определенную сложность при создании оптимального дозиметрического плана лечения из-за высокой вероятности повреждения жизненно важных центров, что могло привести к инвалидизации и даже гибели пациента. Возможность применения протонной терапии позволила подвести максимально допустимую дозу излучения к опухоли, с минимальным воздействием на окружающие ткани. Запланированный курс протонной терапии был выполнен в полном объеме. При сроке наблюдения за пациентом после завершения лучевой терапии 36 мес, осложнений лечения, а также признаков прогрессирования заболевания не отмечено. **Заключение.** Несмотря на высокий риск развития осложнений лечения, применение протонной терапии позволило в полном объеме реализовать запланированный курс лечения, добиться стабилизации опухоли и значительно улучшить качество жизни пациента молодого возраста.

Ключевые слова: протонная терапия, фотонная терапия, диффузная астроцитома, ствол мозга, лучевая терапия, осложнения лечения, головной мозг.

PROTON THERAPY IN THE TREATMENT OF DIFFUSE ASTROCYTOMA OF THE BRAIN STEM. CASE REPORT

T.A. Kireeva, Yu.V. Gumenetskaya, D.V. Gogolin, K.B. Gordon,
I.A. Gulidov, O.G. Lepilina

F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
4, Korolev St., 249036, Obninsk, Russia

Abstract

Background. Despite the fact that cerebral astrocytoma belongs to low-grade tumors (grade II gliomas), it often leads to disability and death of patients. The localization of the tumor determines the severity of the clinical symptoms of the disease, which significantly affects its prognosis. The choice of the optimal treatment strategy for astrocytoma localized in the brain stem poses challenges and enables the vast majority of patients to be classified as inoperable. Therefore, radiation therapy or chemoradiotherapy are the main treatment modalities for patients with low-grade glioma. The location of the tumor in close proximity to vital centers makes radiation therapy planning difficult, because the delivery of high doses of radiation can cause serious treatment complications. **Description of the clinical case.** We present a clinical case of a successful treatment of a young, 20-year-old male patient with diffuse astrocytoma of the brain stem. As radical surgery was impossible to be performed, the patient was offered radiation therapy. The morphology, size, and location of the primary tumor posed challenges for selecting an optimal treatment strategy due to a high risk of damage to vital centers, which could lead to disability and even death of the patient. The use of proton therapy made it possible to deliver the maximum allowable dose of radiation to the tumor, limiting radiation exposure to surrounding healthy tissues. The patient received the complete course of proton therapy. After 36 months of follow-up, no complications and signs of disease progression were found. **Conclusion.** Despite the high risk of treatment complications, the use of proton therapy made it possible to complete the planned course of treatment, achieve tumor stabilization and significantly improve the life quality of the patient.

Key words: proton therapy, photon therapy, diffuse astrocytoma, brain stem, radiation therapy, complications of treatment; brain

Введение

Несмотря на высокие темпы развития и постоянное совершенствование методов диагностики и лечения в онкологии, статистические данные свидетельствуют о сохраняющейся тенденции к увеличению онкологической заболеваемости в России. В 2018 г. выявлено 624 709 новых случаев злокачественных новообразований (ЗНО) [1]. Около 2 % от числа всех ЗНО составляют первичные опухоли головного мозга, среди которых первое место по распространенности занимают нейроэпителиальные опухоли [2]. Достоверные причины развития глиальных опухолей не известны, но одной из возможных причин считается наличие разного рода клеточных мутаций. Согласно классификации ВОЗ, выделяют глиомы низкой степени злокачественности (Grade I–II) и высокозлокачественные глиомы (Grade III–IV). Астроцитомы – опухоль, развивающаяся из астроцитарной части глии, представлена астроцитами. Частота заболеваемости диффузной астроцитомой составляет 0,55 случая на 100 тыс населения в год [2]. Чаще всего данные опухоли относятся к низкой степени злокачественности (Grade II), но, несмотря на высокую степень дифференцировки и относительно медленный рост, астроцитомы часто

является причиной не только инвалидизации, но и смерти пациентов.

Важным прогностическим фактором в лечении больных является возраст и локализация опухоли. Известно, что пик заболеваемости приходится на возраст от 15 до 35 лет, при этом средняя продолжительность жизни пациентов старше 40 лет составляет 5 лет, а у детей – около 10 лет [3]. Данное обстоятельство подчеркивает не только медицинскую, но и социальную значимость проблемы. От локализации опухоли зависит степень выраженности клинической симптоматики заболевания, что существенно влияет на его прогноз. Чаще всего опухоль локализуется в области больших полушарий мозга, и лишь в 5,6 % может поражать ствол [4]. У взрослых пациентов глиомы ствола головного мозга встречаются редко и составляют около 2 % всех внутричерепных новообразований. В связи с тем, что они представляют собой гетерогенную группу опухолей, основным фактором прогноза и определения подхода к лечению является морфологическая верификация диагноза. Учитывая локализацию опухоли в области ствола головного мозга, её биопсия выполняется редко, что не дает возможности морфологически подтвердить диагноз. В связи с этим данные опухоли классифици-

руются в соответствии с их характеристиками, с помощью методов МР-визуализации [5, 6].

Важнейшей проблемой до настоящего времени остается выбор оптимальной тактики лечения данной категории пациентов. Ввиду анатомической особенности структуры ствола головного мозга, наличия в нем жизненно важных центров, контролирующих все процессы жизнедеятельности организма, большинство пациентов относится к категории неоперабельных. Вместе с тем, из-за малой эффективности химиотерапевтических препаратов их использование при диффузно растущих опухолях ствола мозга, как правило, играет вспомогательную роль и часто сопровождается развитием различных токсических эффектов [7, 8].

В связи с изложенным выше основным методом лечения больных с локализацией опухоли в области ствола мозга является лучевая терапия, проведение которой позволяет улучшить контроль над заболеванием и увеличить выживаемость пациентов. Вместе с тем, подобная локализация опухоли является серьезной проблемой при планировании лучевой терапии. Подведение высоких доз облучения в таких случаях ограничено величиной толерантности дозы ствола головного мозга. Для снижения риска осложнений применяют традиционный режим фракционирования в разовой очаговой дозе 1,8–2 Гр, до СОД 45–54 Гр (NCCN. Guidelines. Version 2017).

Вместе с тем, лучевое лечение может привести к различной степени выраженности нарушений функций черепно-мозговых нервов, что негативно влияет на качество жизни пациентов. Выбор оптимального метода облучения для каждого больного представляет объективную сложность. При этом достигаемый эффект, как правило, имеет временный характер, а длительность ремиссии зависит от степени агрессивности опухоли [9].

В каждом случае при определении тактики лечения необходимо учитывать размеры, локализацию опухоли и, конечно, соматический статус больного, принимая во внимание высокий риск развития осложнений лечения. Стремление к повышению эффективности лечения и увеличению продолжительности жизни данной категории онкологических больных не должно сопровождаться ухудшением качества жизни.

Мы представляем клиническое наблюдение успешного лечения пациента с диффузной глиомой ствола мозга.

Описание клинического случая

В октябре 2017 г. в Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации обратился на консультацию пациент В., в возрасте 20 лет. При обращении предъявлял жалобы на выраженную

слабость, частые головные боли, головокружение, заторможенность, дисфонию, неустойчивость и «шаткость» при ходьбе и тремор в левой руке. Из анамнеза заболевания известно, что в течение последнего года стали беспокоить частые головные боли, головокружения. В июне 2017 г., после эпизода потери сознания, появились неустойчивость и «шаткость» при ходьбе, тремор в левой руке и нарушение речи. Пациент обратился в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. При обследовании по данным МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием выявлено объемное образование ствола головного мозга размерами 2,9×2,6×4,0 см ($V=30,1 \text{ см}^3$) (рис. 1). В июле 2017 г. проведено хирургическое лечение в объеме частичного эндоскопического удаления опухоли. Гистологическое заключение: «диффузная астроцитома WHO grade 2». По результатам молекулярно-генетического исследования мутации гена IDH1 не выявлено. Установлен диагноз: Диффузная астроцитома ствола головного мозга G2. МКБ 10: D33.

