

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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

Том 21, № 2' 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,
AfanasievSG@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 29.04.2022 г.

Формат 60x84^{1/8}.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.

Гарнитура Times New Roman Cyr

Печ. л. 22,25; усл. печ. л. 20,72; уч.-изд. л. 21,54.

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, № 2 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. Чердынцева, 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: 29.04.2022
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, № 2 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. Cherdyntseva, 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

Важенин А.В., Новикова С.В., Тюков Ю.А., Котов А.А. Эпидемиологическая оценка злокачественных новообразований ведущих локализаций среди мужского населения муниципальных образований	5
---	---

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Николаева Е.А., Крылов А.С., Рыжков А.Д., Батыров Х.Х., Пароконная А.А., Билик М.Е., Захарова Т.В., Светлякова А.В., Пронин А.И. Диагностическая ценность методов радионуклидной визуализации сторожевого лимфатического узла при раке молочной железы	12
Коваленко Н.В., Жаворонкова В.В., Иванов А.И., Постолов М.П., Толстомятов С.Е., Джафаров Д.Д., Павловская П.М., Суворов В.А. Рак желудка у пациентов моложе и старше 50 лет: характеристики опухолевого процесса, анализ выживаемости	24
Щекутеев Н.А., Носов А.К. Ранние послеоперационные осложнения криоабляции клинически локализованного рака почки на криотерапевтической установке «МКС» с жидким азотом в качестве хладагента	38

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ракина М.А., Казакова Е.О., Сударских Т.С., Безгодова Н.В., Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Ларионова И.В. Гигантские макрофаги с пенистой цитоплазмой при прогрессирующем раке яичников (на англ.)	45
Служев М.И., Зарайский М.И., Семиглазов В.В., Семиглазова Т.Ю., Ткаченко Е.В., Кондратьев С.В., Бриш Н.А., Алексеева Ю.В., Петрик Ю.В., Сидорова А.Н. Сравнительный анализ профилей экспрессии генов опухолевого контроля и микроРНК в опухолевой и перифокальной ткани у пациентов с колоректальным раком	55
Кручинина М.В., Кручинин В.Н., Громов А.А., Шашков М.В., Соколова А.С., Яковина И.Н., Шестов А.А. Жирные кислоты мембран эритроцитов и сыворотки крови как биомаркеры для диагностики ранних стадий колоректального рака	65

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

Павлов Р.В., Тимофеева К.О., Черных М.А., Данилин В.Н. Безопасность и преимущества раннего перорального питания в рамках программы fast-track среди пациентов, перенесших гастрэктомию по поводу рака желудка	81
Саприна О.А., Бацев А.Ф., Оганян Е.Р., Пхешхова Б.Г., Михайлова А.М. Использование слизисто-мышечного лоскута на лицевой артерии в реконструктивной хирургии у пациентов со злокачественными опухолями полости рта	88

ОБЗОРЫ

Бухаров А.В., Ерин Д.А., Державин В.А., Ядрина А.В. Вопросы диагностики и лечения метастазов в позвоночник и длинные кости	96
Малкова А.М., Орлова Р.В., Жукова Н.В., Губаль А.Р., Шаройко В.В. Анализ возможных маркеров эффективного противоопухолевого клеточного иммунного ответа при назначении ингибиторов контрольных точек	109
Селедцов В.И., Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П. Иммуноterapia в комплексном лечении опухолевых заболеваний	118
Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Березина О.В., Чуркина М.И., Гуражева А.А., Максимов В.Н. Метилирование генов p53-респонзивных онкосупрессорных микроРНК при гемобластозах	130
Камаева И.А., Гончарова А.С., Лукбанова Е.А. Методы создания моделей рака мочевого пузыря и их применение в доклинических исследованиях (обзор литературы)	143

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Тонеев Е.А., Мартынов А.А., Лазаревский М.М., Пикин О.В. Редкое наблюдение первичной гепатоидной аденокарциномы легкого	150
Сергеева А.В., Васильев В.Ю., Батов С.В. Клинический случай успешного лекарственного лечения аденокарциномы пищевода IV стадии	156
Федоркевич И.В., Нестерович Т.Н., Ганусевич О.Н., Иванов С.А., Ачинович С.Л., Лось Д.М. Лечение рака кожи на фоне послеожоговых рубцов (клинический случай)	160

ЮБИЛЕИ. ХРОНИКА. ИНФОРМАЦИЯ

К 60-летию профессора В.И.Чернова	167
--	-----

CONTENTS

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Vazhenin A.V., Novikova S.V., Tyukov Yu.A., Kotov A.A. Epidemiological assessment of the most common cancers among urban and rural male populations	5
--	---

CLINICAL STUDIES

Nikolaeva E.A., Krylov A.S., Ryzhkov A.D., Batyrov H.H., Parokonnaya A.A., Bilik M.E., Zakharova T.V., Svetlyakova A.V., Pronin A.I. Diagnostic value of nuclear medicine modalities for the detection of sentinel lymph nodes in patients with breast cancer	12
Kovalenko N.V., Zhavoronkova V.V., Ivanov A.I., Postolov M.P., Tolsopyatov S.E., Dzhafarov D.D., Pavlovskaya P.M., Suvorov V.A. Gastric cancer in patients aged younger and older than 50 years: characteristics of gastric cancer and survival analysis	24
Schekuteev N.A., Nosov A.K. Early postoperative complications after liquid nitrogen – based cryoablation therapy for localized kidney cancer	38

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

Rakina M.A., Kazakova E.O., Sudarskikh T.S., Bezgodova N.V., Villert A.B., Kolomiets L.A., Larionova I.V. Giant foam-like macrophages in advanced ovarian cancer	45
Sluzhev M.I., Zarskiy M.I., Semiglazov V.V., Semiglazova T.Yu., Tkachenko E.V., Kondratev S.V., Brish N.A., Alekseeva Yu.V., Petrik Iu.V., Sidorova A.N. Comparative analysis of tumor control gene and microRNA expression profiles in tumor and adjacent tissues in patients with colorectal cancer	55
Kruchinina M.V., Kruchinin V.N., Gromov A.A., Shashkov M.V., Sokolova A.S., Yakovina I.N., Shestov A.A. Fatty acids of erythrocyte membranes and blood serum as biomarkers for early detection of colorectal cancer	65

PRACTICE OF ONCOLOGY

Pavlov R.V., Timofeeva K.O., Chernykh M.A., Danilin V.N. Safety and benefits of early oral nutrition as part of the fast-track program among patients who have undergone gastrectomy for stomach cancer	81
Saprina O.A., Batsev A.F., Oganyan E.R., Pkheshkhova B.G., Mihailova A.M. The use of the facial artery musculomucosal flap for reconstruction of oral cavity defects after cancer resection	88

REVIEWS

Bukharov A.V., Erin D.A., Derzhavin V.A., Yadrina A.V. Issues of diagnosis and treatment of metastases in the spine and long bones	96
Malkova A.M., Orlova R.V., Zhukova N.V., Gubal A.R., Sharoiko V.V. Analysis of possible markers of effective antitumor cellular immune response before starting therapy with immune check-point inhibitors	109
Seledtsov V.I., Seledtsova G.V., Dorzhieva A.B., Ivanova I.P. Immunotherapy in the complex treatment of tumor diseases	118
Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Berezina O.V., Churkina M.I., Gurazheva A.A., Maksimov V.N. Methylation of p53-responsive oncosuppressive microRNA genes in hemoblastosis	130
Kamaeva I.A., Goncharova A.S., Lukbanova E.A. Methods of creation of bladder cancer models and their application in preclinical studies (Literature review)	143

CASE REPORTS

Toneev E.A., Martynov A.A., Lazarevskiy M.M., Pikin O.V. Rare case of primary hepatoid adenocarcinoma of the lung	150
Sergeeva A.V., Vasiliev V.Yu., Batov S.V. Clinical case of a successful treatment of stage iv esophageal adenocarcinoma	156
Fedorkevich I.V., Nesterovich T.N., Ganusevich O.N., Ivanov S.A., Achinovich S.I., Los D.M. Treatment of skin cancer arising within a burn scar (Case report)	160

ANNIVERSANES. CHRONICLE. INFORMATION

Professor V.I. Chernov – 60 year	167
--	-----

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-5-11
УДК: 616.24+616.65]-006.04-036.22-055.1

Для цитирования: *Важенин А.В., Новикова С.В., Тюков Ю.А., Котов А.А.* Эпидемиологическая оценка злокачественных новообразований ведущих локализаций среди мужского населения муниципальных образований. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 5–11. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-5-11

For citation: *Vazhenin A.V., Novikova S.V., Tyukov Yu.A., Kotov A.A.* Epidemiological assessment of the most common cancers among urban and rural male populations. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 5–11. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-5-11

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ВЕДУЩИХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ СРЕДИ МУЖСКОГО НАСЕЛЕНИЯ МУНИЦИПАЛЬНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ

А.В. Важенин¹, С.В. Новикова², Ю.А. Тюков¹, А.А. Котов¹

ФГБУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Челябинск, Россия¹

Россия, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64¹

Медицинский центр «НовоМед», г. Магнитогорск, Россия²

Россия, 455049, г. Магнитогорск, ул. Труда, 36. E-mail: novikova.sv@novomed-mc.ru²

Аннотация

По данным ВОЗ, у мужчин 1-е место среди злокачественных новообразований (ЗНО) принадлежит раку легкого (РЛ) – около 13,0 %. На 2-м месте в общей структуре ЗНО с долей в 11,0 % находится рак предстательной железы (РПЖ). В Челябинской области с 2019 г. на 1-е место вышел РПЖ с долей 18,3 % в общей структуре, а РЛ переместился на 2-е место с показателем в 16,8 %. **Цель исследования** – оценить онкологическую эпидемиологическую ситуацию по ЗНО ведущих локализаций (РЛ и РПЖ) у мужского населения сельских муниципальных районов в субъекте Российской Федерации. **Материал и методы.** Из Популяционного ракового регистра Челябинской области за 2010–19 гг. была извлечена генеральная совокупность мужчин с диагнозом рака легкого и рака предстательной железы (всего 1020 единиц наблюдения) по 5 сельским муниципальным районам Челябинской области, территориально входящим в Магнитогорский онкологический кластер. **Результаты.** Средний уровень выявления РЛ за десятилетний период составляет $103,59 \pm 3,28$; РПЖ – $50,75 \pm 4,86$ случая на 100 тыс. мужчин в сельских муниципальных районах. Средний уровень запущенности по РЛ – $69,68 \pm 3,09$ %, по РПЖ – $63,51 \pm 3,79$ %. Средняя летальность до года с момента установления диагноза рака легкого и предстательной железы – $59,33 \pm 2,14$ % и $21,11 \pm 2,89$ % соответственно. Средняя смертность от РЛ $85,44 \pm 5,1$ случая, от РПЖ $23,04 \pm 1,26$ случая на 100 тыс. мужчин. **Обсуждение.** Показатели одногодичной летальности от РЛ и РПЖ, а также смертность от РЛ у мужчин в сельских муниципальных районах выше, чем в городских округах, и имеют негативную динамику роста. **Заключение.** Для решения проблем первого уровня оказания медицинской помощи – обеспечения доступности по профилю «онкология» сельскому населению области – привлечены частные медицинские онкологические клиники на условиях государственно-частного партнерства.

Ключевые слова: рак легкого, рак простаты мужчины, сельские муниципальные районы.

EPIDEMIOLOGICAL ASSESSMENT OF THE MOST COMMON CANCERS AMONG URBAN AND RURAL MALE POPULATIONS

A.V. Vazhenin¹, S.V. Novikova², Yu.A. Tyukov¹, A.A. Kotov¹

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia¹

64, Vorovskogo St., 454092, Chelyabinsk, Russia¹

Medical Center «NovoMed», Magnitogorsk, Russia²

36, Truda St., 455049, Magnitogorsk, Russia. E-mail: novikova.sv@novomed-mc.ru²

Abstract

According to the WHO data, lung cancer (LC) is the most common cancer (nearly 13,0 %) and prostate cancer (PC) is the second most common cancer (11,0 %) in men worldwide. In the Chelyabinsk region, PC has been the most common cancer since 2019, accounting for 18,3 % of all cancer cases in males, and LC has become the second most common cancer, accounting for 6,8 %. **The purpose of the study** was to evaluate the epidemiological situation in terms of the most common cancers (LC and PC) in a male population of rural municipal areas in the constituent entity of the Russian Federation. **Material and Methods.** The incidence and mortality of lung and prostate cancers were analyzed in 1020 males from five rural municipal districts of the Chelyabinsk Region, territorially included in the Magnitogorsk Oncological Cluster. Data were obtained from the Population Cancer Registry of the Chelyabinsk Region for 2010–2019. **Results.** Over a ten-year period, the average detection rates for LC and PC were 103.59 ± 3.28 and 50.75 ± 4.86 , respectively per 100,000 men in rural municipal areas. The average 1-year mortality rates from LC and PC were 59.33 ± 2.14 % and 21.11 ± 2.89 %, respectively. The average overall LC mortality was 85.44 ± 5.1 deaths per 100,000 men and the average overall PC mortality was 23.04 ± 1.26 deaths per 100,000. **Discussion.** The rates of the 1-year mortality from LC and PC, as well as the rates of the overall mortality from LC in men of rural municipal areas were higher than those in urban areas, demonstrating the tendency to increase. **Conclusion.** To ensure access to oncology medicine for patients in rural areas, private medical oncology clinics are involved on the basis of public-private partnership.

Key words: lung cancer, prostate cancer, rural municipal areas.

Введение

По данным Международного агентства исследования рака, общее число первичных случаев рака в мире во втором десятилетии XXI века превысило 14 миллионов случаев, а количество летальных случаев – более 8 миллионов. Первое место среди всех ЗНО у мужчин принадлежит раку легкого – около 13,0 % [1]. На 2-м месте в общей структуре ЗНО у мужчин с долей в 11,0 % находится рак предстательной железы [2]. Аналогичная структура онкологической заболеваемости характерна и для Российской Федерации. По состоянию на 2019 г. заболеваемость РЛ достигла 69,0 на 100 тыс., или 16,3 % всех ЗНО, РПЖ – 67,2 на 100 тыс., или 15,7 %, соответственно [3]. В Челябинской области длительно сохраняющееся соотношение между двумя нозологическими формами рака было нарушено, на 1-е место вышел РПЖ с долей 18,3 % в общей структуре, а РЛ переместился на 2-е место – 16,8 % [4].

Рыночные отношения существенно изменили традиционный социально-бытовой и производственно-профессиональный уклад жизни и работы сельского населения. Высвобождающиеся рабочие трудоустраиваются в ближайших промышленных центрах. Они либо ежедневно из ближних к Магнитогорску сел ездят на работу в город, либо всю рабочую пятидневку проживают в городе в

съемных квартирах и на выходные отправляются домой. В результате формально еще остающиеся селянами «новые» рабочие подвергаются негативному воздействию тех же факторов промышленно-городской среды, что и городское население. Но при этом медицинскую помощь продолжают получать по месту регистрации, т.е. в сельских медицинских организациях [5, 6]. В результате создается новая онкологическая эпидемиологическая реальность, требующая осмысления и инновационных подходов к своему разрешению.

Цель исследования – оценить особенности эпидемиологической ситуации по ЗНО ведущих локализаций (РЛ и РПЖ) у мужского населения сельских муниципальных районов в промышленной области.

Материал и методы

Для решения цели исследования информация была извлечена из Популяционного ракового регистра Челябинской области за 2010–2019 гг. Исследование проводилось на генеральной совокупности мужчин с РЛ и РПЖ (всего 1020 единиц наблюдения) пяти сельских муниципальных районов Челябинской области, включенных Минздравом области в Магнитогорский онкологический кластер. В статистический анализ вошли следующие показатели: стандартизованная заболеваемость, запущенность

Таблица 1/Table 1

**Динамика выявления рака легкого и рака предстательной железы у мужчин Челябинской области
(случаев на 100 тыс. мужчин)**

**Changes in the detection of lung and prostate cancers in men of the Chelyabinsk region
(cases per 100,000 men)**

Контингент/Contingent	Годы/Years									
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Рак легкого/Lung cancer										
Муниципальные районы/ Rural municipal districts	85,1	93,3	76,5	74,5	116,5	116,3	121,8	97,7	104,8	148,7
Городские округа/Urban districts	71,8	74,4	66,6	84,0	101,4	113,0	98,6	96,3	92,5	99,7
Рак предстательной железы/Prostate cancer										
Муниципальные районы/ Rural municipal districts	36,4	45,2	23,5	44,6	49,9	76,6	46,3	52,8	67,3	64,7
Городские округа/Urban districts	60,6	73,3	78,4	70,0	86,0	90,7	75,9	70,0	84,1	84,3

(выявление ЗНО III и IV стадий), одногодичная летальность и стандартизованная смертность. Рассчитывались средние и относительные величины и ошибки их репрезентативности.

С помощью непараметрического критерия итераций (повторений) выяснялось наличие или отсутствие статистически значимой динамики уровней динамических рядов. Для выяснения статистически значимых различий или их отсутствия был применен расчет непараметрического критерия Вилкоксона–Уайта. Для разнесения в таблицы сводки первичного собранного материала, а также проведения статистического анализа использовались возможности Microsoft Office и Microsoft Office Excel 2007.

Результаты

Среди мужского населения сельских муниципальных районов Магнитогорского онкологического кластера на протяжении десятилетнего периода наблюдения 1-е место среди ЗНО у мужчин занимает РЛ со средним уровнем в $103,5 \pm 3,2$ случая на 100 тыс. Выявление РЛ в этих районах отличалось неравномерным ростом ($p < 0,05$), достигая своего максимума в последний год наблюдения – 148,7 случая на 100 тыс. соответствующего населения (табл. 1), темп роста 174,6 %. В результате за десятилетний период максимальная амплитуда колебаний уровня выявления составила 74,2 случая на 100 тыс. мужчин. В сравнении с этими показателями средний уровень выявления РЛ у городского населения области за десятилетний период значительно ниже – $89,8 \pm 4,6$ случая на 100 тыс. мужчин ($p < 0,05$). Динамика выявления РЛ у городского населения также характеризуется неравномерным ростом ($p < 0,05$), но менее выраженным – всего 138,7 %. Также меньше амплитуда колебаний – 46,4 случая на 100 тыс.

Второе место на протяжении десятилетнего периода наблюдения среди ЗНО у мужского населения сельских районов занимает РПЖ со средним уровнем в $50,7 \pm 4,8$ случая на 100 тыс. Выявление опухолей этой локализации характеризуется неравномерным ростом ($p < 0,05$), достигнув своего максимума в 76,5 случая на 100 тыс. в 2015 г. Затем в течение 4 лет этот показатель равномерно снижается до 64,7 на 100 тыс. мужчин в последний год наблюдения. В целом за период наблюдения выявление РПЖ выросло на 177,4 %. Максимальная амплитуда колебаний случаев выявления составила 46,16 на 100 тыс. В сравнении с показателями сельского населения выявляемость РПЖ у городского населения области значимо выше, достигая в среднем за период исследования $77,3 \pm 2,85$ на 100 тыс. мужчин ($p < 0,05$). Динамика выявляемости РПЖ у городского населения также характеризуется неравномерным ростом, но менее интенсивным – 139,0 % ($p < 0,05$). При этом максимальная амплитуда колебаний уровня меньше – 30,2 случая на 100 тыс.

Высокий уровень заболеваемости РЛ и РПЖ и его негативная динамика без исследования уровня запущенности недостаточны для прогнозирования исходов распространенности этой патологии среди сельского населения. Исследование данного аспекта выявило крайне негативные особенности для обеих локализаций ЗНО (табл. 2). Анализ запущенности РЛ у мужчин муниципальных районов показал, что средний уровень удельного веса РЛ III и IV стадии составляет $69,6 \pm 3,0$ %. При этом уровень запущенности за десятилетний период фактически не изменился, снижение на 0,6 % недостаточно для признания статистически значимой динамики. У мужчин в городских округах средний уровень запущенности составил $67,3 \pm 3,4$ %, что также недостаточно для при-

Таблица 2/Table 2

**Динамика запущенности (III и IV стадии) рака легкого и предстательной железы у мужчин
Челябинской области с 2010 по 2019 г. (%)**

**Changes in the advanced (stage III and IV) lung and prostate cancers in men of the Chelyabinsk region
from 2010 to 2019 (%)**

Контингент/Contingent	Годы/Years									
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Рак легкого/Lung cancer										
Муниципальные районы/ Rural municipal districts	83,2	63,2	60,3	73,4	81,5	70,2	60,4	61,4	60,0	82,6
Городские округа/Urban districts	65,0	69,4	75,0	69,7	86,8	75,8	64,2	61,2	56,7	49,2
Рак предстательной железы/Prostate cancer										
Муниципальные районы/ Rural municipal districts	68,3	56,6	57,1	63,5	87,5	66,7	60,0	50,0	50,0	75,0
Городские округа/Urban districts	72,9	65,8	72,6	71,4	58,2	55,3	59,1	49,1	55,1	66,6

знания статистически значимой разницы с показателем в сельской местности. В отличие от последних у горожан удельный вес III и IV стадии среди всех ЗНО легкого за десятилетний период значительно снизился – с 65,0 % в 2010 г. до 49,2 % в 2019 г. ($p < 0,05$).

Анализ запущенности РПЖ у сельских мужчин выявил, что ее средний уровень составил $63,5 \pm 3,7$ %, динамика запущенности характеризуется достоверным ростом – с 68,3 % в 2010 г. до 75,0 % в 2019 г. ($p < 0,05$). Средний уровень запущенности РПЖ у городских мужчин значимо не различается с аналогичным показателем у селян – $62,6 \pm 2,6$ %, однако динамика его позитивная, запущенность снизилась с 72,9 % в 2010 г. до 66,6 % в 2019 г.

Следует отметить, что уровень запущенности РЛ и РПЖ у сельского мужского населения очень высок, что объясняет высокий уровень летальности больных данными ЗНО на 1-м году после установления диагноза (табл. 3). В течение 1-го года жизни после установления РЛ в среднем погибает $59,3 \pm 2,14$ % больных, что значимо выше, чем у горожан, – $52,5 \pm 1,41$ % ($p < 0,05$). Причем летальность за десятилетний период выросла более чем в 2 раза, – с 34,8 % в 2010 г. до 73,4 % в 2019 г. Аналогичная динамика отмечается и для городских мужчин, страдающих РЛ, но темп роста летальности ниже – 120 %.

При РПЖ летальность до года с момента установления диагноза у сельских и городских мужчин имеет принципиальные отличия. Во-первых, показатель в сельских муниципальных образованиях – $21,1 \pm 2,8$ % – значимо выше, чем в городских округах – $13,3 \pm 1,8$ % ($p < 0,05$). Во-вторых, летальность до года с момента установления диагноза РПЖ в сельской местности за период наблюдения значимо, в 1,5 раза, выросла – с 11,1 % в 2010 г. до 17,3 % в 2019 г. ($p < 0,05$). У горожан показатель,

наоборот, снизился – с 14,2 % до 8,2 % при темпе снижения в 42,3 %.

За малым отличием тенденции, свойственные летальности до года с момента установления диагноза РЛ и РПЖ, повторяются и в показателях смертности от данной патологии. Смертность от РЛ у сельских мужчин значимо выше, чем у горожан, – $85,4 \pm 5,1$ случая на 100 тыс. против $70,5 \pm 3,2$ случая ($p < 0,05$). Причем у обоих контингентов за десятилетний период наблюдается значимый рост показателя, однако он более выражен у мужчин в сельских муниципальных районах (темп роста 184,5 %) при темпе роста в городских округах – 142,8 % ($p < 0,05$).

Несколько отличная ситуация наблюдается при РПЖ, смертность от которого у мужчин в сельской местности составляет $23,0 \pm 1,2$ случая на 100 тыс. и не имеет значимых отличий от показателей городского мужского населения области – $24,7 \pm 0,7$. При столь близких показателях у сравниваемых контингентов смертность за 10 лет имеет принципиально различную динамику. У селян она увеличилась с 25,5 случая на 100 тыс. в 2010 г. до 33,2 случая в 2019 г., темп роста – 129,7 %, у горожан, наоборот, снизилась на 11,0 %.

Обсуждение

Анализ показателей, характеризующих онкологическую эпидемиологическую ситуацию, свидетельствует о неблагополучии с ЗНО ведущих локализаций у мужчин в сельских муниципальных районах Челябинской области. Более высокий уровень выявления РЛ и РПЖ в сравнении с городским населением можно было бы объяснить улучшением диагностики РЛ и РПЖ у сельского населения, если бы не высокий уровень запущенности выявленных ЗНО. На самом деле выявленные в каждом последующем году ЗНО III и IV стадии – это пропу-

Таблица 3/Table 3

Летальность до года с момента установления диагноза рака легкого и предстательной железы у мужчин Челябинской области с 2010 по 2019 г. (%)

The 1-year mortality after the diagnosis of lung and prostate cancers in men of the Chelyabinsk region from 2010 to 2019 (%)

Контингент/Contingent	Годы/Years									
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Рак легкого/Lung cancer										
Муниципальные районы/ Rural municipal districts	34,8	57,1	73,1	72,0	48,1	59,2	72,0	54,0	49,3	73,4
Городские округа/Urban districts	48,4	48,6	63,7	64,3	58,1	59,7	37,2	39,7	44,5	58,3
Рак предстательной железы/Prostate cancer										
Муниципальные районы/ Rural municipal districts	11,1	12,5	48,7	50,0	3,0	4,0	22,5	14,6	27,0	17,3
Городские округа/Urban districts	14,2	8,1	10,8	6,1	8,0	9,9	9,0	39,7	18,8	8,2

Таблица 4/Table 4

Смертность от рака легкого и предстательной железы мужчин Челябинской области с 2010 по 2019 г. (на 100 тыс. мужчин)

Mortality from lung and prostate cancers in men of the Chelyabinsk region from 2010 to 2019 (per 100,000 men)

Контингент/Contingent	Годы/Years									
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Рак легкого/Lung cancer										
Муниципальные районы/ Rural municipal districts	73,0	83,1	62,6	73,0	81,6	87,3	91,1	88,4	78,2	135,1
Городские округа/Urban districts	55,3	59,7	60,8	76,0	76,4	85,0	81,7	67,8	63,4	79,0
Рак предстательной железы/Prostate cancer										
Муниципальные районы/ Rural municipal districts	25,5	43,6	19,1	29,2	12,1	9,2	17,0	21,6	18,7	33,2
Городские округа/Urban districts	25,7	23,6	29,4	22,4	22,7	24,7	21,5	27,8	25,8	23,0

щенные в прошлые годы злокачественные опухоли ранних стадий. Естественно, рост выявляемости РЛ и РПЖ не объясняется простым улучшением диагностики у мужского населения сельской местности, а является свидетельством объективного роста заболеваемости данными ЗНО у сельского населения. Несмотря на то, что запущенность, с одной стороны, и летальность до года или смертность, с другой стороны, имеют причинно-следственную связь, рассчитанные коэффициенты корреляции имеют малые значения, указывающие на слабую зависимость. Рост летальности до года и смертности при относительной стабильности высокой запущенности может свидетельствовать еще и о недостатках медицинской помощи сельскому населению. Поскольку эти негативные процессы в эпидемиологической ситуации с ЗНО

двух ведущих локализаций у сельского мужского населения не только сохранялись, но и усилились после разработки и внедрения в практику здравоохранения модели маршрутизации онкологических пациентов, то это требует нестандартных мероприятий по ранней диагностике и реабилитации данных больных.

Заключение

Появление в Магнитогорской металлургической агломерации, традиционно отличающейся высоким содержанием в окружающей среде промышленных канцерогенов, новой группы рабочих, которые по месту проживания остались потребителями сельского здравоохранения, оказалось неожиданным вызовом здравоохранению, в частности первому уровню оказания помощи по профилю «онколо-

гия». В результате стали очевидны недостатки в своевременности диагностики ЗНО, а также в диспансерном наблюдении за онкологическими больными из числа сельских жителей Магнитогорского онкологического кластера. Проблемы сельского здравоохранения в оказании онкологической помощи были учтены при разработке «Плана первоочередных мероприятий («Дорожная карта»), направленного на снижение смертности населения от онкологических заболеваний в 2018–2020 гг.», но решение материальных и тем более кадровых проблем сельской части онкологической службы области требует определенного времени. Для оперативного выхода из создавшейся ситуации

Минздрав Челябинской области с 2020 г. привлек на условиях государственно-частного партнерства к решению проблем первого уровня оказания помощи по профилю «онкология» сельскому населению области частные медицинские онкологические клиники Магнитогорска. В течение 2020 г. они оказывали диагностическую и реабилитационную помощь приписанному контингенту по тарифам ОМС. Полностью оценить их вклад в улучшение онкологической эпидемиологической ситуации в сельских муниципальных районах возможно только по результатам более длительного (нескольких лет) сотрудничества.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Rafiemanesh H., Mehtarpour M., Khani F., Hesami S.M., Shamlou R., Towhidi F., Salehiniya H., Mahsosi B.R., Moini A. Epidemiology, incidence and mortality of lung cancer and their relationship with the development index in the world. *J Thorac Dis.* 2016; 8(6): 1094–1102. doi: 10.21037/jtd.2016.03.91.
2. Taitt H.E. Global Trends and Prostate Cancer: A Review of Incidence, Detection, and Mortality as Influenced by Race, Ethnicity, and Geographic Location. *Am J Mens Health.* 2018; 12(6): 1807–23. doi: 10.1177/1557988318798279.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). М., 2020. 252 с. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Shakhzadova A.O. Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Moscow, 2020. 252 p. (in Russian)].
4. Важеннин А.В., Ратнер Е.В., Аксенова И.А. Эпидемиологические особенности онкологической ситуации и показатели состояния онкологической помощи населению Челябинской области в 2019 году. Челябинск, 2020. 90 с. [Vazhenin A.V., Ratner E.V., Aksenova I.A.

Epidemiological features of the oncological situation and indicators of the state of oncological care for the population of the Chelyabinsk region in 2019. Chelyabinsk, 2020. 90 p. (in Russian)].

5. Муханова М.Н. Структура занятости сельского населения в неформальном секторе. Социологический журнал. 2017; 23(2): 74–95. [Mukhanova M.N. The structure of employment of the rural population in the informal sector. *Sociological Journal.* 2017; 23(2): 74–95. (in Russian)]. doi: 10.19181/socjour.2017.23.2.5161.
6. Пикалова Л.В., Ананина О.А., Жуйкова Л.Д., Одинова И.Н., Кудяков Л.А. Состояние организации онкологической помощи сельскому населению Томской области. Российский онкологический журнал. 2016; 21(3): 151–5. [Pikalova L.V., Ananina O.A., Zhujkova L.D., Odincova I.N., Kudakov L.A. State of the organization of oncological care for the rural population of the Tomsk region. *Russian Journal of Oncology.* 2016; 21(3): 151–5. (in Russian)]. doi: 10.18821/1028-9984-2016-21-3-151-155.

Поступила/Received 16.06.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 13.07.2021

Принята к публикации/Accepted 25.07.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Важеннин Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии, ФГБУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Челябинск, Россия).

Новикова Светлана Владимировна, главный врач, Медицинский центр «НовоМед» (Магнитогорск, Россия). E-mail: novikova.sv@novomed-mc.ru.

Тюков Юрий Аркадьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общественного здоровья и здравоохранения, ФГБУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Челябинск, Россия).

Котов Андрей Александрович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры общественного здоровья и здравоохранения, ФГБУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Челябинск, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Важеннин Андрей Владимирович: разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Новикова Светлана Владимировна: составление черновика рукописи, окончательная подготовка статьи.

Тюков Юрий Аркадьевич: анализ результатов научной работы, коррективная и правка материала.

Котов Андрей Александрович: выкопировка данных из Популяционного ракового регистра, статистическая обработка.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Andrey V. Vazhenin, MD, Professor, Member of the RAS, Head of the Department of Oncology, Diagnostic Imaging and Radiation Therapy, South Ural State Medical University (Chelyabinsk, Russia).

Svetlana V. Novikova, Chief medical officer of the Medical Center «NovoMed» (Magnitogorsk, Chelyabinsk). E-mail: novikova.sv@novomed-mc.ru.

Yuri A. Tyukov, MD, Professor, Head of the Department of Public Health and Healthcare, South Ural State Medical University (Chelyabinsk, Russia).

Andrey A. Kotov, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Public Health and Healthcare, South Ural State Medical University (Chelyabinsk, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Andrey V. Vazhenin: study conception, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Svetlana V. Novikova: drafting of the manuscript, final approval of the manuscript.

Yuri A. Tyukov: research supervision, editing of the manuscript.

Andrey A. Kotov: data collection, statistical data processing.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-12-23
УДК: 618.19-006.6:616.428]-07

Для цитирования: Николаева Е.А., Крылов А.С., Рыжков А.Д., Батыров Х.Х., Пароконная А.А., Билик М.Е., Захарова Т.В., Светлякова А.В., Пронин А.И. Диагностическая ценность методов радионуклидной визуализации сторожевого лимфатического узла при раке молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 12–23. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-12-23

For citation: Nikolaeva E.A., Krylov A.S., Ryzhkov A.D., Batyrov H.H., Parokonnaya A.A., Bilik M.E., Zakharova T.V., Svetlyakova A.V., Pronin A.I. Diagnostic value of nuclear medicine modalities for the detection of sentinel lymph nodes in patients with breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 12–23. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-12-23

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ МЕТОДОВ РАДИОНУКЛИДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СТОРОЖЕВОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.А. Николаева, А.С. Крылов, А.Д. Рыжков, Х.Х. Батыров, А.А. Пароконная,
М.Е. Билик, Т.В. Захарова, А.В. Светлякова, А.И. Пронин

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, г. Москва, Россия
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: krilovas@rambler.ru

Аннотация

Цель исследования – сравнить диагностическую эффективность планарной сцинтиграфии, ОФЭКТ (в т. ч. ОФЭКТ/КТ) и интраоперационной радиометрии с помощью гамма-зонда в обнаружении сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) у пациенток с раком молочной железы. **Материал и методы.** В исследование включены 200 пациенток с диагностированным раком молочной железы, которым была проведена биопсия СЛУ в период 2020–21 гг. Для идентификации СЛУ всем пациенткам за сутки до операции проводилась лимфосцинтиграфия с коллоидным радиофармпрепаратом Технефит, меченным ^{99m}Tc. Планарная лимфосцинтиграфия была проведена 200 пациенткам, включенным в исследование, у 181 проведен досмотр в объеме ОФЭКТ или ОФЭКТ/КТ (147 и 34 исследования соответственно). Интраоперационно производилась детекция СЛУ с помощью портативного гамма-зонда (n=200). Последующее гистологическое исследование определяло наличие лимфоидной ткани и статус удаленного СЛУ. **Результаты.** Сторожевые лимфоузлы обнаружены при комплексном исследовании (планарные и томографические исследования) у всех 200 (100 %) пациенток, при этом на планарной сцинтиграфии не было визуализировано ни одного СЛУ в 6 (3 %) случаях, но при досмотре в томографическом режиме они были определены. Также при томографии в отдельных случаях определялись дополнительные СЛУ, которые были не учтены при планарном исследовании. В 95 % случаев СЛУ локализовались в аксиллярной области. Все неаксиллярные СЛУ были идентифицированы на томограммах. Чувствительность ОФЭКТ при обнаружении СЛУ составила 100 % (ДИ 98,0–100 %), что превышает чувствительность планарной сцинтиграфии (97,0 %, ДИ 96,5–97,4 %) и гамма-зонда (97,0 %, ДИ 96,1–97,4 %). Значения ППЦ также высоки – 99,5 % (ДИ 99,0–100 %) для планарной сцинтиграфии, 99,5 % (ДИ 98,6–100 %) для гамма-зонда и 98,3 % (ДИ 95,2–99,7 %) для ОФЭКТ. **Заключение.** Радионуклидная визуализация СЛУ с лимфотропным РФП у пациенток с раком молочной железы является эффективным и надежным методом навигации при хирургическом вмешательстве для выполнения биопсии. ОФЭКТ и ОФЭКТ/КТ позволяют идентифицировать большее количество лимфоузлов, чем планарная сцинтиграфия, улучшая их анатомическую локализацию и снижая частоту ложноотрицательных результатов. Диагностическая эффективность ОФЭКТ/КТ и ОФЭКТ предположительно превосходит планарную лимфосцинтиграфию и интраоперационную навигацию в выявлении СЛУ.

Ключевые слова: сторожевые лимфатические узлы, биопсия, планарная лимфосцинтиграфия, ОФЭКТ/КТ, гамма-зонд, рак молочной железы.

DIAGNOSTIC VALUE OF NUCLEAR MEDICINE MODALITIES FOR THE DETECTION OF SENTINEL LYMPH NODES IN PATIENTS WITH BREAST CANCER

E.A. Nikolaeva, A.S. Krylov, A.D. Ryzhkov, H.H. Batyrov, A.A. Parokonnaya,
M.E. Bilik, T.V. Zakharova, A.V. Svetlyakova, A.I. Pronin

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
24, Kashirskoye Highway, 115478, Moscow, Russia. E-mail: krilovas@rambler.ru

Abstract

Purpose of the study. To determine and compare the diagnostic efficacy of planar scintigraphy, SPECT (including SPECT / CT) and intraoperative gamma probe radiometry in the detection of sentinel lymph nodes (SLN) in patients with breast cancer. **Material and Methods.** The study included 200 patients with diagnosed breast cancer who underwent SLN biopsy in the period 2020–2021. To identify SLNs, all patients underwent lymphoscintigraphy with a ^{99m}Tc -labeled colloidal radiopharmaceutical one day before surgery. Planar lymphoscintigraphy was performed on 200 patients included into the study, 181 underwent examination in the volume of SPECT or SPECT/CT (147 and 34 studies, respectively). The SLN was detected intraoperatively using a portable gamma probe ($n=200$). Subsequent histological examination determined the presence of lymphoid tissue and the status of the removed SLN. **Results.** SLN were detected in a comprehensive study (planar and tomographic studies) in all 200 patients studied (100 %), while planar scintigraphy did not visualize any SLN in 6 (3 %) cases, but they were determined during examination in tomographic mode. Also, in some cases, additional SLN were determined during tomography, which were not considered in the planar study. In 95 % of cases, SLN were localized in the axillary region. All non-axillary SLNs were identified on tomograms. The sensitivity of SPECT for SLN detection was 100 % (CI 98.0–100 %), which was higher than the sensitivity of planar scintigraphy and gamma probe (97.0 %, CI 96.5–97.4 % and 97.0 %, CI 96.1–97.4 %, respectively). The PPV values were also high (99.5 %, CI 99.0–100 % for planar scintigraphy, 99.5 %, CI 98.6–100 % for gamma probe and 98.3 %, CI 95.2–99.7 % for SPECT. **Conclusion.** Nuclear medicine imaging of SLN with lymphotropic radiopharmaceuticals in patients with breast cancer is an effective and reliable method of navigation during surgery to perform a biopsy. SPECT and SPECT/CT can identify more lymph nodes than planar scintigraphy, improving their anatomical localization, and reducing the false negative rate. The diagnostic performance of SPECT/CT and SPECT is believed to be superior to that of planar lymphoscintigraphy and intraoperative navigation in detecting SLN.

Key words: sentinel lymph nodes, biopsy, planar lymphoscintigraphy, SPECT/CT, gamma probe, breast cancer.

Введение

Биопсия сторожевого лимфатического узла (БСЛУ) стала стандартной процедурой у пациенток с раком молочной железы с клинически не определяемыми лимфатическими узлами [1]. Сторожевые лимфатические узлы (СЛУ) – первая группа лимфатических узлов, дренирующих ложе опухоли. Согласно концепции СЛУ, их гистологический статус является предиктором объема лечения и прогноза заболевания, что обусловлено последовательным распространением опухоли от ее ложа к регионарным лимфатическим узлам через так называемые «сторожевые» или «сигнальные». Они могут быть обнаружены путем введения красителя и/или радиоактивного препарата в место опухоли и последующего определения окрашенного и/или радиоактивного лимфатического узла в регионарном коллекторе.

Концепция СЛУ первоначально была предложена R.M. Cabanas в 1977 г. для лечения рака полового

члена [2], позже была с успехом реализована у пациентов со злокачественной меланомой [3]. Далее несколько исследований подтвердили концепцию СЛУ у больных раком молочной железы [4]. Техника биопсии сигнальных лимфоузлов (БСЛУ) впервые была описана А.Е. Giuliano в 1994 г. Цель данного хирургического подхода – минимизация травматичности ранее применяемой классической аксиллярной лимфодиссекции [5].

Значимым исследованием, подтвердившим преимущества метода, явилось американское исследование Z011, в котором сравнивались две группы пациенток с раком молочной железы T1–2N0M0 и метастазами в сторожевые узлы [6]. Общая 10-летняя выживаемость пациенток, которым была выполнена только биопсия СЛУ, не уступала общей выживаемости пациенток, которым проводилась классическая аксиллярная диссекция. Эти данные позволили подтвердить клиническую ценность рутинного использования

методики биопсии СЛУ у этой группы пациенток на основе 10-летних результатов. В другом многоцентровом исследовании было показано, что общая частота выявления СЛУ составила 93 % (у 413 из 443 пациенток). Точность биопсии сторожевого узла составила 97 %, чувствительность – 89 %, прогностическая ценность положительного результата – 100 %, прогностическая ценность отрицательного результата – 96 % [7].

Существенным для внедрения данного метода в практику онкологов явились результаты исследований, подтверждающие значительное снижение послеоперационных осложнений, таких как лимфедема, парестезии, онемение, ограничение подвижности руки [8]. Так, частота лимфедемы снизилась с 10–20 % при классической аксиллярной диссекции до 5–7 % при БСЛУ [9].