При контрольном послеоперационном обследовании в июле 2017 г. по данным МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием «...определяется объемное образование ствола головного мозга размерами 2,4×2,6×3,4 см ($V=27,8 \text{ см}^3$)». Учитывая невозможность радикального удаления опухоли, пациент был направлен на консультацию радиотерапевта. В МРНЦ им. А. Ф. Цыба тактика лечения обсуждена на консилиуме с участием онколога, нейрохирурга, радиотерапевта и химиотерапевта. Принято решение о возможности проведения лучевой терапии.

На этапе подготовки к лечению, для исключения возможности изменения положения пациента во время лечебной процедуры, изготовлено индивидуальное фиксирующее приспособление, состоящее из специальной подставки и подголовника, обеспечивающих комфортное и неподвижное положение пациента во время сеанса лечения, а также индивидуальной сетчатой маски из термопластмассы с дополнительными ребрами жесткости, которые закрепляют маску и тем самым обеспечивается воспроизводимость укладки пациента во время сеансов лучевой терапии на протяжении всего курса.

Перед созданием дозиметрического плана лечения было выполнено поэтапное оконтуривание необходимых объемов облучения: объема опухоли (GTV), клинического объема мишени (CTV: GTV + 1 см), планируемого объема облучения (PTV + 0,3 см) и критических структур. При планировании дозных ограничений на критические структуры были использованы рекомендации Quantec (Brain stem: Dmax<54 Гр, Chiasm: Dmax<55 Гр, Brain: Dmax<60 Гр, Optic nerves: Dmax<55 Гр, Cochlea: Dmax≤45 Гр) с поправкой на относительную биологическую эффективность протонов 1.1.

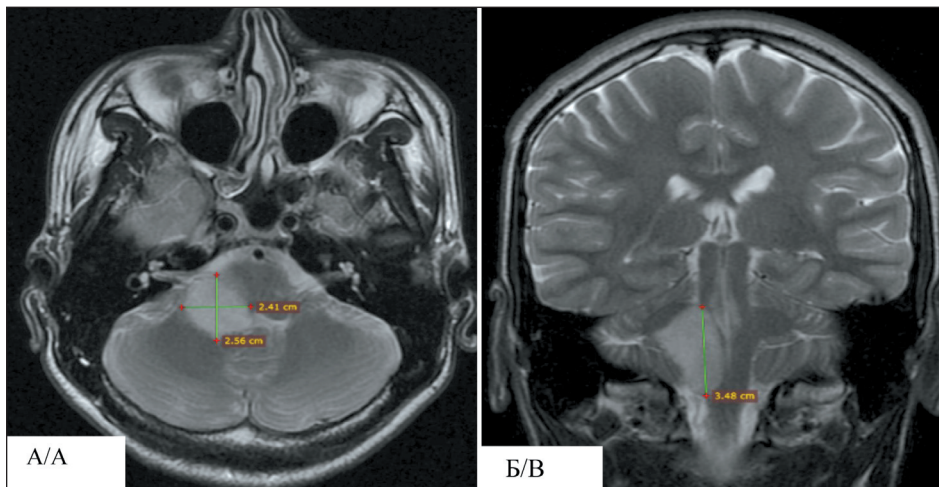


Рис. 1. МРТ головного мозга с контрастным усилением (до лечения):

А – режим T2, аксиальная проекция; Б – режим T2, фронтальная проекция

Fig. 1. Contrast-enhanced brain MR imaging (before treatment): A – T2 mode, axial projection; B – T2 mode, frontal projection

Дозиметрическое планирование проводили на системе планирования, созданной для протонного комплекса «Прометейс». Оптимизация дозового распределения проводилась для каждого поля отдельно с целью достижения однородности дозы. Для создания плана были выбраны направления пучка протонов 0,55 и 255 градусов. Планирование проводилось на суммарную очаговую дозу 54 ГрОБЭ с критерием оценки плана 95–107 % от предписанной дозы [10, 11]. Сочетание таких факторов, как морфология, локализация и размеры первичной опухоли, является серьезной проблемой для создания дозиметрического плана лучевой терапии у больных с опухолями ствола мозга. Жизненно важные центры, находящиеся в непосредственной близости от опухоли, также чувствительны к излучению, и их повреждение может существенно ухудшить качество жизни, а иногда приводит и к летальному исходу. В связи с чем у данной группы больных максимально возможная СОД ограничена величиной радиационной толерантности ствола мозга.

При создании дозиметрического плана протонной лучевой терапии за счет пика Брегга, позволяющего уменьшить лучевую нагрузку на здоровые

ткани в 2–3 раза, а также применения метода сканирования с переменной интенсивностью (IMPT – Intensity Modulated Particle Therapy), мы получили конформное дозовое распределение в мишени, что позволило уменьшить воздействие ионизирующего излучения не только на ствол мозга, но и на весь объем головного мозга. В связи с чем было принято решение о проведении пациенту курса протонной терапии, с применением технологии объемной визуализации мишени и активного сканирующего пучка протонов. Полученный дозиметрический план протонной терапии был принят в качестве лечебного плана (рис. 2).

В период с ноября по декабрь 2017 г. проведен курс протонной терапии на комплексе протонной терапии «Прометейс», в режиме традиционного фракционирования, в РОД 2 ГрОБЭ, до СОД 54 ГрОБЭ. Лечение проводилось на фоне дегидратационной терапии (диакارب 250 мг, через день; дексаметазон 4 мг, ежедневно). В процессе лечения наблюдалось усиление симптомов отека головного мозга, в связи с чем доза глюкокортикостероидов была увеличена до 8 мг в день. Весь период лечения пациент находился под постоянным наблюдением медицинского персонала из-за отсутствия способ-

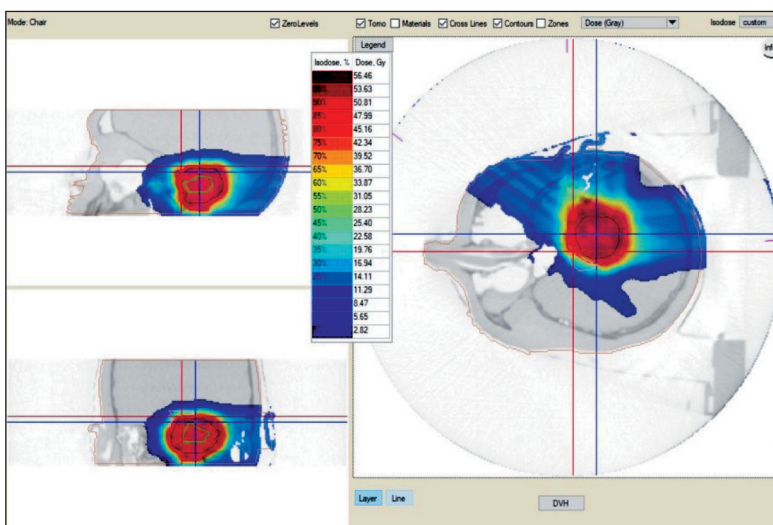


Рис. 2. Схема изодозного распределения при планировании курса протонной терапии
Fig. 2. Diagram of isodose distribution for planning proton therapy

ности к самообслуживанию и самостоятельному передвижению.

Запланированный курс протонной терапии был реализован в полном объеме, без перерывов в лечении. После завершения лучевой терапии пациент выписан в удовлетворительном состоянии (с учетом тяжести основного заболевания) под наблюдение онколога и невролога по месту жительства, оставаясь под динамическим наблюдением специалистов МРНЦ им. А.Ф. Цыба.

При контрольном обследовании, по данным МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием (24.01.2018) «...определяется объемное образование правой и средней ножки мозжечка и продолговатого мозга размерами $2,6 \times 2,8 \times 3,7$ см, не накапливающее контрастный препарат, со сдавлением полости четвертого желудочка и церебро-медулярной цистерны». Необходимо отметить, что непосредственно после завершения курса протонной терапии пациент отметил улучшение самочувствия за счет уменьшения частоты возникновения и интенсивности головной боли, отсутствия головокружения. Таким образом, проведение облучения позволило достигнуть стабилизации процесса и сохранить приемлемое качество жизни пациента.

Учитывая удовлетворительную переносимость курса лучевой терапии, молодой возраст и отсутствие мутации гена IDH1, с целью улучшения эффекта лечения принято решение о проведении химиотерапии. С марта по май 2018 г. реализовано 3 курса химиотерапии (темозоломид 350 мг, ежедневно, в течение 5 нед, перерыв между курсами – 23 сут). При контрольном обследовании в июне 2018 г. по данным МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием: «...сохраняется объемное образование правой и средней ножки мозжечка и продолговатого мозга, без динамики к росту». Принято решение об изменении режима химиотерапии. С июля по декабрь 2018 г. дополнительно проведено 6 курсов химиотерапии (карбоплатин 450 мг; эпозид 100 мг; 1–3 дня). Пациент перенес лечение удовлетворительно.

Осуществляется постоянное динамическое наблюдение за пациентом: в настоящее время он способен к самостоятельной деятельности, не нуждается в постоянном наблюдении со стороны родственников, память и мышление не нарушены. Посещает занятия по лечебной физкультуре, отмечает постепенное увеличение мышечной силы в левой верхней конечности.

При контрольном обследовании в июле 2020 г. по данным МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием: «...в области правой средней ножки мозжечка и правой половине продолговатого мозга определяется новообразование размерами $2,0 \times 1,9 \times 3,2$ см, без динамики к росту». Состояние удовлетворительное, поведение

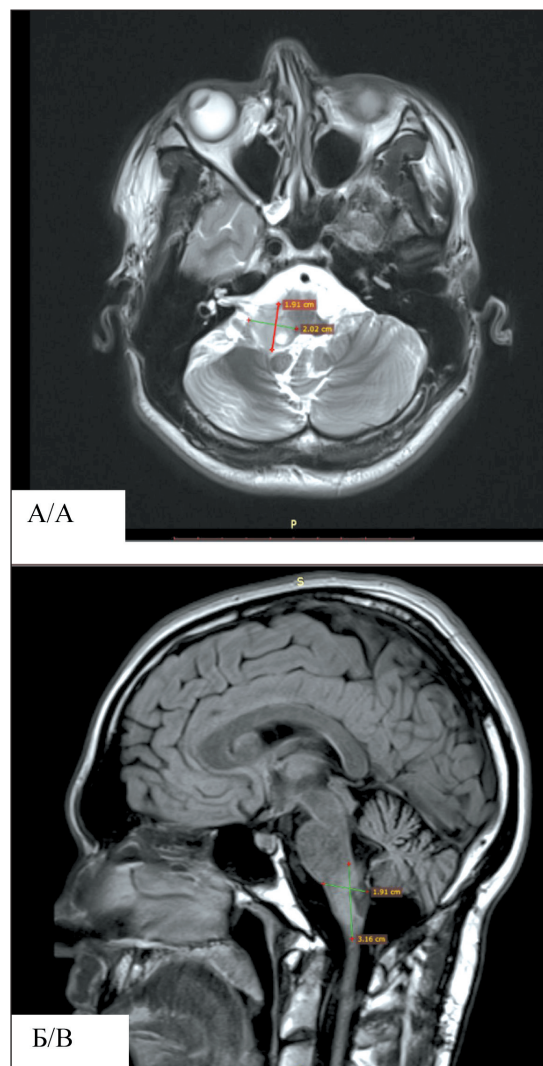


Рис. 3. МРТ головного мозга с контрастным усилением (после лечения):

А – режим T2, аксиальная проекция;

Б – режим T2, сагиттальная проекция

Fig. 3. Contrast-enhanced brain MR imaging (after treatment):
A – T2 mode, axial projection; B – T2 mode, sagittal projection

адекватное, пациент правильно ориентирован во времени и месте, собственной личности, эмоционально стабилен. Головные боли беспокоят редко, эпизодов потери сознания не наблюдали. Молодой человек социально активен: читает книги, активно пользуется компьютером, не нуждается в постоянном наблюдении родственников, очно получает высшее образование по профилю «адаптивная физическая культура», постоянно посещает бассейн. Осложнений лечения до настоящего времени не наблюдали. Данных за прогрессирование заболевания не получено (рис. 3). Наблюдение за пациентом продолжается.

Заключение

Представленный клинический случай демонстрирует пример успешного применения протонной терапии в лечении диффузно растущей

астроцитомы ствола головного мозга. Использование протонной терапии позволило подвести максимально возможную в подобных случаях дозу излучения к опухоли с минимальным воздействием на окружающие здоровые ткани. Несмотря на

высокий риск развития осложнений, нам удалось реализовать запланированный курс лечения, добиться стабилизации опухоли и улучшить качество жизни пациента молодого возраста.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году*. М., 2018. 236 с. [*The state of oncological care for the population of Russia in 2017*. Moscow, 2018. 236 p. (in Russian)].
2. *Каприн А.Д., Мардынский Ю.С. Терапевтическая радиология: национальное руководство*. М., 2018. 704 с. [*Kaprin A.D., Mardynsky Yu.S. Therapeutic radiology: national guidelines*. Moscow, 2018. 704 p. (in Russian)].
3. *Мартьянов Б.В., Парфенов В.Е., Свистов Д.В., Труфанов Г.Е., Фокин В.А., Холявин А.И., Низковолос В.Б. Влияние вида и объема хирургического вмешательства на течение послеоперационного периода у больных с глиальными опухолями. Бюллетень сибирской медицины*. 2008; 7(5–1): 231–5. [*Martynov B.V., Parfenov V.Y., Svistov D.V., Trufanov G.Y., Fokin V.A., Kholayvin A.I., Nizkovolos V.B. Influence of type and volume of surgical resection on postoperative period in patients with gliomas*. Bulletin of Siberian Medicine. 2008; 7(5–1): 231–5. (in Russian)].
4. *Олюшин В.Е. Глиальные опухоли головного мозга: краткий обзор литературы и протокол лечения больных. Нейрохирургия*. 2005; 4: 41–7. [*Olyushin V.E. Glial brain tumors: a brief review of the literature and a protocol for the treatment of patients*. Neurosurgery. 2005; 4: 41–7. (in Russian)].
5. *Guillamo J.S., Monjour A., Taillandier L., Devaux B., Varlet P., Haie-Meder C., Defer G.L., Maison P., Mazon J.J., Cornu P., Delattre J.Y.; Association des Neuro-Oncologues d'Expression Française. Brainstem gliomas in adults: prognostic factors and classification*. Brain. 2001; 124 (Pt 12): 2528–39. doi: 10.1093/brain/124.12.2528.
6. *Grimm S.A., Chamberlain M.C. Anaplastic astrocytoma*. CNS Oncol. 2016; 5(3): 145–57. doi: 10.2217/cns-2016-0002.
7. *Щербенко О.И. Диффузно растущие опухоли ствола мозга у детей и подростков: изменила ли результаты изменяющаяся тактика лечения? Вестник рентгенологии и радиологии*. 2015; (1): 43–51. [*Shcherbenko O.I. Diffusely growing brainstem tumors in children and adolescents: Has alternating treatment policy changed results? Journal of Radiology and Nuclear Medicine*. 2015; (1): 43–51. (in Russian)].
8. *Reithmeier T., Kuzeawu A., Hentschel B., Loeffler M., Trippel M., Nikkha G. Retrospective analysis of 104 histologically proven adult brainstem gliomas: clinical symptoms, therapeutic approaches and prognostic factors*. BMC Cancer. 2014; 14(1): 115. doi: 10.1186/1471-2407-14-115.
9. *Регентова О.С., Щербенко О.И. Современное состояние проблемы диагностики и лечения диффузно растущих глиом ствола мозга у детей и подростков. Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России*. 2019; 1: 95–130. [*Regentova O.S., Shcherbenko O.I. The current state of the problem of diagnosing and treating diffusely growing gliomas of the brainstem in children and adolescents*. Bulletin of the Russian Scientific Center for Roentgen Radiology of the Ministry of Health of Russia. 2019; 1: 95–130. (in Russian)].
10. *Grosshans D.R., Mohan R., Gondi V., Shih H.A., Mahajan A., Brown P.D. The role of image-guided intensity modulated proton therapy in glioma*. Neuro Oncol. 2017; 19. doi: 10.1093/neuonc/nox002.
11. *Каприн А.Д., Мардынский Ю.С., Смирнов В.П., Иванов С.А., Костин А.А., Полихов С.А., Решетов И.В., Фатьянова А.С., Денисенко М.В., Эпатова Т.В., Корнев С.В., Терещенко А.В., Филоненко Е.В., Гафаров М.М., Романко Ю.С. К истории развития лучевой терапии (часть I). Biomedical Photonics*. 2019; 8(1): 52–62. [*Kaprin A.D., Mardynsky Yu.S., Smirnov V.P., Ivanov S.A., Kostin A.A., Polikhov S.A., Reshetov I.V., Fatianova A.S., Denisenko M.V., Epatova T.V., Korenev S.V., Tereshchenko A.V., Filonenko E.V., Gafarov M.M., Romanko Yu.S. The history of radiation therapy (part I)*. Biomedical Photonics. 2019; 8(1): 52–62. (in Russian)].