Для визуализации СЛУ существует широкий спектр диагностических методов, которые на данный момент доступны в медицине, но ни один из них нельзя однозначно назвать эталонным. Существуют противоречивые данные относительно использования в детекции СЛУ флуоресцентного метода с индоцианиновым зеленым, ультразвука с контрастным усилением и МРТ с суперпарамагнитными наночастицами оксида железа [10, 11]. Хорошие результаты показывают методы ядерной медицины – планарная сцинтиграфия и ОФЭКТ, которые и рекомендованы в настоящий момент для биопсии СЛУ, однако и их возможности все еще не изучены полностью.

Применяемые для непрямой лимфографии СЛУ радиоизотопные препараты характеризуются широким разнообразием, однако их выбор нередко зависит от ситуации на конкретном рынке. Перспективным с диагностической точки зрения РФП, разработанным специально для лимфатического картирования, можно назвать Lymphoseek (Navidea Biopharmaceuticals, Inc, США), который представляет собой ^{99m}Tc -тилманосепт, нацелен-

ный на маннозный рецептор CD206, он в больших количествах присутствует в некоторых иммунных клетках лимфатических узлов. В 2013 г. препарат был одобрен FDA, а в 2014 г. – ЕМА. В настоящее время продвижение препарата сдерживает его высокая стоимость. Также недостаточно изучены его возможности по сравнению с уже широко используемыми коллоидными препаратами на основе ^{99m}Tc . Оптимальный размер частиц коллоида составляет 20–100 нм и позволяет визуализировать именно СЛУ, а не лимфатические узлы следующего порядка [12]. Скорость лимфатического транзита варьирует в зависимости от размера коллоида, вводимого объема, места инъекции и определяет время визуализации СЛУ и последующей операции [13]. В настоящее время в Российской Федерации зарегистрирован пока единственный лимфотропный коллоидный РФП – Нанотоп. Однако для клинического применения часто используется «off label» радиоколлоид ^{99m}Tc -технефит с ориентировочным диаметром частиц 200–1000 нм и более [14].

Существует несколько методик введения индикатора, которые можно разделить на глубокие (интратуморально, перитуморально) и поверхностные (внутрикожно, подкожно), но наиболее эффективная из них еще не определена. Ключевые моменты анализа мировой литературы [15–19], посвященной этой проблеме, представлены в табл. 1.

В исследовании Goyal et al. [20] чувствительность биопсии СЛУ составляла 93,3 %, а точность – 97,6 % при использовании радиоактивного индикатора. Факторы, которые были связаны с неудачной биопсией, включали ожирение, нетипичную локализацию опухоли и отсутствие визуализации СЛУ при предоперационной лимфосцинтиграфии. ОФЭКТ обладает лучшими возможностями для анатомической локализации и более высокой разрешающей способностью, позволяя преодолеть ограничения планарных изображений. Точная

Таблица 1/Table 1

Сравнение способов введения индикатора для лимфосцинтиграфии СЛУ при раке молочной железы

Comparison of methods of injection of the tracer for SLN lymphoscintigraphy in breast cancer

Критерии/ Criteria	Способ введения индикатора/Method of administration of the tracer		
	Интра-туморально/ Intratumorally	Пери-туморально/ Peritumorally	Внутрикожно/подкожно Intradermally/subcutaneously
Возможности применения/ Feasibilities of application	Эффективнее при интрамам-марном расположении СЛУ. Риск травмы. Требуется УЗИ-контроль. Почти не используется в настоящий момент/ It is more effective for intramammary SLN. The risk of injury. Requires ultrasound control. Almost not used now	Эффективнее при интра-маммарном расположении СЛУ. Риск травмы. Требуется УЗИ-контроль/ More effective for intramammary SLN. The risk of injury. Requires ultrasound control	Эффективнее при локализации опухоли в верхнем наружном квадранте. Наименее травматично, не требует дополнительных процедур и специалистов/ It is more effective when the tumor is localized in the upper outer quadrant. The least traumatic, does not require additional procedures and specialists
Эффективность/ Efficiency	91–93%	>95%	>95%

локализация «горячих» лимфатических узлов на ОФЭКТ-изображениях без анатомических ориентиров невозможна, что решается применением гибридной технологии ОФЭКТ/КТ, которая помогает обнаруживать дополнительные узлы, не визуализируемые на планарных изображениях, что особенно полезно при визуализации СЛУ за пределами подмышечной впадины или рядом с местом инъекции [21]. У женщин предпочтительнее использование низкодозового протокола КТ для снижения лучевой нагрузки.

Цель исследования – определить и сравнить диагностическую эффективность планарной сцинтиграфии, ОФЭКТ (в т. ч. ОФЭКТ/КТ) и интраоперационной радиометрии с помощью гамма-зонда в обнаружении СЛУ у пациенток с раком молочной железы.

Материал и методы

В исследование включено 200 пациенток с диагностированным раком молочной железы, которым проведена биопсия сторожевого лимфатического узла в период 2020–21 гг. Средний возраст – $51,3 \pm 12,6$ (диапазон 26–82) года. Минимальный размер опухолевого узла составил 0,7 см (стадия T1), максимальный – 9,3 см (стадия T3).

Решение этического комитета для проведения исследования не требовалось. Все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Диагностический коллоидный радиофарм-препарат изготавливался на основе стандартного «холодного» набора лиофилизата Технефит и элюата генератора технеция ^{99m}Tc . РФП вводили за сутки до операции для визуализации путей оттока лимфы. Инъекция проводилась в две точки внутрикожно периареолярно (на 3 и 9 ч или на 6 и 12 ч условного циферблата). Вводимая активность – 150 МБк, эффективная доза – 0,3 мЗв. Дозу облучения при сцинтиграфии рассчитывали согласно МУ 2.6.1.3151-13. Лимфосцинтиграфия с разметкой перманентным маркером (рис. 1) выполнялась всем пациенткам по стандартизованной методике [22, 23] в период от 40 мин до 3 ч после введения радиоиндикатора. После получения планарных сцинтиграмм в большинстве случаев ($n=181$) проводилось дополнительное исследование в объеме ОФЭКТ или ОФЭКТ/КТ зоны интереса. Все гибридные исследования выполнялись на комбинированной ОФЭКТ/КТ-системе Symbia T с 2-срезовой конфигурацией КТ. Лучевые нагрузки при КТ рассчитывали согласно МУ 2.6.1.3854-19. Результаты визуально интерпретировались отдельно для планарной сцинтиграфии и для ОФЭКТ (ОФЭКТ/КТ).

Операция выполнялась на следующий день после сцинтиграфии и разметки. При этом в зоне проекции СЛУ производился разрез, ориентиром служили показания гамма-зонда Радикал («Амплитуда» НТК, РФ) и отметки маркера на коже.

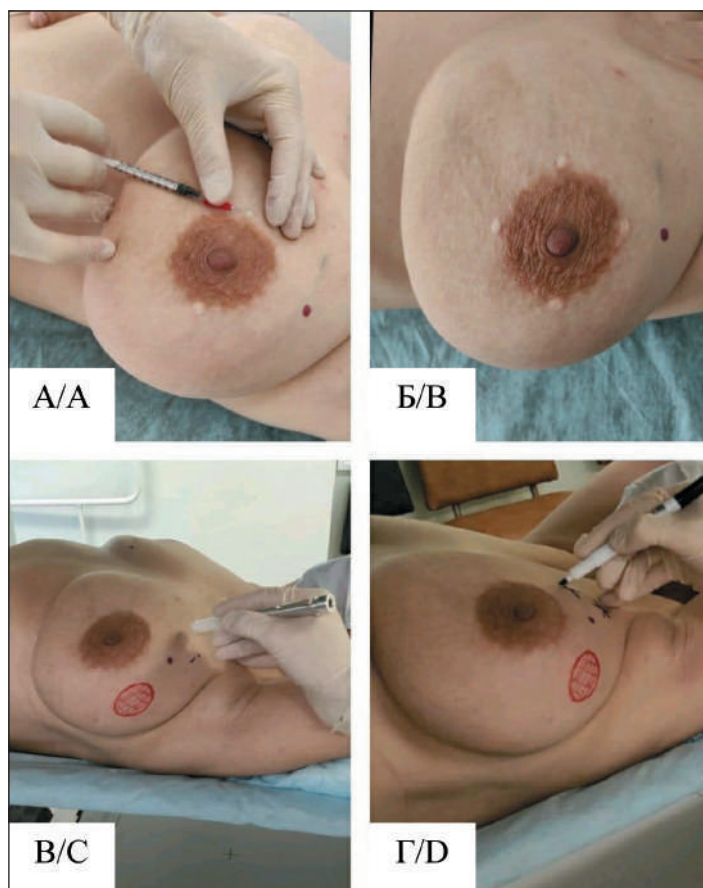


Рис. 1. Процедура радионуклидной визуализации при биопсии СЛУ у пациентки с раком молочной железы. Методика периареолярного введения РФП в 2 точки на 3 и 9 ч (а), в 4 точки (б). Разметка СЛУ маркером с ^{99m}Tc (в) и перманентным маркером на коже (г) перед лимфосцинтиграфией

Fig. 1. Radionuclide imaging procedure for SLN biopsy in a patient with breast cancer. The technique of periareolar injection of RP at two points at 3 and 9 o'clock (a), at 4 points (b). SLN marking with a ^{99m}Tc marker (c) and a permanent marker on the skin (d) before the lymphoscintigraphy

Удалялись лимфатические узлы с уровнем накопления РФП, превышающим уровень накопления в других лимфоузлах более чем на 10 %, а уровень фона более чем в 3 раза. Все СЛУ отправлялись на срочное гистологическое исследование, результаты которого определяли дальнейшую тактику лечения. Отрицательные результаты свидетельствовали об отсутствии метастазов и в других лимфоузлах, тем самым отменяя профилактическую лимфаденэктомию. Данные срочного гистологического исследования уточнялись при плановом морфологическом исследовании.

Количество обнаруженных СЛУ при планарном, томографическом исследованиях и интраоперационной радиометрии сравнивалось между собой. При наличии расхождений изучались результаты операции. Во-первых, оценивалась воспроизводимость или соответствие между планарными изображениями и томографическими и интраоперационными данными, использовались критерий суммы рангов Уилкоксона и значения к Коэна. Во-вторых, были изучены случаи улучшения результатов визуализации при томографическом просмотре. В-третьих, были исследованы случаи отрицатель-

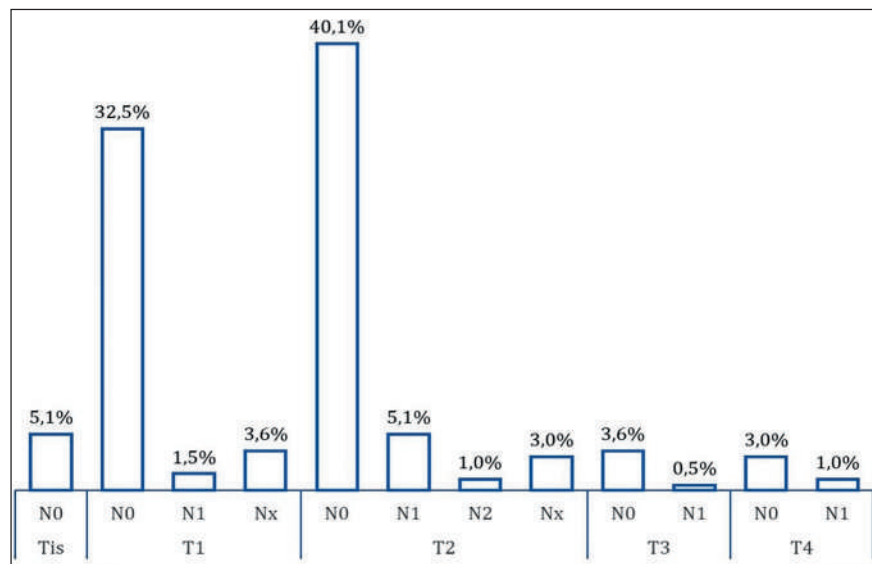


Рис. 2. Распределение пациенток с раком молочной железы в соответствии с TNM-классификацией
Fig. 2. Distribution of patients with breast cancer in accordance with the TNM-classification

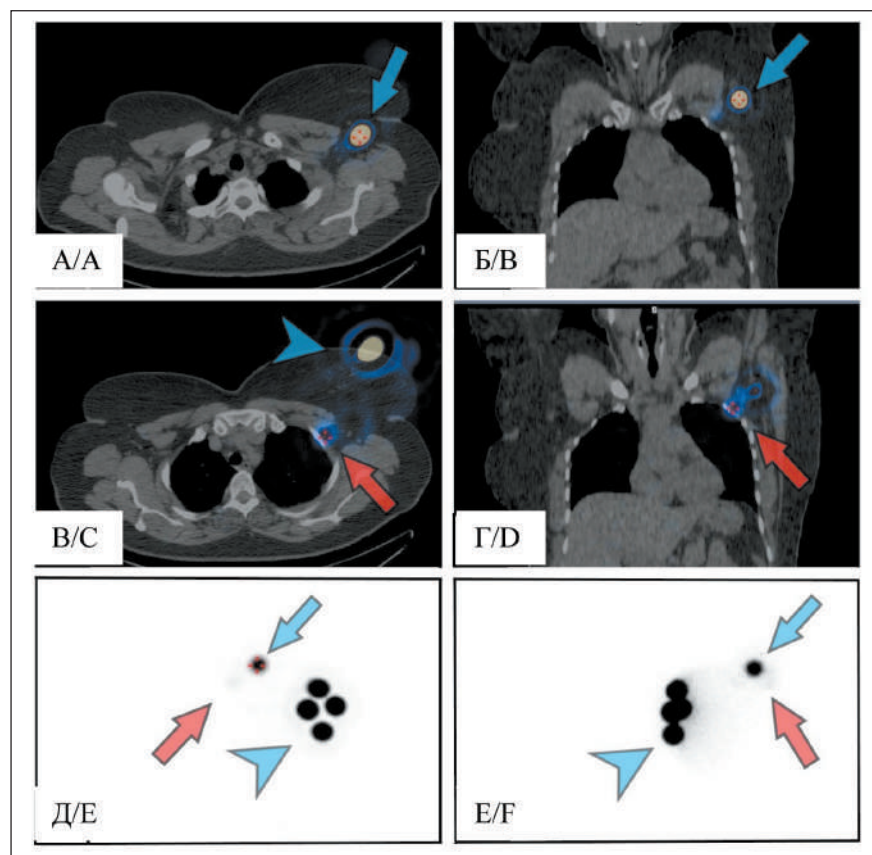


Рис. 3. Результаты радионуклидной визуализации СЛУ пациентки с раком левой молочной железы. Синяя стрелка – СЛУ в левой аксиллярной области четко визуализируется на аксиальном (а) и фронтальном (б) срезах ОФЭКТ/КТ и планарных скintiграммах в передней (д) и левой боковой (е) проекциях; красная стрелка – пекторальный СЛУ на уровне 2-го ребра слева, четко визуализируется только на ОФЭКТ/КТ срезах (в, г) и почти не определяется на планарных снимках (д, е); синяя остроконечная стрелка – место инъекции РФП

Fig. 3. Results of SLN radionuclide imaging of a patient with left breast cancer. Blue arrow – SLN in the left axillary region is clearly visualized on axial (a) and frontal (b) SPECT/CT slices and planar scintigrams in anterior (c) and left lateral (d) projections; red arrow – pectoral SLN at the level of the 2 rib on the left, it is clearly visualized only on SPECT/CT sections (c, d) and is almost not detected on planar images (e, f); blue pointed arrow – radiopharmaceutical injection site

ной биопсии СЛУ и причины этого. Для оценки статистической эффективности был использован ROC-анализ. Использовали программное обеспечение для статистического анализа MedCalc Statistical version 20.015 (MedCalc Software Ltd, Бельгия). Значение $p < 0,05$ считалось показателем статистической значимости.

Результаты и обсуждение

Распределение пациенток в соответствии с TNM классификацией 7-й версии представлено на рис. 2. Планарная лимфосцинтиграфия проведена 200 пациенткам, включенным в исследование, у 181 проведен досмотр в объеме ОФЭКТ или ОФЭКТ/КТ (147 и 34 исследования соответственно). СЛУ были обнаружены при комплексном исследовании (планарные и томографические исследования) у всех 200 исследуемых пациенток (100 %), при этом на планарной сцинтиграфии не было визуализировано ни одного СЛУ в 6 (3 %) случаях, но при досмотре в томографическом режиме они были

определены. Также при томографии в отдельных случаях определялись дополнительные СЛУ, которые были не учтены при планарном исследовании (рис. 3).

В отличие от меланомы кожи, рак молочной железы характеризуется небольшой вариативностью лимфоколлекторов, однако каждый выявленный СЛУ может оказаться метастатически пораженным, что может привести к снижению общей выживаемости [22]. В нашем исследовании первичная опухоль чаще всего локализовалась в верхне-наружном (38,5 %) и верхне-внутреннем квадранте (11,5 %) молочной железы. Билатеральное синхронное или метасинхронное поражение было выявлено у 3 пациенток, у 14 на момент исследования опухолевого узла не было (проведена операция или рак *in situ*). В 95 % случаев СЛУ локализовались в аксиллярной области (рис. 4). По данным литературы, после ипсилатеральной подмышечной впадины 2-е по частоте место локализации СЛУ – интрамаммарные лимфатические узлы, для кото-

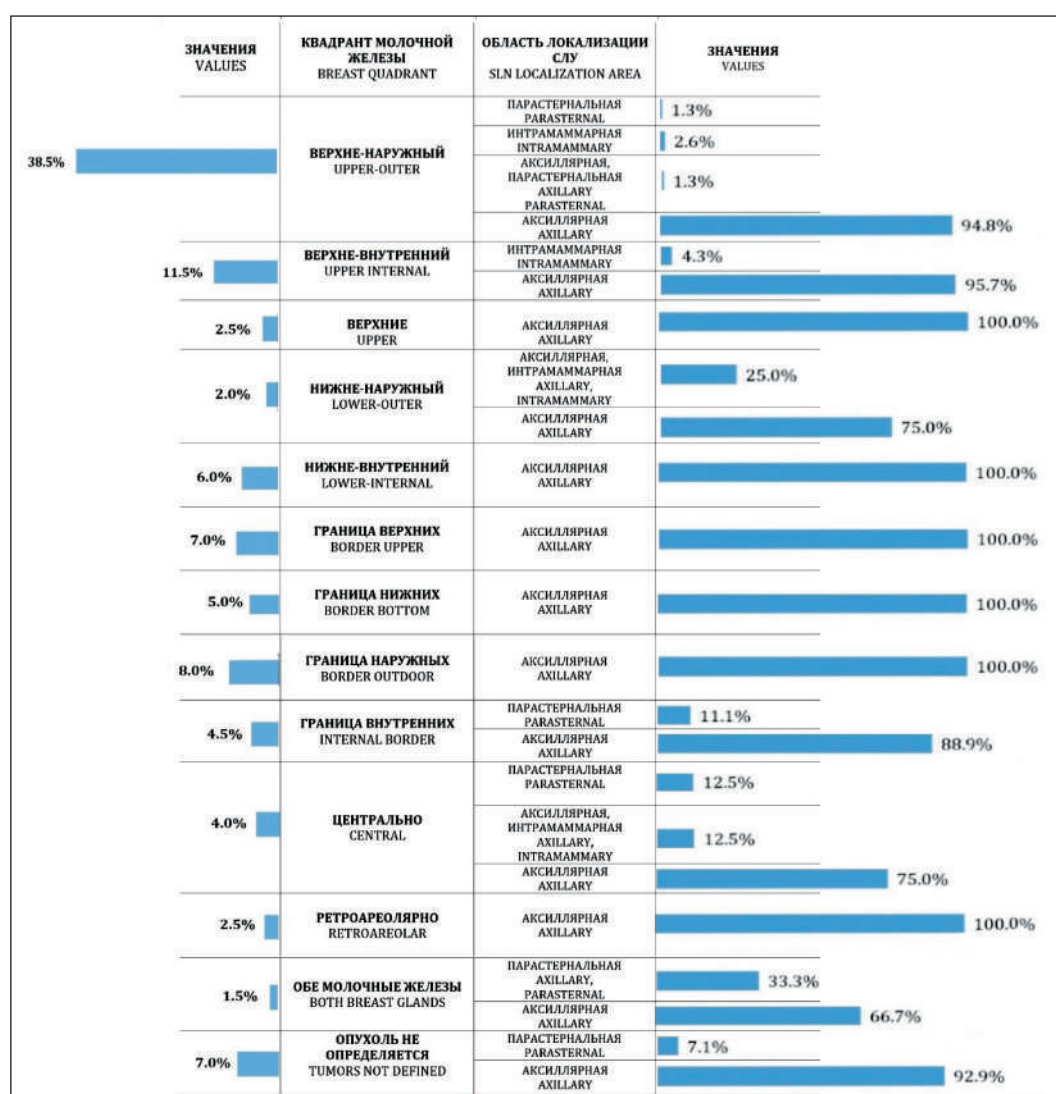


Рис. 4. Локализация СЛУ в зависимости от локализации первичной опухоли у пациенток с раком молочной железы
Fig. 4. Localization of SLN depending on the localization of the primary tumor in patients with breast cancer

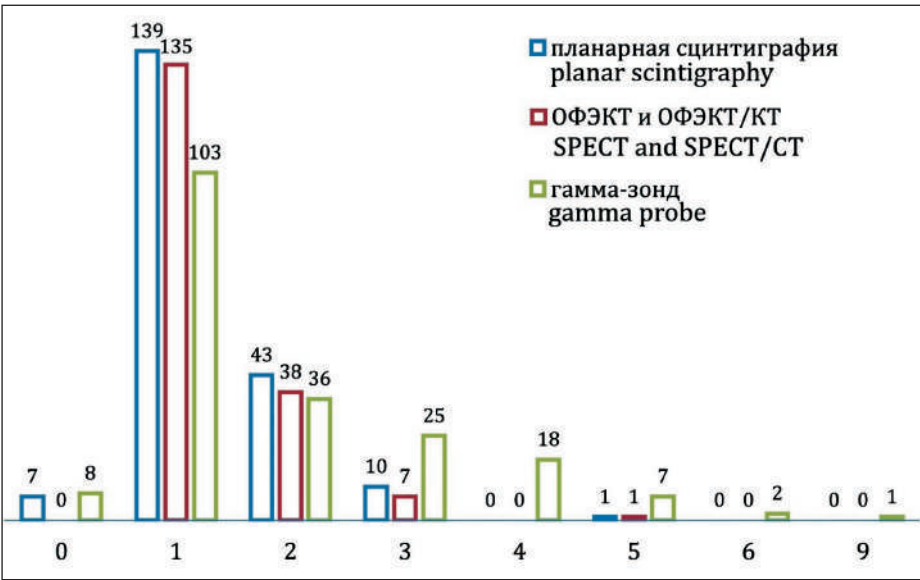


Рис. 5. Распределение пациенток с раком молочной железы по количеству визуализированных СЛУ методами радионуклидной диагностики. Горизонтальная ось – количество визуализированных СЛУ у пациента, вертикальная ось – количество пациенток

Fig. 5. Distribution of patients with breast cancer by the number of visualized SLN by radionuclide diagnostic methods. The horizontal axis is the number of visualized SLNs in a patient, the vertical axis is the number of patients

Таблица 2/Table 2

Точность методов радионуклидной визуализации в выявлении СЛУ у пациенток с раком молочной железы

Accuracy of radionuclide imaging methods in identifying SLN in patients with breast cancer

Метод визуализации СЛУ/ SLN imaging method	Количество проведенных исследований/ Number of studies performed	Количество пациенток, у которых обнаружены СЛУ/ Number of patients with SLN diagnostics	Количество пациенток, у которых СЛУ были подтверждены гистологически/ The number of patients in whom SLN was confirmed histologically
Планарная сцинтиграфия/ Planar scintigraphy	200	194 (97,0 %)	192 (96,0 %)
ОФЭКТ (в т. ч. ОФЭКТ/КТ)/ SPECT (including SPECT / CT)	181	181 (100 %)	178 (98,3 %)
Гамма-зонд/ Gamma probe	200	192 (96,0 %)	191 (95,5 %)

Таблица 3/Table 3

Диагностическая эффективность радионуклидной визуализации СЛУ у пациенток с раком молочной железы

Diagnostic efficiency of SLN radionuclide imaging in patients with breast cancer

Результат/Result	Метод/Method								
	Планарная сцинтиграфия/ Planar scintigraphy (n=200)			ОФЭКТ (в т. ч. ОФЭКТ/ КТ)/SPECT (including SPECT / CT) (n=181)			Гамма-зонд/ Gamma probe (n=200)		
ИП/TP	192			178			191		
ЛП/FP	2			3			1		
ИО/TN	1			0			2		
ЛО/FN	5			0			6		
Параметры диагностической эффективности/ Parameters of diagnostic efficiency	Значе- ние/ Value	95 % ДИ/ 95 % CI		Значе- ние/ Value	95 % ДИ/ 95 % CI		Значе- ние/ Value	95 % ДИ/ 95 % CI	
Чувствительность/Sensitivity	97,5 %	97,0	98,3	100 %	98,0	100	97,0 %	96,1	97,4
Положительная прогностическая ценность (ППЦ)/ Positive predictive value (PPV)	99,0 %	98,5	99,8	98,3 %	95,2	99,7	99,5 %	98,6	100

рых характерна широкая вариабельность времени визуализации [24]. В нашем исследовании только интрамаммарные СЛУ были выявлены у 3 и вместе с аксиллярными – у 2 пациенток. Также были выявлены только парастернальные лимфоузлы у 4 и совместно с аксиллярными – у 2 пациенток. Все нетипично расположенные СЛУ (неаксиллярные) были четко идентифицированы на ОФЭКТ/КТ томограммах.

Планарные исследования идентифицировали 260 СЛУ у 194 (97,0 %) женщин, в среднем $1,3 \pm 0,7$ (диапазон 0–5 узлов) на пациента. При томографии выявлено 237 «горячих» лимфоузлов у 181 пациентки со средним показателем $1,3 \pm 0,6$ (диапазон 1–5) узла на пациентку. Во время интраоперационной детекции гамма-зондом выявлено 378 СЛУ у 192 (96,0 %) пациенток, $1,9 \pm 1,4$ в среднем (диапазон 0–9) (рис. 5). Метастазы в СЛУ при срочном и плановом гистологическом исследовании обнаружены у 39 (19,5 %) женщин.

При оценке воспроизводимости и соответствия между планарными, томографическими и интраоперационными данными были использованы критерий суммы рангов Уилкоксона и значения к Коэна. Наибольшие значения были обнаружены для планарной и томографической лимфосцинтиграфии (к Коэна: 0,86 95 % ДИ 0,78–0,94; двусторонняя вероятность критерия Уилкоксона $p=0,27$)

В нашем исследовании СЛУ не выявлены при планарной сцинтиграфии у 6, а при интраоперационной радиометрии – у 8 пациенток (табл. 2). Томография помогла визуализировать СЛУ, не обнаруженные при планарном исследовании. Возможно, отсутствие СЛУ при интраоперационной детекции у 8 пациенток было связано с техническими особенностями проведения процедуры. По данным литературы, возможной причиной не визуализации СЛУ могут быть их метастатическое поражение, предшествующая терапия, изменение лимфодренажных путей у пациентов после хирургического вмешательства [25].

В нашем исследовании к положительным результатам визуализации отнесены случаи, при которых СЛУ был обнаружен при лимфографии, а наличие лимфоидной ткани подтверждено гистологически. Если по результатам гистологии в исследуемом препарате не было обнаружено лимфоидной ткани, то результат признавался отрицательным – 3 (1,5 %) случая в нашей выборке. Для ранжирования результатов по группам придерживались следующих критериев:

- истинно положительные (ИП) результаты – случаи позитивной гамма-визуализации СЛУ с обязательным гистологическим подтверждением наличия лимфоидной ткани в одной анатомической области вне зависимости от их поражения опухолью;

- ложноотрицательные (ЛО) результаты – случаи

отсутствия гамма-визуализации СЛУ с обязательным гистологическим подтверждением наличия лимфоидной ткани в одной анатомической области вне зависимости от их поражения опухолью;

- истинно отрицательные (ИО) результаты – случаи отсутствия гамма-визуализации СЛУ в одной анатомической области при положительном визуальном интраоперационном контроле и с отрицательным гистологическим статусом (отсутствие лимфоидной ткани);

- ложноположительные (ЛП) результаты – случаи позитивной гамма-визуализации СЛУ при отсутствии гистологического подтверждения наличия лимфоидной ткани.

Таким образом, данные радионуклидной визуализации были распределены в соответствии с заданными критериями (табл. 3).

Рассмотрев концепцию СЛУ применительно к определению диагностической эффективности, можно предположить, что СЛУ должны обнаруживаться у всех пациенток, а лучшим методом будет тот, который выявит СЛУ у 100 % исследуемых. Это значит, что специфичность будет стремиться к 0, а чувствительность к 100 %, поэтому в нашем исследовании мы оценивали диагностическую эффективность, рассчитывая только чувствительность и положительную прогностическую ценность (ППЦ) методов.

Планарная сцинтиграфия с последующей интраоперационной радиометрией и забором ткани для гистологического исследования были проведены у 200 пациенток, томография по техническим причинам не была проведена у 19 пациенток. При томографическом досмотре были выявлены СЛУ во всех случаях отрицательного результата при планарной сцинтиграфии ($n=6$), что свидетельствует о высокой чувствительности метода.

Результат биопсии СЛУ во многом зависит и от особенностей операционного вмешательства, так, при расположении СЛУ в парастернальной области их удаление производится из-за высокого риска осложнений. В то время как лимфатические узлы из аксиллярной области удаляются даже при слабом счете во время радиометрии. Иногда в удаляемом образце может не оказаться лимфоидной ткани. Чаще это наблюдается при замещении опухолевой тканью за счет метастатического поражения СЛУ. В нашем случае получены результаты отрицательной биопсии у 3 пациентов (не обнаружена лимфоидная ткань в удаляемых образцах). У одной пациентки в исследуемом препарате не найдено лимфоидной ткани, только опухолевая ткань. У второй пациентки имелся избыточный вес. У третьей пациентки по результатам предоперационной лимфосцинтиграфии СЛУ определялся парастернально, во время операции была удалена только клетчатка из подмышечной области.

Поскольку при томографии не было получено отрицательных результатов, ее чувствительность

составила 100 % (ДИ 98,0–100 %, значение двустороннего точного критерия Фишера $p=1$), что превышает чувствительность планарной сцинтиграфии (97,5 %, ДИ 97,0–98,3 %, $p=0,088$) и гамма-зонда (97,0 %, ДИ 96,1–97,4 %, $p=0,004$), используемого для интраоперационной детекции. Значения ППЦ также высоки – 99,0 % (ДИ 98,5–99,8 %) для планарной сцинтиграфии, 98,3 % (ДИ 95,2–99,7 %) для ОФЭКТ и 99,5 % (ДИ 98,6–100 %) для гамма-зонда. Полученные результаты согласуются с данными литературы. Н. Lerman et al. [26] сравнили планарные изображения с ОФЭКТ/КТ в картировании СЛУ рака молочной железы у 157 человек. Выявлено, что 13 % СЛУ определяются только на ОФЭКТ/КТ из-за затемнения от места инъекции, два СЛУ ошибочно интерпретировались как один на планарных изображениях. Неожиданные участки дренажа обнаружены у 33 пациенток. В общей сложности 4 % «горячих» очагов на планарных изображениях были ложными.

И.М. Ploeg et al. [27] показали, что ОФЭКТ/КТ визуализировала СЛУ у 53 % пациенток, у которых планарная лимфосцинтиграфия была отрицательной. Отсутствие визуализации СЛУ было выше при избыточном весе и у пожилых пациенток. Н. Lerman et al. [26] определили, что частота ложноотрицательных результатов планарных изображений для 122 пациенток с избыточным весом и ожирением составила 28 %, что выше, чем в общей изучаемой популяции. Уровень ложноотрицательных результатов ОФЭКТ/КТ у этих 122 пациенток также был выше – 11 %, однако этот метод позволил выявить «горячие» узлы еще у 18 (53 %) пациенток и имел статистически более высокий уровень обнаружения СЛУ у пациенток с избыточным весом. Добавление ОФЭКТ или ОФЭКТ/КТ к протоколу сбора данных для лимфосцинтиграфии у тучных пациенток с раком молочной железы улучшает идентификацию СЛУ и предотвращает ложноположительные результаты интерпретации.

Сообщается о том, что 4–17 % очагов накопления на планарных снимках классифицируются с помощью ОФЭКТ/КТ как области поверхностного загрязнения [20, 28]. И.М. Ploeg et al. ограничили использование ОФЭКТ/КТ трудными и необычными случаями, потому что считают планарную лимфосцинтиграфию достаточной техникой предоперационного картирования для большинства пациенток [29]. Они добавили «невизуализацию» как новое показание для гибридного исследова-

ния, потому что ОФЭКТ/КТ определяла дренаж у пациенток, у которых планарные изображения не выявили СЛУ.

Добавление ОФЭКТ позволяет избежать ошибок интерпретации планарной лимфосцинтиграфии. Так, два близко расположенных СЛУ могут быть четко разделены на изображениях ОФЭКТ. СЛУ обладают слабой активностью на планарных изображениях, если расположены глубоко, но ОФЭКТ позволяет их четко идентифицировать. ОФЭКТ/КТ может уменьшить количество ложноположительных результатов путем различения узловых и экстранодальных очагов, например, при радиоактивном загрязнении кожи, которое можно принять за «горячие» лимфатические узлы на планарных изображениях [30].

Помимо рака молочной железы, методика ОФЭКТ/КТ широко используется для обнаружения СЛУ при меланоме, опухолях головы и шеи, раке полового члена, шейки матки, вульвы и др. [31–35]. ОФЭКТ/КТ позволяет увеличить выявляемость СЛУ, так как к сцинтиграфическому картированию добавляется анатомическая визуализация КТ (как правило, низкодозовая) [36]. Принцип гибридного метода ОФЭКТ/КТ-сканирования не требует осуществления дополнительных манипуляций с пациенткой, поэтому общее время исследования существенно не увеличивается.

Заключение

Радионуклидная визуализация СЛУ с лимфотропным РФП у пациенток с раком молочной железы является эффективным и надежным методом навигации при хирургическом вмешательстве для выполнения биопсии. ОФЭКТ и ОФЭКТ/КТ позволяют идентифицировать большее количество лимфоузлов, чем планарная сцинтиграфия, улучшая их анатомическую локализацию и снижая частоту ложноотрицательных результатов. Диагностическая эффективность ОФЭКТ/КТ и ОФЭКТ, предположительно, превосходит планарную лимфосцинтиграфию и интраоперационную навигацию в выявлении СЛУ ввиду лучшей чувствительности (100, 97,5 и 97,0 % соответственно) при схожей ППЦ (98,3, 99,0 и 99,5 % соответственно) метода. Поверхностное загрязнение, расположение лимфоузлов рядом с местом инъекции и избыточный вес пациентов – ситуации, в которых предпочтительнее использовать томографию, чем планарную сцинтиграфию.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Chen S.L. Surgical Lymphadenectomy: The Impact of Sentinel Node Mapping in Breast Cancer. *Crit Rev Oncog*. 2016; 21(1–2): 19–23. doi: 10.1615/CritRevOncog.2016016174.
2. Cabanas R.M. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer*. 1977; 39(2): 456–66. doi: 10.1002/1097-0142(197702)39:2<456::aid-cncr2820390214>3.0.co;2-i.
3. Ross M.I., Reintgen D., Balch C.M. Selective lymphadenectomy: emerging role for lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the management of early stage melanoma. *Semin Surg Oncol*. 1993; 9(3): 219–23.

4. Cox C.E., Pendas S., Cox J.M., Joseph E., Shons A.R., Yeatman T., Ku N.N., Lyman G.H., Berman C., Haddad F., Reintgen D.S. Guidelines for sentinel node biopsy and lymphatic mapping of patients with breast cancer. *Ann Surg*. 1998; 227(5): 645–51. doi: 10.1097/00000658-199805000-00005.
5. Giuliano A.E., Kirgan D.M., Guenther J.M., Morton D.L. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg*. 1994; 220: 391–8. doi: 10.1097/00000658-199409000-00015.
6. Giuliano A.E., Hunt K.K., Ballman K.V., Beitsch P.D., Whitworth P.W., Blumencranz P.W., Leitch A.M., Saha S., McCall L.M., Morrow M. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer

- and sentinel node metastasis: A randomized clinical trial. *JAMA*. 2011; 305: 569–75. doi: 10.1001/jama.2011.90.
7. Krag D., Weaver D., Ashikaga T., Moffat F., Klimberg V.S., Shriver C., Feldman S., Kusminsky R., Gadd M., Kuhn J., Harlow S., Beitsch P. The sentinel node in breast cancer—a multicenter validation study. *N Engl J Med*. 1998; 339(14): 941–6. doi: 10.1056/NEJM199810013391401.
 8. Wang Z., Wu L.C., Chen J.Q. Sentinel lymph node biopsy compared with axillary lymph node dissection in early breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2011; 129: 675–89.
 9. Rao R., Euhus D., Mayo H.G., Balch C. Axillary node interventions in breast cancer: a systematic review. *JAMA*. 2013; 310: 1385–94.
 10. Liberman L., Cody H.S., Hill A.D., Rosen P.P., Yeh S.D., Akhurst T., Morris E.A., Abramson A.F., Borgen P.I., Dershaw D.D. Sentinel lymph node biopsy after percutaneous diagnosis of nonpalpable breast cancer. *Radiology*. 1999; 211: 835–44. doi: 10.1148/radiology.211.3.r99jn28835.
 11. Whitman G.J., Alhalawani R.H., Karbasian N., Krishnamurthy R. Sentinel Lymph Node Evaluation: What the Radiologist Needs to Know. *Diagnostics (Basel)*. 2019; 9(1): 12. doi: 10.3390/diagnostics9010012.
 12. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Скурдин В.С. Опыт разработки инновационных радиофармпрепаратов в Томском НИИ онкологии. *Сибирский онкологический журнал*. 2015; 2: 45–7. [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; 2: 45–7. (in Russian)].
 13. Chernov V.I., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Medvedeva A.A., Lyapunov A.Yu., Bragina O.D., Varlamova N.V., Skuridin V.S. Experimental study of 99mTc-aluminum oxide use for sentinel lymph nodes detection. *AIP Conference Proceedings*. 2016.
 14. Ермаков А.В., Зикиряходжаев А.Д., Лазутина Т.Н., Леонтьев А.В., Волченко Н.Н., Беляков М.М., Каприн А.Д., Костин А.А. Методика непрямого лимфосцинтиграфии с использованием радиофармпрепарата «Технефит 99mTc» для определения путей лимфооттока и биопсии сторожевых лимфатических узлов при хирургическом лечении больных раком молочной железы и меланомой кожи. *Злокачественные опухоли*. 2016; (3): 67–79. doi.org/10.18027/2224-5057-2016-3-67-79 [Ermakov A.V., Zikiryakhodjaev A.D., Lazutina T.N., Leontiev A.V., Volchenko N.N., Belyakov M.M., Kaprin A.D., Kostin A.A. Sentinel lymph nodes biopsy in early breast cancer and melanoma patients using «Tehnefit 99mTc» radioactive colloid technetium 99mTc. *Malignant tumors*. 2016; (3): 67–79. doi.org/10.18027/2224-5057-2016-3-67-79. (in Russian)].
 15. Roumen R.M., Geuskens L.M., Valkenburg J.G. In search of the true sentinel node by different injection techniques in breast cancer patients. *Eur. J. Surg. Oncol.* 1999; 25: 347–51. doi: 10.1053/ejso.1999.0655.
 16. Klimberg V.S., Rubio I.T., Henry R., Cowan C., Colvert M., Korourian S. Subareolar versus peritumoral injection for location of the sentinel lymph node. *Ann. Surg.* 1999; 229: 860–4. doi: 10.1097/0000658-199906000-00013.
 17. Argon A.M., Duygun U., Acar E., Daglitz G., Yenjay L., Zekioglu O., Kapkas M. The use of periareolar intradermal Tc-99m tin colloid and peritumoral intraparenchymal isosulfan blue dye injections for determination of the sentinel lymph node. *Clin Nucl Med*. 2006; 31(12): 795–800. doi: 10.1097/01.rlu.0000246855.80027.b7.
 18. Caruso G., Cipolla C., Costa R., Morabito A., Latteri S., Fricano S., Salerno S., Latteri M.A. Lymphoscintigraphy with peritumoral injection versus lymphoscintigraphy with subdermal periareolar injection of technetium-labeled human albumin to identify sentinel lymph nodes in breast cancer patients. *Acta Radiol.* 2014; 55(1): 39–44. doi: 10.1177/0284185113493775.
 19. Beitsch P.D., Clifford E., Whitworth P., Abarca A. Improved lymphatic mapping technique for breast cancer. *Breast J* 2001; 7: 219–22. doi: 10.1046/j.1524-4741.2001.20120.x.
 20. Goyal A., Newcombe R.G., Chhabra A., Mansel R.E.; ALMANAC Trialists Group. Factors affecting failed localisation and false-negative rates of sentinel node biopsy in breast cancer—results of the ALMANAC validation phase. *Breast Cancer Res Treat*. 2006; 99(2): 203–8. doi: 10.1007/s10549-006-9192-1.
 21. van der Ploeg I.M., Valdés Olmos R.A., Kroon B.B., Nieweg O.E. The Hybrid SPECT/CT as an additional lymphatic mapping tool in patients with breast cancer. *World J Surg.* 2008; 32(9): 1930–4. doi: 10.1007/s00268-008-9618-5.
 22. Абдулова Л.Ю., Крылов А.С., Рыжков А.Д., Николаева Е.А., Захарова Т.В., Билик М.Е., Барышников К.А. Эффективность методов радионуклидной визуализации сторожевого лимфоузла у пациентов с меланомой кожи. *Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия*. 2021; 4(2): 37–50. doi: 10.37174/2587-7593-2021-4-2-37-50 [Abdulova L.Y., Krylov A.S., Ryzhkov A.D., Nikolaeva E.A., Zaharova T.V., Bilik M.E., Baryshnikov K.A. The Efficacy of Radionuclide Imaging Techniques at Sentinel Node Identification in Patients with Cutaneous Melanoma. *Journal of Oncology: Diagnostic Radiology and Radiotherapy*. 2021; 4(2): 37–50. doi: 10.37174/2587-7593-2021-4-2-37-50. (in Russian)].
 23. Рыжков А.Д., Билик М.Е., Крылов А.С., Афанасьева К.В., Гончаров М.О., Ширяев С.В., Петровский А.В., Литвинов Р.П., Хакуринова Н.Д. Сцинтиграфия и ОФЭКТ/КТ сторожевых лимфатических узлов в планировании оперативного вмешательства при раке молочной железы. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2018; 63(4): 50–7. doi: 10.12737/article_5b83bc2b3c3ef1.05312079 [Ryzhkov A.D., Bilik M.E., Krylov A.S., Afanasyeva K.V., Goncharov M.O., Shiryayev S.V., Petrovsky A.V., Litvinov R.P., Khakurinova N.D. Scintigraphy and SPECT / CT of sentinel lymph nodes in planning surgery for breast cancer. *Medical radiology and radiation safety*. 2018; 63(4): 50–7. doi: 10.12737/article_5b83bc2b3c3ef1.05312079. (in Russian)].
 24. Estourgie S.H., Tanis P.J., Nieweg O.E., Valdés Olmos R.A., Rutgers E.J., Kroon B.B. Should the hunt for internal mammary chain sentinel nodes begin? An evaluation of 150 breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10(8): 935–41. doi: 10.1245/aso.2003.02.015.
 25. Brenot-Rossi I., Houvenaeghel G., Jacquemier J., Bardou V.J., Martino M., Hassan-Sebbag N., Pasquier J. Nonvisualization of axillary sentinel node during lymphoscintigraphy: is there a pathologic significance in breast cancer? *J Nucl Med*. 2003; 44(8): 1232–7.
 26. Lerman H., Lievshitz G., Zak O., Meiser U., Schneebaum S., Even-Sapir E. Improved sentinel node identification by SPECT/CT in overweight patients with breast cancer. *J Nucl Med*. 2007; 48(2): 201–6.
 27. van der Ploeg I.M., Olmos R.A., Kroon B.B., Rutgers E.J., Nieweg O.E. The hidden sentinel node and SPECT/CT in breast cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009; 36(1): 6–11. doi: 10.1007/s00259-008-0910-2.
 28. Husarik D.B., Steinert H.C. Single-photon emission computed tomography/computed tomography for sentinel node mapping in breast cancer. *Semin Nucl Med*. 2007; 37(1): 29–33. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2006.08.001.
 29. Even-Sapir E. Sentinel Node Scintigraphic Mapping Using SPECT/CT. Eds. O. Israel, S.J. Goldsmith. *Hybrid SPECT/CT imaging in clinical practice*. New York, NY: Taylor and Francis Group; 2006: 121–39.
 30. Stephan K.H., Sandro J.S. SPECT/CT for Lymphatic Mapping of Sentinel Nodes in Early Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity and Oropharynx. *Int J Mol Imaging*. 2011; 2011: 106068. doi: 10.1155/2011/106068.
 31. Vermeeren L., Valdés Olmos R.A., Meinhardt W., Bex A., van der Poel H.G., Vogel W.V., Sivo F., Hoefnagel C.A., Horenblas S. Value of SPECT/CT for detection and anatomic localization of sentinel lymph nodes before laparoscopic sentinel node lymphadenectomy in prostate carcinoma. *J Nucl Med*. 2009; 50(6): 865–70. doi: 10.2967/jnumed.108.060673.
 32. Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Синилкин И.Г., Чернов В.И., Ляпунов А.Ю. Оптимизация подходов к выбору объема хирургического лечения у больных раком шейки матки (роль исследования сторожевых лимфоузлов). *Вопросы онкологии*. 2016. 62(6): 807–11. [Chernyshova A.L., Kolomiets L.A., Sinilkin I.G., Chernov V.I., Lyapunov A.Yu. Optimization of the extent of surgery in organ-preserving treatment for invasive cervical cancer (the role of sentinel lymph nodes study). *Problems in Oncology*. 2016. 62(6): 807–11. (in Russian)].
 33. Beneder C., Fuechsel F.G., Krause T., Kuhn A., Mueller M.D. The role of 3D fusion imaging in sentinel lymphadenectomy for vulvar cancer. *Gynecol Oncol*. 2008; 109(1): 76–80. doi: 10.1016/j.ygyno.2007.11.045.
 34. Кржиwицкий П.И., Канаев С.В., Новиков С.Н., Новиков Р.В., Семенов И.И., Пономарева О.И., Ильин Н.Д., Петрова А.С. Применение ОФЭКТ-КТ для визуализации сигнальных лимфатических узлов и путей лимфооттока у больных раком предстательной железы. *Вопросы онкологии* 2016; 2: 272–6. [Krzhivitskii P.I., Kanaev S.V., Novikov S.N., Novikov R.V., Semenov I.I., Ponomareva O.I., Ilyin N.D., Petrova A.S. Application of SPECT-CT for visualization of sentinel lymph nodes and lymph drainage pathways in patients with prostate cancer. *Problems in Oncology*. 2016; 2: 272–6. (in Russian)].
 35. Novicov S., Krzhivitskii P., Kanaev S., Krivorotko P., Ilin N., Popova N. SPECT-CT localization of axillary sentinel lymphnodes for radiotherapy of early breast cancer. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2019; 24(6): 688–94. doi:10.1016/j.rpor.2019.10.003.
 36. Novicov S.N., Krzhivitskii P.I., Melnik Y.S., Valitova A.A., Bryantseva Z.V., Akulova I.A., Kanaev S.V. Atlas of sentinel lymph nodes in early breast cancer using single-photon emission computed tomography: implication for lymphatic contouring. *Rad Oncol J*. 2021; 39(1): 8–14. doi:10.3857/rj.2020.00871.