Поступила/Received 21.12.2020

Принята в печать/Accepted 25.01.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Киреева Татьяна Александровна, врач-радиолог отделения радиотерапии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). E-mail: minchenkova_taty@mail.ru. SPIN-код: 8416-5824. ORCID: 0000-0003-2361-1915.

Гуменецкая Юлия Васильевна, доктор медицинских наук, заведующая отделением радиотерапии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 2022-7351. ORCID: 0000-0002-8163-8406.

Гоголин Данил Вячеславович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения протонной и фотонной терапии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 7491-3379. ORCID: 0000-0001-5572-993X.

Гордон Константин Борисович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения протонной и фотонной терапии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 2045-4565. ORCID: 0000-0002-3146-5615.

Гулидов Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом лучевой терапии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 2492-5581. ORCID: 0000-0002-2759-297X.

Лепилина Ольга Геннадьевна, научный сотрудник отделения клинической дозиметрии и топометрии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 9528-6002. ORCID: 0000-0002-1868-6894.

ВКЛАД АВТОРОВ

Киреева Татьяна Александровна: проведение всех этапов лечения пациента, написание текста статьи.

Гуменецкая Юлия Васильевна: дизайн и концепция исследования с внесением ценного интеллектуального содержания.

Гоголин Данил Вячеславович: проведение всех этапов лечения пациента, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Гордон Константин Борисович: проведение всех этапов лечения пациента, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Гулидов Игорь Александрович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, рецензирование.

Лепилина Ольга Геннадьевна: проведение дозиметрического планирования курса протонной терапии с внесением ценного интеллектуального содержания в текст статьи.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания на 2018–2020 гг. НИР: «Изменение парадигмы лучевой терапии злокачественных новообразований, индивидуализации подходов (лечения) на основе новых знаний клинической радиобиологии с учетом возможностей протонной терапии».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Tatiana A. Kireeva, Radiologist, Radiotherapy Department, F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). E-mail: minchenkova_taty@mail.ru. SPIN-code: 8416-5824. ORCID: 0000-0003-2361-1915.

Yuliya V. Gumenetskaya, MD, Head of Radiotherapy Department, F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). SPIN-code: 2022-7351. ORCID: 0000-0002-8163-8406.

Danil V. Gogolin, PhD, Senior Researcher, Department of Proton and Photon Therapy, F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). SPIN-code: 7491-3379. ORCID: 0000-0001-5572-993X.

Konstantin B. Gordon, PhD, Senior Researcher, Department of Proton and Photon Therapy, F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). SPIN-code: 2045-4565. ORCID: 0000-0002-3146-5615.

Igor A. Gulidov, MD, Professor, Head of Department of Proton and Photon Therapy, F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). SPIN-code: 2492-5581. ORCID: 0000-0002-2759-297X.

Olga G. Lepilina, Researcher, Department of Clinical Dosimetry and Topometry, F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). SPIN-code: 9528-6002. ORCID: 0000-0002-1868-6894.

Funding

The study was carried out in the framework of the State Program for 2018–2020. «Changes in the paradigm of radiation therapy for cancer and personalized therapy based on new knowledge of clinical radiobiology, considering proton therapy technology».

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Камалов А.К., Рябов А.Б., Хомяков В.М., Волченко Н.Н., Колобаев И.В., Кострыгин А.К., Аксенов С.А. Способ лапароскопической трансгастральной резекции при мезенхимальных опухолях желудка. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(1): 151–156. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-151-156

For citation: Kamalov A.K., Ryabov A.B., Khomyakov V.M., Volchenko N.N., Kolobaev I.V., Kostrygin A.K., Aksenov S.A. Method for laparoscopic transgastral resection for mesenchymal gastric tumors. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(1): 151–156. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-151-156

СПОСОБ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ ТРАНСГАСТРАЛЬНОЙ РЕЗЕКЦИИ ПРИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ ЖЕЛУДКА

А.К. Камалов¹, А.Б. Рябов^{1,2}, В.М. Хомяков¹, Н.Н. Волченко¹,
И.В. Колобаев³, А.К. Кострыгин¹, С.А. Аксенов¹

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия¹

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3. E-mail: kak6768@mail.ru¹

ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия²

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3²

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия³
Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королёва, 4³

Аннотация

Цель исследования – оценить эффективность и безопасность лапароскопической трансгастральной резекции желудка при мезенхимальных опухолях. **Материал и методы.** Проведено ретроспективно-проспективное исследование, на клиническом примере подробно описана методика, хирургические аспекты выполнения данной операции, история развития метода. Всего выполнено 11 аналогичных операций. Описано течение послеоперационного периода, особенности ведения пациентов в послеоперационном периоде. Представлены непосредственные и отдаленные результаты хирургического лечения, качества жизни пациентов. **Результаты исследования.** При оценке качества жизни пациентов после операции не отмечено случаев гастроэзофагеальной рефлюксной болезни по сравнению с проксимальной субтотальной резекцией желудка или эндоскопической туннельной резекцией. Во всех случаях операция выполнена в радикальном объеме, не наблюдалось случаев конверсии операционного доступа, а также серьезных послеоперационных осложнений (Clavien–Dindo>III). При анализе отдаленных результатов не было случаев рецидива или прогрессирования заболевания. В настоящее время все пациенты живы, находятся под наблюдением. **Заключение.** Данная методика полностью оправдана при тщательном отборе пациентов и соблюдении правил онкохирургии. Трансгастральная резекция мезенхимальных опухолей желудка, расположенных в области кардиоэзофагеального перехода, является безопасной методикой, проводится под четким визуальным контролем, не требуется ЭГДС для обнаружения опухоли, позволяет снизить частоту контаминации желудочной флоры в брюшную полость и уменьшить раневую площадь передней стенки желудка.

Ключевые слова: лапароскопическая трансгастральная резекция, мезенхимальные опухоли желудка,

METHOD FOR LAPAROSCOPIC TRANSGASTRAL RESECTION FOR MESENCHIMAL GASTRIC TUMORS

A.K. Kamalov¹, A.B. Ryabov^{1,2}, V.M. Khomyakov¹, N.N. Volchenko¹,
I.V. Kolobaev³, A.K. Kostrygin¹, S.A. Aksenov¹

P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – branch of National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia¹

3, 2-nd Botkinsky proezd, 125284, Moscow, Russia. E-mail: kak6768@mail.ru ³

National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia²
3, 2-nd Botkinsky proezd, 125284, Moscow, Russia²

A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center – branch of National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia, Obninsk, Russia
4, Korolyeva str., 249036, Obninsk, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to evaluate the efficacy and safety of laparoscopic transgastric resection for mesenchymal tumors of the proximal stomach. **Material and Methods.** A retrospective-prospective study was carried out. Surgical techniques of laparoscopic transgastric resection and the history of the development of this surgical method were described in detail. A total of 11 laparoscopic transgastric resections were performed. The course of the postoperative period and the postoperative management of patients were described. The immediate and long-term results of surgical treatment and the quality of life of patients were presented. **Results.** The assessment of the quality of life of patients after surgery showed that there were no cases of gastroesophageal reflux disease compared to proximal subtotal resection of the stomach or endoscopic tunnel resection. All patients underwent radical resection. In our study, we did not encounter cases of conversion of the surgical approach, as well as serious postoperative complications (Clavien–Dindo>III). The analysis of long-term treatment outcomes showed that there were no cases of recurrence or disease progression. All patients are alive and followed up. **Conclusion.** This technique is fully justified, with careful selection of patients and compliance with all the rules of surgical oncology. Transgastric resection of gastric mesenchymal tumors located in the region of the cardioesophageal junction is a justified and safe technique. Surgery is performed under clear visual control, EGDS is not required to detect the tumor. This method allows the reduction of the frequency of contamination of the gastric flora into the abdominal cavity as well as the reduction of the wound area of the anterior abdominal wall.

Key words: laparoscopic transgastral resection, mesenchimal gastric tumors.

Введение

Мезенхимальные опухоли – разнородная по морфологическому строению группа, включающая доброкачественные (лейомиома, липома, солитарная фиброзная опухоль), пограничные (гастроинтестинальная стромальная опухоль (ГИСО), шваннома), злокачественные (лейомиосаркома, липосаркома) новообразования. В структуре онкологической заболеваемости мезенхимальные опухоли составляют до 2 % от всех новообразований желудка [1–4]. Хирургическое вмешательство является основным методом лечения при мезенхимальных опухолях желудка, дискуссионным остается вопрос выбора объема и доступа при выполнении операций [4–7].

Цель исследования – оценить эффективность и безопасность лапароскопической транснальной резекции желудка при мезенхимальных опухолях.

Описание клинического случая

Пациентка, 68 лет, с диагнозом: ГИСО кардиоэзофагеального перехода (КЭП) cT2N0M0 I ст. При

диспансеризации по месту жительства, в ноябре 2019 г. по данным ЭГДС выявлено подслизистое новообразование желудка. Для дообследования и лечения пациентка направлена в МНИОИ им. П.А. Герцена. При комплексном обследовании, включающем эндосонографию, в области кардиоэзофагеального перехода (КЭП) по задней стенке выявлено подслизистое образование до 3 см в диаметре, покрытое неизменной слизистой оболочкой, с преимущественно интрамуральной формой роста, исходящее из мышечной оболочки желудка (рис. 1). Учитывая размеры опухоли и эндосонографическую картину, соответствующую ГИСО, морфологическая верификация не выполнялась.

Транснальная резекция желудка выполнялась под мультимодальной анестезией. Положение пациентки на операционном столе – лежа на спине с разведенными ногами. На первом этапе в параумбиликальной области снизу установлен 10-мм порт. Выполнена тщательная видеоревизия брюшной полости для исключения перитонеальной диссеминации, метастатического поражения печени, забрюшинных лимфатических узлов. Сле-

дующим этапом в левом подреберье установлен 12-мм порт. После перемещения больной в положение Тренделенбурга в правой подвздошной области установлен троакар для лапароскопического зажима Сатинского. Выполнено смещение большого сальника и поперечно-ободочной кишки в сторону диафрагмы. После визуализации связки Трейца на расстоянии 10 см в дистальном направлении петля тонкой кишки пережата зажимом Сатинского для предотвращения пневматизации. По латеральному краю левой прямой мышцы живота выше пупка, на расстоянии 7 см друг от друга установлены 2 5-мм порта (рис. 2). На границе средней и верхней трети желудка, ближе к большой кривизне, по передней стенке, гармоническим скальпелем на расстоянии 2 см друг от друга выполнены отверстия около 1 см в диаметре, для установки дополнительных портов в желудок (рис. 3). Сформированные отверстия обшиты непрерывным швом. В просвет желудка через технологические отверстия установлены 3 порта: 2 5-мм и один 12-мм, после чего нить затянута и выведена на переднюю брюшную стенку. Через один из установленных портов в просвете желудка создано давление углекислого газа до 12 мм рт. ст. (рис. 4).

В установленный 12-мм порт, в просвет желудка была заведена оптика и осуществлена тщательная ревизия полости желудка. При видеоревизии полости желудка – в области КЭП по задней полуокружности выявлено округлое подслизистое образование, до 3 см в диаметре, легко смещаемое при инструментальной пальпации, покрытое неизменной слизистой оболочкой, с преимущественной интрамуральной формой роста. С помощью гармонического скальпеля надсечена слизистая оболочка желудка у основания опухоли, затем поэтапно мобилизована опухоль по периметру в пределах здоровых тканей, без повреждения собственной капсулы опухоли. Препарат удален единым блоком, помещен в контейнер. Образовавшийся дефект ушит непрерывным швом.

При размерах опухоли до 2 см в диаметре возможно удаление препарата через пищевод, при диаметре опухоли более 2 см контейнер извлекается через переднюю брюшную стенку. В данном случае препарат удален через мини-лапаротомный разрез. После снятия зажима Сатинского с тощей кишки в желудок установлен назогастральный зонд для декомпрессии и извлечены порты. Непрерывным двухрядным швом ушиты технологические отверстия на передней стенке желудка, установлен дренаж в брюшную полость. Выполнено послойное ушивание троакарных отверстий на передней брюшной стенке.

Ранний послеоперационный период протекал удовлетворительно. Дренажная трубка и назогастральный зонд удалены на 2-е сут после операции. С 3-х сут разрешен прием жидкости.

На 5-е сут после операции выполнена рентгеноскопия брюшной полости с пероральным приемом водорастворимого контраста – акт глотания не нарушен, зона КЭП и желудок свободно проходимы, выхода контрастного вещества за пределы полого органа не отмечено. Эвакуация из желудка своевременная. Пациентка выписана на 8-е сут после операции.

Морфологическое заключение: в мышечной оболочке стенки желудка имеется интрамуральный опухолевый узел до 4 см в диаметре, который прорастает в подслизистый слой; 2 фигуры митоза. Морфологическая картина соответствует мезенхимальной веретенноклеточной опухоли. В краях резекции опухолевого роста не выявлено. При иммуногистохимическом исследовании выявлена положительная экспрессия DOG1, CD34, слабая положительная экспрессия СД117 в части опухоли, что соответствует гастроинтестинальной стромальной опухоли.

Обсуждение

Хирургическое вмешательство является основным вариантом лечения пациентов с мезенхимальными опухолями желудка. Оптимальным объемом операции является парциальная резекция, однако при локализации опухоли в области КЭП и антральном отделе ее выполнение не представляется возможным из-за риска развития послеоперационного стеноза и технических сложностей при мобилизации [3, 6–9]. Решением данной проблемы является методика внутрижелудочной резекции, которая используется при раннем раке желудка и удалении лейомиомы [10].

N. Tagaya et al. [11] в 2001 г. сообщили о результатах выполнения 6 трансгастральных резекций при мезенхимальных опухолях желудка. В трех случаях опухоль локализовалась в области КЭП и позадной стенке желудка, в остальных наблюдениях – по малой и большой кривизне желудка. Размеры опухоли варьировали от 1,7 до 3,2 см, среднее значение – 2,4 см. При локализации опухоли по задней стенке, а также в области КЭП – проксимальная граница новообразования была расположена на расстоянии не менее 1 см от КЭП. При операции во всех случаях использовались эндоскопические сшивающие аппараты. На основании полученных результатов авторы считают, что данную методику можно применять при размерах опухоли до 4 см и экзофитной форме роста. Одним из дискуссионных и нерешенных вопросов является методика извлечения опухоли из желудка. Так, V.K. Li et al. [12] в работе, посвященной особенностям трансгастральной резекции желудка, сделали вывод, что операция должна выполняться под эндоскопическим контролем, а опухоль извлекаться через просвет пищевода, что снижает риск опухолевой диссеминации и контаминации желудочной флоры по брюшной полости.