Поступила/Received 10.01.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 14.03.2022

Принята к публикации/Accepted 21.03.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Николаева Екатерина Андреевна, клинический ординатор лаборатории радиоизотопной диагностики отдела радиоизотопной диагностики и терапии, НИИ клинической и экспериментальной радиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-7954-2560.

Крылов Александр Сергеевич, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией радиоизотопной диагностики отдела радиоизотопной диагностики и терапии, НИИ клинической и экспериментальной радиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: krilovas@rambler.ru. SPIN-код: 4254-3930. Author ID (Scopus): 57192816516. ORCID: 0000-0002-8476-7879.

Рыжков Алексей Дмитриевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории радиоизотопной диагностики отдела радиоизотопной диагностики и терапии, НИИ клинической и экспериментальной радиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6472-4859. ORCID: 0000-0002-9571-801X.

Батыров Хасан Хасанбиевич, врач-радиолог лаборатории радиоизотопной диагностики отдела радиоизотопной диагностики и терапии, НИИ клинической и экспериментальной радиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-3057-8551.

Пароконная Анастасия Анатольевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник хирургического отделения № 15 (комбинированного лечения опухолей молочной железы), НИИ клинической онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-1710-0772.

Билик Мария Евгеньевна, врач-радиолог лаборатории радиоизотопной диагностики отдела радиоизотопной диагностики и терапии НИИ клинической и экспериментальной радиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4653-5942. ORCID: 0000-0002-2592-685X.

Захарова Татьяна Вячеславовна, врач-радиолог лаборатории радиоизотопной диагностики отдела радиоизотопной диагностики и терапии, НИИ клинической и экспериментальной радиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-7678-1454.

Светлякова Анастасия Викторовна, клинический ординатор лаборатории радиоизотопной диагностики отдела радиоизотопной диагностики и терапии, НИИ клинической и экспериментальной радиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-1308-7646.

Пронин Артем Игоревич, кандидат медицинских наук, руководитель отдела радиоизотопной диагностики и терапии, заведующий отделением позитронной эмиссионной томографии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2833-8191. ORCID: 0000-0003-1632-351X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Николаева Екатерина Андреевна: проведение исследования, написание текста рукописи, получение и анализ данных, обзор публикаций по теме статьи.

Крылов Александр Сергеевич: проведение исследования, написание текста рукописи, получение и анализ данных, обзор публикаций по теме статьи.

Рыжков Алексей Дмитриевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Батыров Хасан Хасанбиевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Пароконная Анастасия Анатольевна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Билик Мария Евгеньевна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Захарова Татьяна Вячеславовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Светлякова Анастасия Викторовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Пронин Артем Игоревич: 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.

Информированное согласие

Все пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.

ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina A. Nikolaeva, MD, Clinical Resident of Nuclear Medicine Laboratory, Department of Nuclear Medicine and Therapy, Research Institute of Clinical and Experimental Radiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-7954-2560.

Alexandr S. Krylov, MD, PhD, Head of Nuclear Medicine Laboratory, Department of Nuclear Medicine and Therapy, Research Institute of Clinical and Experimental Radiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). E-mail: krilovas@rambler.ru. Author ID (Scopus): 57192816516. ORCID: 0000-0002-8476-7879.

Alexey D. Ryzhkov, MD, DSc, Leading Researcher, Radiologist of Nuclear Medicine Laboratory, Department of Nuclear Medicine and Therapy, Research Institute of Clinical and Experimental Radiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9571-801X.

Khasan Kh. Batyrov, MD, Radiologist of Nuclear Medicine Laboratory, Department of Nuclear Medicine and Therapy, Research Institute of Clinical and Experimental Radiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-3057-8551.

Anastasia A. Parokonnaya, MD, DSc, Senior Researcher, Department of Surgery № 15 (Combination Treatment of Breast Cancer), Research Institute of Clinical Oncology N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-1710-0772.

Maria E. Bilik, MD, Radiologist of Nuclear Medicine Laboratory, Department of Nuclear Medicine and Therapy, Research Institute of Clinical and Experimental Radiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-2592-685X.

Tatiana V. Zakharova, MD, Radiologist of Nuclear Medicine Laboratory, Department of Nuclear Medicine and Therapy, Research Institute of Clinical and Experimental Radiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-7678-1454.

Anastasia V. Svetlyakova, MD, Clinical Resident of Nuclear Medicine Laboratory, Department of Nuclear Medicine and Therapy, Research Institute of Clinical and Experimental Radiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-1308-7646.

Artyem I. Pronin, MD, PhD, Head of the Department of Nuclear Medicine Image and Therapy, Head of the Department of Positron Emission Tomography, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-1632-351X.

AUTHOR CONTRIBUTION

Ekaterina A. Nikolaeva: writing of the manuscript, data collection and analysis, review of publications.

Alexandr S. Krylov: writing of the manuscript, data collection and analysis, review of publications.

Alexey D. Ryzhkov: data analysis and interpretation, critical revision with important intellectual content.

Khasan Kh. Batyrov: data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Anastasia A. Parokonnaya: data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Maria E. Bilik: data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Tatiana V. Zakharova: data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Anastasia V. Svetlyakova: data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Artyem I. Pronin: research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Informed consent

All patients signed informed consent to participate in the study.

Для цитирования: Коваленко Н.В., Жаворонкова В.В., Иванов А.И., Постолов М.П., Толстомятов С.Е., Джафаров Д.Д., Павловская П.М., Суворов В.А. Рак желудка у пациентов моложе и старше 50 лет: характеристики опухолевого процесса, анализ выживаемости. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 24–37. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-24-37.

For citation: Kovalenko N.V., Zhavoronkova V.V., Ivanov A.I., Postolov M.P., Tolsopyatov S.E., Dzhafarov D.D., Pavlovskaya P.M., Suvorov V.A. Gastric cancer in patients aged younger and older than 50 years: characteristics of gastric cancer and survival analysis. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 24–37. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-24-37.

РАК ЖЕЛУДКА У ПАЦИЕНТОВ МОЛОЖЕ И СТАРШЕ 50 ЛЕТ: ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА, АНАЛИЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ

Н.В. Коваленко^{1,2}, В.В. Жаворонкова^{1,2}, А.И. Иванов^{1,2}, М.П. Постолов^{1,2},
С.Е. Толстомятов^{1,2}, Д.Д. Джафаров¹, П.М. Павловская², В.А. Суворов^{1,2}

ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер», г. Волгоград, Россия¹
Россия, 400138, г. Волгоград, ул. им. Землячки, 78. E-mail: oncologist.suvorov@gmail.com¹
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Волгоград, Россия²
Россия, 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1²

Аннотация

Цель исследования – изучить особенности рака желудка у больных моложе и старше 50 лет, получивших противоопухолевое лечение с хирургическим компонентом, и установить предикторы прогноза общей выживаемости для каждой из групп. **Материал и методы.** Проведено ретроспективное исследование непосредственных и отдаленных результатов хирургического лечения пациентов с раком желудка в ООХМП 5 ГБУЗ «ВОКОД» за три года. Выборка разделена на две группы: основную (50 лет и моложе) и контрольную (51 год и старше). **Результаты.** Из 350 пациентов, вошедших в анализ, 34 (9,71 %) были отнесены к основной группе и 316 (90,29 %) к контрольной. Заболевание у более молодых пациентов чаще протекало бессимптомно ($p < 0,001$), они чаще имели опухоли с диффузным типом роста ($p = 0,001$). Различий в объеме хирургического лечения между группами не отмечено ($p = 0,613$). Общая выживаемость была ниже в контрольной группе ($p = 0,002$). Многофакторный анализ позволил установить, что прогноз для всей совокупности пациентов ухудшается при принадлежности пациентов к контрольной группе ($HR = 12,71$), метастазах в регионарные лимфатические узлы ($HR = 2,64$), отдаленных метастазах ($HR = 1,83$), III/IV стадии заболевания ($HR = 2,01$), лимфоваскулярной ($HR = 3,15$) и периневральной инвазии ($HR = 2,46$), а также осложнениях после хирургического лечения ($HR = 2,12$). Фактором, улучшающим прогноз, явилось проведение адъювантной химиотерапии ($HR = 0,35$). **Выводы.** Пациенты с раком желудка моложе и старше 50 лет имеют ряд клинико-патологических особенностей, обуславливающих прогноз выживаемости.

Ключевые слова: рак желудка, возраст больных, прогностические модели, анализ выживаемости.

GASTRIC CANCER IN PATIENTS AGED YOUNGER AND OLDER THAN 50 YEARS: CHARACTERISTICS OF GASTRIC CANCER AND SURVIVAL ANALYSIS

N.V. Kovalenko^{1,2}, V.V. Zhavoronkova^{1,2}, A.I. Ivanov^{1,2}, M.P. Postolov^{1,2},
S.E. Tolsopyatov^{1,2}, D.D. Dzhafarov¹, P.M. Pavlovskaya², V.A. Suvorov^{1,2}

Volgograd Regional Clinical Cancer Center, Volgograd, Russia¹
78, Zemlyachki St., 400138, Volgograd, Russia. E-mail: oncologist.suvorov@gmail.com¹
Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia²
1, Pavshikh Bortsov Sq., 400131, Volgograd, Russia²

Abstract

Objective. To study clinical and pathological characteristics of gastric cancer in patients aged younger and older than 50 years, who received anticancer treatment including surgery, as well as to identify prognostic factors for overall survival of these patients. **Material and Methods.** A retrospective study of surgical treatment outcomes was conducted in 350 gastric cancer patients, who were divided into 2 groups. The study group included 34 (9.71 %) patients aged 50 years and younger and the control group consisted of 316 (90.29 %) patients aged 51 years and older. **Results.** The analysis of treatment outcomes and survival rates was carried out. The diffuse-type gastric cancer was more frequently diagnosed in younger than in older patients ($p < 0.001$), and asymptomatic disease often present in younger patients ($p < 0.001$). There were no differences in the extent of surgery between the groups ($p = 0.613$). The overall survival rate was lower in the control group than in the study group ($p = 0.002$). The multivariate analysis revealed that a worse prognosis was observed in patients of the control group ($HR = 12.71$), with regional lymph node metastases ($HR = 2.64$), distant metastases ($HR = 1.83$), III/IV stage of the disease ($HR = 2.01$), lymphovascular ($HR = 3.15$) and perineural invasion ($HR = 2.46$), as well as with postoperative complications ($HR = 2.12$). Adjuvant chemotherapy improved the disease prognosis ($HR = 0.35$). **Conclusion.** Specific clinical and pathological features predicted survival of gastric cancer patients aged younger and older 50 years.

Key words: gastric cancer, age of patients, prognostic models, survival analysis.

Введение

Рак желудка (РЖ) занимает 5-е место в структуре всех злокачественных новообразований (ЗНО) в мире [1]. В Российской Федерации (РФ) в 2019 г. выявлено 30662 новых случая ЗНО желудка, скончались от прогрессирования заболевания 21545 человек [2]. Рак желудка чаще встречается среди людей старше 50 лет [3], но отмечается рост числа выявленных случаев заболевания у молодых пациентов. На возраст до 50 лет приходится 2,7–15 % [4].

Изучение РЖ у молодых пациентов, кроме социальной актуальности, вызывает интерес и из-за взаимосвязи заболевания в этом возрасте с генетическими синдромами, к которым относятся наследственный диффузный РЖ, синдром Ли–Фраумени, семейный аденоматозный полипоз, синдром Линча и синдром Пейтц–Егерса [5, 6]. Механизмы развития, клинко-патологические черты, прогноз, методы профилактики и лечения РЖ у молодых пациентов недостаточно изучены. До сих пор не определено, нужны ли данным пациентам отдельные лечебные алгоритмы [7]. Это обусловлено не только малой процентной долей заболевания в данной возрастной группе, но и этно-географическими различиями. Последнее обстоятельство объясняет актуальность изучения особенностей РЖ у молодых пациентов в сравнительном аспекте со старшей возрастной группой.

Цель исследования – изучить особенности рака желудка у больных моложе и старше 50 лет, получивших противоопухолевое лечение с хирургическим компонентом, и установить предикторы прогноза общей выживаемости.

Материал и методы

Проведено ретроспективное одноцентровое нерандомизированное исследование, в которое включены данные пациентов, оперированных в онкологическом отделении хирургических мето-

дов лечения № 5 (ООХМЛ № 5) ГБУЗ «ВОКОД» с 01.04.2018 по 01.04.2021. Критерии включения пациентов в исследование: гистологически верифицированный РЖ; наблюдение за пациентом в ГБУЗ «ВОКОД» как минимум в течение 3 мес после операции. Критерии исключения: пациенты, история болезни которых была недоступна для исследования.

Дооперационное обследование включало стандартный набор клинко-лабораторных и инструментальных тестов: физикальное обследование, проведение лабораторных тестов, ЭГДС с мультифокальной биопсией, рентгеноскопию желудка, КТ органов грудной и брюшной полости с внутривенным болюсным контрастированием. По показаниям, при подозрении на отдаленное метастазирование выполняли МРТ и ПЭТ-КТ. В случаях сомнительной резектабельности опухоли или подозрения на диссеминацию выполняли диагностическую лапароскопию с биопсией. Все пациенты на дооперационном этапе консультировались терапевтом и другими специалистами для оценки коморбидности. С целью категоризации сопутствующих заболеваний использовали индекс коморбидности Charlson–Deyo [8]. Операции выполнялись с использованием рекомендаций JGCA [9] девятью врачами-онкологами ООХМЛ № 5 и сотрудниками кафедры онкологии ВолгГМУ. Для стадирования использована классификация TNM 7-го пересмотра. Для категоризации послеоперационных осложнений использовали классификацию Clavien–Dindo [10]. Послеоперационная летальность рассматривалась как смерть в стационаре при той же госпитализации, что и операция.

Наблюдение за пациентами проводили 1 раз в 3 мес в течение первого года после операции, 1 раз в 6 мес в течение второго года, а начиная с третьего года – 1 раз в год, при отсутствии прогрессирования заболевания. В контрольное обследование входил осмотр врача-онколога, лабораторные

Таблица 1/Table 1

Клиническая характеристика пациентов
Clinical characteristics of patients

Характеристики/Characteristics	Группы/Groups		p-value
	<50 лет/<50 years (n=34, 9,7 %)	>50 лет/>50 years (n=316, 90,3 %)	
Пол/Gender			
Мужчины/Men	16 (47,1 %)	204 (64,6 %)	0,045*
Женщины/Women	18 (52,9 %)	112 (35,4 %)	
Симптомы болезни/Symptoms of the disease			
Бессимптомное течение/Asymptomatic disease	23 (67,6 %)	58 (18,4 %)	<0,001*
Наличие симптомов/Evidence of symptoms	11 (32,4 %)	258 (81,6 %)	
Длительность болезни до операции, мес/ Duration of the disease before surgery, months Me [Q1–Q3]	2 [1–4]	8 [5–10]	<0,001*
Осложнения опухоли/Complications of tumor			
Неосложненное течение/Uncomplicated disease	27 (79,4 %)	201 (63,6 %)	0,066
Осложненное течение/Uncomplicated disease	7 (20,6 %)	115 (36,4 %)	
Кровотечение/Bleeding	1 (2,9 %)	40 (12,7 %)	0,154
Стеноз желудка/Stomach stenosis	4 (11,8 %)	56 (17,7 %)	0,381
Перфорация/Perforation	–	2 (0,6 %)	0,642
Дисфагия/Dysphagia	1 (2,9 %)	31 (9,8 %)	0,342
Индекс коморбидности Charlson–Deyo/ Charlson–Deyo comorbidity index			
0–1	29 (85,3 %)	221 (69,9 %)	0,06
>1	5 (14,7 %)	95 (30,1 %)	
ECOG			
0	23 (67,6 %)	68 (21,5 %)	<0,001* (p0<0,001* p1=0,002*)
1	8 (23,5 %)	163 (51,6 %)	
2	3 (8,8 %)	68 (21,5 %)	
3	–	17 (5,4 %)	
Локализация опухоли/Tumor localization			
1. Кардия/Cardia	4 (11,8 %)	40 (12,7 %)	общ.<0,001* (p2<0,001* p4=0,008* p5=0,029*)
2. Тело желудка/Body of stomach	1 (2,9 %)	126 (39,9 %)	
3. Антральный отдел/Antrum	12 (35,3 %)	82 (25,9 %)	
4. Привратник/Pylorus	9 (26,5 %)	34 (10,8 %)	
5. Тотальный рак/Total cancer	8 (23,5 %)	34 (10,8 %)	

Примечание: * – различия показателей статистически значимы (p<0,05).

Note: * – differences are statistically significant (p<0.05).

тесты, ЭГДС, рентгенография ОГК, УЗИ органов брюшной полости. При наличии новых симптомов выполняли КТ органов брюшной и грудной полости, МРТ головного мозга, ПЭТ-КТ – по показаниям. Если пациент не обращался для контрольного обследования 12 и более мес после очередного визита, считали его выпавшим из наблюдения.

Информация о пациентах внесена в базу Microsoft Excel 2019. Статистический анализ проведен с помощью программы SPSS версии 26 (SPSS Inc, Chicago, IL). Для оценки нормальности распределения количественных данных использовали критерий Шапиро–Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерий Колмогорова–Смирнова

(при числе исследуемых более 50), а также показатели асимметрии и эксцесса. В случае описания нормально распределенных количественных показателей проводили расчет средних арифметических (М) и стандартных отклонений (SD), границ 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Количественные признаки, распределение которых отличалось от нормального, анализировали при помощи медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Номинальные признаки описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Для сравнения количественных признаков использовали U-критерий Манна-Уитни. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критериев χ^2 Пирсона и точного теста Фишера. В случае анализа четырехпольных таблиц при ожидаемом явлении хотя бы в одной ячейке менее 10, рассчитывался критерий χ^2 с поправкой Йейтса. При анализе многопольных таблиц использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Бенджамини-Хохберга. Анализировали общую выживаемость (ОВ) от даты операции до последней даты наблюдения или летального исхода. Оценку функции ОВ пациентов проводили по методу Каплан-Мейера. Различия ОВ в группах определяли с применением log-rank теста. Анализ факторов, влияющих на ОВ, проводили по методу регрессии Кокса.

Результаты

За анализируемый период времени в ООХМЛ 5 ГБУЗ «ВОКОД» хирургическое лечение по поводу рака желудка проведено 523 больным, из которых симптоматическое лечение получили 173 пациента. В остальных случаях проведены радикальные – 324 (92,57 %) и паллиативные вмешательства – 26 (7,43 %) больным. В исследовании пациентов разделили на 2 группы, в соответствии с рекомендациями International Gastric Cancer Linkage Consortium – 2020 [6]. Ведущим критерием включения в основную группу был возраст до 50 лет, в которую вошло 34 (9,7 %) пациента (Me возраста – 45 лет, Q1-Q3 – 41–49 лет), в контрольную группу – 316 (90,3 %) пациентов (Me возраста – 65 лет, Q1-Q3 – 61–70 лет) (табл. 1–3). Характеристика послеоперационных осложнений Grade III/V, стратифицированных в соответствии со шкалой Clavien-Dindo, представлена в табл. 4. Пациентам не проводилась неоадьювантная химиотерапия. Адьювантную полихимиотерапию (аПХТ) получили 170 (48,6 %) больных, из них 17 (4,9 %) – в основной и 153 (43,7 %) – в контрольной группе. Всех пациентов, оперированных за указанный период, наблюдали от 1 до 36 мес. Медиана наблюдения составила 12 мес [IQR 3–18].

Прогрессирование заболевания установлено у 90 (25,7 % от всей совокупности) пациентов. Местный рецидив выявлен у 15 (4,3 %) пациентов, отдаленные метастазы – у 72 (20,6 %) больных. Сочетание местного рецидива и отдаленного мета-

стазирования – у 13 (3,7 %) пациентов. При этом у пациентов моложе 50 лет случаев изолированных местных рецидивов не выявлено. Отдаленное метастазирование наблюдалось у 7 (87,5 %) больных. Сочетание местного рецидива и отдаленных метастазов зарегистрировано у 1 (12,5 %) пациента. У больных старше 50 лет местный рецидив выявлен в 15 (16,3 %) случаях, отдаленные метастазы – у 65 (70,7 %) больных, сочетание местного рецидива и отдаленного метастазирования – у 12 (13,04 %) пациентов.

За время наблюдения зафиксировано 87 (24,8 %) летальных исходов. Из них от прогрессирования опухолевого процесса – у 68 (19,4 %), от неонкологических заболеваний – у 19 (5,4 %) больных. Выбыли из-под наблюдения 64 (18,3 %) пациента. Среди пациентов основной группы за время наблюдения зафиксировано 2 (5,88 %) смерти от прогрессирования опухоли, выбыли из-под наблюдения 12 (35,29 %) пациентов. В контрольной группе от прогрессирования рака умерли 66 (20,89 %) пациентов, от неонкологического заболевания – 19 (6,01 %), выбыли из-под наблюдения 52 (16,46 %) больных. Медиана выживаемости за период наблюдения не достигнута. Средний срок развития исхода составлял $26,09 \pm 0,88$ мес (95 % ДИ 24,36–27,82 мес).

Нами проведена оценка вероятности смерти пациентов в зависимости от времени, прошедшего от операции (табл. 5). Риск смерти у пациентов, проживших 27 мес после операции, достигал $41,37 \pm 4,3$ %, после чего данный показатель не демонстрировал тенденции к изменению в течение всего оставшегося периода наблюдения. Однолетняя общая выживаемость пациентов составляла $79,93 \pm 2,4$ %, двухлетняя – $62,42 \pm 3,7$ %, а трехлетняя – $58,63 \pm 4,3$ %.

Анализ кривой Каплан-Мейера, построенной для всей совокупности пациентов, показал схожие результаты. Снижение общей выживаемости происходило в течение периода наблюдения относительно равномерно, выходя на условное плато после 24 мес. Среднее значение времени выживания для всей совокупности пациентов – $26,09 \pm 0,88$ мес (95 % ДИ 24,36–27,82) (рис. 1). При сравнении ОВ у пациентов основной и контрольной групп (рис. 2) установлены статистически значимые различия ($p=0,002$). Средний срок наступления летального исхода в основной группе был существенно выше – $34,93 \pm 1,03$ мес (95 % ДИ 32,91–36,95), чем в контрольной группе, – $25,11 \pm 0,97$ мес. (95 % ДИ 23,22–27,01). Для определения ОВ с учетом стадии процесса выполнено построение кривых Каплан-Мейера для всей совокупности пациентов (рис. 3) и для сравниваемых групп в отдельности (рис. 4, 5).

Разработку прогностических моделей Кокса, позволяющих определить риск смерти пациентов, в зависимости от факторов риска при наблюдении

Таблица 2/Table 2

Гистологические характеристики и стадия
Histological characteristics and stage

Характеристики/Characteristics	Группы/Groups		p-value
	<50 лет/<50 years (n=34, 9,7 %)	>50 лет/>50 years (n=316, 90,3 %)	
Гистотип опухоли/Histotype of tumors			
1. Аденокарцинома кишечного типа/ Intestinal type adenocarcinoma	3 (8,8 %)	107 (30,6 %)	общ.<0,001* (p1=0,004* p3=0,049* p4=0,001* p5=0,003*)
2. Аденокарцинома диффузного типа/ Diffuse type adenocarcinoma	13 (38,2 %)	170 (48,6 %)	
3. Аденокарцинома с перстневидными клетками/ Adenocarcinoma with signet-ring cells	4 (11, %)	17 (4,9 %)	
4. Перстневидноклеточный рак/Signet-ring cancer	11 (32,4 %)	49 (14,0 %)	
5. Смешанные и другие гистотипы/ Mixed and other gystologic types	3 (8,8 %)	7 (2,0 %)	
Стадия pTNM 7/Stage pTNM 7			
IA	5 (14,7 %)	16 (5,1 %)	0,312
IB	8 (23,5 %)	50 (15,8 %)	
IIA	3 (8,8 %)	51 (16,1 %)	
IIB	6 (17,6 %)	47 (14,9 %)	
IIIA	3 (8,8 %)	40 (12,7 %)	
IIIB	4 (11,8 %)	60 (19,0 %)	
IIIC	2 (5,9 %)	29 (9,2 %)	
IV	3 (8,8 %)	23 (7,3 %)	
Стадия по TNM/TNM stage			
T1a	2 (5,9 %)	9 (2,8 %)	0,001* (pT1b<0,001)
T1b	8 (23,5 %)	16 (5,1 %)	
T2	7 (20,6 %)	63 (19,9 %)	
T3	5 (14,7 %)	55 (17,4 %)	
T4a	12 (35,3 %)	109 (34,5 %)	
T4b	—	64 (20,3 %)	
Инвазия серозной оболочки или соседних структур (pT4a-b)/ Invasion of the serous membrane or neighboring anatomical structures (pT4a-b)	12 (35,3 %)	173 (54,7 %)	0,031*
N0	22 (64,7 %)	165 (52,2 %)	0,121
N1	2 (5,9 %)	73 (23,1 %)	
N2	7 (20,6 %)	61 (19,3 %)	
N3	3 (8,8 %)	17 (5,4 %)	
N+	12 (35,3 %)	151 (47,8 %)	0,165
Количество л/у с метастазами)/ Number of metastatic regional lymph nodes Me [Q1-Q3]	5 [4,5–7]	2 [1–5]	0,003*
M0	31 (91,2 %)	293 (92,7 %)	0,729
M1	3 (8,8 %)	23 (7,3 %)	
G1	4 (11,8 %)	35 (11,1 %)	0,81
G2	10 (29,4 %)	102 (32,3 %)	
G3	20 (58,8 %)	167 (52,8 %)	
G4	—	12 (3,8 %)	
LVI	19 (55,9 %)	179 (56,6 %)	0,932
PNI	20 (58,8 %)	166 (52,5 %)	0.485

Примечание: * – различия показателей статистически значимы (p<0,05).

Note: * – differences are statistically significant (p<0.05).

Таблица 3/Table 3

Информация о полученном лечении
Information about the received treatment

Характеристики/Characteristics	Группы/Groups		p-value
	<50 лет/<50 years (n=34, 9,7 %)	>50 лет/>50 years (n=34, 9,7 %)	
Тип вмешательства/Type of surgery			
Открытая субтотальная дистальная резекция желудка/ Open subtotal distal stomach resection	21 (61,8 %)	170 (48,6 %)	0,613
Чрезбрюшинная гастрэктомия/Transabdominal gastrectomy	8 (23,5 %)	104 (32,9 %)	
Лапароскопическая субтотальная дистальная резекция желудка/Laparoscopic subtotal distal stomach resection	1 (2,9 %)	11 (3,5 %)	
Лапароскопическая гастрэктомия/Laparoscopic gastrectomy	–	1 (0,3 %)	
Трансплевральная гастрэктомия/ Transpleural gastrectomy	2 (5,9 %)	25 (7,9 %)	
Операция Гэрлока/Harlock's operation	–	14 (4,4 %)	0,047*
Открытая субтотальная проксимальная резекция желудка/ Open subtotal proximal stomach resection	2 (5,9 %)	10 (3,2 %)	
Экстирпация культи желудка/Extirpation of the gastric stump	–	2 (0,6 %)	
Мультивисцеральная резекция/Multivisceral resection	3 (8,8 %)	75 (23,7 %)	0,047*
Время операции, мин/Surgery time, minutes Me [Q1-Q3]	130 [110–145]	132 [115–170]	0,409
Объем кровопотери, мл/ Volume of blood loss, ml Me [Q1-Q3]	150 [100–200]	160 [120–220]	0,204
Послеоперационный койко-день, дни/ Postoperative stay, days Me [Q1-Q3]	11 [9–15]	12 [9–14]	0,74
Послеоперационная летальность/Postoperative mortality	–	11 (3,5 %)	0,61
Адьювантная химиотерапия/Adjuvant chemotherapy	17 (50 %)	153 (48,6 %)	0,874

Примечание: * – различия показателей статистически значимы (p<0,05).

Note: * – differences are statistically significant (p<0.05).

Таблица 4/Table 4

Характеристика послеоперационных осложнений
Characteristics of postoperative complications

Вид осложнения/Type of complications	Основная группа/ Main group	Контрольная группа/ Control group
Без осложнений или осложнения Grade I–II/No complications or Grade I–II	30 (88,2 %)	272 (86,1 %)
Несостоятельность культи ДПК/Insufficiency of the duodenal stump	–	7 (2,2 %)
Несостоятельность эзофагоэнтероанастомоза/ Insufficiency of the oesophago-enteroanastomosis	–	14 (4,4 %)
ДВС–синдром, кровотечение/Coagulopathy, bleeding	–	4 (1,3 %)
Пневмония/Pneumonia	2 (5,9 %)	3 (0,9 %)
Инфаркт миокарда/Myocardial infarction	–	2 (0,6 %)
Несостоятельность швов культи желудка/ Insufficiency of the stomach stump's sutures	1 (2,9 %)	–
Желудочно-кишечное кровотечение/Gastrointestinal bleeding	–	5 (1,6 %)
Панкреонекроз/Pancreaonecrosis	1 (2,9 %)	4 (1,3 %)
Инсульт/Stroke	–	1 (0,3 %)
Несостоятельность эзофагогастроанастомоза/ Insufficiency of the oesophagogastronanastomosis	–	3 (0,9 %)
Несостоятельность гастроэнтероанастомоза/ Insufficiency of the gastroenteronanastomosis	–	1 (0,3 %)
Всего/Total	34 (100 %)	316 (100 %)

Таблица 5/Table 5

Срок дожития, характеризующий риск смерти в зависимости от времени, прошедшего с момента хирургического лечения

Survival period, characterizing the risk of death depending on the time elapsed since the surgical treatment

Время, мес/Time, months	Число случаев смерти/ Deaths	Накопленный риск смерти/ Accumulated risk of death %	Общая выживаемость/ Overall survival %
3	26	7,91 ± 1,5	92,09 ± 1,5
6	36	11,39 ± 1,8	88,61 ± 1,8
9	42	13,73 ± 2,0	86,27 ± 2,9
12	57	20,07 ± 2,4	79,93 ± 2,4
15	71	26,85 ± 2,8	73,15 ± 2,8
18	79	31,71 ± 3,1	68,29 ± 3,1
21	83	35,06 ± 3,4	64,94 ± 3,4
24	85	37,58 ± 3,7	62,42 ± 3,7
27	87	41,37 ± 4,3	58,63 ± 4,3
30	87	41,37 ± 4,3	58,63 ± 4,3
33	87	41,37 ± 4,3	58,63 ± 4,3
36	87	41,37 ± 4,3	58,63 ± 4,3

Таблица 6/Table 6

Характеристика предикторов регрессионной модели (1)

Characteristics of regression model (1)

Предиктор/Predictor	HR	95 % CI	p
Метастазы в регионарные лимфоузлы/Metastases in regional lymph nodes	2,64	1,35–5,18	0,05*
Отдаленные метастазы/Distant metastases	1,83	1,00–3,34	0,05*
III/IV стадии по TNM/Stage III/IV, TNM	2,01	0,95–4,27	0,07
Лимфоваскулярная инвазия/Lymphovascular invasion	3,15	1,44–6,90	0,004*
Периневральная инвазия/Perineural invasion	2,46	1,13–5,35	0,023*
Осложнения после операции/Postoperative complications	2,12	1,27–3,55	0,004*
Принадлежность пациента к изучаемым группам/ The patient's belonging to the groups studied	12,71	1,69–95,18	0,013*
Адьювантная химиотерапия/Adjuvant chemotherapy	0,35	0,22–0,57	<0,001*

Примечание: * – влияние фактора статистически значимо (p<0,05).

Note: * – influence of factor is statistically significant (p<0.05).

в определенные временные сроки, проводили в 3 этапа. На первом этапе для всей совокупности пациентов в результате отбора факторов методом исключения по Вальду получена модель пропорциональных рисков (1):

$$h_i(t) = h_0(t) \times \exp(0,97 \times X_N + 0,6 \times X_M + 0,7 \times X_{St} + 1,15 \times X_{LVI} + 0,9 \times X_{PNI} + 0,75 \times X_{OCL} + 2,54 \times X_{ГР} - 1,05 \times X_{АПХТ}),$$

где $h_i(t)$ – риск смерти у i-того пациента (%); $h_0(t)$ – базовый риск смерти при нулевом значении всех вошедших в модель предикторов (%); X_N – метастазы в регионарные л/у (0 – отсутствие, 1 – нали-

чие); X_M – отдаленные метастазы (0 – отсутствие, 1 – наличие); X_{St} – III/IV стадии болезни по TNM (0 – I/II стадии, 1 – III/IV стадии); X_{LVI} – лимфоваскулярная инвазия (0 – отсутствие, 1 – наличие); X_{PNI} – периневральная инвазия (0 – отсутствие, 1 – наличие); X_{OCL} – осложнения после операции (0 – отсутствие, 1 – наличие); $X_{ГР}$ – принадлежность пациента к изучаемым группам (0 – основная группа, 1 – контрольная группа); $X_{АПХТ}$ – проведение адьювантной полихимиотерапии (0 – отсутствие, 1 – наличие).

Модель статистически значима (p=0,001). Характеристика отношения рисков для каждого предиктора в составе модели (1) представлена в табл. 6.