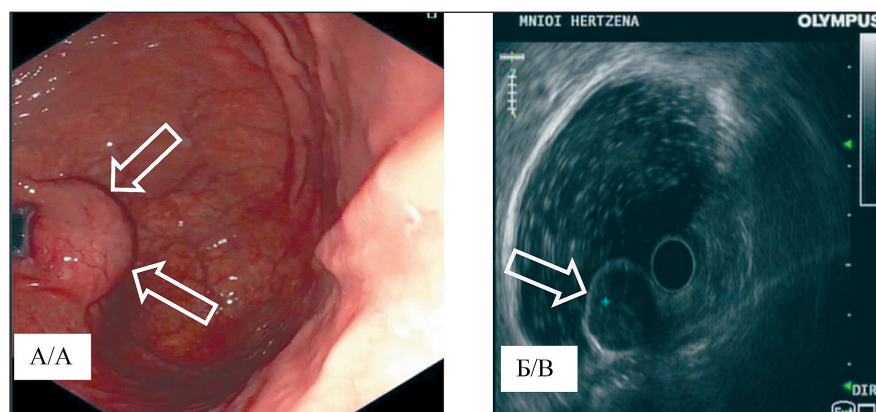


Рис. 1. А – опухоль КЭП, покрытая неизмененной слизистой оболочкой; Б – эндосонографическое изображение опухоли

Fig.1. A – CET tumor covered with unchanged mucous membrane; B – endosonographic representation of the tumor

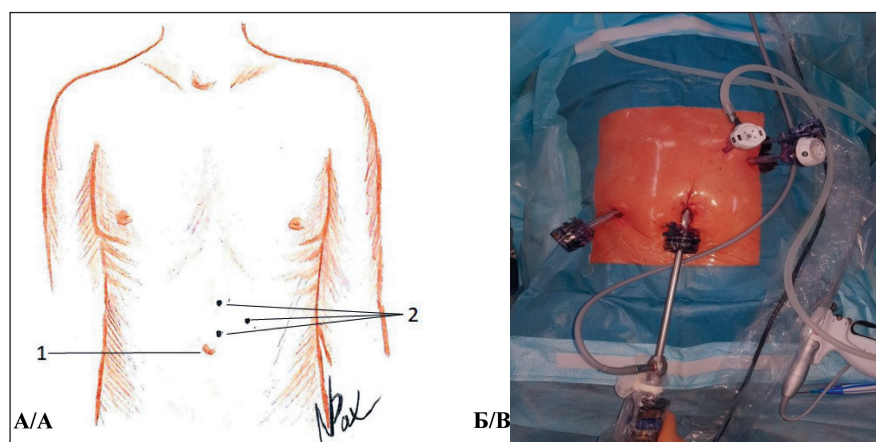


Рис. 2. А – схема установки троакаров (1 – пупок, 2 – точки для установки троакаров); Б – передняя брюшная стенка после установки троакаров

Fig. 2. A – Schematic representation of the trocars insertion (1 – navel, 2 – trocar placement points); B – anterior abdominal wall after the installation of the ports

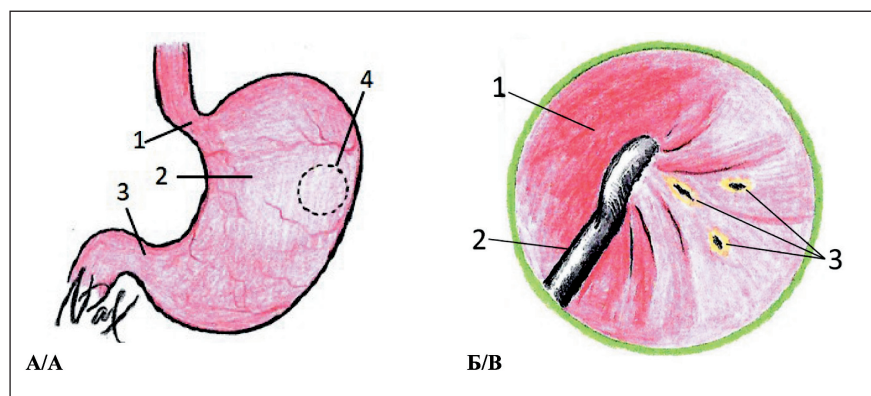


Рис. 3. А – схематичное изображение желудка (1 – КЭП; 2 – передняя стенка желудка; 3 – антральный отдел желудка; 4 – область для установки троакаров); Б – сформированные отверстия в передней стенке желудка для установки троакаров (1 – передняя стенка желудка; 2 – эндоскопический зажим; 3 – сформированные отверстия для установки троакаров)

Fig. 3. A – schematic representation of the stomach (1 – CET; 2 – anterior stomach wall; 3 – antrum of the stomach; 4 – trocar placement area); B – formed holes in the anterior wall of the stomach for the installation of ports (1 – anterior stomach wall; 2 – endoscopic clamp; 3 – holes for insertion of trocars)

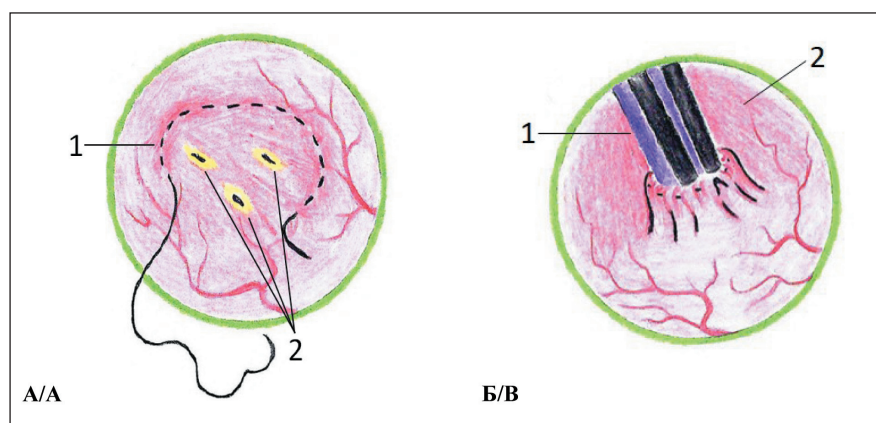


Рис. 4. А – шитье технологических отверстий непрерывным швом (1 – кисетный шов; 2 – технологические отверстия); Б – окончательный вид передней стенки желудка после установки троакаров (1 – установленные троакары в просвет желудка; 2 – передняя стенка желудка)

Fig. 4. A – stitching of the formed technological holes (1 – purse-string suture; 2 – technological holes); B – the final view of the stomach anterior wall after the trocars insertion (1 – inserted trocars into the stomach lumen; 2 – anterior stomach wall)

Таким образом, трансгастральная резекция при расположении опухоли в области КЭП, задней стенки и антрального отдела желудка является оправданной методикой, улучшающей непосредственные и отдалённые результаты хирургического лечения пациентов с мезенхимальными опухолями

желудка [6, 13]. Операция проводится под четким визуальным контролем и не требует интраоперационной ЭГДС для обнаружения опухоли. Данный способ позволяет снизить частоту контаминации желудочной флоры в брюшную полость и уменьшить раневую площадь стенки желудка.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Yacob M., Inian S., Sudhakar C.B.* Gastrointestinal Stromal Tumors: Review of 150 Cases from a Single Centre. *Indian J Surg.* 2015; 77(2): 505–10. doi: 10.1007/s12262-013-0899-z.
2. *Fletcher C.D., Berman J.J., Corless C., Gorstein F., Lasota J., Longley B.J., Miettinen M., O'Leary T.J., Remotti H., Rubin B.P., Shmookler B., Sobin L.H., Weiss S.W.* Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Int J Surg Pathol.* 2002; 10(2): 81–9. doi: 10.1177/106689690201000201.
3. *Chen K., Pan Yu., Zhai S., Pan J., Yu W., Chen D., Yan J., Wang X.* Short-term outcomes of laparoscopic local resection for gastric submucosal tumors: a single-center experience of 266 patients. *BMC Surg.* 2017. 17(1): 33.
4. *Kermansaravi M., Rokhgireh S., Darabi S., Pazouki A.* Laparoscopic total gastrectomy for a giant gastrointestinal stromal tumor (GIST) with acute massive gastrointestinal bleeding: a case report. *Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne.* 2017; 12(3): 306–10. doi: 10.5114/wiitm.2017.67997.
5. *Varga Z., Sarkany P., Toth D.* Vissza a jövöbe: gastro-oesophagealis junctio subepithelialis tumorának laparoszkopos transgastricus resectioja. *Magy Seb.* 2021; 74(2): 43–8.
6. *Mazer L., Worth P., Visser B.* Minimally invasive options for gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *Surg Endosc.* 2021; 35(3): 1324–30.
7. *Siow S.L., Mahendran H.A., Wong C.M.* Laparoscopic transgastric resection for intraluminal gastric gastrointestinal stromal tumors located at the posterior wall and near the gastroesophageal junction. *Asian J Surg.* 2017; 40(5): 407–14.
8. *Xu X., Chen K., Zhou W., Zhang R., Wang J., Wu D., Mou Y.* Laparoscopic transgastric resection of gastric submucosal tumors located near the esophagogastric junction. *J Gastrointest Surg.* 2013; 17(9): 1570–5. doi: 10.1007/s11605-013-2241-2.
9. *Aggarwal P., Laeeq K., Osmolak A., Lee T.H., Mittal S.K.* Transgastric endo-organ resection of a proximal gastric lesion. *Surg Endosc.* 2016; 30(5): 2136. doi: 10.1007/s00464-015-4413-5.
10. *Ohashi S.* Laparoscopic intraluminal (intragastric) surgery for early gastric cancer. A new concept in laparoscopic surgery. *Surg Endosc.* 1995; 9(2): 169–71. doi: 10.1007/BF00191960. PMID: 7597587.
11. *Tagaya N., Mikami H., Kogure H., Kubota K., Hosoya Y., Nagai H.* Laparoscopic intragastric stapled resection of gastric submucosal tumors located near the esophagogastric junction. *Surg Endosc.* 2002; 16(1): 177–9. doi: 10.1007/s004640080158.
12. *Li V.K., Hung W.K., Chung C.K., Ying M.W., Lam B.Y., Kan D.M., Chan M.C.* Laparoscopic intragastric approach for stromal tumours located at the posterior gastric wall. *Asian J Surg.* 2008; 31(1): 6–10. doi: 10.1016/S1015-9584(08)60047-0.
13. *Ye X., Yu J., Kang W., Ma Z., Xue Z.* Short- and Long-Term Outcomes of Endoscope-Assisted Laparoscopic Wedge Resection for Gastric Submucosal Tumors Adjacent to Esophagogastric Junction. *J Gastrointest Surg.* 2018; 22(3): 402–13. doi: 10.1007/s11605-017-3628-2.

Поступила/Received 29.07.2021
Принята в печать/Accepted 06.10.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Камалов Азиз Кураглиевич, аспирант, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1671-1600. ORCID: 0000-0001-7376-6056.

Рябов Андрей Борисович, доктор медицинских наук, заместитель генерального директора по хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; руководитель отдела торакоабдоминальной онкохирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9810-5315. Author ID (Scopus): 56879929500. Researcher ID (WOS): E-8515-2018.

Хомяков Владимир Михайлович, кандидат медицинских наук, заведующий торакоабдоминальным хирургическим отделением отдела торакоабдоминальной онкохирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4081-7701, Author ID (Scopus): 56740937000. Researcher ID (WOS): W-4911-2019.

Волченко Надежда Николаевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом онкоморфологии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-4873-4455.

Колобаев Илья Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением лучевого и хирургического лечения заболеваний торакальной области, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 1382-5529. ORCID: 0000-0002-3573-6996.

Кострыгин Александр Константинович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник, торакоабдоминальное хирургическое отделение, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3112-0170. ORCID: 0000-0003-1840-8111.

Аксенов Сергей Александрович, врач-онколог, торакоабдоминальное хирургическое отделение, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8999-2534. Researcher ID (WOS): W-4897-2019. ORCID: 0000-0002-9050-9497.

ВКЛАД АВТОРОВ

Камалов Азиз Кураглиевич: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, редактирование.

Рябов Андрей Борисович: концепция и дизайн исследования, редактирование.

Хомяков Владимир Михайлович: концепция и дизайн исследования, редактирование.

Волченко Надежда Николаевна: концепция и дизайн исследования.

Колобаев Илья Владимирович: концепция и дизайн исследования.

Кострыгин Александр Константинович: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала.

Аксенов Сергей Александрович: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Aziz K. Kamalov, MD, Postgraduate, P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – branch of National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 1671-1600. ORCID: 0000-0001-7376-6056.

Andrey B. Ryabov, MD, DSc, General Director of Surgery, National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia; Head of Thoracic and Abdominal Surgery Department, P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – branch of National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 9810-5315. Author ID (Scopus): 56879929500. Researcher ID (WOS): E-8515-2018.

Vladimir M. Khomyakov, MD, PhD, Head of Thoracic and Abdominal Surgery Department, P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – branch of National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 4081-7701, Author ID (Scopus): 56740937000. Researcher ID (WOS): W-4911-2019.

Nadezhda N. Volchenko, MD, DSc, Head of Tumor Morphology Department, P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – branch of National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-4873-4455.

Ilya V. Kolobaev, MD, PhD, Head of the Department of Radiation and Surgical Treatment of Thoracic Diseases, A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center – branch of National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia (Obninsk, Russia). SPIN-code: 1382-5529. ORCID: 0000-0002-3573-6996.

Alexandr K. Kostrygin, MD, PhD, Researcher, Thoracic and Abdominal Surgery Department, P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – branch of National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 3112-0170. ORCID: 0000-0003-1840-8111.

Sergey A. Aksenov, MD, Oncologist, Thoracic and Abdominal Surgery Department, P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – branch of National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). SPIN-code: 8999-2534. Researcher ID (WOS): W-4897-2019. ORCID: 0000-0002-9050-9497.

AUTHOR CONTRIBUTION

Aziz K. Kamalov: study conception and design, data collection, writing of the manuscript, editing of the manuscript.

Andrey B. Ryabov: study conception and design, editing of the manuscript.

Vladimir M. Khomyakov: study conception and design, editing of the manuscript.

Nadezhda N. Volchenko: study conception and design.

Ilya V. Kolobaev: study conception and design.

Alexandr K. Kostrygin: study conception and design, data collection and analysis.

Sergey A. Aksenov: study conception and design, data collection and analysis.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

АКАДЕМИК БОРИС ИВАНОВИЧ ДОЛГУШИН (К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)



Борис Иванович Долгушин родился в Тамбове, в семье врачей. Отец и мать Бориса Ивановича – медики в первом поколении, ставшие основателями самой многочисленной на Тамбовщине врачебной династии, включающей 13 врачей, в том числе трех заслуженных врачей Российской Федерации и двух профессоров. Общий трудовой стаж династии врачей Долгушиных насчитывает более 300 лет.