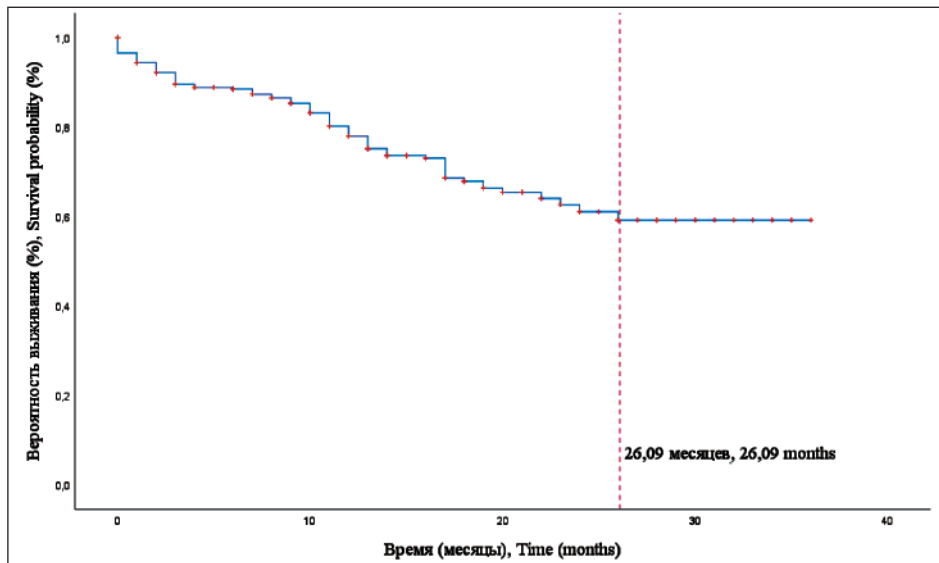


Рис. 1. Кривая Каплан–Майера для ОВ всей совокупности пациентов (красным пунктиром показано среднее значение срока выживания – 26,09 ± 0,88 мес)

Fig. 1. The Kaplan–Mayer curve for the entire patient population (the red timeline shows the average survival time, 26.09 ± 0.88 months)

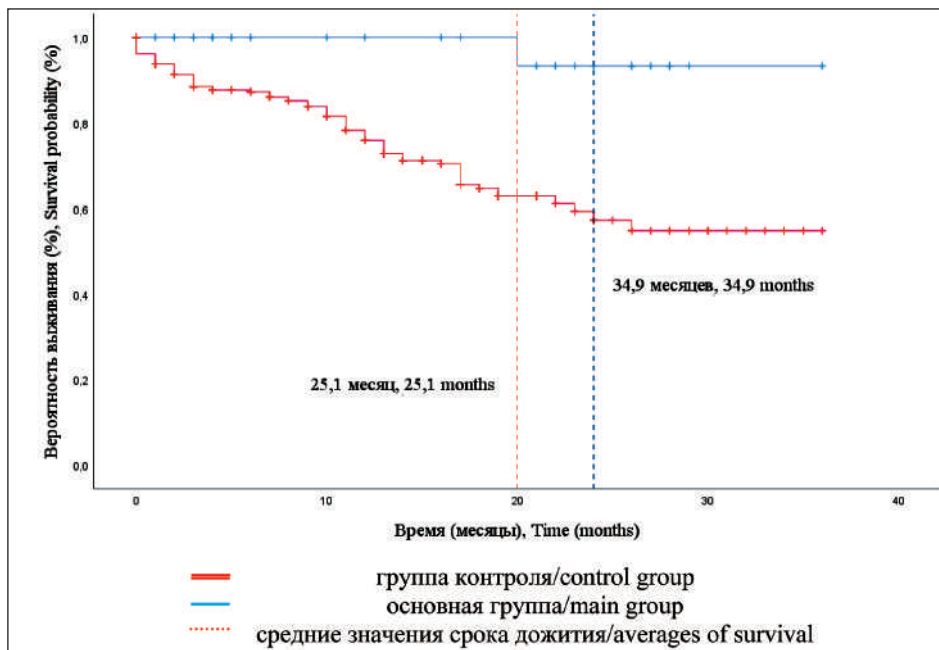


Рис. 2. Кривые Каплан–Майера для ОВ в основной и контрольной группах
Fig. 2. Kaplan–Mayer curves for the overall survival of main and control group

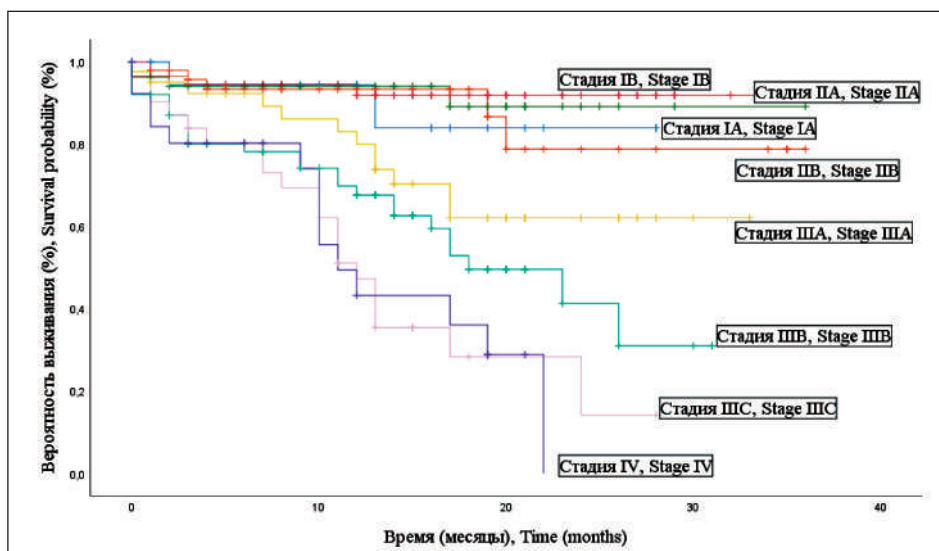


Рис. 3. Кривые Каплан–Майера для ОВ всей совокупности пациентов в зависимости от стадии
Fig. 3. Kaplan–Mayer curves for the overall survival of the whole set of patients, dependent on stage

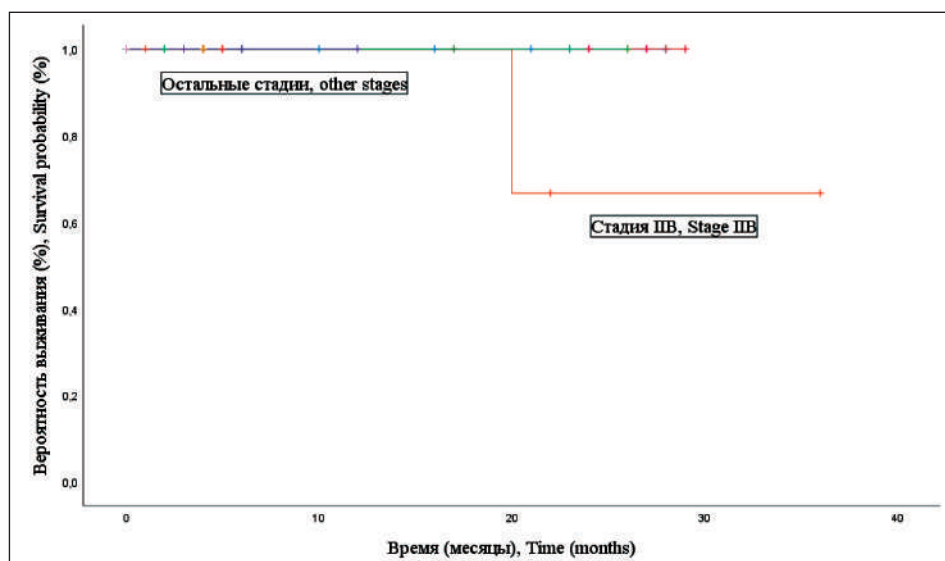


Рис. 4. Кривые Каплан–Майера для ОВ в основной группе в зависимости от стадии

Fig. 4. Kaplan–Mayer curves for the overall survival of the main group, dependent on stage

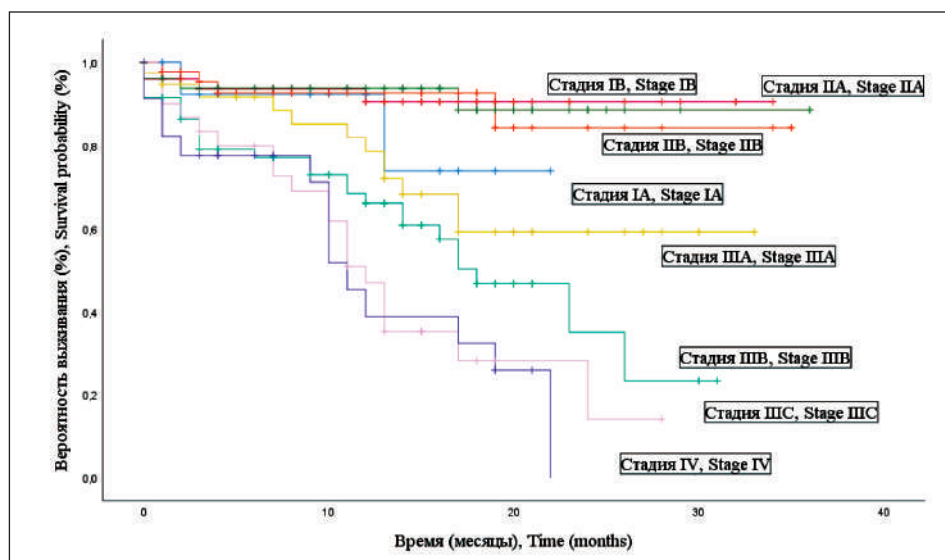


Рис. 5. Кривые Каплан–Майера для ОВ в контрольной группе в зависимости от стадии

Fig. 5. Kaplan–Mayer curves for the overall survival of the control group, dependent on stage

На втором этапе для основной группы пациентов получена модель пропорциональных рисков (2):

$$h_i(t) = h_0(t) \times \exp(1,24 \times X_N + 1,14 \times X_{LVI} + 0,16 \times X_{PNI} - 1,8 \times X_{аПХТ}).$$

Данная модель статистически не значима ($p=0,496$). Характеристика отношения рисков для каждого предиктора в составе модели (2) представлена в табл. 7.

На третьем этапе для контрольной группы пациентов получена модель пропорциональных рисков (3):

$$h_i(t) = h_0(t) \times \exp(1,01 \times X_N + 0,61 \times X_M + 0,79 \times X_{St} + 1,14 \times X_{LVI} + 0,87 \times X_{PNI} + 0,76 \times X_{ОСЛ} - 1,11 \times X_{аПХТ}).$$

Модель статистически значима ($p<0,001$). Характеристика отношения рисков для каждого предиктора в составе модели (3) представлена в табл. 8.

Обсуждение

Рак желудка у молодых пациентов (до 50 лет) встречается в 2–15 % [11–15]. В нашем исследовании частота РЖ у пациентов моложе 50 лет составила 9,7 %. По нашим данным, особенностями этой группы по сравнению с контрольной явились преобладание женщин (52,9/64,6 %, $p=0,045$); преобладание бессимптомных форм РЖ (67,6/18,4 %, $p<0,001$); меньший срок от появления симптомов до операции у более молодых пациентов (2[1–4]/8[5–10] мес, $p<0,001$); пациенты основной группы имели лучший статус ECOG (частота ECOG 0 в основной и контрольной группах составила 67,6 % и 21,5 %, $p<0,001$); опухоль в основной группе чаще располагалась в привратнике (26,5/10,8 %, $p=0,008$) либо поражала орган тотально (23,5/10,8 %, $p=0,029$); преобладали аденокарциномы с перстневидными клетками (11,8/4,9 %, $p=0,049$) и перстневидноклеточный рак (32,4/14,0 %, $p=0,001$); реже наблюдалась инвазия серозной оболочки и соседних органов

Таблица 7/Table 7

Характеристика предикторов регрессионной модели (2)
Characteristics of predictors of the regression model (2)

Предиктор/Predictor	HR	95 % CI	p
Метастазы в регионарные лимфоузлы/Metastases in regional lymph nodes	2,05	0,78–6,21	0,04
Лимфоваскулярная инвазия/Lymphovascular invasion	1,14	0,32–7,63	0,78
Периневральная инвазия/Perineural invasion	1,39	0,78–16,34	0,18
Адьювантная химиотерапия/Adjuvant chemotherapy	0,78	0,23–1,64	0,89

Таблица 8/Table 8

Характеристика предикторов регрессионной модели (3)
Characteristics of predictors of the regression model (3)

Предиктор/Predictor	HR	95 % CI	p
Метастазы в регионарные лимфоузлы/Metastases in regional lymph nodes	2,72	1,35–5,18	0,004*
Отдаленные метастазы/Distant metastases	1,84	1,01–3,37	0,047*
III/IV стадии болезни по TNM/Stage III/IV, TNM	2,19	1,01–4,74	0,046*
Лимфоваскулярная инвазия/Lymphovascular invasion	3,11	1,42–6,83	0,005*
Периневральная инвазия/Perineural invasion	2,39	1,01–5,20	0,028*
Осложнения после операции/Postoperative complications	2,14	1,28–3,56	0,004*
Адьювантная полихимиотерапия/Adjuvant chemotherapy	0,33	0,20–0,54	<0,001*

Примечание: * – влияние фактора статистически значимо ($p < 0,05$).

Note: * – influence of factor is statistically significant ($p < 0,05$).

(35,3/54,7 %, $p = 0,031$), и реже выполнялись мультивисцеральные резекции (8,8/23,7 %, $p = 0,047$).

Нам не удалось обнаружить различий по частоте осложнений опухоли ($p = 0,066$) и индексу коморбидности Charlson–Deyo ($p = 0,06$). Молодые пациенты более сохранны и реже имеют осложнения опухоли, характерные для запущенных форм, что подтверждается другими авторами [11, 13, 15]. В частности, корейские исследователи проанализировали результаты лечения РЖ у 4333 пациентов, 163 (3,76 %) из которых были моложе 40 лет. У 90 (55,2 %) из них опухоль была представлена перстневидноклеточной карциномой. Наиболее частой локализацией являлось поражение тела желудка – у 108 (66,3 %) пациентов. У 33 (20,2 %) больных выявлен первично-метастатический РЖ. У пациентов с местнораспространенным РЖ, получивших хирургическое или комбинированное лечение, частота прогрессирования за период наблюдения составила 48,9 % [15].

Прогнозирование рисков неблагоприятных исходов лечения у пациентов молодого возраста пока не до конца изучено [12, 14, 16]. Такие данные нами найдены в единичных публикациях [11, 17]. В нашем исследовании медиана ОВ не была достигнута, 87 (24,8 %) летальных исходов произошли в течение $26,09 \pm 0,88$ мес. Риск смерти после рубежа 27 мес с момента операции выходил на условное плато в $41,37 \pm 4,3$ % и не демонстрировал тенденции к изменению. Наша выборка является гетерогенной: в ней есть больные как с I, так

и с IV стадией РЖ. Снижение ОВ с последующей стабилизацией риска смерти говорит о летальном исходе большей части пациентов с запущенными формами в период до 27 мес. После этого под наблюдением остаются в основном пациенты с I/II стадиями, для которых риск смерти ниже. Мы планируем провести анализ выживаемости пациентов моложе и старше 50 лет в зависимости от стадии опухолевого процесса и в последующем опубликовать эти данные.

В литературе описаны основные прогностические факторы ОВ для РЖ [18, 19]. К предикторам негативного прогноза относят глубину инвазии первичной опухоли Т3/Т4, наличие метастазов в регионарные лимфоузлы, низкую дифференцировку опухоли, а также отдаленные метастазы, особенно указывается на негативный потенциал метастазов в печень и кости. Независимыми позитивными факторами признаются удовлетворительное состояние пациента на момент операции и проведение адьювантной химиотерапии [20]. В. Hultman et al. провели анализ результатов лечения 255 пациентов с местнораспространенным РЖ. Медиана ОВ составила 4,8 мес. Данный показатель отличался в подгруппах с отдаленным метастазированием – 4,7 и 5,1 мес соответственно. Методом одно- и многофакторной регрессии пропорциональных рисков Кокса авторы установили 2 положительных прогностических фактора у пациентов с местнораспространенным РЖ: удовлетворительный общий статус на момент диагно-

стики и проведение химио- и/или химиолучевой терапии [20].

В литературе отсутствует единая концепция определения прогноза у пациентов с РЖ молодого возраста. По данным одних авторов, прогноз для лиц моложе 40–50 лет хуже в сравнении с более старшей возрастной группой [13, 21]. По другим данным, значимых различий в ОВ не выявлено или она превышает таковую для старшей возрастной группы [17, 22]. Бразильские авторы изучили данные 875 пациентов, прооперированных в период с 2008 по 2017 г. Из них к группе молодых (по определению авторов, до 45 лет) относились 84 (9,6 %), к более старшей группе – 791 (90,4 %). ОВ для обеих групп пациентов значимо не различалась ($p=0,578$). При многофакторном анализе установлено, что ОВ ухудшают три предиктора: выполнение гастрэктомии, pT3/T4 и диффузный тип роста по классификации Lauren. При этом возраст больных не оказывал значимого воздействия на уровень ОВ [11]. Авторы из США проанализировали результаты лечения 121 пациента 45 лет и моложе, сравнив их с выборкой из 121 более старшего пациента. У молодых больных чаще встречались III/IV стадии (86,8/57,9 %, $p<0,0001$), низкодифференцированные аденокарциномы (95,9/74,4 %, $p<0,0001$) или перстневидноклеточные опухоли (88,4/32,2 %, $p<0,0001$). В работе выявлены более низкие показатели медианы ОВ у молодых пациентов (11,7/41,0 мес, $p<0,0001$) [13]. Китайские авторы провели анализ результатов лечения двух групп пациентов с РЖ I–III стадий старше и моложе 45 лет, выборка в каждой из которых составляла 310 человек. Установлено, что среди более молодых пациентов преобладают женщины, чаще наблюдаются опухоли низкой дифференцировки, меньшая степень алиментарного истощения, чаще проводится периперационная ХТ. При этом, несмотря на значимо лучшие показатели общей и безрецидивной выживаемости при I стадии у молодых пациентов, сам по себе возраст при построении многофакторных моделей Кокса не стал значимым фактором, влияющим на отдаленные результаты лечения [17].

В нашем исследовании ОВ у пациентов 50 лет и моложе была значимо выше, чем у более старших больных ($p=0,002$). При анализе прогностических факторов, влияющих на ОВ всей совокупности пациентов, нами выявлены 6 негативных предикторов: метастазы в регионарные лимфоузлы ($p=0,05$), отдаленные метастазы ($p=0,05$), LVI ($p=0,004$), PNI ($p=0,023$), осложнения после хирургического лечения ($p=0,004$) и принадлежность пациента к изучаемым группам ($p=0,013$). Позитивным предиктором оказалось проведение аПХТ ($p<0,001$), которая снижала риск смерти в 2,86 (1/0,35) раза во всей совокупности пациентов и в 3,03 (1/0,33) раза отдельно в группе старше 50 лет. При попытке построения прогностической модели ОВ

для молодых пациентов статистически значимой функции получить не удалось, что мы связываем с малым объемом выборки и редкостью исхода в этой группе пациентов в изученный период. Выявленные закономерности свидетельствуют о том, что для молодых пациентов РЖ обосновано проведение дальнейших исследований по прогнозированию непосредственных результатов лечения и выживаемости для разработки специфических лечебных подходов.

Наше исследование имело ряд ограничений. Оно является ретроспективным и содержит небольшое количество пациентов. Кроме того, в силу низкой частоты встречаемости рака желудка у молодых пациентов мы имели возможность включить лишь 34 (9,7 %) больных в основную группу. Этот показатель, хотя и коррелирует с когортами, изученными в других исследованиях, вносит ограничения в статистическую мощность работы. Большая роль в развитии РЖ у молодых пациентов придается генетическим наследственным синдромам [5, 6, 23]. Мы не имели возможности оценить полноценно семейный анамнез у большинства пациентов, поэтому лишь указали на процентную долю выявленных случаев. Мы допускаем, что часть случаев была пропущена. Лечение производили врачи с разным хирургическим стажем. Несмотря на единое лечебное учреждение и стандартизацию оперативных приемов, данное обстоятельство нельзя не учитывать в трактовке результатов.

Срок наблюдения за пациентами в нашем исследовании составил от 3 мес до 3 лет, что является достаточным для выявления основных закономерностей выживаемости и анализа их с помощью статистических методов. Однако данные о 5-летней выживаемости внесут определенную полноту в эту картину, в связи с чем наблюдение за пациентами из нашей выборки будет продолжено. Помимо этого, мы отметили выпадение из наблюдения 64 (18,3 %) пациентов, что обуславливает направление будущих организационных усилий для сохранения наблюдения за больными.

Заключение

В ходе исследования мы выявили ряд особенностей течения РЖ у пациентов моложе 50 лет: преобладание аденокарциномы желудка с перстневидными клетками (11,8/4,9 %, $p=0,049$) и перстневидноклеточного рака желудка (32,4/14,0 %, $p=0,001$). Этот факт обуславливает более широкую возможность выполнения резекционных органосохраняющих вмешательств на желудке у пациентов старшей возрастной категории. Расхождения в показателях общей выживаемости в основной и контрольной группах (в частности, показатели выживаемости пациентов с РЖ IIIA–IV стадии) объясняется высокой частотой назначения аПХТ у пациентов молодого возраста. Мы планируем

продолжить исследования в направлении изучения предикторов неблагоприятного исхода в лечении пациентов, страдающих РЖ, и внедрить в клиническую практику калькулятор оценки вероятности

летального исхода, основанный на анализе прогностических факторов, выполненном при помощи регрессионной модели Кокса.

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; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). М., 2020. 252 с. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Shakhzadova A.O. Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Moscow, 2020. 252 p. (in Russian)].
3. Абдуллаев А.Г., Аллахвердиев А.К., Бесова Н.С., Бяхов М.Ю., Горбунова В.А., Давыдов М.И., Давыдов М.М., Ибраев М.А., Карселадзе А.И., Кувшинов Ю.П., Малихова О.А., Неред С.Н., Стилиди И.С., Трякин А.А. Клинические рекомендации МЗ РФ «Рак желудка». 2018. 1–34. [Abdullaev A.G., Allahverdiev A.K., Besova N.S., Byahov M.Y., Gorbunova V.A., Davidov M.I., Davidov M.M., Ibraev M.A., Karseladze A.I., Kyvshinov Y.P., Malihova O.A., Nered S.N., Stilidi I.S., Tryakin A.A. Clinical Guidelines «Gastric Cancer». 2018. 1–34. (in Russian)].
4. Kono Y., Kanzaki H., Iwamuro M., Kawano S., Kawahara Y., Okada H. Reality of Gastric Cancer in Young Patients: The Importance and Difficulty of the Early Diagnosis, Prevention and Treatment. *Acta Med Okayama*. 2020; 74(6): 461–6. doi: 10.18926/AMO/61204.
5. Van Der Post R.S., Vogelaar I.P., Manders P., Van Der Kolk L.E., Cats A., Van Hest L.P., Sijmons R., Aalfs C.M., Ausems M.G.E.M., Gómez Gar-cía E.B., Wagner A., Hes F.J., Arts N., Mensenkamp A.R., Van Krieken J.H., Hoogerbrugge N., Ligtenberg M.J.L. Accuracy of Hereditary Diffuse Gastric Cancer Testing Criteria and Outcomes in Patients With a Germline Mutation in CDH1. *Gastroenterology*. 2015. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.06.003.
6. Blair V.R., McLeod M., Carneiro F., Coit D.G., D'Addario J.L., van Dieren J.M., Harris K.L., Hoogerbrugge N., Oliveira C., van der Post R.S., Arnold J., Benusiglio P.R., Bisseling T.M., Boussioutas A., Cats A., Charlton A., Schreiber K.E.C., Davis J.L., Pietro M., Fitzgerald R.C., Ford J.M., Gamet K., Gullo I., Hardwick R.H., Huntsman D.G., Kaurah P., Kupfer S.S., Latchford A., Mansfield P.F., Nakajima T., Parry S., Rossaak J., Sugimura H., Svrcek M., Tischkowitz M., Ushijima T., Yamada H., Yang H.K., Claydon A., Figueiredo J., Paringatai K., Seruca R., Bougen-Zhukov N., Brew T., Busija S., Carneiro P., DeGregorio L., Fisher H., Gardner E., Godwin T.D., Holm K.N., Humar B., Lintott C.J., Monroe E.C., Muller M.D., Norero E., Nouri Y., Paredes J., Sanches J.M., Schulpen E., Ribeiro A.S., Spore A., Whitworth J., Zhang L., Reeve A.E., Guilford P. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical practice guidelines. *Lancet Oncol*. 2020; 21(8): 386–97. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30219-9.
7. Волков Н.М. Рак у молодых: опухоли желудочно-кишечного тракта. Практическая онкология. 2017; 18(2): 197–205. [Volkov N.M. Gastric cancer in young patients: tumors of gastrointestinal tract. Practical oncology. 2017; 18(2): 197–205. (in Russian)].
8. Charlson M.E., Pompei P., Ales K.L., MacKenzie C.R. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987; 40(5): 373–83. doi: 10.1016/0021-9681(87)90171-8.
9. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2018 (5th edition). *Gastric Cancer*. 2021; 24(1): 1–21. doi: 10.1007/s10120-020-01042-y.
10. Dindo D., Demartines N., Clavien P.A. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg*. 2004; 240(2): 205–13. doi: 10.1097/01.sla.0000133083.54934.ae.
11. Ramos M.F.K.P., Pereira M.A., Sagae V.M.T., Mester M., Morrell A.L.G., Dias A.R., Zilberstein B., Ribeiro Junior U., Cecconello I. Gastric cancer in young adults: a worse prognosis group? *Rev Col Bras Cir*. 2019; 46(4). doi: 10.1590/0100-6991e-20192256.
12. Takatsu Y., Hiki N., Nunobe S., Ohashi M., Honda M., Yamaguchi T., Nakajima T., Sano T. Clinicopathological features of gastric cancer in young patients. *Gastric Cancer*. 2016; 19(2): 472–8. doi: 10.1007/s10120-015-0484-1.
13. Rona K.A., Schwameis K., Zehetner J., Samakar K., Green K., Samaan J., Sandhu K., Bildzukevich N., Katkhouda N., Lipham J.C. Gastric cancer in the young: An advanced disease with poor prognostic features. *J Surg Oncol*. 2017; 115(4): 371–5. http://doi.wiley.com/10.1002/jso.24533.
14. Pisanu A., Podda M., Cois A., Uccheddu A. Gastric cancer in the young: Is it a different clinical entity? A retrospective cohort study. *Gastroenterol Res Pract*. 2014. https://doi.org/10.1155/2014/125038.
15. Lee J., Lee M.A., Kim I.H., Roh S.Y. Clinical characteristics of young-age onset gastric cancer in Korea. *BMC Gastroenterol*. 2016; 16(1): 110. doi: 10.1186/s12876-016-0528-y.
16. Schildberg C.W., Croner R., Schellerer V., Haupt W., Schildberg F.W., Schildberg M., Hohenberger W., Horbach T. Differences in the treatment of young gastric cancer patients: Patients under 50 years have better 5-year survival than older patients. *Adv Med Sci*. 2012; 57(2): 259–65. https://doi.org/10.2478/v10039-012-0052-4.
17. Liu W., Quan H., Chen X., Ouyang Y., Xiao H. Clinicopathological features and prognosis of young gastric cancer patients following radical gastrectomy: a propensity score matching analysis. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 5943. doi: 10.1038/s41598-019-42406-4.
18. Тер-Ованесов М.Д., Габоян А.С., Кукош М.Ю., Левицкий А.В., Леснидз Э.Э., Баксиян Г.А. Влияние гистологического строения опухоли на прогноз при хирургическом лечении рака проксимального отдела желудка. Альманах мировой науки. 2016; 2(1): 42–4. [Ter-Ovanesov M.D., Gaboyan A.S., Kukosh M.Y., Levitskiy A.V., Lesnidze E.E., Baksiyan G.A. The influence of histologic structure of the tumor on prognosis in surgical treatment of proximal gastric cancer. *Almanac of World Science*. 2016; 2(1): 42–4. (in Russian)].
19. Антонов Е.Ф., Рискаева Д.Э., Спиженко Н.Ю. Формирование факторов прогноза рака желудка. Евразийский онкологический журнал. 2018; 6(3–4): 690–7. [Antonov E.F., Rispavaeva D.E., Spigenko N.Y. Creating factors of prognosis of gastric cancer. *Eur J Oncol*. 2018 6(3–4): 690–7. (in Russian)].
20. Hultman B., Gunnarsson U., Nygren P., Sundbom M., Glimelius B., Mahteme H. Prognostic factors in patients with loco-regionally advanced gastric cancer. *World J Surg Oncol*. 2017; 15(1): 172. doi: 10.1186/s12957-017-1243-z.
21. Smith B.R., Stabile B.E. Extreme aggressiveness and lethality of gastric adenocarcinoma in the very young. *Arch Surg*. 2009; 144(6): 506–10. doi: 10.1001/archsurg.2009.77. PMID: 19528381.
22. Kong X., Wang J.L., Chen H.M., Fang J.Y. Comparison of the clinicopathological characteristics of young and elderly patients with gastric carcinoma: a meta analysis. *J Surg Oncol*. 2012; 106(3): 346–52. doi: 10.1002/jso.23004.
23. Hansford S., Kaurah P., Li-Chang H., Woo M., Senz J., Pinheiro H., Schrader K.A., Schaeffer D.F., Shumansky K., Zogopoulos G., Santos T.A., Claro I., Carvalho J., Nielsen C., Padilla S., Lum A., Talhouk A., Baker-Lange K., Richardson S., Lewis I., Lindor N.M., Pennell E., MacMillan A., Fernandez B., Keller G., Lynch H., Shah S.P., Guilford P., Gallinger S., Corso G., Roviello F., Caldas C., Oliveira C., Pharoah P.D., Huntsman D.G. Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: CDH1 Mutations and Beyond. *JAMA Oncol*. 2015; 1(1): 23–32. doi: 10.1001/jamaoncol.2014.168.

Поступила/Received 10.06.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 28.02.2022

Принята к публикации/Accepted 14.03.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Коваленко Надежда Витальевна, кандидат медицинских наук, доцент, главный врач, ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер»; заведующая кафедрой онкологии, гематологии и трансплантологии, Институт непрерывного недицинского и фармацевтического образования, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Волгоград, Россия). SPIN-код: 1586-4656. ORCID: 0000-0002-0759-0889.

Жаворонкова Виктория Викторовна, кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по хирургии, ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер»; заведующая кафедрой онкологии, ФГБОУ ВО «Волгоградский

государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Волгоград, Россия). SPIN-код: 4354-1836. ORCID: 0000-0002-3403-7931.

Иванов Александр Игоревич, кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по лечебной работе, ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер»; доцент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Волгоград, Россия). SPIN-код: 2407-3995. ORCID: 0000-0001-9293-2611.

Постолов Михаил Петрович, кандидат медицинских наук, заведующий онкологическим отделением хирургических методов лечения № 5, ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер»; ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Волгоград, Россия). SPIN-код: 2313-6106. ORCID: 0000-0001-9953-7286.

Толстомятов Станислав Евгеньевич, кандидат медицинских наук, заведующий онкологическим отделением хирургических методов лечения № 7, ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер»; доцент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Волгоград, Россия). SPIN-код: 1384-9846. ORCID: 0000-0001-6211-6875.

Джафаров Джамалутдин Джафарович, врач-онколог поликлинического отделения, ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер» (г. Волгоград, Россия). ORCID: 0000-0001-5553-3793.

Павловская Полина Матвеевна, студентка 4-го курса, лечебный факультет, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Волгоград, Россия). ORCID: 0000-0001-7564-8176.

Суворов Владимир Александрович, врач-онколог онкологического отделения хирургических методов лечения № 5, ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер»; ассистент кафедры онкологии, гематологии и трансплантологии, Институт непрерывного медицинского и фармацевтического образования, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Волгоград, Россия). SPIN-код: 6878-2032. ORCID: 0000-0002-9114-6683.

ВКЛАД АВТОРОВ

Коваленко Надежда Витальевна: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, утверждение публикуемой версии рукописи.

Жаворонкова Виктория Викторовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Иванов Александр Игоревич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Постолов Михаил Петрович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, коррекция черновика рукописи.

Толстомятов Станислав Евгеньевич: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, коррекция черновика рукописи.

Джафаров Джамалутдин Джафарович: сбор данных, проведение поиска литературы.

Павловская Полина Матвеевна: сбор данных, проведение поиска литературы.

Суворов Владимир Александрович: разработка концепции научной работы, проведение поиска литературы, составление черновика рукописи, ведение электронной базы данных, проведение статистического анализа.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность администрации ГБУЗ «ВОКОД» за возможность работать с медицинской информационно-системой «БАРС»; Гуковской Н.В. за помощь в анализе выживаемости.

ABOUT THE AUTHORS

Nadezhda V. Kovalenko, MD, PhD, Associate Professor, Chief Physician of Volgograd Regional Clinical Cancer Center; Head of the Department of Oncology, Hematology and Transplantology of the Continued Medical and Pharmaceutical Education Institute at the Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia). ORCID: 0000-0002-0759-0889.

Victoriya V. Zhavoronkova, MD, PhD, Deputy Chief Physician for Surgery of Volgograd Regional Clinical Cancer Center; Head of the Department of Oncology at Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia). ORCID: 0000-0002-3403-7931.

Alexander I. Ivanov, MD, PhD, Deputy Chief Physician, Volgograd Regional Clinical Cancer Center; Associate Professor of the Department of Oncology at Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia). ORCID: 0000-0001-9293-2611.

Mikhail P. Postolov, MD, PhD, Head of the Oncology Department of Surgical Methods of Treatment № 5 at the Volgograd Regional Clinical Cancer Center; Assistant of the Department of Oncology, Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia). ORCID: 0000-0001-9953-7286.

Stanislav E. Tolstopyatov, MD, PhD, Head of the Oncology Department of Surgical Methods of Treatment № 7, Volgograd Regional Clinical Cancer Center; Associate Professor of the Department of Oncology at Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia).

ORCID: 0000-0001-6211-6875.

Dzhamalutdin D. Dzhafarov, MD, Oncologist, Polyclinic Department, Volgograd Regional Clinical Cancer Center (Volgograd, Russia). ORCID: 0000-0001-5553-3793.

Polina M. Pavlovskaya, 4th year student of the Faculty of General Medicine, Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia). ORCID: 0000-0001-7564-8176.

Vladimir A. Suvorov, MD, Oncologist, Oncology Department of Surgical Methods of Treatment № 5, Volgograd Regional Clinical Cancer Center; Assistant of the Department of Oncology, Hematology and Transplantology of the Continued Medical and Pharmaceutical Education Institute at the Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia). ORCID: 0000-0002-9114-6683.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Nadezhda V. Kovalenko: critical review with the introduction of valuable intellectual content, final approval of the version of the manuscript for publication.

Victoriya V. Zhavoronkova: research supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Alexander I. Ivanov: research supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Mikhail P. Postolov: critical revision with the introduction of valuable intellectual content, correction of the draft of the manuscript.

Stanislav E. Tolstopyatov: critical revision with the introduction of valuable intellectual content, correction of the draft of the manuscript.

Dzhamalutdin D. Dzhafarov: data collection, literature search.

Polina M. Pavlovskaya: data collection, literature search.

Vladimir A. Suvorov: study conception, data collection and interpretation, drafting of the manuscript, statistical data analysis.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors express their gratitude to the Volgograd Regional Clinical Cancer Center for the opportunity to work with BARS, the medical information system, as well as to Gukovskoy N.V. for the assistance in survival analysis.

Для цитирования: *Щекутеев Н.А., Носов А.К.* Ранние послеоперационные осложнения криоабляции клинически локализованного рака почки на криотерапевтической установке «МКС» с жидким азотом в качестве хладагента. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 38–44. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-38-44

For citation: *Schekuteev N.A., Nosov A.K.* Early postoperative complications after liquid nitrogen – based cryoablation therapy for localized kidney cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 38–44. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-38-44

РАННИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ КРИОАБЛАЦИИ КЛИНИЧЕСКИ ЛОКАЛИЗОВАННОГО РАКА ПОЧКИ НА КРИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ УСТАНОВКЕ «МКС» С ЖИДКИМ АЗОТОМ В КАЧЕСТВЕ ХЛАДАГЕНТА

Н.А. Щекутеев, А.К. Носов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»

Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68.

E-mail: dr.shchekuteev@gmail.com

Аннотация

Работа посвящена структурной оценке частоты ранних послеоперационных осложнений и анализу прогностических факторов их развития. **Цель исследования** – выделить факторы риска развития послеоперационных осложнений после криоабляции локализованного рака почки. **Материал и методы.** В исследование включен материал 56 пациентов с клинически локализованным раком почки, которым в качестве лечебной опции была проведена криоабляция. Процедура криоабляции проводилась с использованием аппарата «МКС» (медицинская криотерапевтическая система) с жидким азотом в качестве подаваемого хладагента. Ранние послеоперационные осложнения, выявленные за период наблюдения в течение 30 дней, были определены в соответствии с классификацией Клавьен–Диндо. **Результаты.** В унивариантный анализ были включены 9 факторов-предикторов, априори влияющих на риск развития осложнений криоабляции рака почки. Однако только две были апостериорно ассоциированы с повышенным риском осложнений в раннем послеоперационном периоде: локализация опухоли в правой почке (отношение шансов 0,2619, 95 % доверительный интервал 0,08553–0,8020; $p=0,019$) и локализация в верхнем полюсе почки (отношение шансов 0,09955, 95 % доверительный интервал 0,01872–0,5292; $p=0,0068$). **Заключение.** Криоабляция клинически локализованного рака почки на криотерапевтической установке «МКС» с жидким азотом в качестве хладагента является эффективным и безопасным методом лечения с низкой частотой послеоперационных осложнений, требующих лишь консервативного ведения.

Ключевые слова: локализованный рак почки, криоабляция, осложнения, унивариантный анализ.

EARLY POSTOPERATIVE COMPLICATIONS AFTER LIQUID NITROGEN – BASED CRYOABLATION THERAPY FOR LOCALIZED KIDNEY CANCER

N.A. Schekuteev, A.K. Nosov

N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia,

Saint-Petersburg, Russia

68, Leningradsкая St., 197758, Saint-Petersburg, Russia.

E-mail: dr.shchekuteev@gmail.com

Abstract

The purpose of the study was to identify risk factors for the development of early postoperative complications after cryoablation of localized kidney cancer. **Material and Methods.** The study included 56 patients with kidney cancer who underwent cryoablation as a treatment option. Cryoablation for localized kidney cancer was performed using the liquid nitrogen-based cryogenic device. Early postoperative complications during the 30-day follow-up period were classified according to the Clavien-Dindo system. **Results.** The univariate analysis included 9 predictor factors that affected the risk of developing complications after kidney cancer cryoablation. However, only 2 factors were associated with an increased risk of postoperative complications: tumor localization in the right kidney (odds ratio – 0.2619, 95 % confidence interval – 0.08553–0.8020; $p=0.019$) and localization in the upper kidney pole (odds ratio 0.09955, 95 % confidence interval – 0.01872–0.5292; $p=0.0068$). **Conclusion.** Liquid nitrogen-based cryoablation therapy for localized kidney cancer was shown to be an effective and safe treatment option with a low incidence of postoperative complications.

Key words: localized kidney cancer, cryoablation, complications, univariate analysis.

Введение

Опухоли почек, из которых 85 % составляет почечно-клеточный рак, ежегодно являются причиной смерти у 140 тыс. человек во всем мире. Статистические показатели заболеваемости и смертности от рака почки – самые высокие в развитых странах, причем заболеваемость в этих странах продолжает расти. Значительной движущей силой данного увеличения можно назвать широкое использование передовых методов визуализации, благодаря чему более половины вновь выявленных опухолей почек в настоящее время можно обнаружить на ранних стадиях [1]. Эпидемиологический сдвиг в сторону локализованных опухолей, а также демографические изменения (повышение возраста наступления старости) обусловили спрос на минимально инвазивные варианты лечения небольших образований почки [2–4].

Криоабляция относится к методам, которые включают повреждение тканей путем замораживания с помощью эффекта Джоуля–Томсона. Она является наиболее оправданной при лечении локализованного рака почки. В зарубежных источниках приводится только сравнение доступа при криоабляции [5] или описание всех аблативных методик [6], или преимущества той или иной навигационной техники [7, 8]. В качестве объективного инструмента для описания анатомической сложности локализации опухоли, предсказывающего потенциальный риск развития осложнений после минимально инвазивных вмешательств, в настоящее время рассматриваются различные системы нефрометрии. Чаще других используются предоперационные характеристики и размеры образования. Работ, посвященных основанному на принципах доказательной медицины поиску предикторов осложнений после криовоздействия на опухоль, на данный момент нет.

Цель исследования – выделить факторы риска послеоперационных осложнений, возникающих после криоабляции локализованного рака почки.

Материал и методы

Проанализирован материал 56 пациентов с раком почки, которым в качестве лечебной опции

была проведена криоабляция на криотерапевтической установке «МКС» с жидким азотом в качестве хладагента. Критерием включения в исследования являлся клинически локализованный рак почки (cT1a-cT1bN0M0).

Процедура криоабляции проводилась с использованием аппарата «МКС» (медицинская криотерапевтическая система) с жидким азотом в качестве подаваемого хладагента (производство ООО «Международный институт криомедицины» (Россия), государственный регистрационный номер № РЗН 2014/2273 от 20 января 2015 г.). В устройстве использовались иглообразные зонды, в которых жидкий азот расширялся в большую камеру внутри зонда. Это быстрое расширение создавало температуру ниже -190°C на зонде, который охлаждал окружающую ткань за счет пассивной диффузии. С целью максимального разрушения опухоли все сеансы криоабляции проводились по одной и той же методике с числом циклов «замораживание – оттаивание» от 1 до 3. Продолжительность цикла зависела от размеров опухоли и, как следствие, размеров ледяной сферы, формирующейся за пределами образования почки. Протокол оттаивания включал пассивное нагревание в течение 5–10 мин между двумя циклами замораживания.

Вследствие богатого кровоснабжения опухоли почек более устойчивы к холоду, расчетная летальная температура составляет -40°C . Повреждение тканей во время криоабляции опосредуется прямым механическим ударом, осмотическим шоком и клеточной гипоксией, поскольку внутриклеточные кристаллы льда разрушают клеточную мембрану. По мере оттаивания нарушение микроциркуляции приводит к дальнейшему повреждению опухолевой ткани и после формированию локального фиброза.

Непосредственно перед началом процедуры криоабляции с целью морфологической верификации выполнялась трепанбиопсия образования. В исследование были включены только пациенты с подтвержденным онкологическим заболеванием. Для правильного позиционирования и монитори-

рования иглы, зондов и ледяного шара в режиме реального времени использовались УЗИ или КТ-навигация.

Ранние послеоперационные, стационарные осложнения и осложнения, выявленные при последующем наблюдении (в интервале 30 дней), были определены в соответствии с классификацией Клавьен–Диндо. Анализированы факторы, которые были связаны с частотой осложнений процедуры: представляющие интерес переменные сравнивались с использованием точного критерия χ^2 или Фишера для категориальных параметров, а также с помощью критерия Манна–Уитни или t-критерия Стьюдента для непрерывных переменных. Графически полученные результаты представляли с использованием пакетов «Statistica», версия 10, Microsoft® PowerPoint 2000 (Windows 10). В исследовании проведена оценка влияния факторов на признак-результат, в качестве которого был представлен факт возникновения раннего послеоперационного осложнения. С помощью коэффициентов связи было определено качество модели взаимосвязей переменных и результирующего признака.

Исследование было разработано в соответствии с этическими стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации, и одобрено локальным комитетом по этике. Все анамнестические, клинические и лабораторные данные, содержащие конфиденциальную информацию о пациентах, были деидентифицированы, чтобы обеспечить анализ только анонимных данных.

Суммарная характеристика пациентов представлена в табл. 1. Мужчин было 26 (46,4 %), женщин – 30 (53,6 %). Средний возраст – $66 \pm 7,9$ года. Максимальный размер опухоли – 73 мм (среднее значение – 26 ± 8 мм), в большинстве случаев (96,4 %) размеры опухоли почки не превышали 3 см. Образование локализовалось в правой почке – в 32 (57,1 %), в левой – в 24 (42,9 %) случаях. В верхней трети опухоль выявлена в 15 (26,8 %), в средней трети – в 28 (50 %), в нижней трети – в 13 (23,2 %) наблюдениях. По шкале RENAL была оценена степени сложности манипуляции. На долю низкой степени сложности выполнения абляции (оценка нефрометрии – 4–6) пришлось 37 (66,1 %), умеренной степени сложности (оценка нефрометрии – 7–9) – 19 (33,9 %) клинических случаев (табл.).

Таблица/Table

Характеристика пациентов, подвергшихся криоабляции локализованного рака почки
Characteristics of Patients Undergoing Cryoablation for Localized Kidney Cancer

Показатель/Parameters	Значение/Values
Возраст, лет/Age, years	
Среднее значение \pm SD (вариация)/Mean \pm SD (variation)	$66 \pm 7,9$ (40–86)
Медиана (межквартильный размах, Q1 – Q3)/Median (interquartile range, Q1 – Q3)	66,5 (58,75–72)
Пол/Gender	
Муж/Male	26 (46,4 %)
Жен/Female	30 (53,6 %)
Размер опухоли, мм/Tumor size, mm	
Среднее значение \pm SD (вариация)/Mean \pm SD (variation)	26 ± 8 (8–73)
Медиана (межквартильный размах, Q1 – Q3)/Median (interquartile range, Q1 – Q3)	24 (18–29)
T1a (≤ 40 мм)	28 (50 %)
T1a (≤ 20 мм)	21 (37,5 %)
T1a (> 20 мм)	15 (26,8 %)
T1b (≥ 40 мм)	2 (3,6 %)
Локализация опухоли/Tumor localization	
Правая почка/Right kidney	32 (57,1 %)
Левая почка/Left kidney	24 (42,9 %)
Полюс почки/Kidney pole	
Верхний/Upper	15 (26,8 %)
Средняя треть/Middle third	28 (50,0 %)
Нижний/Lower	13 (23,2 %)
RENAL	
≤ 6	37 (66,1 %)
> 6	19 (33,9 %)

У большинства пациентов оперативное пособие производилось с использованием эндотрахеальной анестезии – в 45 (80,4 %) случаях, реже – с применением местного обезболивания – у 11 (19,6 %) больных. Доступ для криоабляции был осуществлен перкутанным способом под УЗИ-навигацией в 4 (7,1 %) случаях, под КТ-навигацией – в 46 (82,1 %), лапароскопически – в 6 (10,7 %) наблюдениях. Количество зондов – от 1 до 4. Диаметр зондов варьировал от 1,5 до 3 см. Количество и диаметр зондов напрямую зависели от локализации и размеров опухоли почки. Число циклов «замораживание – оттаивание» колебалось от 1 до 3. Продолжительность операции составляла от 50 до 180 мин (среднее значение – $95,5 \pm 17,5$). Следует отметить, что у 17 (30,4 %) пациентов органосохраняющая операция проводилась на единственной почке (в анамнезе была нефрэктомия).

Результаты

В послеоперационном периоде подкапсульная гематома с максимальным объемом до 100 мл была диагностирована у 26 (46,4 %) пациентов, послеоперационный термический ожог кожи – у 2 (3,6 %) больных. Все осложнения были купированы консервативно. В одном наблюдении выявлен спонтанный пневмоторакс. Описанные осложнения классифицированы по системе Клавье–Диндо как I–II степени тяжести. Средний срок госпитализации составил 3 дня (от 0 до 7 дней).

В унивариантный анализ были отобраны 9 факторов-предикторов, влияющих на риск развития осложнений криоабляции рака почки. Только 2 фактора были апостериорно ассоциированы с повышенным риском осложнений в послеоперационном периоде: локализация опухоли в правой почке (отношение шансов 0,2619, 95 % доверительный интервал 0,08553–0,8020; $p=0,019$) и локализация в верхнем полюсе почки (отношение шансов 0,09955, 95 % доверительный интервал 0,01872–0,5292; $p=0,0068$) (рис. 1).

Обсуждение

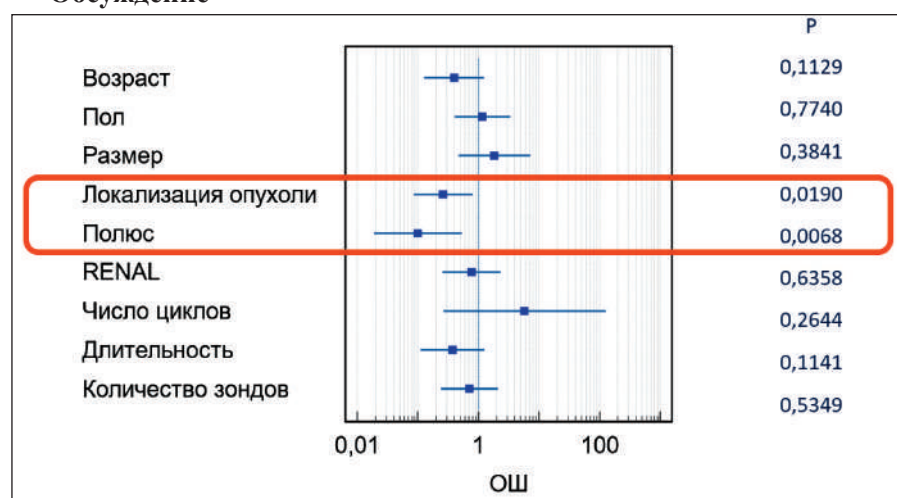


Рис. 1. Унивариантный анализ факторов риска осложнений криоабляции рака почки
Fig. 1. Univariate analysis of risk factors for complications of cryoablation of kidney cancer

Такие анатомические особенности, как близость к мочеточниково-тазовому соединению, тонкой или толстой кишке и нервам, могут увеличить риск осложнений, сопровождающих криоабляцию. Стентирование мочеточника для ретроградной пиелоперфузии и гидродиссекция кишечника являются стратегиями, используемыми для предотвращения осложнений, связанных с ранением этих органов. К сожалению, высокая частота развития подкапсульных гематом – 25 (46,4 %) в настоящем исследовании – не дает нам полного права применять нефрометрические системы, используемые для стратификации результатов резекции почки, для прогнозирования технической осуществимости криоабляции. Действительно, факторы, влияющие на техническую осуществимость криоабляции, отличаются от факторов, оказывающих действие на осуществимость других нефрон-сберегающих операций. Были предложены две системы нефрометрии: для прогнозирования риска развития осложнений, вызванных термической абляцией, и система анализа риска рецидива. Но обе оценки не имеют подтверждающих исследований, и, что примечательно, эти системы нефрометрии были разработаны для анализа популяций с небольшим числом пациентов и небольшим количеством негативных исходов [17, 18].

A.W.P. Maxwell et al., оценивая максимальный диаметр опухоли (категория Radius), показали, что этот фактор превосходил общий показатель нефрометрии RENAL в прогнозировании местного рецидива опухоли и повышенного риска осложнений [19]. Учитывая все недостатки нефрометрических систем для термических абляций, были созданы и протестированы альтернативные модели. Например, созданная в 2017 г. A.V. Mansilla et al. система оценки сложности чрескожной почечной абляции является упрощенной версией оценки нефрометрии RENAL и также учитывает потенциал ятрогенного повреждения близлежащих анатомических структур в модели риска. Данная система оценок, названная P-RAC, включает в себя максимальный диаметр опухоли, расстояние до ближайшей анатомической структуры, экзо- или эндофитный характер роста и неоднократность процедуры вблизи окружающих органов, которые подвергаются опасности повреждения [20]. Кроме того, были предложены и другие модифицированные системы (mRENAL) [21]. В этом способе ана-

лиза оценок прогнозирования риска осложнений основную роль играет диаметр опухоли, и авторы обнаружили, что mRENAL несет большую диагностическую ценность в предсказании серьезных осложнений, чем исходная оценка нефрометрии.

Другой системой стратификации риска осложнений стала (MC)2 скоринговая система. В ее основу были положены сведения о 4 факторах, выявленных при ретроспективном обзоре: диаметр опухоли, ее расположение, наличие инфаркта миокарда и осложненного диабета в анамнезе [22]. Авторами была доказана важность анамнестических данных, например, наличие коморбидности в анамнезе (инфаркта миокарда и осложненного сахарного диабета) было связано с увеличением периоперационных тромботических осложнений и кровотечений [23, 24]. Еще одним из преимуществ этой системы прогнозирования являлась стратификация информации о центральном расположении опухоли, что дает возможность планирования и подготовки более сложной с технической точки зрения абляции. Данная система оценки продемонстрировала большую эффективность в анализе прогнозирования риска серьезных осложнений [0,76 (95 % ДИ: 0,68, 0,85)], чем оценка нефрометрии RENAL [0,65 (95 % ДИ: 0,55, 0,76)]. Недостатками (MC)2 скоринговой системы является отсутствие балльной стратификации гистологического диагноза, информации о близлежащих органах, об опыте хирурга, количестве зондов, погрешности на индивидуальные анатомические особенности пациента.

Полученные в нашем исследовании результаты станут первыми в попытке создания адаптированной скоринговой системы прогнозирования риска серьезных осложнений после криогенной абляции, что позволит с большей точностью предсказывать вероятность их возникновения.

Заключение

Настоящее исследование имеет ограничение: выборка пациентов, включенных в изучение, небольшая из-за строгих критериев отбора. Для получения качественных результатов необходимы более серьезные проспективные исследования. Несмотря на это, в статье представлена самая большая на данный момент в Российской Федерации серия пациентов, которым выполнена криоабляция и проведены серьезные статистические расчеты с использованием методов однофакторного анализа.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Capitanio U., Bensalah K., Bex A., Boorjian S.A., Bray F., Coleman J., Gore J.L., Sun M., Wood C., Russo P. Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol*. 2019; 75(1): 74–84. doi: 10.1016/j.eururo.2018.08.036.
2. Ramanathan R., Leveillee R.J. Ablative therapies for renal tumors. *Ther Adv Urol*. 2010; 2: 51–68. doi.org/10.1177/1756287210366708.
3. Campbell S., Uzzo R.G., Allaf M.E., Bass E.B., Cadeddu J.A., Chang A., Clark P.E., Davis B.J., Derweesh I.H., Giambardino L., Gervais D.A., Hu S.L., Lane B.R., Leibovich B.C., Pierorazio P.M. Renal Mass and Localized Renal Cancer: AUA Guideline. *J Urol*. 2017; 198(3): 520–9. doi: 10.1016/j.juro.2017.04.100.
4. Chang X., Liu T., Zhang F., Ji C., Zhao X., Wang W., Guo H. Radiofrequency ablation versus partial nephrectomy for clinical T1a

renal-cell carcinoma: long-term clinical and oncologic outcomes based on a propensity score analysis. *J Endourol*. 2015; 29(5): 518–25. doi: 10.1089/end.2014.0864.

5. Cernic S., Marrochio C., Ciabattini R., Fiorese I., Stacul F., Giudici F., Rizzo M., Cova M.A. Percutaneous CT-Guided Renal Cryoablation: Technical Aspects, Safety, and Long-Term Oncological Outcomes in a Single Center. *Medicina (Kaunas)*. 2021; 57(3): 291. doi: 10.3390/medicina57030291.

6. Abdelsalam M.E., Ahrar K. Ablation of Small Renal Masses. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2020; 23(2): 100674. doi: 10.1016/j.tvir.2020.100674.

7. Asayama Y., Nishie A., Ushijima Y., Okamoto D., Morita K., Takao S., Kakiyama D., Ishimatsu K., Ishigami K., Fujita N., Honda H.

Usefulness of a Pretreatment CT-Based Modified RENAL Nephrometry Score in Predicting Renal Function After Cryotherapy for T1a Renal Mass. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2019; 42(8): 1128–34. doi: 10.1007/s00270-019-02238-1.

8. De Marini P, Cazzato R.L., Garnon J., Dalili D., Leonard-Lorant I., Leclerc L., Autrusseau P.A., Auloge P., Weiss J., Tricard T., Lang H., Gangi A. Safety and oncologic efficacy of percutaneous MRI-guided cryoablation of intraparenchymal renal cancers. *Diagn Interv Imaging.* 2021; 102(9): 531–8. doi: 10.1016/j.diii.2021.04.002.

9. Anwell T.D., Farrell M.A., Leibovich B.C., Callstrom M.R., Chow G.K., Blute M.L., Charboneau J.W. Percutaneous renal cryoablation: experience treating 115 tumors. *J Urol.* 2008; 179(6): 2136–40. doi: 10.1016/j.juro.2008.01.144.

10. Littrup P.J., Ahmed A., Aoun H.D., Noujaim D.L., Harb T., Nakat S., Abdallah K., Adam B.A., Venkatramanamoorthy R., Sakr W., Pontes J.E., Heilbrun L.K. CT-guided percutaneous cryotherapy of renal masses. *J Vasc Interv Radiol.* 2007; 18(3): 383–92. doi: 10.1016/j.jvir.2006.12.007.

11. Campbell S.C., Novick A.C., Belldgrun A., Blute M.L., Chow G.K., Derweesh I.H., Faraday M.M., Kaouk J.H., Leveillee R.J., Matin S.F., Russo P., Uzzo R.G.; Practice Guidelines Committee of the American Urological Association. Guideline for management of the clinical T1 renal mass. *J Urol.* 2009; 182(4): 1271–9. doi: 10.1016/j.juro.2009.07.004.

12. Ficarra V., Novara G., Secco S., Macchi V., Porzionato A., De Caro R., Artibani W. Preoperative aspects and dimensions used for an anatomical (PADUA) classification of renal tumours in patients who are candidates for nephron-sparing surgery. *Eur Urol.* 2009; 56(5): 786–93. doi: 10.1016/j.eururo.2009.07.040.

13. Stacul F., Sachs C., Giudici F., Bertolotto M., Rizzo M., Pavan N., Balestreri L., Lenardon O., Pinzani A., Pola L., Cicero C., Celia A., Cova M.A. Cryoablation of renal tumors: long-term follow-up from a multicenter experience. *Abdom Radiol (NY).* 2021; 46(9): 4476–88. doi: 10.1007/s00261-021-03082-z.

14. Aoun H.D., Littrup P.J., Jaber M., Memon F., Adam B., Krycia M., Prus M., Heath E., Pontes E. Percutaneous Cryoablation of Renal Tumors: Is It Time for a New Paradigm Shift? *J Vasc Interv Radiol.* 2017; 28(10): 1363–70. doi: 10.1016/j.jvir.2017.07.013.

15. Okhunov Z., Juncal S., Ordon M., George A.K., Lusch A., del Junco M., Nguentat M., Lobko I.I., Kavoussi L., Landman J. Comparison of outcomes in patients undergoing percutaneous renal cryoablation with sedation vs general anesthesia. *Urology.* 2015; 85(1): 130–4. doi: 10.1016/j.urol.2014.09.013.

16. Breen D.J., King A.J., Patel N., Lockyer R., Hayes M. Image-guided Cryoablation for Sporadic Renal Cell Carcinoma: Three- and 5-year

Outcomes in 220 Patients with Biopsy-proven Renal Cell Carcinoma. *Radiology.* 2018; 289(2): 554–61. doi: 10.1148/radiol.2018180249.

17. Rosevear H.M., Gellhaus P.T., Lightfoot A.J., Kresowik T.P., Joudi F.N., Tracy C.R. Utility of the RENAL nephrometry scoring system in the real world: predicting surgeon operative preference and complication risk. *BJU Int.* 2012; 109(5): 700–5. doi: 10.1111/j.1464-410X.2011.10452.x.

18. Simhan J., Smaldone M.C., Tsai K.J., Canter D.J., Li T., Kutikov A., Viterbo R., Chen D.Y.T., Greenberg R.E., Uzzo R.G. Objective measures of renal mass anatomic complexity predict rates of major complications following partial nephrectomy. *Eur Urol.* 2011; 60(4): 724–30. doi: 10.1016/j.eururo.2011.05.030.

19. Maxwell A.W.P., Baird G.L., Iannuccilli J.D., Mayo-Smith W.W., Dupuy D.E. Renal Cell Carcinoma: Comparison of RENAL Nephrometry and PADUA Scores with Maximum Tumor Diameter for Prediction of Local Recurrence after Thermal Ablation. *Radiology.* 2017; 283(2): 590–7. doi: 10.1148/radiol.2016161225.

20. Mansilla A.V., Bivins E.E. Jr., Contreras F., Hernandez M.A., Kohler N., Pepe J.W. CT-Guided Microwave Ablation of 45 Renal Tumors: Analysis of Procedure Complexity Utilizing a Percutaneous Renal Ablation Complexity Scoring System. *J Vasc Interv Radiol.* 2017; 28(2): 222–9. doi: 10.1016/j.jvir.2016.10.013.

21. Mouli S.K., McDevitt J.L., Su Y.K., Ragin A.B., Gao Y., Nemcek A.A. Jr., Lewandowski R.J., Salem R., Sato K.T. Analysis of the RENAL and mRENAL Scores and the Relative Importance of Their Components in the Prediction of Complications and Local Progression after Percutaneous Renal Cryoablation. *J Vasc Interv Radiol.* 2017; 28(6): 860–7. doi: 10.1016/j.jvir.2016.12.1224.

22. McCafferty B.J., Huang J.J., El Khudari H., Macha V., Bready E., Rais-Bahrani S., Gunn A.J. External Validation of the Renal Ablation-Specific (MC)2 Risk Scoring System in Predicting Complications from Percutaneous Renal Cryoablation. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2021; 44(11): 1763–8. doi: 10.1007/s00270-021-02929-8.

23. Schmit G.D., Schenck L.A., Thompson R.H., Boorjian S.A., Kurup A.N., Weisbrod A.J., Kor D.J., Callstrom M.R., Atwell T.D., Carter R.E. Predicting renal cryoablation complications: new risk score based on tumor size and location and patient history. *Radiology.* 2014; 272(3): 903–10. doi: 10.1148/radiol.14132548.

24. Oberweis B.S., Nukala S., Rosenberg A., Guo Y., Stuchin S., Radford M.J., Berger J.S. Thrombotic and bleeding complications after orthopedic surgery. *Am Heart J.* 2013; 165(3): 427–33. doi: 10.1016/j.ahj.2012.11.005.

Поступила/Received 08.02.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 31.03.2022

Принята к публикации/Accepted 12.04.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Щекутеев Никита Андреевич, врач-онколог, аспирант научного отдела хирургической онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: dr.shchekuteev@gmail.com. ORCID: 0000-0001-9625-3907.

Носов Александр Константинович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, доцент, заведующий отделением онкоурологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-3850-7109.

ВКЛАД АВТОРОВ

Щекутеев Никита Андреевич: разработка концепции научной статьи, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Носов Александр Константинович: 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 AUTHORS

Nikita A. Shchekuteev, MD, Oncologist, Postgraduate, Department of Surgical Oncology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (Saint-Petersburg, Russia). E-mail: dr.shchekuteev@gmail.com. ORCID: 0000-0001-9625-3907.

Alexander K. Nosov, MD, PhD, Senior Researcher, Associate Professor, Head of Department of Urologic Oncology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-3850-7109.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Nikita A. Shchekuteev: study conception and design, statistical analysis, drafting of the manuscript.

Alexander K. Nosov: supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-45-54
УДК: 618.11-006.6:576.311.3:577.2

Для цитирования: *Ракина М.А., Казакова Е.О., Сударских Т.С., Безгодова Н.В., Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Ларионова И.В.* Гигантские макрофаги с пенистой цитоплазмой при прогрессирующем раке яичников. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 45–54. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-45-54

For citation: *Rakina M.A., Kazakova E.O., Sudarskikh T.S., Bezgodova N.V., Villert A.B., Kolomiets L.A., Larionova I.V.* Giant foam-like macrophages in advanced ovarian cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 45–54. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-45-54

GIANT FOAM-LIKE MACROPHAGES IN ADVANCED OVARIAN CANCER

**M.A. Rakina¹, E.O. Kazakova¹, T.S. Sudarskikh¹, N.V. Bezgodova², A.B. Villert²,
L.A. Kolomiets², I.V. Larionova^{1,2}**

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia¹

36, Lenina St., 634050, Tomsk, Russia. E-mail: militsarakina@mail.ru¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia²

Abstract

Introduction. Ovarian cancer (OC) is the third most common gynecological cancer with the worst prognosis and highest mortality rate. The progression of OC can be accompanied by the detrimental functions of the components of the tumor microenvironment, including tumor-associated macrophages (TAMs). **The purpose of the study** to analyze distribution and morphological phenotype of TAMs in tumor tissue of patients with high-grade serous ovarian cancer (HGSOC). **Material and Methods.** Formalin fixed paraffin embedded tissue sections were obtained from ovarian cancer patients after tumor resection. The protein expression of general macrophage marker CD68 and M2-like markers CD206, CD163 and stabilin-1, belonging to scavenger receptors, was analysed by immunohistochemical staining in tumor tissue. Histological assessment of TAM distribution was performed by pathologist. Immunofluorescent analysis/confocal microscopy was applied to establish the co-expression of CD68 with the main macrophage scavenger receptors. **Results.** We were able to find giant CD68-positive macrophages with foamy cytoplasm in ovarian tumor tissue. The accumulation of these TAMs was specific only for patients with advanced stage (IIIC and IV stages). The presence of foam-like TAMs had a statistical tendency to be associated with ovarian cancer progression, including metastasis and recurrence. The distribution of stabilin-1-positive macrophages was matched to CD68 expression in almost all cases, as was shown by IHC. Confocal microscopy confirmed that stabilin-1 was expressed in at least 50 % of giant TAMs. IF analysis of tumor samples also demonstrated co-expression of other scavenger receptors, CD163 and CD36, in foam-like cells. Similar to IHC, in most samples the expression of CD206 in TAMs of foam-like morphology was limited. **Conclusion.** For the first time we demonstrated the accumulation of giant macrophages with fluffy foam cytoplasm in the tumor tissue of treated patients with advanced ovarian cancer. Such macrophages express diverse scavenger receptors (stabilin-1, CD163, CD36), thus indicating a high clearance activity of giant TAMs.

Key words: ovarian neoplasms, tumor-associated macrophages, foam-like cells, receptors, scavenger.

ГИГАНТСКИЕ МАКРОФАГИ С ПЕНИСТОЙ ЦИТОПЛАЗМОЙ ПРИ ПРОГРЕССИРУЮЩЕМ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

М.А. Ракина¹, Е.О. Казакова¹, Т.С. Сударских¹, Н.В. Безгодова²,
А.Б. Виллерт², Л.А. Коломиец², И.В. Ларионова^{1,2}

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
г. Томск, Россия¹

Россия, 634050, г. Томск, ул. Ленина, 36. E-mail: militsarakina@mail.ru¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5²

Аннотация

Введение. Рак яичников (РЯ) занимает 3-е место среди гинекологических злокачественных новообразований и имеет наиболее неблагоприятный прогноз с самой высокой смертностью. Прогрессирование РЯ может сопровождаться активным вовлечением в опухолевую прогрессию компонентов опухолевого микроокружения, в том числе опухолеассоциированных макрофагов (ОАМ). **Цель исследования** – проанализировать распределение и морфологический фенотип ОАМ в опухолевой ткани больных серозным раком яичников высокой степени злокачественности (HGSOC). **Материал и методы.** Парафиновые срезы опухолевой ткани получены после операций по поводу рака яичников. С помощью иммуногистохимического окрашивания в опухолевой ткани анализировали белковую экспрессию общего маркера макрофагов CD68 и M2-подобных маркеров CD206, CD163 и стабиллина-1, принадлежащих к скавенджер-рецепторам. Гистологическая оценка распределения ОАМ проводилась патологоанатомом. Иммунофлуоресцентный анализ/конфокальную микроскопию применяли для установления коэкспрессии CD68 с основными скавенджер-рецепторами макрофагов. **Результаты.** В ткани опухоли яичника мы обнаружили гигантские CD68-позитивные макрофаги с пенистой цитоплазмой. Накопление этих ОАМ было характерно для пациенток с распространенным опухолевым процессом (IIIС и IV стадии). Наличие ОАМ с пенистой цитоплазмой на уровне статистической значимости ассоциировалось с прогрессированием рака яичников, включая метастазирование и рецидивирование. Распределение стабиллин-1-позитивных макрофагов практически во всех случаях соответствовало экспрессии CD68, что было показано методом ИГХ. Конфокальная микроскопия подтвердила, что стабиллин-1 экспрессируется по крайней мере в 50 % гигантских ОАМ. Иммунофлуоресцентное окрашивание образцов опухоли также продемонстрировало ко-экспрессию других скавенджер-рецепторов, CD163 и CD36, в клетках с пенистой цитоплазмой. По данным ИГХ-исследования и конфокальной микроскопии экспрессия CD206 в ОАМ с пенистой цитоплазмой в большинстве образцов практически отсутствовала. **Выводы.** Впервые продемонстрировано накопление гигантских макрофагов с рыхлой пенистой цитоплазмой в опухолевой ткани больных раком яичников IIIС и IV стадии. Такие макрофаги экспрессируют разнообразные скавенджер-рецепторы (стабиллин-1, CD163, CD36), что указывает на высокую клиренсную активность гигантских ОАМ.

Ключевые слова: рак яичников, опухолеассоциированные макрофаги, клетки с пенистой цитоплазмой, скавенджер-рецепторы.

Introduction

Ovarian cancer (OC) is the third among most common gynecological cancer after cervical and endometrial cancers and has the worst prognosis with the highest mortality rate [1, 2]. In 2020, 313,959 cases of ovarian cancer were detected, representing 3.4 % of all cancers in women and 207,252 deaths occurred [3]. The urgency of the OC research derives from the large number of issues associated with late-stage diagnosis, difficulties in choosing treatment tactics, low treatment efficacy and a high proportion of relapses [1, 4, 5]. There are no effective criteria for diagnosing OC in the early stages, and screening tests have limited sensitivity. Therefore, up to 70 % of OC cases are detected at late stages [6]. More than 80 % of pa-

tients with advanced OC recur and die within 5 years [7]. However, the life expectancy of patients with the early stages of OC (stages I–II) is very favorable, and the five-year survival rate of such women is 92 % [8, 9]. Tumors usually respond to the first-line standard platinum/taxane-based chemotherapy. Despite this, the development of relapses associated with multidrug resistance is detected within a short period of time in 70 % of patients. It can be accompanied by the detrimental effect of therapeutic agents on the components of the tumor microenvironment (TME), including tumor-associated macrophages (TAM) [10].

TAMs are key cells of the innate immunity in tumors. In most cancers, including breast cancer, ovarian cancer, prostate cancer, lung cancer, gastric

cancer, glioblastoma, and melanoma, TAM infiltration positively correlates with metastasis and short-term survival [11]. In ovarian cancer, the ratio of anti-tumor (M1)/pro-tumor (M2) TAMs has a prognostic value for predicting metastasis and recurrence, as shown in several patient cohorts [11–13]. However, plastic adaptation of macrophages to structural tumor development leads to TAM heterogeneity, which can significantly depend on tumor type, tumor microenvironment, and the location of TAMs in particular intratumoral compartments [11, 14, 15]. The major markers of TAMs belong to the scavenger receptors and include common marker of macrophages CD68, and M2 markers with pro-tumor polarization CD206, CD163, CD204, MARCO, stabilin-1, and others [16, 17].

In some cancers macrophages obtain the phenotype of foam cells, where the intracellular lipid content exceeds macrophage's capacity to maintain lipid homeostasis, triggering lipid droplet formation and the foamy appearance [18–21]. Studies showed that foam cells tend to lose immune functions and induce tissue damage [18, 22, 23]. Foamy cells have been extensively studied in atherosclerosis and tuberculosis, however the role of these cells in cancer has only begun to be explored recently [19].

In the present study we analyzed M2-like TAM distribution and morphological phenotype in tumor tissue of patients with high-grade serous ovarian cancer (HGSOC). We were able to find foam-like CD68-positive macrophages with characteristics of incomplete endocytosis in advanced stage patients. We described the phenotypic profile of these cells.

The purpose of the study to analyze distribution and morphological phenotype of TAMs in tumor tissue of patients with high-grade serous ovarian cancer (HGSOC).

Material and Methods

Clinical samples

The study included 42 patients with histologically-verified high-grade serous ovarian carcinoma (HGSOC), treated at the Department of Gynecological Oncology, Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center (Tomsk, Russia) from 2015 to 2021. The study was carried out according to Declaration of Helsinki (from 1964, revised in 1975 and 1983) and was approved by the local committee of Medical Ethics of Tomsk Cancer Research Institute; all patients signed informed consent for the study. The clinical and pathological parameters of OC patients are presented in Table 1.

Neoadjuvant chemotherapy regimens included standard platinum/taxane-based chemotherapy (cisplatin/carboplatin and paclitaxel/docetaxel). The chemotherapy response score (CRS) was used for the assessment of histological effect in ovarian cancer after neoadjuvant chemotherapy (NACT). All patients underwent surgical treatment. In adjuvant regime, patients received chemotherapy by the same schemes.

Immunohistochemical analysis

Formalin fixed paraffin embedded (FFPE) tissue sections were obtained from all ovarian cancer patients after tumor resection. Immunohistochemical analysis (IHC) was carried out by the standard method. Briefly, the slides with the samples were placed in xylene and alcohols for deparaffinization. Antigen unmasking was performed using EDTA buffer with pH 9.0 with heating. A protein block (Abcam, UK) and a hydrogen peroxide block (Spring BioScience, USA) were then used sequentially. Incubation with primary antibodies pre-diluted in 1 % BSA was carried out in a humid chamber. Antibodies to general marker of TAMs include monoclonal mouse anti-CD68 (1:100, clone KP1, NBP2-44539, Novus Biologicals, USA), and to specific M2-like subpopulations include rabbit anti-CD163 (1:250, ab182422, Abcam, USA), goat anti-CD206 (1:20, AF2534, R&D Systems, USA), and anti-stabilin-1 rabbit polyclonal antibody RS-1 (1:1000) [24]. To visualize the antigen-antibody reaction, rabbit anti-goat IgG (1:250, VB2932894, Invitrogen, USA) or poly-HRP anti-mouse/rabbit system (Bond oracle IHC system, TA9145, Leica Biosystems, Germany) were used. The nuclei were counterstained with hematoxylin.

Digital IHC analysis and quantification

Tumor tissue slides were scanned by using the Leica Aperio AT2 histoscanning station (Leica, Germany) and ScanScope software (Aperio ScanScope XT Leica). QuPath software (free from <https://qupath.github.io>) was used to analyze and quantify marker expression. Individual tumor regions were selected and analyzed using the cell detection and cell intensity classification. "Cell: DAB OD mean" was used for the analysis of both membranous and cytoplasmic staining of a selective antibody. Intensity thresholds were set to further subclassify cells as being negative, weak, moderate or strongly positive for CD68, CD163, CD206 and stabilin-1 staining based upon mean nuclear DAB optical densities. The results of analysis were presented with H-score parameter that was automatically calculated by QuPath software for each tissue section.

Immunofluorescent staining and confocal microscopy

Immunofluorescent staining was performed using monoclonal mouse anti-CD68 (1:100, clone KP1, NBP2-44539, Novus Biologicals, USA); monoclonal rabbit anti-CD163 (1:250, clone EPR19518, ab182422, Abcam, USA), monoclonal rat anti-CD68 (1:50, clone FA-11, GTX41864, GeneTex, USA), and monoclonal mouse anti-CD36 (1:50, clone 185-1G2, MA5-14112, ThermoFisher scientific, USA). The following combinations of secondary antibodies were used: Cy3-conjugated anti-rabbit, AlexaFluor488-conjugated anti-mouse, AlexaFluor647-conjugated anti-goat and AlexaFluor647-conjugated anti-rat

Table 1/Таблица 1

Clinical and pathological parameters of OC patients
Клинико-патологические параметры пациенток с раком яичника

Clinical and pathological parameters/ Клинико-патологические параметры	Number of patients/ Количество пациенток
Age, years/Возраст, лет	61.2 ± 13.2
Stage/Стадия	
I	2 (4.8 %)
II	4 (9.5 %)
III	22 (52.4 %)
IV	4 (33.3 %)
NACT/НАХТ	
Treated /Прошедших лечение	29 (69.0 %)
Untreated /Не прошедших лечение	13 (31.0 %)
Response to NACT/Эффект от НАХТ	
CRS1	5 (17.2 %)
CRS2	12 (41.4 %)
CRS3	12 (41.4 %)
Ascites/Асцит	
Yes /Да	20 (47.6 %)
No /Нет	15 (35.7 %)
Unknown /Неизвестно	7 (16.7 %)
Carcinomatosis/Канцероматоз	
Yes /Да	28 (66.7 %)
No /Нет	14 (33.3 %)
Recurrence/Рецидив	
Yes /Да	16 (38.1 %)
No /Нет	26 (61.9 %)
Progression/Прогрессирование	
Yes /Да	9 (21.4 %)
No /Нет	33 (78.6 %)
Foam-like macrophages/Пенообразные макрофаги	
Yes /Да	20 (47.6 %)
No /Нет	22 (52.4 %)

antibodies (all donkey, Dianova, Germany, dilution 1:400). Samples were mounted with Fluoroshield Mounting Medium with DAPI (#ab104135, Abcam, USA) and analyzed by confocal microscopy. Confocal laser scanning microscopy was performed with Carl Zeiss LSM 780 NLO laser scanning spectral confocal microscope (Carl Zeiss, Germany), equipped with 40x objective. Data were acquired and analyzed with Black Zen software. All three- and four-color images were acquired using a sequential scan mode.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using STATISTICA 8.0 for Windows. The Mann-Whitney test was implemented to compare two independent groups. Fisher Exact Probability Test was applied for the association of recurrence with the presence of foam-like cells. Data are presented as mean±standart deviation (M±SD) (Table 1). Results were considered to be significant with $p < 0.05$. Data with marginal significance (p value < 0.1) were also discussed.

Results

We characterized TAM morphology and amount in tumor tissue of HGSOc patients. Firstly, the expression of general macrophage marker CD68 and the main M2-like markers including CD163, CD206, and stabilin-1, was assessed by quantitative IHC. All analyzed markers belong to scavenger receptors, that are essential for TAM function [25]. Ligands for scavenger receptors include modified LDL, phospholipids, apoptotic cells, amyloid proteins, ferritin, hyaluronan (HA), heparin, and others [25]. TAMs actively display endocytosis altering extracellular landscape of TME and regulating tumor development [26].

Tissue slides were scanned and then the expression of TAM markers was analyzed. The level of protein expression of CD68, CD206, CD163 and stabilin-1 was quantified using the cell detection and cell intensity classification. Statistical analysis based on the comparison of two independent groups did not show significant differences in the expression of CD68, CD206, CD163 and stabilin-1 for the ovarian cancer stages, the present of recurrence, metastasis, and ascites, and for NACT response ($p > 0.05$).

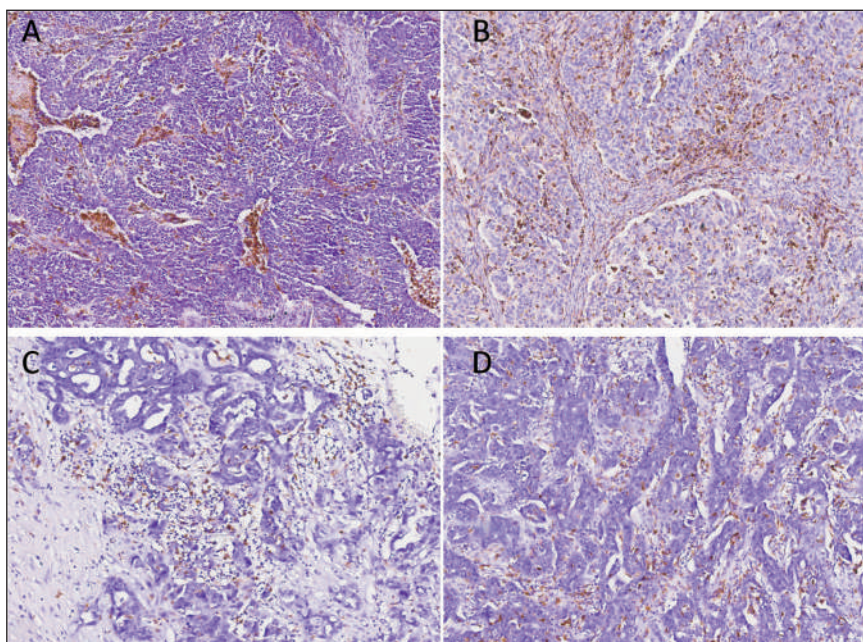


Fig. 1. Microphoto. Immunohistochemistry. The distribution of CD68-positive macrophages in tumor tissue. (A) intratumoral located macrophages with uniform and diffuse disposition, with increased amount around/inside necrosis focus and invasive front; (B) uniform disposition inside whole tumor area; (C) discrete macrophages or small groups of macrophages in stroma; (D) irregular intratumoral location of macrophages. $\times 40$

Рис. 1. Микрофото. ИГХ-исследование. Распределение CD68-позитивных макрофагов в опухолевой ткани. (А) внутриопухолевые макрофаги с равномерным и диффузным расположением с увеличенным накоплением вокруг/внутри очага некроза и фронта инвазии; (В) равномерное расположение в пределах всей опухоли; (С) отдельные макрофаги или небольшие группы макрофагов в строме; (D) неравномерное внутриопухолевое расположение макрофагов. $\times 40$

Then we analyzed the distribution and morphological features of TAMs. The distribution of CD68-positive TAMs varied greatly between tumors, but no correlation with clinical and pathological parameters was demonstrated. Tumors displayed diverse TAM content: a) intratumoral located macrophages with uniform and diffuse disposition, with increased amount around/inside necrosis focus and invasive front; b) irregular intratumoral location of macrophages; c) discrete macrophages or small groups of macrophages in stroma; d) uniform disposition inside whole tumor area; e) abundant accumulation of giant foam-like macrophages in stroma (Fig. 1). We were interested in the accumulation of giant CD68-positive macrophages that resemble foam-like cells. These TAMs have fluffy foamy granular cytoplasm, sometimes with inclusions. This morphology is the outcome of lipid over-intake and was found to be inherent to macrophages in atherosclerosis and tuberculosis, as well as in some cancers such as colorectal and renal cancers [21, 27, 28].

The presence of these macrophages in tumor was found in almost 50 % of patients (20/42 cases). Interestingly, all of them have advanced ovarian cancer: 9 patients with stage 3C and 11 patients with stage 4. Among 20 patients with giant fluffy macrophages, 18 patients underwent NACT, with different initial histological response (CRS1-CRS3). In most cases, foam-like macrophages form big aggregates in stroma surrounding tumor cells (Fig. 2A-C). In some patients,

foam-like CD68+ cells are located in small aggregates or as discrete cells (Fig. 2F). Such cells can be merged and form 2 and 3-nuclei cells, resembling epithelioid cells (activated macrophages with pale foamy cytoplasm) [29]. The location of giant macrophages with cytoplasmic vacuolation around tumor cells after chemotherapy can indicate that they can have characteristics of incomplete endocytosis [30]. The presence of foam-like TAMs had a tendency to be associated with ovarian cancer progression, including metastasis and recurrence (Fisher's exact test, $p=0.058$). Further IHC analysis allowed us to reveal that foam-like macrophages express scavenger receptor stabilin-1 in almost 100 % of cases (Fig. 3A). Stabilin-1-positive cells had the same morphology and location in tumor tissue. The expression of other M2 marker CD163 was almost the same, but CD206 expression was absent in many samples (Fig. 3B and C).

These observations prompted us to perform immunofluorescent analysis to reveal the co-expression of CD68 and most common macrophage scavenger receptors (CD206, CD163, CD36, and stabilin-1). Using four-colour IF images we confirmed the co-expression of stabilin-1 in CD68+ macrophages (Fig. 3A). Stabilin-1 was expressed in at least 50 % of giant TAMs. IF analysis of several tumor samples also demonstrated co-expression of other SRs, CD163 and CD36, in foam-like cells (Fig. 3B). Similar to IHC, in most samples we did not find the expression of CD206 in TAMs of foam-like morphology (Fig. 3A).

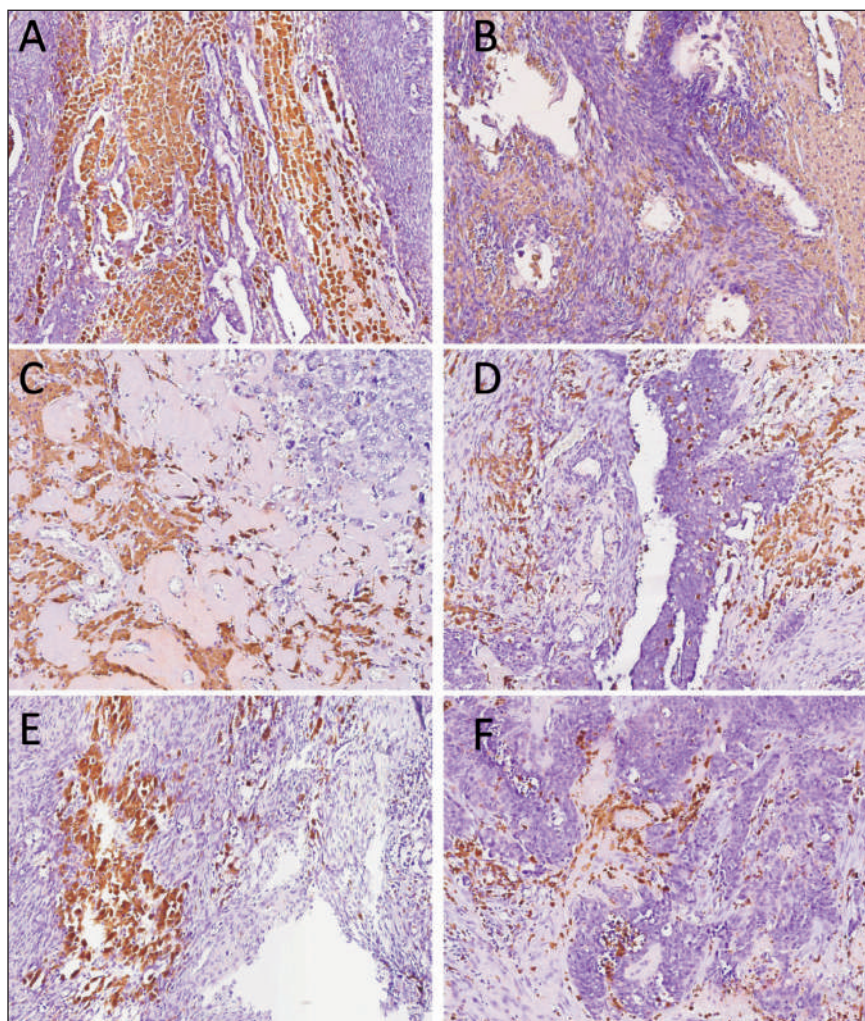


Fig. 2. Microphoto. Immunohistochemistry. The distribution of large foam-like CD68+ macrophages in tumor tissue of HGSOC. (A) and (B), big aggregates of foam-like macrophages surrounded tumor cells. (C) and (D), fluffy macrophages in fibrosis around tumor cells. (E) – medium aggregates of foam-like macrophages. (F) – small aggregates or discrete cells with foam-like morphology. $\times 40$

Рис. 2. Микрофото. ИГХ-исследование. Распределение крупных CD68+ макрофагов с пенистой цитоплазмой в опухолевой ткани HGSOC. (А) и (В) — большие скопления макрофагов с пенистой цитоплазмой, окружающих опухолевые клетки; (С) и (D), рыхлые макрофаги в фиброзе вокруг опухолевых клеток; (Е) — средние агрегаты макрофагов с пенистой цитоплазмой; (F) — мелкие агрегаты или дискретные клетки с пенообразной морфологией. $\times 40$

Discussion

Foam macrophages are cells with extensive amount of fluffy looking cytoplasm. This morphology is due to aberrant lipoprotein metabolism and accumulation of LDL or cholesterol either via macropinocytosis or scavenger receptor-mediated pathways (mostly by SRA and CD36) [31]. In our study for the first time we found the aggregates of giant macrophages with foamy cytoplasm in patients with advanced ovarian cancer. Cancer cells were able to activate adipocytes and other stromal cells to lipolyze their triglyceride storage resulting in release of fatty acids (FA) outside of cells, that was linked to an increased risk of developing lung cancer, gastric cancer, thyroid cancer, rectal cancer, colon cancer, and ovarian cancer [27, 32]. Excessive amount of FA in intratumoral milieu prompts TAMs to uptake FA through SR-mediated phagocytosis, which in turn leads to formation of lipid-laden TAMs [28].