После окончания в 1975 г. лечебного факультета 2-го Московского ордена Ленина государственного медицинского института им. Н.И. Пирогова Борис Иванович Долгушин обучался в клинической ординатуре, а затем в аспирантуре Онкологического научного центра Академии медицинских наук СССР по специальности «онкология–рентгенология». В 1980 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по теме «Ангиографическая диагностика вторичных опухолей в печени», после чего работал в разных научных должностях в рентгенодиагностическом отделении центра. В 1989 г. Б.И. Долгушин защитил докторскую диссертацию «Абдоминальная ангиография в комплексной диагностике опухолей у детей». Вся последующая трудовая деятельность Б.И. Долгушина неразрывно связана с Российским онкологическим научным центром им. Н.Н. Блохина, где он прошел путь от первых шагов в профессии – до вершин профессионального мастерства, от начинающего врача – до общепризнанного лидера в вопросах организации и клинического применения методов лучевой диагностики и интервенционно-радиологических методов лечения, от младшего научного сотрудника – до руководителя крупнейшего специализированного

многопрофильного института, в котором представлены все современные направления лучевой диагностики, радиологии, радиотерапии и интервенционной радиологии. Благодаря организаторским способностям, профессиональному таланту и новаторскому подходу к решению возложенных задач Борис Иванович Долгушин успешно осуществил реорганизацию всех структурных подразделений радиологической службы онкоцентра, объединив их в единую службу, осуществив ее техническое и технологическое перевооружение, подготовив специалистов-практиков и научных работников высокой квалификации, способных с высоким качеством решать самые сложные задачи диагностики и лучевого лечения в онкологии, развивать медицинскую науку в соответствии с требованиями времени. В 1998 г., первым в стране, он полностью перевел отдел лучевой диагностики на беспленочную цифровую технологию, первым в онкологической практике создал специализированное 12-коечное отделение рентгенохирургических методов диагностики и лечения и первое в стране рентгенэндоскопическое отделение, первым начал создавать рабочие места диагностов-онкологов, одинаково профессионально использующих разные лучевые технологии объединенные по органному и системному принципу, инициировал и принял активное участие в создании в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАН Центра позитронной эмиссионной томографии.

В настоящее время под руководством Бориса Ивановича трудятся более 300 сотрудников, из них 20 профессоров и докторов наук, более 40 кандидатов наук, половина коллектива – специалисты с высшим медицинским и техническим

образованием. В течение дня в НИИКиЭР проходят обследование и лечение более 900 онкологических пациентов, которым проводится около 1,5 тысяч диагностических исследований и около 300 лечебных радиологических вмешательств.

Борис Иванович Долгушин – профессор кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и медицинской физики ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования», в создании этой кафедры он принимал активное участие. Академик Б.И. Долгушин ведет активную преподавательскую и научную работу, под его руководством защищены 7 докторских и 29 кандидатских диссертаций, многие из его учеников выросли до уровня руководителей профильных служб в ряде специализированных медицинских центров России и СНГ. Б.И. Долгушин автор более 360 научных работ, 11 монографий, еще 6 написанных под его редакцией, авторских свидетельств и патентов, учебных фильмов. Он разработал и внедрил широкий спектр новаторских, не требующих наркоза, интервенционных радиологических методик лечения онкологических больных с заболеваниями печени и желчных протоков, почек и мочеточников, дыхательной, костной и пищеварительной систем, щадящие технологии лечения послеоперационных осложнений при торакоабдоминальных операциях, значительно снизивших послеоперационную летальность.

Достижения Б.И. Долгушина в научно-практической и организационной деятельности не остались незамеченными профессиональным сообществом: Борис Иванович – председатель ученого совета

НИИКиЭР, член совета НИИ клинической онкологии, объединенного ученого совета НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава РФ, член редколлегий нескольких профессиональных журналов, главный редактор «Онкологического журнала: лучевая диагностика, лучевая терапия», председатель проблемной комиссии «Диагностическая и лечебная интервенционная радиология» Научного совета РАН и МЗ России, член Российского, Европейского и Североамериканского обществ рентгенологов, президент национального общества интервенционных онкорadiологов. Вот уже 5 лет проводится научно-образовательный конгресс с иностранным участием «Онкорadiологический конгресс: лучевая диагностика, лучевая терапия», с иностранным участием, бессменным председателем организационного совета которого является Борис Иванович Долгушин.

Важными вехами в жизни Бориса Ивановича Долгушина стали присвоение звания профессор по специальности «онкология» (1997), избрание его членом-корреспондентом РАМН по специальности «лучевая диагностика» (2007) и академиком РАН по специальности «онкорadiология» (2016).

Государство и профессиональное сообщество высоко оценило заслуги Бориса Ивановича Долгушина перед отечественным здравоохранением и медицинской наукой: он награжден медалью «В память 850-летия Москвы» (1997), медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени (2002), он лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники (2002), лауреат премии РАН им. Н.Н. Петрова за лучшую научную работу по онкологии (2009), награжден орденом Дружбы (2021).

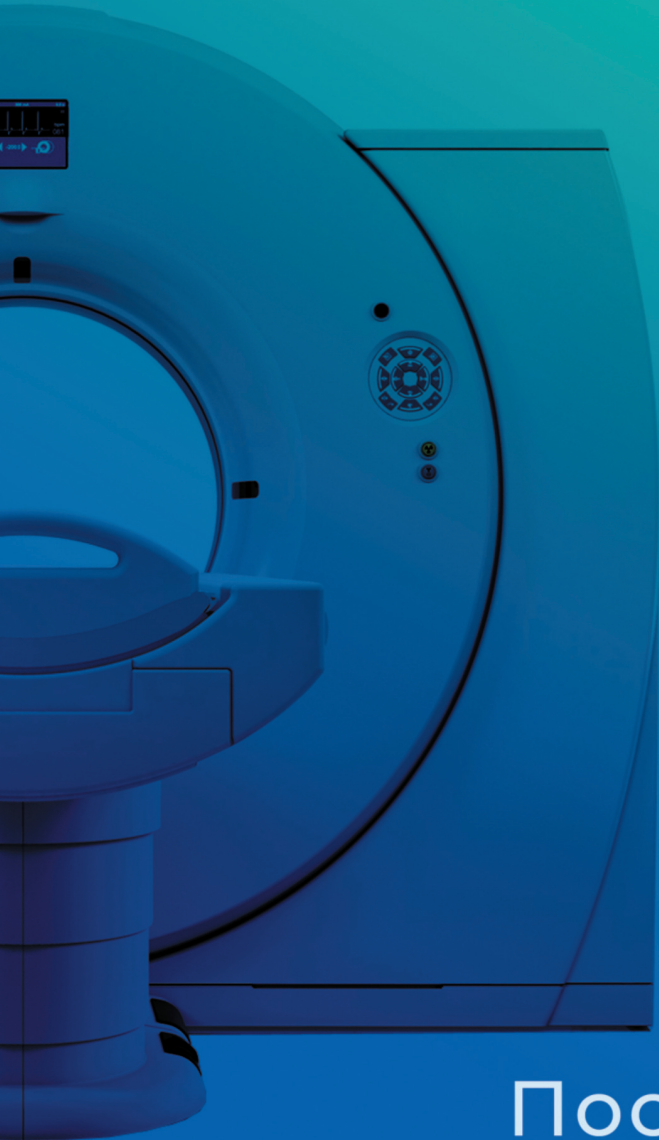
*Друзья, коллеги, ученики,
редакция «Сибирского онкологического журнала»,
коллектив НИИ онкологии Томского НИМЦ
от всей души поздравляют Бориса Ивановича Долгушина с юбилеем и
желают ему крепкого здоровья, благополучия, неиссякаемой энергии и
успешной реализации всех творческих планов.*

**2 февраля 2022 г. в Кремле
президент РФ Владимир Владимирович Путин
вручил генеральному директору
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России,
академику РАН Андрею Дмитриевичу Каприну орден Пирогова**



Академик РАН Андрей Дмитриевич Каприн награжден орденом Пирогова, учрежденного в честь одного из великих ученых, практиков и организаторов российской медицины. Девиз ордена – «Милосердие, долг, самоотверженность». Вручая высокую награду, президент РФ В.В. Путин высоко оценил заслуги академика Каприна, подчеркнув, что «он стал одним из инициаторов масштабной программы борьбы с онкологическими заболеваниями, которая реализуется в нашей стране».

*Поздравляем Андрея Дмитриевича с заслуженной наградой.
Желаем ему крепкого здоровья и больших успехов в благородном труде!
Редакционная коллегия «Сибирского онкологического журнала»,
коллектив НИИ онкологии Томского НИМЦ*



NEOMED

Поставка
высокотехнологич-
ного медицинского
оборудования
и расходных материалов

Г. Томск, пр. Фрунзе, д.115, оф.413
+7 (3822) 60-99-32
neomed.tomsk.ru