In colorectal cancer, the formation of lipid droplet-bearing CD68⁺CD206⁺ TAMs was specifically found in tumor tissue, but not in adjacent benign tissue, indicating that specific quality of TAMs could serve as a parameter to predict the prognosis of cancer [28]. Moreover, the lipid droplet-dependent FA metabolism was shown to induce the immunosuppressive phenotype of TAMs, and targeting lipid droplets with chemical inhibitors impaired tumor growth in vivo [28]. A correlation between the presence of large tumor-associated macrophages (L-TAMs) in colorectal cancer metastasis and poor outcomes was observed. The presence of L-TAMs correlated to low 5-year disease-free survival rates, while in case of small TAMs (S-TAM) the survival rate was higher [20]. Transcriptomic analysis demonstrated that the gene profile of L-TAMs was associated with lipid metabolism; however, S-TAMs had a distinct profile characterized by

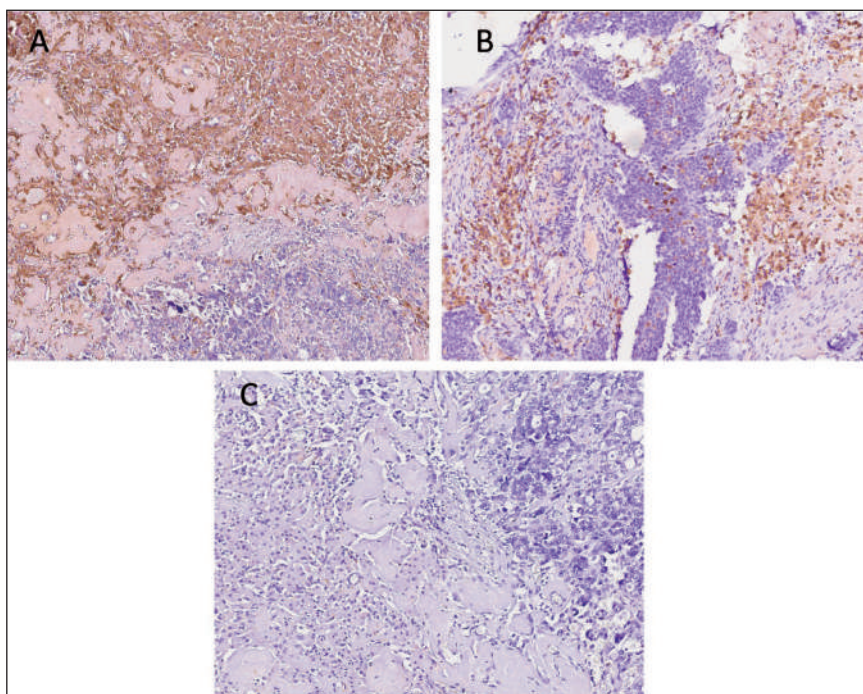


Fig. 3. Microphoto. Immunohistochemistry. Representative images of M2 foam-like macrophages in tumor tissue of HGSOV. (A) Stabilin-1-positive TAMs located in fibrosis tissue surrounding tumor cells. (B) CD163-positive TAMs located in fibrosis tissue surrounding tumor cells. (C) The absence of CD206 expression in foam-like macrophages. $\times 40$

Рис 3. Микрофото. ИГХ-исследование. Примеры пениобразных M2 макрофагов в опухолевой ткани HGSOV. (A) Стабилилин-1-положительные ОАМ, расположенные в фиброзной ткани, окружающей опухолевые клетки; (B) CD163-положительные ОАМ, расположенные в фиброзной ткани, окружающей опухолевые клетки; (C) Отсутствие экспрессии CD206 в пениобразных макрофагах. $\times 40$

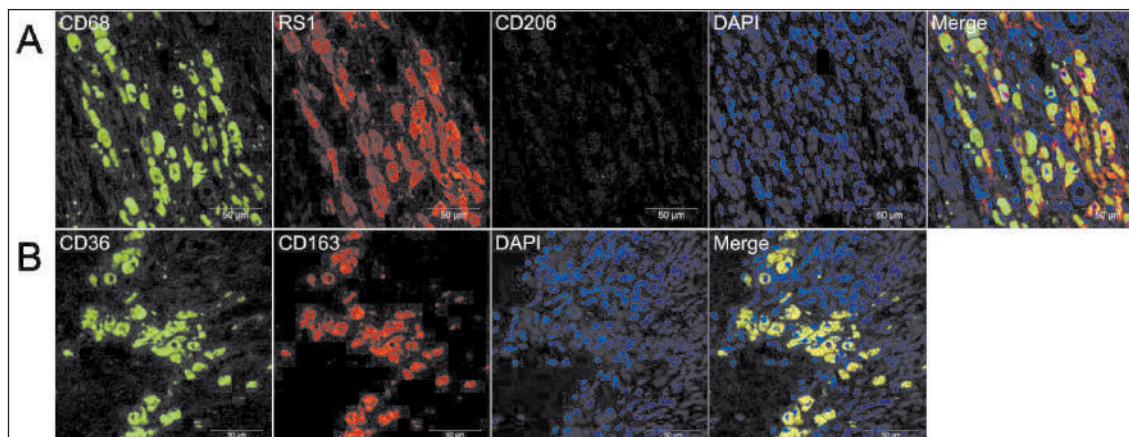


Fig. 4. Multicolor immunofluorescent analysis of scavenger receptor co-expression in CD68-positive macrophages. (A) Co-expression of CD68, CD206 and stabilin-1 in tumor samples from a patient with ovarian cancer. (B) Co-expression of scavenger receptors CD163 and CD36 in tumor samples from a patient with ovarian cancer. Scale bars correspond to 50 μm

Рис. 4. Многоцветный иммунофлуоресцентный анализ ко-экспрессии сквенджер-рецепторов в CD68-позитивных макрофагах (A) Ко-экспрессия CD68, CD206 и стабилина-1 в образцах опухоли пациентки с раком яичника; (B) Ко-экспрессия сквенджер-рецепторов CD163 и CD36 в образцах опухоли пациентки с раком яичника. Шкала соответствует 50 μm

inflammatory gene expression. In single-cell analysis S-TAM and L-TAM signatures were also differentially enriched in individual clusters [20].

An increase of lipids, which co-localized with CD68 staining in tissue sections of patients with breast, colon, and prostate cancers, was observed [33]. CD11b⁺CD68⁺ macrophages isolated from colon cancer tissues displayed significantly more lipid accumulation compared with macrophages from normal tissues. In addition, an increased lipid accumulation in

TAMs from multiple myeloma patients' bone marrow was positively and significantly associated with the progression of monoclonal gammopathy of undetermined significance to multiple myeloma [33].

Conditioned medium from papillary renal cell carcinoma (pRCC) cultures skewed human monocytes toward the M2 macrophage phenotype. These macrophages became enlarged and loaded with lipids, adopting the foam cell morphology found in pRCC tissue. The formation of these cells was linked to the

expression of IL-8, CXCL16, and chemerin by pRCC primary tumor cells [21].

In a study of 30 non-small cell lung carcinomas after neoadjuvant therapy the formation of foam cells/giant cells was stated to be a histologic feature of tumor regression along with coagulative necrosis, fibrosis, and mixed inflammatory infiltrate [34]. Pretreatment non-small cell lung cancer tissue samples from all patients with hyperprogression showed tumor infiltration by M2-like CD163⁺CD33⁺PD-L1⁺ clustered epithelioid macrophages [35].

In the present study giant foam-like TAMs displayed high scavenging activity, that was confirmed by high expression of scavenger receptors, including stabilin-1, CD36 and CD163. The expression of CD206 was limited almost in all foam-like CD68⁺ macrophages. Although CD206 participates in endogenous and exogenous molecule clearance as scavenger receptor, there is no data about the involvement of CD206 in lipid metabolism, as was shown for other scavenger

receptors, including CD68, CD163, CD206 and stabilin-1 [25, 36, 37]. Statistical analysis showed the tendency to the association between the presence of foam-like TAMs and ovarian cancer progression, including metastasis and recurrence. Further analysis of foam-like macrophages will help to clarify their function in lipid metabolism and to relate their biological activity to ovarian cancer progression and NACT response.

Conclusion

For the first time we demonstrated the accumulation of giant macrophages with fluffy foam cytoplasm in tumor tissues of NACT-treated advanced ovarian cancer patients. Such macrophages express diverse scavenger receptors (stabilin-1, CD163, CD36), playing role in processing of long-chain free fatty acids, ox-LDL, collagens I and IV, hemoglobin-haptoglobin complex, thus indicating high scavenging activity of giant TAMs.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Momenimovahed Z., Tiznobaik A., Taheri S., Salehiniya H. Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *Int J Womens Health*. 2019; 11: 287–99. doi: 10.2147/IJWH.S197604.
2. Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Юнусова Н.В., Иванова А.А. Асцит как предмет исследований при раке яичников. *Сибирский онкологический журнал*. 2019; 18(1): 116–23. [Villert A.B., Kolomiets L.A., Yunusova N.V., Ivanova A.A. Ascites as a subject of studies in ovarian cancer. *Siberian Journal of Oncology*. 2019; 18(1): 116–23. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-116-123.
3. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.
4. Спиридонова Н.В., Демура А.А., Шукин В.Ю. Оценка сопутствующей гинекологической патологии в группе пациенток репродуктивного возраста с опухолями и опухолевидными образованиями яичников. *Медицинский алфавит*. 2020; 16: 10–4. [Spiridonova N.V., Demura A.A., Shukin V.Yu. Evaluation of concomitant gynecological pathology in group of patients of reproductive age with tumors and tumor formations. *Medical Alphabet*. 2020; 16: 10–4. (in Russian)]. doi: 10.33667/2078-5631-2020-16-10-14.
5. Вяткина Н.В., Фролова И.Г., Коломиец Л.А., Молчанов С.В., Виллерт А.Б. Возможности комплексного ультразвукового исследования в дооперационном стадировании диссеминированного рака яичников. *Сибирский онкологический журнал*. 2016; 15(4): 26–32. [Vyatkina N.V., Frolova I.G., Kolomiets L.A., Molchanov S.V., Villert A.B. Diagnostic value of ultrasound examination in preoperative staging of disseminated ovarian cancer. *Siberian Journal of Oncology*. 2016; 15(4): 26–32. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-4-26-32.
6. Yin M., Shen J., Yu S., Fei J., Zhu X., Zhao J., Zhai L., Sadhukhan A., Zhou J. Tumor-Associated Macrophages (TAMs): A Critical Activator In Ovarian Cancer Metastasis. *Oncotargets Ther*. 2019; 12: 8687–99. doi: 10.2147/OTT.S216355.
7. Cortez A.J., Tudrej P., Kujawa K.A., Lisowska K.M. Advances in ovarian cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2018; 81(1): 17–38. doi: 10.1007/s00280-017-3501-8.
8. Ефимова О.А., Сафонова М.А. Эпидемиология рака яичников на ранних стадиях. *Acta Medica Eurasica*. 2018; 4: 9–18. [Efimova O.A., Safonova M.A. Epidemiology of ovarian cancer in early stages. *Acta Medica Eurasica*. 2018; 4: 9–18. (in Russian)].
9. Brand A.H., DiSilvestro P.A., Sehouli J., Berek J.S. Cytoreductive surgery for ovarian cancer: quality assessment. *Ann Oncol*. 2017; 28(8): 25–9. doi: 10.1093/annonc/mdx448.
10. Henderson J.T., Webber E.M., Sawaya G.F. Screening for Ovarian Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA*. 2018; 319(6): 595–606. doi: 10.1001/jama.2017.21421.
11. Larionova I., Tuguzbaeva G., Ponomaryova A., Stakheyeva M., Cherdintseva N., Pavlov V., Choinzonov E., Kzhyshkowska J. Tumor-Associated Macrophages in Human Breast, Colorectal, Lung, Ovarian and Prostate Cancers. *Front Oncol*. 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.566511.
12. Zhang M., He Y., Sun X., Li Q., Wang W., Zhao A., Di W. A high M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages is associated with extended survival in ovarian cancer patients. *J Ovarian Res*. 2014; 7: 19. doi: 10.1186/1757-2215-7-19.
13. Yuan X., Zhang J., Li D., Mao Y., Mo F., Du W., Ma X. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in ovarian cancer: A meta-analysis. *Gynecol Oncol*. 2017; 147(1): 181–7. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.07.007.
14. Allavena P., Mantovani A. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumour-associated macrophages: undisputed stars of the inflammatory tumour microenvironment. *Clin Exp Immunol*. 2012; 167(2): 195–205. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04515.x.
15. Cassetta L., Fragiogianni S., Sims A.H., Swierczak A., Forrester L.M., Zhang H., Soong D.Y.H., Cotechini T., Anur P., Lin E.Y., Fidanza A., Lopez-Yrigoyen M., Millar M.R., Urman A., Ai Z., Spellman P.T., Hwang E.S., Dixon J.M., Wiechmann L., Coussens L.M., Smith H.O., Pollard J.W. Human Tumor-Associated Macrophage and Monocyte Transcriptional Landscapes Reveal Cancer-Specific Reprogramming, Biomarkers, and Therapeutic Targets. *Cancer Cell*. 2019; 35(4): 588–602. doi: 10.1016/j.ccell.2019.02.009.
16. Malfitano A.M., Pisanti S., Napolitano F., Di Somma S., Martinelli R., Portella G. Tumor-Associated Macrophage Status in Cancer Treatment. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(7): 1987. doi: 10.3390/cancers12071987.
17. Eisinger S., Sarhan D., Boura V.F., Ibarlucea-Benitez I., Tyystjärvi S., Olynyk G., Arsenian-Henriksson M., Lane D., Wikström S.L., Kiessling R., Virgilio T., Gonzalez S.F., Kaczynska D., Kanatani S., Daskalaki E., Wheelock C.E., Sedimbi S., Chambers B.J., Ravetch J.V., Karlsson M.C.I. Targeting a scavenger receptor on tumor-associated macrophages activates tumor cell killing by natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020; 117(50): 32005–16. doi: 10.1073/pnas.2015343117.
18. Guerrini V., Gennaro M.L. Foam Cells: One Size Doesn't Fit All. *Trends Immunol*. 2019; 40(12): 1163–79. doi: 10.1016/j.it.2019.10.002.
19. Lee-Rueckert M., Lappalainen J., Kovane P.T., Escala-Gil J.C. Lipid-Laden Macrophages and Inflammation in Atherosclerosis and Cancer: An Integrative View. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9. doi: 10.3389/fcvm.2022.777822.
20. Donadon M., Torzilli G., Cortese N., Soldani C., Di Tommaso L., Franceschini B., Carriero R., Barbagallo M., Rigamonti A., Anselmo A., Colombo F.S., Maggi G., Lleo A., Cibella J., Peano C., Kunderfranco P., Roncalli M., Mantovani A., Marchesi F. Macrophage morphology correlates with single-cell diversity and prognosis in colorectal liver metastasis. *J Exp Med*. 2020; 217(11). doi: 10.1084/jem.20191847.
21. Krawczyk K.M., Nilsson H., Allaoui R., Lindgren D., Arvidsson M., Leandersson K., Johansson M.E. Papillary renal cell carcinoma-derived chemerin, IL-8, and CXCL16 promote monocyte recruitment and differentiation into foam-cell macrophages. *Lab Invest*. 2017; 97(11): 1296–305. doi: 10.1038/labinvest.2017.78.
22. Ouimet M., Koster S., Sakowski E., Ramkhalawon B., van Solingen C., Oldebeken S., Karunakaran D., Portal-Celhay C., Sheedy F.J., Ray T.D., Cecchini K., Zamore P.D., Rayner K.J., Marcel Y.L., Philips J.A., Moore K.J. Mycobacterium tuberculosis induces the miR-33 locus to reprogram au-

- tophagy and host lipid metabolism. *Nat Immunol.* 2016; 17(6): 677–86. doi: 10.1038/ni.3434.
23. Nolan S.J., Romano J.D., Coppens I. Host lipid droplets: An important source of lipids salvaged by the intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog.* 2017; 13(6). doi: 10.1371/journal.ppat.1006362.
24. Politz O., Grachev A., McCourt P.A., Schledzewski K., Guillot P., Johansson S., Svineng G., Franke P., Kannicht C., Kzhyshkowska J., Longati P., Velten F.W., Johansson S., Goerdt S. Stabilin-1 and -2 constitute a novel family of fasciclin-like hyaluronan receptor homologues. *Biochem J.* 2002; 362(1): 155–64. doi: 10.1042/0264-6021:3620155.
25. Taban Q., Mumtaz P.T., Masoodi K.Z., Haq E., Ahmad S.M. Scavenger receptors in host defense: from functional aspects to mode of action. *Cell Commun Signal.* 2022; 20(1): 2. doi: 10.1186/s12964-021-00812-0.
26. Madsen D.H., Jürgensen H.J., Siersbæk M.S., Kuczek D.E., Grey Cloud L., Liu S., Behrendt N., Grøntved L., Weigert R., Bugge T.H. Tumor-Associated Macrophages Derived from Circulating Inflammatory Monocytes Degrade Collagen through Cellular Uptake. *Cell Rep.* 2017; 21(13): 3662–71. doi: 10.1016/j.celrep.2017.12.011.
27. Corn K.C., Windham M.A., Rafat M. Lipids in the tumor microenvironment: From cancer progression to treatment. *Prog Lipid Res.* 2020; 80. doi: 10.1016/j.plipres.2020.101055.
28. Wu H., Han Y., Rodriguez Silke Y., Deng H., Siddiqui S., Treese C., Schmidt F., Friedrich M., Keye J., Wan J., Qin Y., Kühl A.A., Qin Z., Siegmund B., Glauben R. Lipid droplet-dependent fatty acid metabolism controls the immune suppressive phenotype of tumor-associated macrophages. *EMBO Mol Med.* 2019; 11(11). doi: 10.15252/emmm.201910698.
29. Shimizu R., Tanaka K., Oikawa Y., Tomioka H., Kayamori K., Ikeda T., Yoshioka T., Ebihara A., Harada H. Epithelioid cell granuloma with caseating necrosis possibly caused by periapical periodontitis: a case report. *J Med Case Rep.* 2018; 12(1): 365. doi: 10.1186/s13256-018-1891-9.
30. Gordon S. Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity.* 2016; 44(3): 463–75. doi: 10.1016/j.immuni.2016.02.026.
31. Huff M.W., Daugherty A., Lu H. Chapter 18 – Atherosclerosis. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes* (Sixth Edition). Elsevier. 2016. P. 519–48. doi: 10.1016/B978-0-444-63438-2.00018-3.
32. Zhang L., Han L., He J., Lv J., Pan R., Lv T. A high serum-free fatty acid level is associated with cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2020; 146(3): 705–10. doi: 10.1007/s00432-019-03095-8.
33. Su P., Wang Q., Bi E., Ma X., Liu L., Yang M., Qian J., Yi Q. Enhanced Lipid Accumulation and Metabolism Are Required for the Differentiation and Activation of Tumor-Associated Macrophages. *Cancer Res.* 2020; 80(7): 1438–50. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-2994.
34. Liu-Jarin X., Stoopler M.B., Raftopoulos H., Ginsburg M., Gorenstein L., Borczuk A.C. Histologic assessment of non-small cell lung carcinoma after neoadjuvant therapy. *Mod Pathol.* 2003; 16(11): 1102–8. doi: 10.1097/01.MP.0000096041.13859.AB.
35. Lo Russo G., Moro M., Sommariva M., Cancila V., Boeri M., Centonze G., Ferro S., Ganzinelli M., Gasparini P., Huber V., Milione M., Porcu L., Proto C., Pruneri G., Signorelli D., Sangaletti S., Sfondrini L., Storti C., Tassi E., Bardelli A., Marsoni S., Torri V., Tripodo C., Colombo M.P., Anichini A., Rivoltini L., Balsari A., Sozzi G., Garassino M.C. Antibody-Fc/FcR Interaction on Macrophages as a Mechanism for Hyperprogressive Disease in Non-small Cell Lung Cancer Subsequent to PD-1/PD-L1 Blockade. *Clin Cancer Res.* 2019; 25(3): 989–99. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1390.
36. Feinberg H., Jégouzo S.A.F., Lasanajak Y., Smith D.F., Drickamer K., Weis W.L., Taylor M.E. Structural analysis of carbohydrate binding by the macrophage mannose receptor CD206. *J Biol Chem.* 2021; 296. doi: 10.1016/j.jbc.2021.100368.
37. PrabhuDas M.R., Baldwin C.L., Bollyky P.L., Bowdish D.M.E., Drickamer K., Febbraio M., Herz J., Kobzik L., Krieger M., Loike J., McVicker B., Means T.K., Moestrup S.K., Post S.R., Sawamura T., Silverstein S., Speth R.C., Telfer J.C., Thiele G.M., Wang X.Y., Wright S.D., El Khoury J. A Consensus Definitive Classification of Scavenger Receptors and Their Roles in Health and Disease. *J Immunol.* 2017; 198(10): 3775–89. doi: 10.4049/jimmunol.1700373.

Поступила/Received 13.04.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 18.04.2022

Принята к публикации/Accepted 25.04.2022

ABOUT THE AUTHORS

Militsa A. Rakina, Masters Student, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAH-6086-2021. Author ID (Scopus): 57208775013. ORCID: 0000-0001-8334-7445.

Elena O. Kazakova, Postgraduate, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAU-7938-2021. Author ID (Scopus): 57217101102. ORCID: 0000-0001-6637-4417.

Tatiana S. Sudaskikh, Masters Student, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia).

Natalia V. Bezgodova, MD, Pathologist, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): T-6268-2018. Author ID (Scopus): 57200544954. ORCID: 0000-0003-4213-9345.

Alisa B. Villert, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Gynecologic Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): J-3140-2017. Author ID (Scopus): 56626547700. ORCID: 0000-0002-2773-1917.

Larisa A. Kolomiets, MD, DSc, Professor, Head of Department of Gynecologic Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8573-2012. Author ID (Scopus): 7004921120. ORCID: 0000-0002-6854-8940.

Irina V. Larionova, MD, PhD, Senior Researcher of Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University; Senior Researcher Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: larionova0903irina@mail.ru. Researcher ID (WOS): R-2391-2017. Author ID (Scopus): 57201182530. ORCID: 0000-0001-5758-7330.

AUTHOR CONTRIBUTION

Militsa A. Rakina: experiments conduction, data collection and analysis, database formation, writing of the manuscript.

Elena O. Kazakova: data collection and analysis, writing of the manuscript.

Tatiana S. Sudaskikh: experiments conduction, data collection and analysis.

Natalia V. Bezgodova: data collection and analysis.

Alisa B. Villert: recruiting patients, selection of clinical material.

Larisa A. Kolomiets: recruiting patients, selection of clinical material.

Irina V. Larionova: study conception and design, data collection and analysis, writing of the manuscript, study supervision.

Funding

The study was supported by the Russian Science Foundation under research project №21-75-10021 at the Laboratory of Translational Molecular and Cellular Biomedicine of the Tomsk State University and the Oncology Research Institute of the Tomsk National Medical Research Center.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

Work was carried out on equipment of Tomsk regional common use center and The Core Facility «Medical genomics», Tomsk NRMC.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ракина Милица Александровна, магистрант, лаборант лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): AАН-6086-2021. Author ID (Scopus): 57208775013. ORCID: 0000-0001-8334-7445.

Казакова Елена Олеговна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8593-4236. Researcher ID (WOS): AAU-7938-2021. Author ID (Scopus): 57217101102. ORCID: 0000-0001-6637-4417.

Сударских Татьяна Сергеевна, магистр, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия).

Безгодова Наталья Владимировна, врач-патологоанатом отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6986-7752. Researcher ID (WOS): T-6268-2018. Author ID (Scopus): 57200544954. ORCID: 0000-0003-4213-9345.

Виллерт Алиса Борисовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения гинекологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1975-0042. Researcher ID (WOS): J-3140-2017. Author ID (Scopus): 56626547700. ORCID: 0000-0002-2773-1917.

Коломиец Лариса Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением гинекологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6316-1146. Researcher ID (WOS): C-8573-2012. Author ID (Scopus): 7004921120. ORCID: 0000-0002-6854-8940.

Ларионова Ирина Валерьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»; старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: laronova0903irina@mail.ru. SPIN-код: 6272-8422. Researcher ID (WOS): R-2391-2017. Author ID (Scopus): 57201182530. ORCID: 0000-0001-5758-7330.

ВКЛАД АВТОРОВ

Ракина Милица Александровна: проведение экспериментов, сбор и интерпретация данных, формирование базы данных, написание статьи.

Казакова Елена Олеговна: сбор и интерпретация данных, написание статьи.

Сударских Татьяна Сергеевна: проведение экспериментов, сбор и интерпретация данных.

Безгодова Наталья Владимировна: сбор и интерпретация данных.

Виллерт Алиса Борисовна: набор пациентов, подбор клинического материала.

Коломиец Лариса Александровна: набор пациентов, подбор клинического материала.

Ларионова Ирина Валерьевна: разработка концепции научной работы, сбор и интерпретация данных, написание статьи, курирование проекта.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ в рамках научного проекта № 21-75-10021 на базе лаборатории трансляционной молекулярной и клеточной биомедицины ТГУ и НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Работы проводились на оборудовании Томского регионального центра коллективного пользования (ТРЦКП) и центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

Для цитирования: Служев М.И., Зарайский М.И., Семиглазов В.В., Семиглазова Т.Ю., Ткаченко Е.В., Кондратьев С.В., Бриш Н.А., Алексеева Ю.В., Петрик Ю.В., Сидорова А.Н. Сравнительный анализ профилей экспрессии генов опухолевого контроля и микроРНК в опухолевой и перифокальной ткани у пациентов с колоректальным раком. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 55–64. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-55-64

For citation: Sluzhev M.I., Zarskiy M.I., Semiglazov V.V., Semiglazova T.Yu., Tkachenko E.V., Kondratyev S.V., Brish N.A., Alekseeva Yu.V., Petrik Iu.V., Sidorova A.N. Comparative analysis of tumor control gene and microRNA expression profiles in tumor and adjacent tissues in patients with colorectal cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 55–64. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-55-64

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ОПУХОЛЕВОГО КОНТРОЛЯ И МИКРОРНК В ОПУХОЛЕВОЙ И ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ТКАНИ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

М.И. Служев^{1,2}, М.И. Зарайский^{2,3}, В.В. Семиглазов^{1,2}, Т.Ю. Семиглазова^{1,3},
Е.В. Ткаченко¹, С.В. Кондратьев¹, Н.А. Бриш¹, Ю.В. Алексеева¹,
Ю.В. Петрик¹, А.Н. Сидорова¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»

Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия¹

Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68.

E-mail: sluzhemaxim@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет

им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия²

Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8²

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»

Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия³

Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41³

Аннотация

Введение. В развитии и прогрессировании колоректального рака (КРР) важную роль играют различные гены опухолевого контроля и микроРНК. Экспрессия этих генов может значительно отличаться в опухолевой и перифокальной здоровой ткани. Нет точных данных, на каком расстоянии от опухоли находится перифокальная здоровая ткань с точки зрения экспрессии генов. **Цель исследования** – изучить профили экспрессии генов опухолевого контроля (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*), а также экспрессии генов микроРНК (*микроРНК-15*, *-16*, *-21* и *-210*) в опухолевой и перифокальной здоровой тканях при КРР. **Материал и методы.** В исследование были включены 19 пациентов с диагнозом КРР. В рамках постановки диагноза при колоноскопии забирались материал опухолевой и рядом расположенной перифокальной визуально здоровой ткани на расстоянии 1–2 см от края опухоли. В полученном материале исследовали уровни экспрессии генов опухолевого контроля (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*), а также уровни экспрессии генов микроРНК (*микроРНК-15*, *-16*, *-21* и *-210*). **Результаты.** Было обнаружено снижение уровня экспрессии *E2F3* (Медиана 3,73, Q1-Q3 2,64 УЕ против Медиана 6,5, Q1-Q3 6,39 УЕ, $p=0,01$) и *микроРНК-16* (Медиана 2,83, Q1-Q3 4,74 УЕ против Медиана 4,29, Q1-Q3 3,73 УЕ, $p=0,027$) и повышение уровня экспрессии *микроРНК-21* (Медиана 2,64, Q1-Q3 1,38 УЕ против Медиана 1,41, Q1-Q3 1,21 УЕ, $p<0,001$) в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью у пациентов с КРР. **Заключение.** Выявлены значимые отличия в экспрессии генов *E2F3*, *микроРНК-16* и *микроРНК-21*. Повышенный уровень экспрессии *E2F3* и *микроРНК-16* на расстоянии 1–2 см от опухоли может быть предиктором рецидива и прогрессирования опухоли, а повышенная экспрессия микроРНК-21 в опухолевой ткани по сравнению с перифокальной, возможно, является негативным прогностическим фактором. Данная информация может быть использована в дальнейших клинических исследовательских работах.

Ключевые слова: микроРНК, колоректальный рак, экспрессия генов, *E2F3*, *микроРНК-16*, *микроРНК-21*, перифокальная ткань.

COMPARATIVE ANALYSIS OF TUMOR CONTROL GENE AND MICRORNA EXPRESSION PROFILES IN TUMOR AND ADJACENT TISSUES IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

M.I. Sluzhev^{1,2}, M.I. Zaraisky^{2,3}, V.V. Semiglazov^{1,2}, T.Yu. Semiglazova^{1,3}, E.V. Tkachenko¹, S.V. Kondratev¹, N.A. Brish¹, Yu.V. Alekseeva¹, Iu.V. Petrik¹, A.N. Sidorova¹

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, Russia¹
68, Leningradskaya St., 197758, St. Petersburg, Russia. E-mail: sluzhemaxim@mail.ru¹
I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia²
6–8, Lva Tolstogo St., 1970222, St. Petersburg, Russia²
I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia³
41, Kirochnaya St., 191015, St. Petersburg, Russia³

Abstract

Background. Various tumor control genes and microRNAs (miRNA) play an important role in the development and progression of colorectal cancer (CRC). The expression of these genes can differ significantly in tumor and adjacent healthy tissues. There is no exact data at what distance from the tumor the adjacent healthy tissue is located in terms of gene expression. **The aim of the investigation** was to study the tumor control genes (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* and *MMP9*), as well as the *microRNA* genes (*microRNA-15*, *-16*, *-21* and *-210*) expression profiles in tumor and adjacent healthy tissues. **Material and Methods.** The study included 19 patients diagnosed with colorectal cancer. The tumor control genes (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* and *MMP9*), as well as the *miRNA* genes (*miRNA-15*, *-16*, *-21* and *-210*) expression levels were investigated in tumor and adjacent normal tissue samples taken during colonoscopy. **Results.** A decrease in the level of expression of *E2F3* (median 3,73, Q1-Q3 2,64 REU vs. median 6.5, Q1-Q3 6,39 REU, $p=0,01$) and *miRNA-16* (median 2,83, Q1-Q3 4,74 REU vs. median 4,29, Q1-Q3 3,73 REU, $p=0,027$) and an increase in the expression level of *miRNA-21* (median 2,64, Q1-Q3 1,38 REU vs. median 1,41, Q1-Q3 1,21 REU, $p<0,001$) were found in tumor tissue compared to normal tissue of patients with CRC. **Conclusion.** Significant differences in the *E2F3*, *miRNA-16* and *miRNA-21* gene expressions were revealed. An increased level of *E2F3* and *miRNA-16* expressions at a distance of 1–2 cm from the tumor may be a predictor of tumor recurrence and progression, and an increased *miRNA-21* expression in tumor tissue as compared to adjacent tissue may be a negative prognostic factor. This information can be used in further clinical research.

Key words: miRNA, colorectal cancer, gene expression, *E2F3*, *miRNA-16*, *miRNA-21*, adjacent tissue.

Введение

Колоректальный рак (КРР) занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности среди всех злокачественных новообразований. Хирургическое удаление опухоли с последующей химиотерапией является стандартом лечения КРР. Общепризнанным подходом к выбору края резекции опухоли при КРР является иссечение кишки в пределах не менее 10 см от опухоли при операциях по поводу рака ободочной кишки, не менее 5 см – при операциях по поводу рака дистальной трети сигмовидной кишки, ректосигмоидного отдела толстой кишки и рака прямой кишки [1, 2]. Однако по данным анализа 17 исследований ширина резекции 1 см и более может быть достаточной в отдельных случаях при раке прямой кишки, и это не увеличивает риск рецидива [3]. Аналогичные данные в обзоре представил С.-G. Кер, где безопасное расстояние при хирургическом лечении рака прямой кишки составило от 1 до 3 см [4].

Отсутствие опухолевой ткани в конкретной области может быть подтверждено гистологически. Однако существуют генетические особенности, которые могут быть определены только путем молекулярно-генетического исследования. Имеющиеся данные дают основания для оценки различий геномного профиля опухолевой и перифокальной тканей. На образцах опухолей и прилежащей нормальной ткани толстой кишки мышей показано, что профиль экспрессии генов значимо отличается в опухолевой и перифокальной нормальной ткани на расстоянии 1–2 см и 4 см от опухоли [5]. Однако до сих пор нет данных о качественных различиях опухолевой и перифокальной ткани на геномном уровне у пациентов с КРР в зависимости от расстояния от опухоли.

В онкогенезе и метастазировании КРР участвует множество различных факторов: белков сигналинга, межклеточного взаимодействия, факторов транскрипции, эпигенетических факторов. Одним из наиболее изученных сигнальных путей, повреж-

дающихся при КРР, является путь фактора роста опухоли (TGF- β) [6]. М. Nakano et al. показали, что сигнальный путь TGF- β участвует в прогрессировании КРР, приводя к дедифференцировке неопухолевых стволовых клеток в опухолевые стволовые [7].

Другими важными факторами контроля онкогенеза КРР являются гены семейства *E2F*. Так, ген *E2F3* обеспечивает точную передачу генетического материала каждой дочерней клетке во время клеточного цикла [8]. Однако он может участвовать и в развитии опухолевого процесса. В частности, показано, что уровни экспрессии *E2F3* были выше в опухолевых тканях, что может быть причиной усиления пролиферации и роста клеток КРР [9]. Существует универсальный фактор – ген *NF κ B*. Он является важным участником в передаче сигналов, способствующих развитию метастатического процесса при КРР [10]. Экспрессия рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) наблюдается в большинстве случаев КРР, при этом гиперэкспрессия EGFR достоверно связана с плохим прогнозом и чаще наблюдается при распространенном опухолевом процессе [11]. Семейство Круппель-подобных транскрипционных факторов (*KLF*) также участвует в контроле роста, пролиферации, апоптоза и ангиогенеза. В частности, *KLF8* способствует онкогенезу, инвазии и метастазированию клеток КРР [12], а потеря *KLF3* коррелировала с агрессивными фенотипами и плохими результатами выживания [13]. Матриксная металлопротеиназа 9 (MMP9), известная также как «желатиназа В», участвует в ремоделировании структур внеклеточного матрикса. Изменение экспрессии MMP-9 может влиять на эффективность лечения злокачественных новообразований. Например, гиперэкспрессия MMP9 предсказывает плохую выживаемость и хороший ответ на химиотерапию у пациентов с КРР [14].

МикроРНК представляют собой большую группу некодирующих РНК, которые не могут быть транслированы в белок. МикроРНК регулируют экспрессию более 30 % генов человека [15]. Аномальная экспрессия микроРНК является значимым элементом канцерогенеза [16]. Низкая экспрессия микроРНК-15 коррелирует с плохим прогнозом пациента с КРР [17]. Гиперэкспрессия микроРНК-15 увеличивает чувствительность клеток рака толстой кишки к 5-фторурацилу и оксалиплатину [18]. Снижение экспрессии микроРНК-16 может быть маркером плохого прогноза [19]. W. Zhang et al. показали в метаанализе, что низкий уровень экспрессии микроРНК-16 был связан с плохим прогнозом при солидных опухолях [20]. Повышенная экспрессия микроРНК-21 и микроРНК-210 наблюдается при КРР [19, 21]. По данным метаанализа, гиперэкспрессия микроРНК-21 при колоректальном раке связана с плохой выживаемостью [22].

Перечисленные выше гены играют важную роль в онкогенезе КРР и могут служить отличительными характеристиками опухолевого процесса. Это дает возможность провести сравнительный анализ экспрессии генов для определения различия между опухолевой тканью и перифокальной тканью на расстоянии 1–2 см.

Цель исследования – изучить профили экспрессии генов опухолевого контроля (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*), а также экспрессии генов микроРНК (микроРНК-15, -16, -21 и -210) в опухолевой и перифокальной здоровой тканях при КРР.

Материал и методы

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией [23]. С 02.2020 по 04.2021 в наблюдательное исследование было включено 20 пациентов, из них 13 мужчин и 7 женщин (табл. 1), которые соответствовали критериям включения и подписали информированное согласие. Из анализа был исключен 1 пациент (мужчина) в связи с наличием значительного воспалительного компонента в биопсийных тканях, что могло исказить окончательные результаты. В исследование были включены мужчины и женщины в возрасте от 42 до 80 лет с подозрением на КРР, которым в плановом порядке производили верификацию опухоли. Все пациенты с верифицированным КРР получали стандартное лечение в соответствии с национальными и международными рекомендациями по клинической практике с учетом стадии заболевания.

У каждого пациента с помощью видеоколоноскопии была выполнена биопсия опухоли и нормальной здоровой эпителиальной ткани толстой кишки. Участок «здоровой» ткани выбирался визуально врачом-эндоскопистом на расстоянии 1–2 см от опухоли. Биоматериал (опухоль и здоровая ткань кишечника) исследовали на уровни экспрессии генов опухолевого контроля (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*), относительно референц-гена *GAPDH*, а также на уровни экспрессии генов микроРНК (микроРНК-15, -16, -21 и -210), используя в качестве референц-гена малую ядерную РНК *U6*.

Исследование относительной экспрессии генов опухолевого контроля, а также генов микроРНК проводили по полуколичественному протоколу [24]. Тотальную РНК выделяли из биоматериала (биопсийный материал) с помощью реактива ExtractRNA (Евроген, Москва) в соответствии с инструкцией.

Для приготовления кДНК генов опухолевого контроля использовали набор для обратной транскрипции «ОТ-1» (Синтол, Москва) в модификации для гексануклеотидных праймеров, согласно инструкции. Приготовление кДНК генов микроРНК проводили технологией StemLoop со специфическими праймерами, отдельно для

Таблица 1/Table 1

Характеристика пациентов Characteristics of patients

Характеристика/Characteristics	Значение/Values
Возраст, лет/Age, years	63,2 ± 11
Мужчины/Males	12 (63 %)
Женщины/Females	7 (37 %)
N0	10 (53 %)
N+	9 (47 %)
Стадия I/Stage I	5 (26 %)
Стадия II/Stage II	4 (21 %)
Стадия III/Stage III	4 (21 %)
Стадия IV/Stage IV	6 (32 %)
Low-grade	16 (84 %)
High-grade	3 (16 %)
M1 HEP	5 (26 %)
M1 PUL/PLE	3 (16 %)
Левая половина ободочной кишки, рак прямой кишки/Left side of the colon, rectal cancer	15 (80 %)
Правая половина ободочной кишки/Right half of the colon	2 (10 %)
Первично-невъясненная локализация/Primary unexplained localization	2 (10 %)

Примечание: Low-grade – низкая степень злокачественности; High-grade – высокая степень злокачественности; M1 HEP – наличие метастазов в печени; M1 PUL/PLE – наличие метастазов в легких и/или плевре.

Note: Low-grade – low degree of malignancy; High-grade – high degree of malignancy; M1 HEP – the presence of metastases in the liver; M1 PUL/PLE – the presence of metastases in the lungs and / or pleura.

Таблица 2/Table 2

Последовательности праймеров для обратной транскрипции генов микроРНК Primer sequences for reverse transcription of miRNA genes

МикроРНК/MicroRNA	Последовательности праймеров/Primer sequences
МикроРНК-15	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACCACAAA
МикроРНК-16	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACCGCCAA
МикроРНК-21	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTCAAC
МикроРНК-210	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTCAGCC
U6	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAAATATG

каждой микроРНК и гена сравнения *U6* (табл. 2) с использованием набора для обратной транскрипции «ОТ-1» (Синтол, Москва). Температурный профиль реакции был следующий: 16 °С – 30 мин, 42 °С – 30 мин, 85 °С – 5 мин.

В качестве полимеразной цепной реакции (ПЦР) смеси была использована 2,5× реакционная смесь с интекалирующим красителем EVA Green (Синтол, Москва). Амплификацию проводили в режиме RealTime на приборе DTLite-4 (ДНК-Технология, Москва) по стандартной двухпраймерной схеме по полуквантитативному протоколу. Праймеры для ПЦР представлены в табл. 3. Температурный профиль амплификации генов опухолевого контроля: 95 °С – 7 мин, затем 40 циклов (95 °С – 15 сек и 56 °С – 1 мин), для микроРНК: 95 °С – 5 мин, затем 45 циклов (95 °С – 15 сек и 60 °С – 1 мин). Оценку относительного уровня экспрессии генов проводили по протоколу ΔC_t и рассчитывали по формуле $2^{-(A-B)}$, где А – C_t гена микроРНК, а В – C_t гена *U6* [25]. Полученный результат выражали в условных единицах экспрессии (УЕ).

Статистический анализ проводили с использованием непараметрических методов. Тип распределения был протестирован с использованием гистограмм распределения и критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. Категориальные данные представлены как частота и процент. Непрерывные переменные представлены как среднее ± стандартное отклонение. Количественные параметры когорт сравнивали с использованием критерия Манна–Уитни. Корреляции между стадией, степенью злокачественности, локализацией первичной опухоли, поражением лимфатических узлов и печени, с одной стороны, и всеми факторами – с другой анализировали с использованием ранговой корреляции Спирмена. Уровень $p < 0,05$ считался статистически значимым. Для статистических тестов использовали программный пакет SPSS 23.0 (IBM, Чикаго, Иллинойс).

Результаты

Оценка уровней экспрессии генов опухолевого контроля проводилась путем сравнения экс-

Таблица 3/Table 3

Последовательности праймеров для ПЦР
PCR primer sequences

Ген/Gene	Последовательности праймеров/Primer sequences
<i>E2F3</i> (прямой)/(forward)	GCACTACGAAGTCCAGATAGTCC
<i>E2F3</i> (обратный)/(reverse)	AGACTGCAGCCCATCCATTG
<i>TGFB</i> (прямой)/(forward)	GCCCTGGACACCAACTATTG
<i>TGFB</i> (обратный)/(reverse)	CGTGTCCAGGCTCCAAATG
<i>NFKB</i> (прямой)/(forward)	CCTCTCTCTAATCAGCCCTCTG
<i>NFKB</i> (обратный)/(reverse)	GAGGACCTGGGAGTAGATGAG
<i>EGFR</i> (прямой)/(forward)	GGGTTTCAGAGGCTGATTGTGATAGA
<i>EGFR</i> (обратный)/(reverse)	CGCCTTGACTGAGGACAGCATA
<i>KLF-12</i> (прямой)/(forward)	CACCTGGAAATGTGAACAACA
<i>KLF-12</i> (обратный)/(reverse)	TTTACTTTGTCTGGGAGATAGGC
<i>MMP9</i> (прямой)/(forward)	CGCAGACATCGTCATCCAGT
<i>MMP9</i> (обратный)/(reverse)	GGATTGGCCTTGGAAGATGA
<i>GAPDH</i> (прямой)/(forward)	AGAAGGCTGGGGCTCATTTG
<i>GAPDH</i> (обратный)/(reverse)	AGGGGCCATCCACAGTCTTC
МикроРНК-15/MicroRNA-15	GACGCCTAGCAGCACATA
МикроРНК-16/MicroRNA-16	CCGGAGTAGCAGCACGTAAAT
МикроРНК-21/MicroRNA-21	GCCCGCTAGCTTATCAGACTGATG
МикроРНК-210/MicroRNA-210	CAGAGTGCTGTGCGTGTGA
U6	GCGCGTCGTGAAGCGTTC
Общий праймер для микроРНК/Total primer for microRNA	GTGCAGGGTCCGAGGT

прессии в двух группах: 1) опухолевый биоптат и 2) визуально здоровая перифокальная область. Относительные уровни экспрессии генов *E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9* представлены на рис. 1. Уровень экспрессии гена *E2F3* был статистически значимо выше в нормальной ткани по сравнению с опухолевой (Медиана 6,5, Q1-Q3 6,39 УЕ vs Медиана 3,73, Q1-Q3 2,64 УЕ, $p=0,01$).

Уровни экспрессии остальных генов не показали статистически значимых отличий в исследуемых группах.

Оценка уровней экспрессии генов опухолевого контроля проводилась также путем сравнения экспрессии в группах материала кишки из фокуса опухоли и здоровой перифокальной области. Относительные уровни экспрессии генов микроРНК-15,

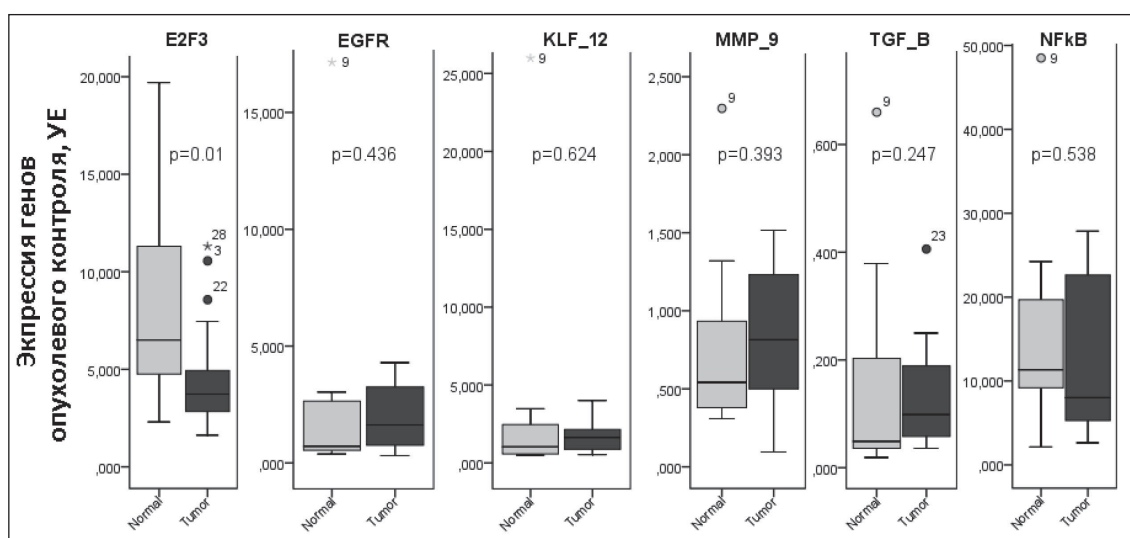


Рис. 1. Экспрессия генов опухолевого контроля в нормальной и опухолевой тканях.

Примечание: Normal – визуально здоровая перифокальная ткань; Tumor – опухолевая ткань; УЕ – условные единицы

Fig. 1. Expression of tumor control genes in normal and tumor tissues.

Note: Normal – visually healthy perifocal tissue; Tumor – tumor tissue; УЕ (REU) – relative units of expression

-16, -21 и -210 представлены на рис. 2. Уровень экспрессии генов *микроРНК-16* был статистически значимо выше в нормальной ткани (Медиана 4,29, Q1-Q3 3,73 УЕ vs Медиана 2,83, Q1-Q3 4,74 УЕ, $p=0,027$), а уровень экспрессии генов *микроРНК-21*, наоборот, статистически значимо оказался выше в опухолевой ткани (Медиана 2,64, Q1-Q3 1,38 УЕ vs Медиана 1,41, Q1-Q3 1,21 УЕ, $p<0,001$).

При многофакторном анализе корреляций уровней экспрессии исследуемых генов в ткани опухоли между собой и клиническими данными были получены следующие результаты. Существует положительная корреляция экспрессии генов *E2F3* с *TGFB* и *NFkB* ($r=0,67$, $p=0,035$ и $r=0,73$, $p<0,001$ соответственно). Также выявлена положительная корреляция между экспрессией генов *TGFB* и *NFkB* ($r=0,84$, $p=0,002$). Найдена сильная положительная корреляция экспрессии генов *EGFR* с *KLF* и *MMP-9* ($r=0,81$, $p=0,004$ и $r=0,84$, $p=0,003$ соответственно). Кроме того, зарегистрирована корреляция между экспрессиями генов *KLF-12* и *MMP-9* ($r=0,66$, $p=0,038$).

При оценке связи экспрессии исследуемых генов с клиническими данными выявлена отрицательная корреляция уровня экспрессии генов *микроРНК-210* с опухолевым поражением лимфатических узлов, метастатическим поражением печени и стадией опухолевого процесса ($r=-0,59$, $p=0,008$; $r=-0,54$, $p=0,018$; $r=-0,60$, $p=0,007$ соответственно). Также обнаружена корреляция экспрессии генов *микроРНК-210* с *микроРНК-16* и *микроРНК-15* ($r=0,55$, $p=0,014$ и $r=0,70$, $p=0,025$ соответственно). Отдельно хотелось бы подчеркнуть отсутствие корреляций *микроРНК-21* со всеми исследуемыми генами.

При многофакторном анализе корреляций уровней экспрессии исследуемых генов между собой в перифокальной области были получены следующие результаты. Обнаружено наличие высокодостоверной статистической положительной корреляции экспрессии гена *E2F3* и генов *KLF-12* и *NFkB* ($r=0,49$, $p=0,035$ и $r=0,72$, $p=0,001$ соот-

ветственно). Схожие экспрессионные характеристики имел и ген *EGFR* с генами *KLF-12* и *NFkB* ($r=0,85$, $p=0,002$ и $r=0,65$, $p=0,042$ соответственно). Дополнительно к указанным ген *KLF-12* имел положительную корреляцию с экспрессией генов *TGFB* и *NFkB* ($r=0,69$, $p=0,029$ и $r=0,62$, $p=0,004$ соответственно) и отрицательную корреляцию с экспрессией *микроРНК-15* ($r=-0,65$, $p=0,043$), -16 ($r=-0,63$, $p=0,004$) и -210 ($r=-0,47$, $p=0,040$). Экспрессия гена *MMP-9* коррелировала с таковой гена *TGFB* ($r=0,78$, $p=0,008$). Также выявлена положительная корреляция экспрессии генов *TGFB* и *NFkB* ($r=0,65$, $p=0,042$).

При оценке экспрессионных взаимодействий генов *микроРНК* показано, что *микроРНК-15* имела отрицательную корреляцию с генами *TGFB* ($r=-0,67$, $p=0,033$) и *NFkB* ($r=-0,71$, $p=0,023$) и положительную с *микроРНК-16* ($r=0,67$, $p=0,035$), -21 ($r=0,90$, $p<0,001$) и 210 ($r=0,66$, $p=0,038$). Дополнительно, экспрессия *микроРНК-210* высоко коррелировала с *микроРНК-16* ($r=0,59$, $p=0,008$).

Обсуждение

Настоящая работа посвящена изучению экспрессионного профиля некоторых генов, в том числе и регуляторных, включенных в онкологический процесс, в опухолевой и перифокальной тканях при КРР. В качестве исследуемого материала использовались биоптаты, полученные при колоноскопии. Перифокальная область рассматривалась как ткань толстой кишки в 1–2 см от видимого опухолевого очага. Были найдены значимые отличия в экспрессии генов *E2F3*, *микроРНК-16* и *микроРНК-21* в опухолевой и перифокальной тканях на расстоянии 1–2 см от опухоли. В нашей работе не обнаружено достоверных различий в экспрессии генов опухолевого контроля *TGFB*, *NFkB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*, а также экспрессии генов *микроРНК-15* и *микроРНК-210*.

Согласно полученным данным, уровень экспрессии *E2F3* в нормальной ткани оказался выше, чем в опухолевой ткани. Повышение уровня экспрессии *E2F3* наблюдается при усилении пролифе-

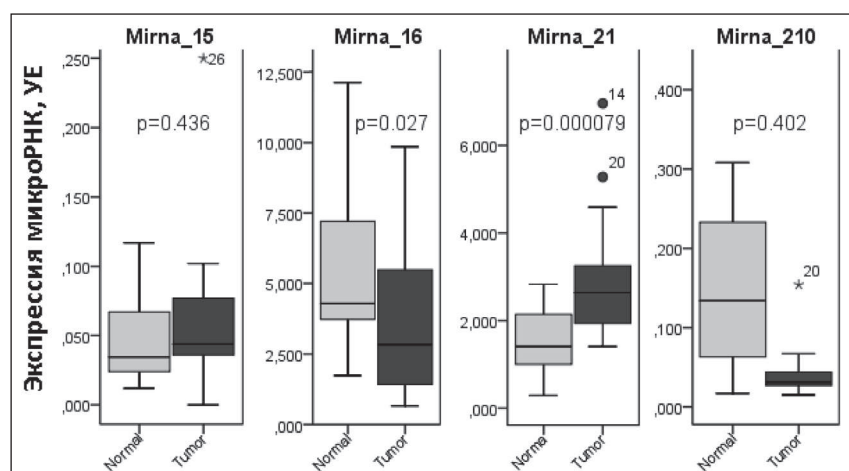


Рис. 2. Экспрессия генов микроРНК в нормальной и опухолевой тканях. Примечание: Normal – визуально здоровая перифокальная ткань; Tumor – опухолевая ткань; УЕ – условные единицы
Fig. 2. Expression of microRNA genes in normal and tumor tissues
Note: Normal – visually healthy perifocal tissue; Tumor – tumor tissue; UE – relative units of expression

рации и роста клеток [9]. Повышенный рост клеток нормальной ткани несет риски злокачественного перерождения и прогрессирования. С другой стороны, сниженная экспрессия *E2F3* в опухолевой ткани также является неблагоприятным признаком, так как может служить причиной генетической нестабильности и тем самым увеличивать метастатический потенциал опухолевых клеток [8].

Выявлено, что у пациентов с повышенной экспрессией *E2F3* повышены также экспрессии *TGF- β* и *NF κ B*. Белок NF κ B является частью сигнального пути АКТ/NF κ B/MDR1, ответственного за развитие резистентности к лекарственной терапии при колоректальном раке [26]. Учитывая наличие корреляции с *NF κ B*, высокая экспрессия *E2F3* потенциально является прогностическим фактором развития лекарственной устойчивости. Данное наблюдение может быть подтверждено только в рамках последующих клинических исследований.

Нарушение регуляции экспрессии *микроРНК* связано с инициацией и прогрессированием злокачественного новообразования. Негативные последствия в отношении прогноза при КРР имеет изменение экспрессии нескольких *микроРНК*.

Выявлена низкая экспрессия *микроРНК-16* в опухолевой ткани по сравнению с перифокальной. Известно, что *микроРНК-16* снижает пролиферацию и индуцирует апоптоз опухолевых клеток при колоректальном раке [27]. С. Farace et al. сообщили, что низкая экспрессия *микроРНК-16* при колоректальном раке является неблагоприятным прогностическим фактором [19]. Сниженная экспрессия *микроРНК-16* в опухолевой ткани в нашей работе может являться фактором негативного прогноза.

Уровень экспрессии *микроРНК-21* оказался выше в опухолевой ткани. Как показали Y. Wu et al., *микроРНК-21* при колоректальном раке способствует росту и инвазии опухолевых клеток с помощью подавления активности опухолевого супрессора PTEN [28]. Y. Yu et al. показали в метаанализе, что повышенная экспрессия *микроРНК-21* в тканях предсказывала снижение общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования у пациентов с КРР [22]. Повышенная экспрессия *микроРНК-21* в опухолевой ткани в нашей работе может являться негативным прогностическим фактором рецидива и прогрессирования колоректального рака.

Уровень экспрессии *микроРНК-210* в перифокальной ткани оказался выше, чем в опухолевой, хотя разница и не была статистически значима. Как показали К.Е. Tagscherer et al., гиперэкспрессия *микроРНК-210* может индуцировать апоптоз опухолевых клеток через ROS механизм [29]. Однако в работах других авторов было показано, что экспрессия *микроРНК-210* повышена при опухолевом процессе [19, 21], в особенности в условиях гипоксии [30]. Учитывая эти данные, не исключено, что высокая экспрессия *микроРНК-210* в нормальной

перифокальной ткани может быть фактором повышенного риска рецидива, развития опухоли *de novo* и неблагоприятного прогноза. Обнаружено, что чем ниже экспрессия генов *микроРНК-210* в опухолевой ткани, тем более вероятно метастатическое поражение лимфатических узлов, печени, а также выше стадия опухолевого процесса.

Кроме того, выявлена корреляция экспрессии *EGFR* с *KLF* и *MMP-9*, а также корреляция экспрессии *KLF* и *MMP-9* между собой. *EGFR* и *KLF* являются важными участниками роста опухолевых клеток, в то время как *MMP-9* участвует в ремоделировании структур внеклеточного матрикса и может обеспечивать необходимые изменения в ткани, способствуя развитию опухолевого процесса. Гиперэкспрессия этих факторов связана с плохим прогнозом при КРР [11, 12, 14].

Важно отметить, что при перекрестном анализе экспрессионных ландшафтов нормальной и опухолевой ткани нами был выявлен ряд идентичных взаимосвязей. Так, экспрессия *микроРНК-210* имела одинаково достоверную корреляцию с *микроРНК-15* и *-16*, ген *NF κ B* – с генами *E2F3* и *TGF β* , а ген *KLF-12* – с геном *EGFR*.

Таким образом, опухолевая и перифокальная ткани при КРР имеют значимые различия в уровнях экспрессии генов *E2F3*, *микроРНК-16* и *микроРНК-21*, определяющих регуляцию опухолевого процесса.

Заключение

Обнаружено снижение уровня экспрессии *E2F3* и *микроРНК-16* и повышение уровня экспрессии *микроРНК-21* в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью у пациентов с КРР. Это дает возможность дифференцировать опухолевую и перифокальную ткань на расстоянии 1–2 см от опухоли не только гистологическим, но и молекулярно-генетическим методом исследования. Повышенный уровень экспрессии *E2F3* и *микроРНК-16* на расстоянии 1–2 см от опухоли может быть предиктором злокачественного перерождения, рецидива и прогрессирования опухоли. Экспрессия гена *E2F3* коррелирует с уровнем экспрессии гена *NF κ B*, ответственного за развитие резистентности к лекарственной терапии, и потенциально может служить неблагоприятным прогностическим фактором лекарственной устойчивости. Повышенная экспрессия *микроРНК-21* в опухолевой ткани может являться негативным прогностическим фактором.

Существует возможная диагностическая ценность таких факторов, как *микроРНК-210*, *KLF* и *MMP-9*. Повышенная экспрессия *микроРНК-210* в перифокальной ткани, а *KLF* и *MMP-9* в опухолевой ткани может быть фактором рецидива и неблагоприятного прогноза.

Совместная оценка экспрессионных характеристик генов контроля опухолевого роста и

генов-регуляторов – микроРНК – в опухолевой и нормальной ткани на до- или интраоперационном этапах, безусловно, может рассматриваться как потенциальный прогностический критерий. Так, возможно, чем более различным является характер генетической дисрегуляции в ткани опухоли и перифокальной ткани, остающейся после резекции,

тем менее вероятным становится риск развития послеоперационных рецидивов КРР.

Полученные данные могут служить основой для клинических исследований прогностической и предиктивной значимости экспрессии различных генов, связанных с генезом КРР, в опухолевой и периферических тканях.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д. Клинические рекомендации. Злокачественные новообразования ободочной кишки и ректосигмоидного отдела. Общероссийский национальный союз Ассоциация онкологов России; 2020. [Kaprin A.D. Clinical guidelines. Malignant neoplasms of the colon and rectosigmoid region. All-Russian National Union. Association of Oncologists of Russia; 2020. (in Russian)].
2. Каприн А.Д. Клинические рекомендации. Рак прямой кишки. Общероссийский национальный союз Ассоциация онкологов России; 2020. [Kaprin A.D. Clinical guidelines. Rectal cancer. All-Russian National Union Association of Oncologists of Russia; 2020. (in Russian)].
3. Bujko K., Rutkowski A., Chang G.J., Michalski W., Chmielik E., Kusnier J. Is the 1-cm rule of distal bowel resection margin in rectal cancer based on clinical evidence? A systematic review. *Ann Surg Oncol*. 2012; 19(3): 801–8. doi: 10.1245/s10434-011-2035-2.
4. Ker C.-G. Surgical safety margin of gastroenterological cancer surgery: A truth or a dream? *Formosan J Sur*. 2014; 47(3): 83–9.
5. Aran D., Camarda R., Odegaard J., Paik H., Oskotsky B., Krings G., Goga A., Sirota M., Butte A.J. Comprehensive analysis of normal adjacent to tumor transcriptomes. *Nat Commun*. 2017; 8(1): 1077. doi: 10.1038/s41467-017-01027-z.
6. Cai J., Xia L., Li J., Ni S., Song H., Wu X. Tumor-Associated Macrophages Derived TGF- β -Induced Epithelial to Mesenchymal Transition in Colorectal Cancer Cells through Smad2,3-4/Snail Signaling Pathway. *Cancer Res Treat*. 2019; 51(1): 252–66. doi: 10.4143/crt.2017.613.
7. Nakano M., Kikushige Y., Miyawaki K., Kunisaki Y., Mizuno S., Takenaka K., Tamura S., Okumura Y., Ito M., Ariyama H., Kusaba H., Nakamura M., Maeda T., Baba E., Akashi K. Dedifferentiation process driven by TGF-beta signaling enhances stem cell properties in human colorectal cancer. *Oncogene*. 2019; 38(6): 780–93. doi: 10.1038/s41388-018-0480-0.
8. Saavedra H.I., Maiti B., Timmers C., Altura R., Tokuyama Y., Fukasawa K., Leone G. Inactivation of E2F3 results in centrosome amplification. *Cancer Cell*. 2003; 3(4): 333–46. doi: 10.1016/s1535-6108(03)00083-7.
9. Yao H., Lu F., Shao Y. The E2F family as potential biomarkers and therapeutic targets in colon cancer. *PeerJ*. 2020; 8. doi: 10.7717/peerj.8562.
10. Jana A., Krett N.L., Guzman G., Khalid A., Ozden O., Staudacher J.J., Bauer J., Baik S.H., Carroll T., Yazici C., Jung B. NFkB is essential for activin-induced colorectal cancer migration via upregulation of PI3K-MDM2 pathway. *Oncotarget*. 2017; 8(23): 37377–93.
11. Del Carmen S., Corchete L.A., Gervas R., Rodriguez A., Garcia M., Alcazar J.A., Garcia J., Bengoechea O., Muñoz-Bellvis L., Sayagués J.M., Abad M. Prognostic implications of EGFR protein expression in sporadic colorectal tumors: Correlation with copy number status, mRNA levels and miRNA regulation. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 4662. doi: 10.1038/s41598-020-61688-7.
12. Yan Q., Zhang W., Wu Y., Wu M., Zhang M., Shi X., Zhao J., Nan Q., Chen Y., Wang L., Cheng T., Li J., Bai Y., Liu S., Wang J. KLF8 promotes tumorigenesis, invasion and metastasis of colorectal cancer cells by transcriptional activation of FHL2. *Oncotarget*. 2015; 6(28): 25402–17.
13. Wang X., Jiang Z., Zhang Y., Wang X., Liu L., Fan Z. RNA sequencing analysis reveals protective role of kruppel-like factor 3 in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(13): 21984–93. doi: 10.18632/oncotarget.15766.
14. Yang X.Z., Cui S.Z., Zeng L.S., Cheng T.T., Li X.X., Chi J., Wang R., Zheng X.F., Wang H.Y. Overexpression of Rab1B and MMP9 predicts poor survival and good response to chemotherapy in patients with colorectal cancer. *Aging (Albany NY)*. 2017; 9(3): 914–31. doi: 10.18632/aging.101200.
15. Lewis B.P., Burge C.B., Bartel D.P. Conserved seed pairing, often flanked by adenines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005; 120(1): 15–20. doi: 10.1016/j.cell.2004.12.035.
16. Truong A.D., Rengaraj D., Hong Y., Hoang C.T., Hong Y.H., Lillehoj H.S. Differentially expressed JAK-STAT signaling pathway genes and target microRNAs in the spleen of necrotic enteritis-afflicted chicken lines. *Res Vet Sci*. 2017; 115: 235–43. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.05.018.
17. Fesler A., Liu H., Ju J. Modified miR-15a has therapeutic potential for improving treatment of advanced stage colorectal cancer through inhibition of BCL2, BMI1, YAP1 and DCLK1. *Oncotarget*. 2017; 9(2): 2367–83. doi: 10.18632/oncotarget.23414.
18. Liu L., Wang D., Qiu Y., Dong H., Zhan X. Overexpression of microRNA-15 increases the chemosensitivity of colon cancer cells to 5-fluorouracil and oxaliplatin by inhibiting the nuclear factor- κ B signaling pathway and inducing apoptosis. *Exp Ther Med*. 2017; 2655–60. doi: 10.3892/etm.2017.5675.
19. Farace C., Pisano A., Griñan-Lison C., Solinas G., Jiménez G., Serra M., Carrillo E., Scognamiglio F., Attene F., Montella A., Marchal J.A., Madeddu R. Deregulation of cancer-stem-cell-associated miRNAs in tissues and sera of colorectal cancer patients. *Oncotarget*. 2020; 11(2): 116–30. doi: 10.18632/oncotarget.27411.
20. Zhang W., Zhou F., Jiang D., Mao Y., Ye D. Association of the Expression Level of miR-16 with Prognosis of Solid Cancer Patients: A Meta-Analysis and Bioinformatic Analysis. *Disease Markers*. 2020; 1–9.
21. Sabry D., El-Deek S.E.M., Maher M., El-Baz M.A.H., El-Bader H.M., Amer E., Hassan E.A., Fathy W., El-Deek H.E.M. Role of miRNA-210, miRNA-21 and miRNA-126 as diagnostic biomarkers in colorectal carcinoma: impact of HIF-1 α -VEGF signaling pathway. *Mol Cell Biochem*. 2019; 454(1–2): 177–89. doi: 10.1007/s11010-018-3462-1.
22. Yu Y., Chen Z., Liu H., Jin W., Ding Z., Zheng S. Tissue microRNA-21 expression predicted recurrence and poor survival in patients with colorectal cancer & a meta-analysis. *OTT*. 2016; 2615.
23. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013; 310(20): 2191–4. doi: 10.1001/jama.2013.281053.
24. Sazanov A.A., Kiselyova E.V., Zakharenko A.A., Romanov M.N., Zaraysky M.I. Plasma and saliva miR-21 expression in colorectal cancer patients. *J Appl Genet*. 2017; 58(2): 231–7. doi: 10.1007/s13353-016-0379-9.
25. Seliverstov R.Yu., Zaraiskiy M.I., Tyurin R.V., Naryshkin A.G., Valerko V.G., Semiglazov V.V., Takahachi Ch. MicroRNA in monitoring of the evolution of glial cerebral tumors. *Sib J Onkol*. 2020; 19(3): 47–53. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-47-53.
26. Yuan Z., Liang X., Zhan Y., Wang Z., Xu J., Qiu Y., Wang J., Cao Y., Le V.M., Ly H.T., Xu J., Li W., Yin P., Xu K. Targeting CD133 reverses drug-resistance via the AKT/NF- κ B/MDR1 pathway in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2020; 122(9): 1342–53. doi: 10.1038/s41416-020-0783-0.
27. Ma Q., Wang X., Li Z., Li B., Ma F., Peng L., Zhang Y., Xu A., Jiang B. microRNA-16 represses colorectal cancer cell growth in vitro by regulating the p53/survivin signaling pathway. *Oncol Rep*. 2013; 29(4): 1652–8. doi: 10.3892/or.2013.2262.
28. Wu Y., Song Y., Xiong Y., Wang X., Xu K., Han B., Bai Y., Li L., Zhang Y., Zhou L. MicroRNA-21 (Mir-21) Promotes Cell Growth and Invasion by Repressing Tumor Suppressor PTEN in Colorectal Cancer. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 43(3): 945–58. doi: 10.1159/000481648.
29. Tagscherer K.E., Fassl A., Sinkovic T., Richter J., Schecher S., Macher-Goeppinger S., Roth W. MicroRNA-210 induces apoptosis in colorectal cancer via induction of reactive oxygen. *Cancer Cell Int*. 2016; 16: 42. doi: 10.1186/s12935-016-0321-6.
30. Nijhuis A., Thompson H., Adam J., Parker A., Gammon L., Lewis A., Bundy J.G., Soga T., Jalaly A., Propper D., Jeffery R., Suraweera N., McDonald S., Thaha M.A., Feakins R., Lowe R., Bishop C.L., Silver A. Remodelling of microRNAs in colorectal cancer by hypoxia alters metabolism profiles and 5-fluorouracil resistance. *Hum Mol Genet*. 2017; 26(8): 1552–64. doi: 10.1093/hmg/ddx059.

Поступила/Received 15.12.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 04.04.2022

Принята к публикации/Accepted 20.04.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Служев Максим Иванович, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; аспирант кафедры онкологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7816-5007. ORCID: 0000-0002-6346-1029.

Зарайский Михаил Игоревич, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; профессор кафедры медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN: 7722-6396. Author ID (Scopus): 57199513914. ORCID: 0000-0002-7605-4369.

Семиглазов Владислав Владимирович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научного отдела общей онкологии и урологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; заведующий кафедрой онкологии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): AАН-9574-2020. Author ID (Scopus): 7006310596. ORCID: 0000-0002-8825-5221.

Семиглазова Татьяна Юрьевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; профессор кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 9773-3759. Author ID (Scopus): 8562948700. ORCID: 0000-0002-4305-6691

Ткаченко Елена Викторовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением краткосрочной химиотерапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6375-8335.

Кондратьев Сергей Валерьевич, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-7266-1604.

Бриш Надежда Александровна, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6995-1048.

Алексеева Юлия Владимировна, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-5609-1237.

Петрик Юрий Владимирович, врач-эндоскопист, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN: 2559-4294. ORCID: 0000-0002-0538-7369.

Сидорова Александра Николаевна, врач-эндоскопист, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN: 9022-4125. ORCID: 0000-0001-8286-8302.

ВКЛАД АВТОРОВ

Служев Максим Иванович: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Зарайский Михаил Игоревич: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Семиглазов Владислав Владимирович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Семиглазова Татьяна Юрьевна: окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Ткаченко Елена Викторовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Кондратьев Сергей Валерьевич: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Бриш Надежда Александровна: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Алексеева Юлия Владимировна: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Петрик Юрий Владимирович: существенный вклад в получение и анализ результатов данной работы.

Сидорова Александра Николаевна: существенный вклад в получение и анализ результатов данной работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Maksim I. Sluzhev, MD, Oncologist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology; Postgraduate of Oncology Department, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-6346-1029.

Michail I. Zaraisky, MD, Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics with the Course of Molecular Medicine, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; Professor, Department of Medical Genetics, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 57199513914. ORCID: 0000-0002-7605-4369.

Vladislav V. Semiglazov, MD, DSc, Leading Researcher, Scientific Department of General Oncology and Urology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology; Head of Oncology Department, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): AAH-9574-2020. Author ID (Scopus): 7006310596. ORCID: 0000-0002-8825-5221.

Tatiana Yu. Semiglazova, MD, DSc, Head of Department of Innovative Methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology; Professor, Oncology Department, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 8562948700. ORCID: 0000-0002-4305-6691.

Elena V. Tkachenko, MD, PhD, Head of the Department of Chemotherapy, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6375-8335.

Sergei V. Kondratev, MD, Oncologist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-7266-1604.

Nadezhda A. Brish, MD, Oncologist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6995-1048

Yuliya V. Alekseeva, MD, Oncologist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-5609-1237.

Iuriy V. Petrik, MD, Endoscopist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-0538-7369.

Aleksandra N. Sidorova, MD, Endoscopist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-8286-8302.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Maksim I. Sluzhev: study conception, drafting of the manuscript.

Michail I. Zarskiy: study conception, drafting of the manuscript.

Vladislav V. Semiglazov: supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Tatiana Yu. Semiglazova: final approval of the published version of the manuscript.

Elena V. Tkachenko: supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Sergei V. Kondratev: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Nadezhda A. Brish: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Yuliya V. Alekseeva: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Iuriy V. Petrik: data collection and analysis.

Aleksandra N. Sidorova: data collection and analysis.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Кручинина М.В., Кручинин В.Н., Громов А.А., Шашков М.В., Соколова А.С., Яковина И.Н., Шестов А.А. Жирные кислоты мембран эритроцитов и сыворотки крови как биомаркеры для диагностики ранних стадий колоректального рака. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 65–80. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-65-80
For citation: Kruchinina M.V., Kruchinin V.N., Gromov A.A., Shashkov M.V., Sokolova A.S., Yakovina I.N., Shestov A.A. Fatty acids of erythrocyte membranes and blood serum as biomarkers for early detection of colorectal cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 65–80. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-65-80

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ И СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАННИХ СТАДИЙ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

М.В. Кручинина^{1,2}, В.Н. Кручинин³, А.А. Громов¹, М.В. Шашков⁴,
А.С. Соколова⁵, И.Н. Яковина⁶, А.А. Шестов⁷

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»,
г. Новосибирск, Россия¹

Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1. E-mail: kruchmargo@yandex.ru¹

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Новосибирск, Россия.²

Россия, 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52²

ФГБНУ «Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН», г. Новосибирск, Россия³

Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 13³

ФГБНУ «Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН», г. Новосибирск, Россия⁴

Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 5⁴

ФГБНУ «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН»,
г. Новосибирск, Россия⁵

Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 9⁵

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный технический университет», г. Новосибирск, Россия⁶

Россия, 630073, г. Новосибирск, пр. К. Маркса, 20⁶

Медицинский факультет Перельмана, Университет Пенсильвании, г. Филадельфия, США⁷

США, 3400, г. Филадельфия, Civic Center Blvd⁷

Аннотация

Цель исследования – выявить перечень жирных кислот (ЖК) мембран эритроцитов и сыворотки крови, которые могут служить потенциальными биомаркерами ранних стадий колоректального рака. **Материал и методы.** Обследованы 65 пациентов с KPP I–II стадий (средний возраст – 63,3 ± 9,6 года), из них 30 мужчин, 35 женщин, и 35 человек группы сравнения, сопоставимых по возрасту и полу. Исследование состава жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови проведено с помощью ГХ/МС системы на основе трех квадруплей Agilent 7000B (США). Для статистической обработки использованы методы программного обеспечения MATLAB (R2019a, MathWorks) и языка программирования R: Т-тест, анализ главных компонент (PCA), Fold Change, Volcano plot, метод машинного обучения (Random Forest), ROC-анализ, построение тепловых карт (Heatmap). **Результаты.** У пациентов с KPP I–II стадий выявлено снижение уровней насыщенных, отдельных мононенасыщенных и высокодостоверное повышение большей части уровней полиненасыщенных ЖК с преобладанием омега-3. Для большей части уровней жирных кислот достоверные различия в группах касались мембран эритроцитов с той же тенденцией в сыворотке крови. Уровни эритроцитарных миристиновой, пентадекановой, 7-пальмитолеиновой, отношения насыщенные/полиненасыщенные ЖК (содержание которых достоверно ниже при KPP I–II стадий, чем в контроле) и уровни α-линоленовой, эйкозапентаеновой, докозапентаеновой, докозагексаеновой, суммы омега-3 ЖК, EPA + DHA, докодиеновой, дигомо-γ-линоленовой, докозатетраеновой ЖК (содержание которых достоверно выше при KPP, чем у здоровых) являются дифференцирующими при различии больных KPP I–II стадий и здоровых лиц. В сыворотке крови уровень биомаркеров имели следующие ЖК: арахидоновая, миристиновая, докозагексаеновая, сумма омега-3 ПНЖК, отношение омега-6/омега-3 ПНЖК, пентадекановая, докозапентаеновая и докодиеновая. Модель, включающая перечень жирных кислот (C14:0, C15:0, C16:1;7, C18:3 n-3, C20:2 n-6, C20:3 n-6, C20:5 n-3, C22:4 n-6, C22:5 n-3, C22:6 n-3, сумма омега-3, омега-3(EPA + DHA), отношение насыщенные/полиненасыщенные

ЖК, обеспечила AUC 0,916 со специфичностью 0,90, чувствительностью 0,95 при различении пациентов с KPP I–II стадий от здоровых лиц. **Заключение.** Изучение уровней и соотношений жирных кислот в мембранах эритроцитов и сыворотке крови следует считать перспективным направлением в поиске биомаркеров для ранней диагностики KPP.

Ключевые слова: ранняя диагностика, колоректальный рак, жирные кислоты, липидомика, эритроциты, сыворотка крови.

FATTY ACIDS OF ERYTHROCYTE MEMBRANES AND BLOOD SERUM AS BIOMARKERS FOR EARLY DETECTION OF COLORECTAL CANCER

M.V. Kruchinina^{1,2}, V.N. Kruchinin³, A.A. Gromov¹, M.V. Shashkov⁴,
A.S. Sokolova⁵, I.N. Yakovina⁶, A.A. Shestov⁷

Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia¹

175/1, B. Bogatkova St., 630089, Novosibirsk, Russia. E-mail: kruchmargo@yandex.ru¹

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia²

52, Krasny Prospect, 630091, Novosibirsk, Russia²

Rzhanov Institute of Semiconductor Physics, Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia³

13, Ac. Lavrentieva Ave., 630090, Novosibirsk, Russia³

Boreskov Institute of Catalysis, Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia⁴

5, Ac. Lavrentieva Ave., 630090, Novosibirsk, Russia⁴

N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia⁵

9, Ac. Lavrentieva Ave., 630090, Novosibirsk, Russia⁵

Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russia⁶

20, K. Marx Ave., 630073, Novosibirsk, Russia⁶

Perelman Center for Advanced Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, USA⁷

Civic Center Blvd, 3400, Philadelphia, USA⁷

Abstract

The aim of the study was to identify fatty acids (FA) of erythrocyte membranes and blood serum, which can serve as potential biomarkers for early detection of colorectal cancer. **Material and Methods.** The study involved 65 patients with stage I-II CRC (mean age $63,3 \pm 9,6$ years (30 men, 35 women) and 35 people in the comparison group, matched by age and sex. The composition of fatty acids of erythrocyte membranes and blood serum was studied using a GC/MS system based on three Agilent 7000B quadrupoles (USA). Methods of the MATLAB software (R2019a, MathWorks) and the R programming language were used for statistical processing: T-test, unsupervised principal component analysis (PCA), Fold Change, Volcano plot, machine learning method (Random Forest), ROC analysis, Heatmaps. **Results.** Patients with stage I-II CRC showed a decrease in the level of saturated, individual monounsaturated fatty acids and a highly significant increase in the most of the polyunsaturated fatty acids with a predominance of omega-3. For most of the fatty acid levels, significant differences in erythrocyte membranes and serum between the groups were found. The levels of erythrocyte myristic, pentadecanoic, 7-palmitoleic, saturated/polyunsaturated FA ratios (the content of which was significantly lower at stages I-II CRC than those in the control) and the levels of α -linolenic, eicosapentaenoic, docosapentaenoic, docosahexaenoic, the amount of omega-3 FA, EPA + DHA, docodienic, dihomo- γ -linolenic, docatetraenoic fatty acids (the content of which was significantly higher in colorectal cancer than those in healthy subjects) were the most discriminating parameters in distinguishing patients with I-II stage CRC and healthy individuals. In the blood serum, the level of biomarkers had the following fatty acids: arachidonic, myristic, docosahexaenoic, the amount of omega 3 PUFA, the ratio of omega 6/omega 3 PUFA, pentadecanoic, docosapentaenoic, and docodiene. A model that included a list of fatty acids, such as C14:0, C15:0, C16:1; 7, C18:3 n-3, C20: 2 n-6, C20:3 n-6, C20:5 n-3, C22:4 n-6, C22:5 n-3, C22:6 n-3, sum of omega-3, omega-3 (EPA + DHA), and saturated / polyunsaturated fatty acids ratio provided AUC 0,916 with a specificity of 0,90 and sensitivity of 0,95 in distinguishing patients with stage I-II CRC from healthy individuals. **Conclusion.** The study of the levels and ratios of fatty acids in erythrocyte membranes and blood serum should be considered a promising trend in the search for biomarkers for the early diagnosis of colorectal cancer.

Key words: early diagnostics, colorectal cancer, fatty acids, lipidomics, erythrocytes, blood serum.

Введение

В мире колоректальный рак (КРР) является 3-м по распространенности типом рака и 4-й ведущей причиной смерти от рака [1]. Около 85 % КРР считаются спорадическими, и развитие рака с прогрессией от аденомы до инвазивного рака обычно занимает около 10 лет [2]. Ранняя диагностика является ключом к долгосрочному выживанию пациентов. Из-за отсутствия методов ранней диагностики менее 40 % пациентов с КРР выявляются на ранней стадии. Колоноскопия является золотым стандартом для точной диагностики КРР, но ее инвазивный характер, высокая стоимость, иногда труднодоступность ограничивают ее широкое применение [3]. В клинической практике также используются некоторые биомаркеры опухоли, такие как раковоэмбриональный антиген (РЭА), опухолевая М2-пируваткиназа кала, анализ кала на скрытую кровь (FOBT), однако недостаточная чувствительность и специфичность, эпизодичность истечения крови из новообразования или его отсутствие снижают эффективность данных методов диагностики [4]. Поэтому разработка эффективных молекулярных биомаркеров для диагностики ранних стадий КРР и предрака становится все более важной.

Рак как метаболическое заболевание характеризуется биохимическими превращениями в клетках, необходимыми для поддержания их более высоких пролиферативных показателей и противодействия сигналам гибели клеток с измененным потоком по ключевым метаболическим путям, таким как гликолиз и цикл трикарбоновых кислот. Метабомика позволяет количественно измерить динамический многопараметрический метаболический ответ живых систем на патофизиологические стимулы или генетическую модификацию. Эта технология широко использовалась для идентификации биомаркеров на основе метаболитов при различных формах рака [5–7].

Состав жирных кислот (ЖК) сывороточных липидов считается надежным показателем, отражающим потребление ЖК в течение нескольких недель или месяцев [8, 9]. Изменения состава ЖК в эритроцитах происходят в более отдаленные сроки, чем в сыворотке крови [10]. Несмотря на то, что в литературе имеются сведения о связи заболевания КРР с составом, а также с уровнем ЖК в сыворотке и мембранах эритроцитов [11–13], неясно, возможно ли использование отдельных видов ЖК как биомаркеров в диагностике ранних стадий КРР и предрака.

Цель исследования – выявить перечень жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови, которые могут служить потенциальными биомаркерами ранних стадий колоректального рака.

Материал и методы

Обследованы 65 пациентов с впервые выявленным КРР I–II стадий: I стадия – у 12, II – у 53

больных, из них 30 мужчин, 35 женщин (средний возраст – $63,3 \pm 9,6$ года), и 35 человек группы сравнения, сопоставимых по возрасту и полу (средний возраст – $61,7 \pm 7,5$ года, 18 мужчин, 17 женщин). Больные КРР наблюдались в ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер» и обследованы в соответствии с существующими клиническими рекомендациями, включая методы визуализации, маркеры опухоли в сыворотке крови и кале, с обязательным гистологическим подтверждением диагноза (у 44 больных – умереннодифференцированная, у 6 – высокодифференцированная, у 3 – низкодифференцированная аденокарцинома). Обследованные не принимали препараты и пищевые добавки, содержащие полиненасыщенные жирные кислоты. Стадия опухоли толстой кишки уточнена после операции при морфологическом исследовании операционного материала с учетом наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах или обнаружения отдаленных метастазов в соответствии с классификацией по TNM.

Опухоли локализовались в различных отделах кишки: в слепой кишке ($n=7$), восходящем отделе ($n=2$) и поперечно-ободочной кишке ($n=4$), нисходящем отделе и в сигмовидной кишке ($n=17$), в прямой кишке ($n=32$). У 3 пациентов с КРР диагностирована первично-множественная локализация образований в толстой кишке.

В качестве группы сравнения были отобраны лица, у которых при обследовании в ГБУЗ НСО «НООД» и НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Новосибирск-Главный ОАО «РЖД» были исключены злокачественные новообразования, без манифестирующей патологии внутренних органов. Пациенты исключались из исследования, если они получали какие-либо добавки омега-3 полиненасыщенных жирных кислот или статины, имели гиперлипидемию, которая могла потребовать лекарственной коррекции, какие-либо значительные отклонения, по данным исследования общего анализа крови или биохимии, или имели холестериновые камни в желчном пузыре, поскольку эти факторы оказывают существенное влияние на профиль ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов [8]. Лица, включенные в группу сравнения, вели здоровый образ жизни, в большинстве не курили, употребляли алкоголь в дозах, не превышающих 20 г в сут в пересчете на чистый этанол, не чаще 1–2 раз в течение месяца.

Индекс массы тела (ИМТ) высчитывался как масса тела (кг)/рост (в метрах в квадрате). Курение и употребление алкоголя представлены как статус текущего употребления (Т), употребления в прошлом (П) и отсутствие вообще (О) – Т/П/О в процентах от общего числа лиц в группе. Показатели красной крови, биохимические параметры определены стандартными методами.

Забор крови у пациентов и ее исследование осуществляли при поступлении в стационар до прове-

дения всех видов терапии после ночного голодания (12–14 ч): 8–9 мл – в пробирку без антикоагулянта для получения сыворотки и 8–9 мл – в пробирку с 3,8 % раствором цитрата натрия (0,129 моль/л, соотношение цитрата к количеству крови 1:9) для последующего получения взвеси эритроцитов. Для получения сыворотки проводили центрифугирование цельной крови при 2000 об/мин в течение 20 мин, затем сыворотку переносили в пробирки меньшего объема для исследования.

Исследование состава жирных кислот сыворотки крови и мембран эритроцитов (с их предварительным выделением) проведено с помощью газовой хроматографии/масс-спектрометрии – ГХ/МС системы на основе 3 квадрупольной Agilent 7000B (США). Концентрации жирных кислот выражали в относительных процентах. Предел обнаружения жирной кислоты ~1 мкг на образец. Кроме содержания отдельных ЖК, определяли суммарное содержание насыщенных, ненасыщенных, полиненасыщенных (ПНЖК), омега-3 ПНЖК, омега-6 ПНЖК, их соотношения [14]. Подробное описание пробоподготовки для определения состава жирных кислот представлено в работе [15].

Статистическая обработка данных и вычисления с помощью метода машинного обучения (Random Forest) проводились с применением программного обеспечения MATLAB (R2019a, MathWorks) и языка программирования R с использованием стандартных библиотек обучающих классификаций и наборов инструментов статистики. Random Forests – это комбинация предикторов дерева решений. Каждое дерево зависит от значений случайного вектора, выбираемого независимо и с одинаковым распределением для всех деревьев в лесу. Детали и основы метода Random Forests, используемые в этой статье, описаны в публикации [16].

Неконтролируемый анализ главных компонент (РСА) использовался для визуализации изменений в общем метаболическом паттерне между группами и кластеризации групп из-за размера набора данных. РСА выполняли с использованием количественных липидомных данных ГХ-МС. Липидомные тепловые карты (heatmaps) для жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови были созданы на основе количественного анализа данных ГХ-МС для визуализации метаболических паттернов.

Статистически значимые различия были выявлены с использованием двустороннего t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений, в случаях отклонения распределения от нормального использовали непараметрические критерии (U-критерий Манна–Уитни). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05 и значения $p \leq 0,05$ считались значимыми.

Исследование одобрено комитетом биомедицинской этики Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины (29.11.2016; протокол № 123). Все обследуемые подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты

Обследуемые обеих групп не различались по возрасту, полу, индексу массы тела (табл. 1). Вместе с тем, в группе с КРР оказалось больше курящих в настоящем и прошлом, меньше не куривших в течение жизни ($p < 0,0001$). Пациенты с КРР чаще употребляли алкоголь в анамнезе ($p < 0,001$), среди них оказалось достоверно меньше не употребляющих алкоголь ($p < 0,05$). Показатели липидного профиля сыворотки крови достоверно не различались в группах. Выявлены отличия в показателях красной крови: уровни гемоглобина, цветового показателя, гематокрита оказались выше, а количество ретикулоцитов, СОЭ – выше у пациентов с КРР, чем в группе сравнения ($p < 0,0001–0,01$).

Суммарное содержание насыщенных жирных кислот оказалось достоверно ниже в мембранах эритроцитов пациентов с КРР I–II стадий, чем у здоровых лиц ($p = 0,008$), в сыворотке крови отмечена та же тенденция, не достигающая уровня достоверности (табл. 2). При этом уровень миристиновой кислоты C14:0 оказался достоверно ниже как в мембранах эритроцитов ($p < 0,0001$), так и в сыворотке ($p = 0,03$). Для пентадекановой C15:0, гексадекановой C16:0, маргариновой C17:0 кислот достоверное снижение отмечено лишь в мембранах эритроцитов; в сыворотке отмечена та же тенденция. Содержание стеариновой ЖК C18:0 оказалось достоверно ниже в сыворотке крови ($p = 0,04$) с тем же трендом в эритроцитах. Уровень арахидиновой кислоты C20:0 имел тенденцию к снижению в мембранах клеток красной крови и сыворотке у пациентов с КРР по сравнению с контролем.

Суммарное содержание полиненасыщенных ЖК у пациентов с КРР I–II стадий оказалось достоверно выше в мембранах эритроцитов ($p < 0,0001$), с той же тенденцией в сыворотке крови. Подобное повышение обеспечивалось преимущественно за счет полиненасыщенных ЖК (суммарное содержание мононенасыщенных ЖК в группах не различалось), которые оказались достоверно повышенными как в мембранах эритроцитов ($p < 0,0001$), так и в сыворотке крови ($p = 0,02$). Основную роль в обнаруженном преобладании ПНЖК играли омега-3 и омега-6 с большим увеличением первых, что отразилось в снижении соотношения омега-6/омега-3 у пациентов с КРР по сравнению со здоровыми как в мембранах эритроцитов ($p = 0,006$), так и в сыворотке крови ($p < 0,0001$).

Снижение уровня насыщенных и повышение ненасыщенных ЖК сказались на изменении их соотношений – данный индекс оказался достоверно

Таблица 1/Table 1

Показатели общего анализа крови у больных колоректальным раком I–II стадий и лиц группы сравнения
Indicators of the general blood analysis in patients with colorectal cancer stages I–II and healthy controls

Показатель/Indicator	Группа сравнения/ Comparison group (n=35)	Группа больных с ранними стадиями KPP/ Group of patients with early CRC stages (n=65)
Возраст (годы)/Age (years)	61,7 ± 7,5	63,3 ± 9,6
Пол (мужчины/женщины)/Gender (men/women)	18/17	30/35
Курение Т/П/О (%) /Smoking C/P/A (%)	5,7/17,4/ 80	21,5**/33,8**/32,3***
Алкоголь Т/П/О (%) /Alcohol C/P/A (%)	22,8/25,7/57,1	30,7/53,8**/32,3*
Индекс массы тела (кг/м²)/Body mass index (kg/m²)	25,5 ± 3,2	24,8 ± 3,6
Количество эритроцитов (×10 ¹² /л)/ RBC count (×10 ¹² /L)	4,62 ± 0,32	4,41 ± 0,56
Уровень гемоглобина (г/л)/Hemoglobin level (g/l)	142,44 ± 8,29	118,7 ± 22,9***
Цветовой показатель/Color indicator	0,94 ± 0,01	0,89 ± 0,13***
Гематокрит (%) /Hematocrit (%)	44,2 ± 2,1	37,5 ± 10,2**
СОЭ (мм/ ч)/ESR (mm/h)	10,4 ± 3,4	27,9 ± 19,5***
Ретикулоциты (%) /Reticulocytes (%)	0,00 ± 0,00	2,08 ± 1,85
Общий холестерин (мг/дл)/Total cholesterol (mg/dl)	180,8 ± 20,4	182,7 ± 49,8
ХС ЛПВП (мг/дл)/HDL cholesterol (mg/dl)	54,4 ± 10,3	56,47 ± 23,8
ХС ЛПНП (мг/дл)/LDL cholesterol (mg/dl)	95,5 ± 10,1	111,3 ± 11,3
Триглицериды (мг/дл)/Triglycerides (mg/dl)	131,8 ± 41,4	134,6 ± 56,7

Примечание: * – достоверность различий от группы сравнения (p<0,05); ** – p<0,01; *** – p<0,0001; Т/П/О – текущее/прошлое/отсутствие.

Note: * – significance of differences from the comparison group (p<0.05); ** – p<0.01; *** – p<0.0001; C/P/A – current/past/absence.

Таблица 2/Table 2

Уровни жирных кислот в мембранах эритроцитов и сыворотке крови у пациентов с KPP I–II стадий и лиц группы сравнения (M ± SD; Me (25 %; 75 %))

Levels of fatty acids in erythrocyte membranes and blood serum in patients with stage I–II CRC and healthy controls (M ± SD; Me (25 %; 75 %))

Жирные кислоты (%) / Fatty acids (%)	Мембраны эритроцитов/RBC membranes			Сыворотка крови/Blood serum		
	Группа сравнения/ Comparison group (n=35)	Группа KPP I–II стадий/ Group CRC I–II stages (n=65)	Критерий Манна–Уитни/ Mann–Whitney test	Группа сравнения/ Comparison group (n=35)	Группа KPP I–II стадий/ Group CRC I–II stages (n=65)	Критерий Манна–Уитни/ Mann–Whitney test
Омега-6 ПНЖК/ Omega-6 PUFA	22,57 ± 8,14 23,57 (17,9; 27,8)	27,69 ± 6,76 28,78 (23,6; 32,6)	p=0,0001	36,69 ± 8,33 38,48 (31,7; 45,3)	39,50 ± 6,68 40,18 (34,6; 42,7)	p=0,002
Омега-3 ПНЖК (ЭПК+ДГК)/ Omega-3 PUFA (EPA + DHA)	2,58 ± 1,36 2,39 (1,89; 3,14)	3,93 ± 1,63 3,73 (2,71; 5,27)	p=0,0001	1,48 ± 1,05 1,37 (0,61; 1,94)	2,26 ± 1,13 1,89 (1,51; 2,77)	p=0,0001
Омега-6/омега-3 ПНЖК/ Omega-6/omega-3 PUFA	6,58 ± 3,04 5,87 (4,53; 8,11)	5,56 ± 2,31 5,08 (3,87; 6,54)	p=0,006	24,4 ± 17,5 16,74 (14,2; 33,8)	14,95 ± 7,5 14,67 (8,78; 19,04)	p=0,0001
Насыщенные/ненасыщенные жирные кислоты/ Saturated/unsaturated fatty acids	1,43 ± 0,93 1,04 (0,86; 1,97)	1,13 ± 0,69 0,89 (0,78; 1,18)	p=0,014	0,61 ± 0,24 0,55 (0,47; 0,70)	0,56 ± 0,19 0,51 (0,43; 0,59)	p=0,0008
Насыщенные/полиненасыщенные жирные кислоты/ Saturated/polyunsaturated fatty acids	2,36 ± 1,66 1,82 (1,42; 3,01)	1,71 ± 1,03 1,30 (1,14; 1,88)	p=0,001	0,96 ± 0,39 0,94 (0,69; 1,22)	0,84 ± 0,19 0,76 (0,63; 0,92)	p>0,1

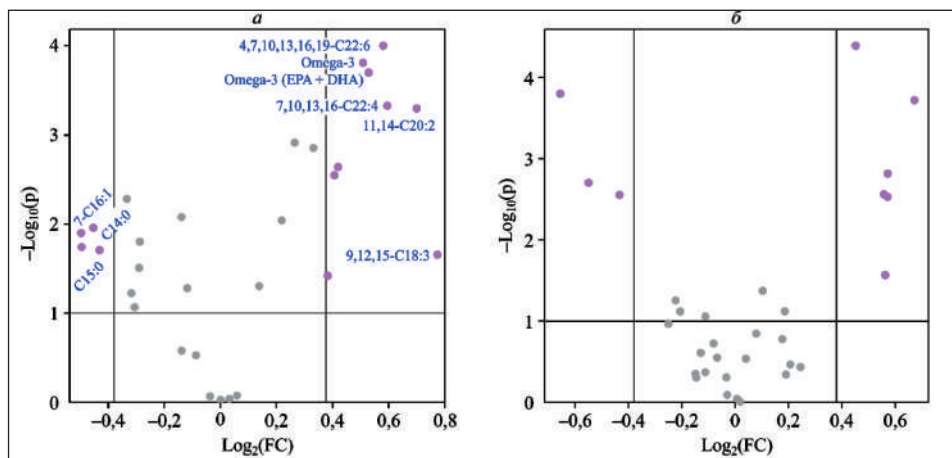


Рис. 1. Использование вулканной диаграммы к уровням ЖК мембран эритроцитов (а) и сыворотки крови (б), их соотношений для различия больных КРР I–II стадий и здоровых лиц. График рассеяния для большого массива данных – это комбинация кратных изменений и t-тестов. Ось x – это log (кратных изменений); ось y – log10 (значение «р») и основана на скорректированных значениях «р»

Fig. 1. The use of the Volcanic diagram to the levels of fatty acids of erythrocyte membranes (a) and blood serum (b), their ratios to distinguish of patients with colorectal cancer I–II stage from healthy individuals. The Volcano plot is a combination of fold change and t-tests. Note, the X-axis is log (Fold Change), Y-axis is – log10 («p» value), and is based FDR adjusted «p» values

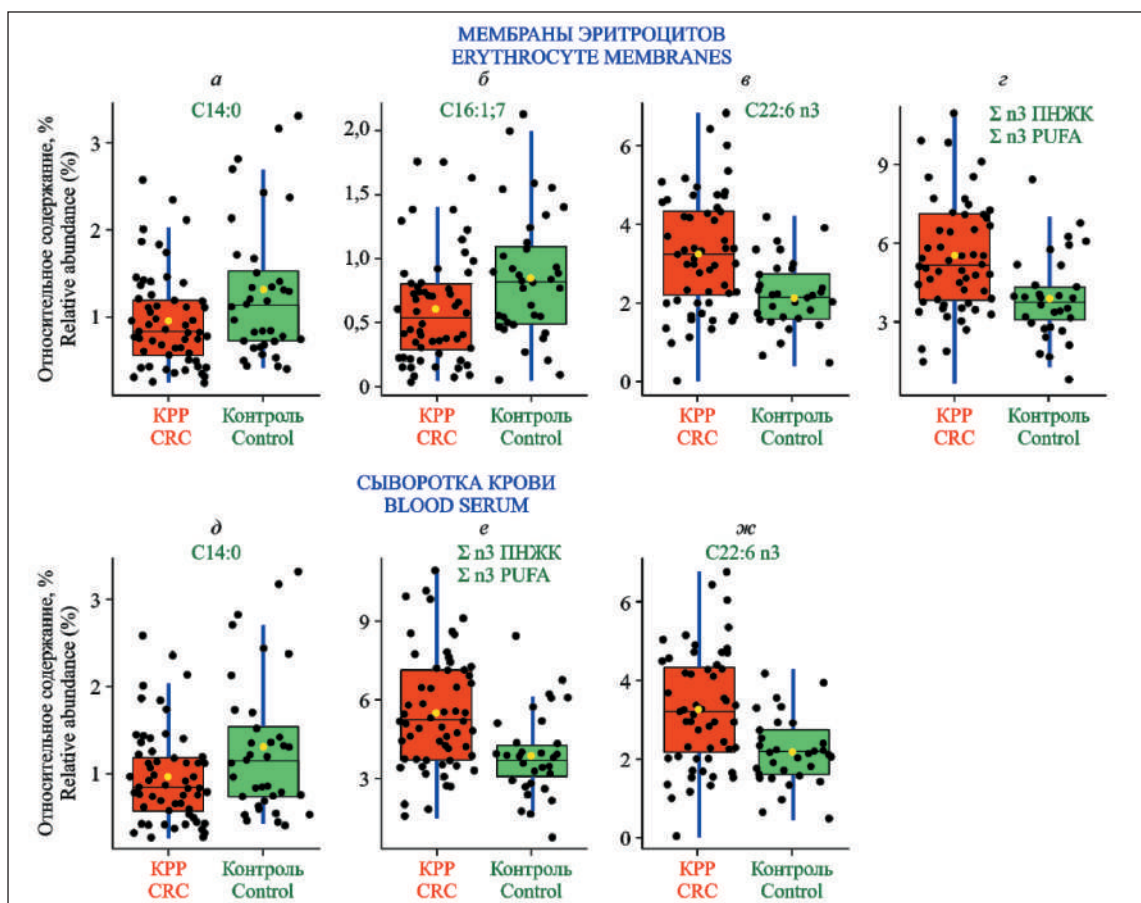


Рис. 2. Уровни ЖК мембран эритроцитов (сверху) и сыворотки крови (снизу), отвечающих критериям биомаркеров, у больных КРР I–II стадий и в группе сравнения. Уровни жирных кислот в мембранах эритроцитов: а – C14:0 (миристиновой); б – C16:1;7 (7-пальмитоолеиновой); в – C22:6 n3 (докозагексаеновой); г – суммарное содержание омега 3 ПНЖК. Уровни ЖК в сыворотке крови: д – C14:0 (миристиновой); е – суммарное содержание омега 3 – ПНЖК; ж – C22:6 n3 (докозагексаеновой)

Fig. 2. Levels of FA of erythrocyte membranes (top) and blood serum (bottom) meeting the criteria for biomarkers in patients with colorectal cancer I–II stage and in the comparison group. Levels of fatty acids in erythrocyte membranes: а – C14:0 (myristic), б – C16:1;7 (7-palmitooleic), в – C22:6 n3 (docosahexaenoic), г – total content of omega 3 PUFA. Serum fatty acids levels: д – C14:0 (myristic), е – total content of omega 3 PUFA, ж – C22:6 n3 (docosahexaenoic)

ниже у пациентов с КРР, чем в контроле, как в эритроцитах, так и в сыворотке крови ($p=0,014$, $p=0,0008$ соответственно). Соотношение насыщенные/полиненасыщенные ЖК было достоверно ниже только в мембранах эритроцитов ($p<0,001$), с той же тенденцией в сыворотке крови.

Анализ уровней отдельных жирных кислот в составе ненасыщенных выявил следующие закономерности. Содержание двух мононенасыщенных ЖК в мембранах эритроцитов C16:1;7 Цис-7-гексадекановой (7-Пальмитоолеиновой) и C16:1;9 Цис-9-гексадекановой (9-Пальмитоолеиновой) оказалось достоверно ниже у пациентов с КРР, чем в контроле ($p<0,001$ и $p=0,003$ соответственно).

Содержание большей части ПНЖК было достоверно выше у пациентов с КРР, чем у здоровых лиц. При этом для докодиеновой C20:2 n-6, арахидоновой C20:4 n-6, докозапентаеновой C22:5 n-3 и докозагексаеновой C22:6 n-3 такое повышение с высокой степенью достоверности выявлено как в мембранах эритроцитов, так и в сыворотке крови. Для ряда других ПНЖК – α -линоленовой

C18:3 n-3, дигомо- γ -линоленовой C20:3 n-6, эйкозапентаеновой C20:5 n-3, докозатетраеновой C22:4 n-6 – достоверное повышение выявлено лишь в мембранах эритроцитов, с той же тенденцией в сыворотке крови.

Таким образом, у пациентов с КРР I–II стадий выявлено снижение насыщенных, отдельных мононенасыщенных и высокодостоверное повышение большей части полиненасыщенных ЖК с преобладанием омега-3. Для большей части уровней жирных кислот достоверные различия в группах касались мембран эритроцитов, с той же тенденцией в сыворотке крови.

На следующем этапе проведено выявление жирных кислот, являющихся значимыми в различении пациентов с КРР I–II стадий от здоровых лиц. Для анализа произведена стандартизация уровней жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови. Использование Т-теста для различения состава ЖК в мембранах эритроцитов и сыворотке крови пациентов с КРР I–II стадий и здоровых позволило получить отчетливое дифференцирование

Таблица 3/Table 3

Жирные кислоты мембран эритроцитов и их соотношения – потенциальные биомаркеры для различения больных КРР I–II стадий и здоровых лиц (данные получены при использовании Volcano plot)

Fatty acids of erythrocyte membranes and their ratios – potential biomarkers for distinguishing between I–II stages of colorectal cancer and healthy individuals (data obtained using the Volcano plot)

Название жирных кислот/ Name of fatty acids	Кратность изменений/ Fold Change (FC)	$\log_2(FC)$	Значения «p»/ «p» values (raw. p val)	$-\log_{10}(p)$
C14:0 Тетрадекановая (Миристиновая)/ Tetradecanoic (Myristic)	0,73083	–0,45238	0,010939	1,961
C15:0 Пентадекановая/Pentadecanoic	0,70887	–0,49641	0,018081	1,7428
C16:1;7 Цис-7-гексадекановая (7-Пальмитоолеиновая)/ cis-7-hexadecanoic (7-Palmitoleic)	0,70948	–0,49516	0,012252	1,9118
C18:3;6,9,12 (n-3) Октадекатриеновая (α -Линоленовая)/ Octadecatrienic (α -linolenic)	1,7134	0,77683	0,021849	1,6606
C20:2;11,14 (n-6) Докодиеновая/Docodienic	1,6252	0,70061	4,9579E-4	3,3047
C20:3;8, 11,14 (n-6) Дигомо- γ -линоленовая/Dihomo- γ -linolenic	1,3284	0,40968	0,0028182	2,55
C20:5;5,8,11,14,17 (n-3) Эйкозапентаеновая/Eicosapentaenoic	1,3028	0,38164	0,037067	1,431
C22:4;7,10,13,16 (n-6) Докозатетраеновая/Docosatetraenoic	1,5109	0,59537	4,7204E-4	3,326
C22:5;7,10,13,16,19 (n-3) Докозапентаеновая/Docosapentaenoic	1,3366	0,41858	0,0022657	2,6448
C22:6;4,7,10,13,16,19 (n-3) Докозагексаеновая/Docosahexaenoic	1,4973	0,58232	9,7487E-5	4,0111
Омега-3 ПНЖК/Omega-3 PUFA	1,4201	0,50599	1,488E-4	3,8274
Омега-3 ПНЖК (ЭПК+ДГК)/ Omega-3 PUFA (EPA + DHA)	1,4431	0,52921	1,984E-4	3,7025
Насыщенные/полиненасыщенные жирные кислоты/ Saturated/polyunsaturated fatty acids	0,73997	–0,43446	0,019511	1,7097

уровней ЖК в исследуемых группах. Применение Fold Change (30%-threshold) для уровней ЖК сыворотки крови подтвердило возможность точного различия метаболитов между группами.

Использование графика рассеяния для большого массива данных (вулканной диаграммы – Volcano plot) позволило выявить 13 параметров – отдельных ЖК мембран эритроцитов и их соотношений, и 9 – сыворотки крови, которые дают возможность точно различить больных KPP I–II стадий от здоровых лиц и могут рассматриваться как потенциальные биомаркеры (рис. 1). На рис. 2 представлены коробчатые диаграммы уровней отдельных ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с KPP I–II стадий (красный цвет) и у здоровых лиц (зеленый цвет), которые отвечают критериям биомаркеров.

Перечень 13 параметров, представляющих уровни отдельных ЖК мембран эритроцитов и их соотношения, которые отвечают требованиям для дифференцирующих биомаркеров (больные

KPP I–II стадий против здоровых лиц), представлены в табл. 3. Данные получены при применении Volcano plot.

При этом уровни эритроцитарных миристиновой, пентадекановой, 7-пальмитолеиновой, отношения насыщенные/полиненасыщенные ЖК (содержание которых достоверно ниже при KPP I–II стадий, чем в контроле) и уровни α -линоленовой, эйкозапентаеновой, докозапентаеновой, докозагексаеновой, суммы омега-3 ПНЖК, эйкозапентаеновой+докозапентаеновой (EPA + DHA), докодиеновой, дигомо- γ -линоленовой, докозатетраеновой ЖК (содержание которых достоверно выше при KPP, чем у здоровых) являются дифференцирующими при различии больных KPP I–II стадий от здоровых лиц. Коробчатые диаграммы для отдельных ЖК, претендующих на роль биомаркеров, представлены на рис. 3 (уровни ЖК показаны до и после нормализации).

Уровни 9 ЖК сыворотки крови, которые дифференцируют пациентов с KPP I–II стадий от здоровых лиц, представлены в табл. 4. В сыворотке крови уровень биомаркеров для различия больных KPP I–II стадий от здоровых лиц имели следующие ЖК: арахидоновая, миристиновая, докозагексаеновая, сумма омега-3 ПНЖК, отношение омега-6 к омега-3 ПНЖК, пентадекановая, докозапентаеновая и докодиеновая. Пример нормализации уровня арахидоновой кислоты сыворотки крови представлен на рис. 4.

Корреляции уровней жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с ранними стадиями KPP между собой представлены на рис. 5. Выявлено наличие кластеров ЖК с высокой и очень высокой силой положительной связи: суммарные содержания ненасыщенных, полиненасыщенных, омега-3, омега-6, EPA+DHA, C20:4 n-6, C22:5 n-3, C22:6 n-3 коррелировали между собой. Напротив, отношения насыщенные/ненасыщенные, насыщенные/полиненасыщенные, сумма насыщенных ЖК, C18:0, C20:0 отрицательно коррелировали с суммой мононенасыщенных ЖК.

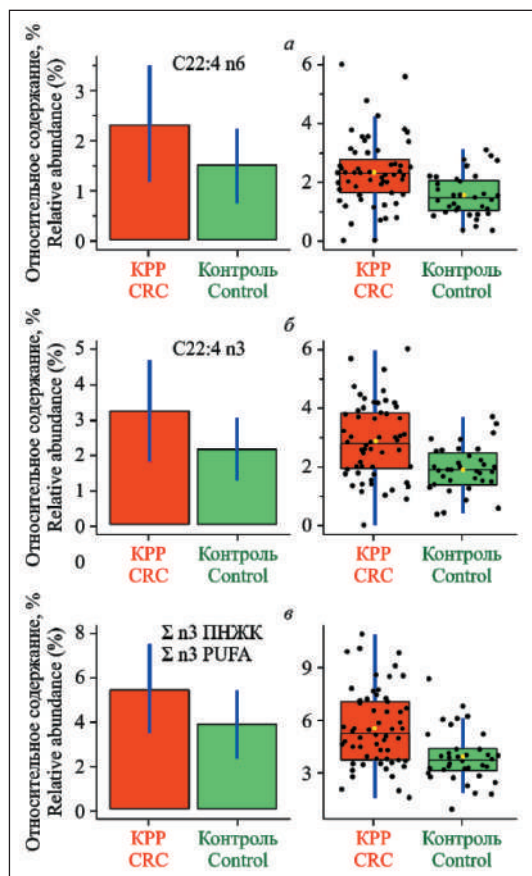


Рис. 3. Коробчатые диаграммы уровней докозатетраеновой (а), докозагексаеновой (б), суммы омега-3 ПНЖК (в) в мембранах эритроцитов у пациентов с I–II стадиями KPP (красные столбцы) и здоровых лиц (зеленые столбцы) (представлены начальные данные – рисунки слева и нормализованные – рисунки справа)

Fig. 3. Box diagrams of levels of docosahexaenoic (a), docosapentaenoic (b), total content of omega-3 PUFA (c) in erythrocyte membranes in patients with colorectal cancer I–II stage (red columns) and healthy individuals (green columns) (initial data – figures on the left and normalized – figures on the right)

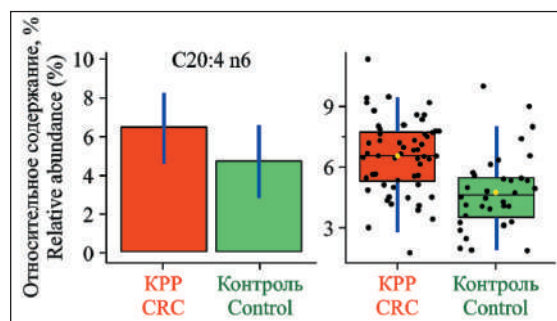


Рис. 4. Пример нормализации уровня арахидоновой кислоты сыворотки крови (слева – уровни до, справа – после нормализации значений)

Fig. 4. An example of normalization of serum arachidonic acid levels (on the left – the levels before, on the right – after the normalization of values)

Таблица 4/Table 4

Жирные кислоты сыворотки крови и их соотношения – потенциальные биомаркеры для различения больных KPP I–II стадий и здоровых лиц (данные получены при использовании Volcano plot)

Serum fatty acids and their ratios – potential biomarkers for distinguishing between colorectal cancer stage I–II and healthy individuals (data obtained using the Volcano plot)

Название жирных кислот/ Name of fatty acids	Кратность изменений/ Fold Change (FC)	log ₂ (FC)	Значения «p»/ «p» values (raw. p val)	–log ₁₀ (p)
C20:4;5,8,11,14 (n-6) Эйкозатетраеновая (Арахидоновая)/ Eicosatetraenoic (Arachidonic)	1,3652	0,44906	3,9083E-5	4,408
C14:0 Тетрадекановая (Миристиновая)/ Tetradecanoic (Myristic)	0,63296	–0,65982	1,6257E-4	3,789
C22:6;4,7,10,13,16,19 (n-3) Докозагексаеновая/Docosahexaenoic	1,592	0,670088	1,9712E-4	3,7053
Омега-3 ПНЖК/ Omega-3 PUFA	1,4809	0,56643	0,0015021	2,8233
Омега-6/омега-3 ПНЖК/ Omega-6/omega-3 PUFA	0,68248	–0,55113	0,001928	2,7149
Омега-3 ПНЖК (ЭПК+ДГК)/ Omega-3 PUFA (EPA + DHA)	1,4663	0,55223	0,0027073	2,5675
C15:0 Пентадекановая/Pentadecanoic	0,73958	–0,43522	0,0027106	2,5669
C22:5;7,10,13,16,19 (n-3) Докозапентаеновая/Docosapentaenoic	1,4851	0,57054	0,0028467	2,5457
C20:2;11,14 (n-6) Докодиеновая/Docodienic	1,4713	0,55707	0,02684	1,5712

Метод главных компонент (РСА-анализ) позволил выявить паттерны жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови для лиц группы сравнения и с KPP I–II стадий (рис. 6). Кроме перечня ЖК, которые являются общими для обеих групп, определяются ЖК, которые ассоциированы только с KPP или здоровыми лицами. Heatmap обеспечила визуализацию различий жирнокислотных профилей как мембран эритроцитов, так и сыворотки крови у пациентов обследованных групп (рис. 7).

Проведение ROC-анализа продемонстрировало перспективы использования даже отдельных ЖК как мембран эритроцитов, так и сыворотки крови из числа претендующих на роль биомаркеров для различения больных KPP I–II стадий и здоровых лиц (рис. 8). Характеристики ранжируются на основе площади под кривой ROC (AUC ROC), Т-теста или Log₂-кратного изменения (FC). Для ЖК мембран эритроцитов AUC составила: для докозагексаеновой – 0,735, докозатетраеновой – 0,725, суммы полиненасыщенных ЖК – 0,711, суммы докозагексаеновой и эйкозапентаеновой ЖК – 0,737. Для жирных кислот сыворотки крови уровни AUC оказались следующими: для арахидоновой – 0,758, для миристиновой – 0,713, для докозагексаеновой 0,724, суммы омега-3 ПНЖК – 0,712.

Использование панели ЖК, состоящей из вышепредставленных биомаркеров, обеспечило высокую диагностическую точность различения больных KPP I–II стадий от здоровых лиц. Модель,

включающая уровни жирных кислот C14:0, C15:0, C16:1;7, C18:3 n-3, C20:2 n-6, C20:3 n-6, C20:5 n-3, C22:4 n-6, C22:5 n-3, C22:6 n-3, сумма омега-3, омега-3 (EPA + DHA), отношение насыщенные/полиненасыщенные ЖК, обеспечила AUC 0,916 со специфичностью 0,90, чувствительностью 0,95 при дифференцировании пациентов с KPP I–II стадий от здоровых лиц.

Обсуждение

На 1-е место по значимости в различении больных KPP I–II стадий от здоровых выходят омега-3 ПНЖК, особенно докозагексаеновая (C22:6 n3), суммарное содержание эйкозапентаеновой (C20:5 n3) и докозагексаеновой (C22:6 n3), а также сумма всех омега-3 ПНЖК как в мембранах Эр, так и сыворотке крови. Их повышение преобладает над повышением омега-6 ПНЖК (C20:2 n6, C22:3 n6, C22:4 n6), особенно в сыворотке крови.

Только в сыворотке крови отмечено высокодоверное повышение уровня арахидоновой кислоты C20:4 n6 (p<0,00003) у пациентов с KPP по сравнению со здоровыми. Вносят вклад в различение больных I–II ст. KPP от здоровых насыщенные ЖК – миристиновая (C14:0), пентадекановая (C15:0), моновенасыщенная пальмитолеиновая (7-C16:1), но он существенно меньше, чем у ПНЖК.

Снижение насыщенных ЖК, возможно, происходит в результате их расхода в процессе аци-

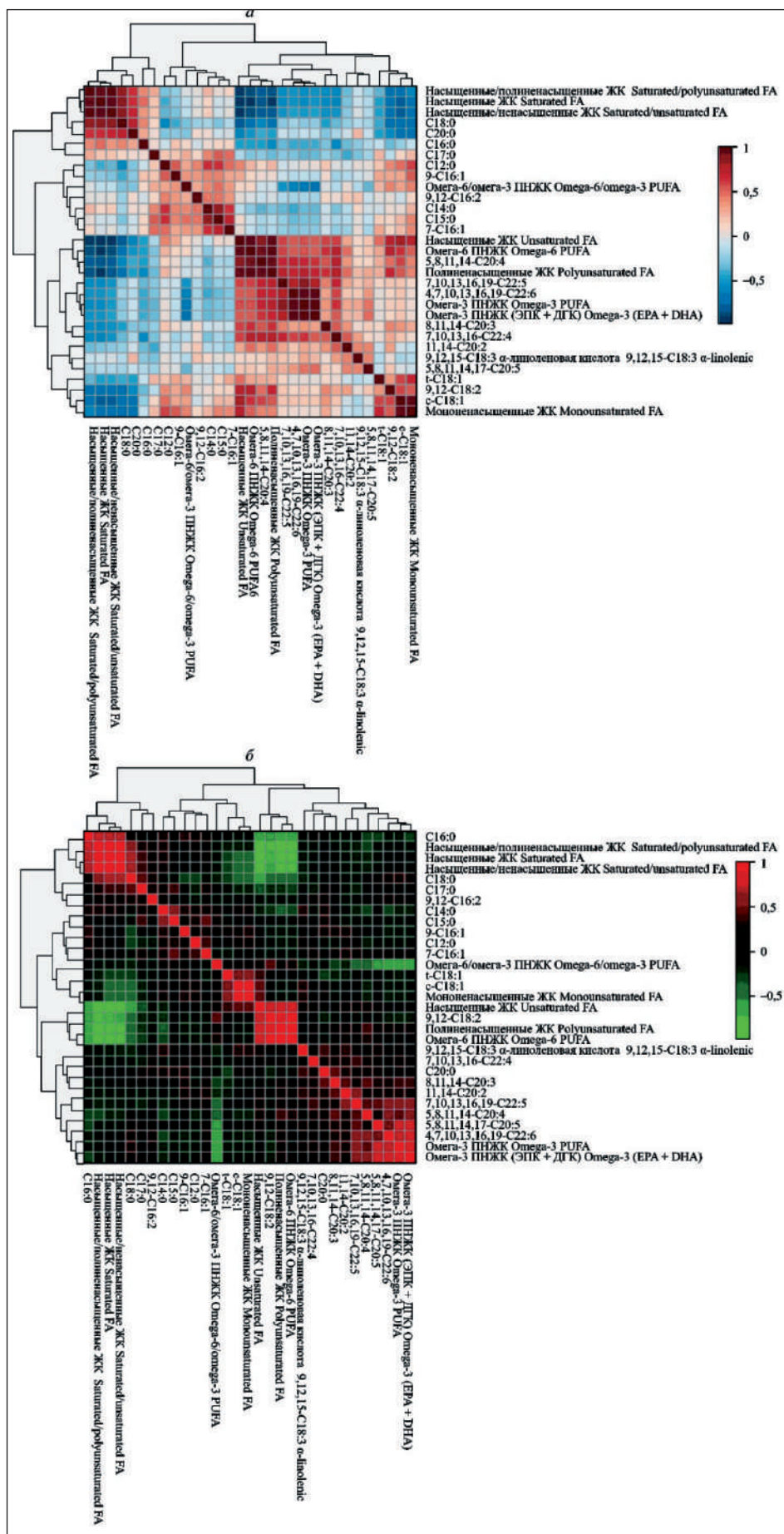


Рис. 5. Корреляции уровней жирных кислот мембран эритроцитов (а) и сыворотки крови (б) у больных КРР I–II стадий между собой. Цветами обозначен характер связи: для мембран эритроцитов – оттенки коричневого цвета – положительная корреляция; оттенки синего цвета – отрицательная корреляция. Для сыворотки крови – оттенки красно-коричневого цвета – положительная корреляция; оттенки зеленого цвета – отрицательная корреляция. Интенсивность цвета отражает силу связи между параметрами

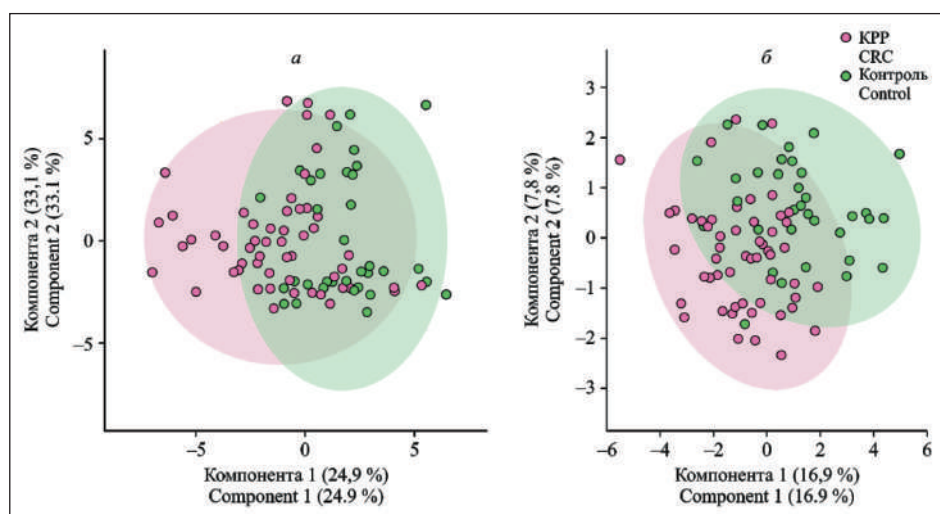


Рис. 6. Метод главных компонент (PCA) в различении жирных кислот мембран эритроцитов (а) и сыворотки крови (б) у больных КРР I–II стадий и здоровых лиц. Красные точки ассоциированы с ЖК у пациентов с I–II стадиями КРР; зеленые – у здоровых лиц

Fig. 6. Principal component analysis (PCA) in distinguishing between fatty acids of erythrocyte membranes (a) and blood serum (b) in patients with colorectal cancer I–II stage and healthy individuals. Red points are associated with FA for patients with stages 1–2 of colorectal cancer, green points are associated with healthy individuals

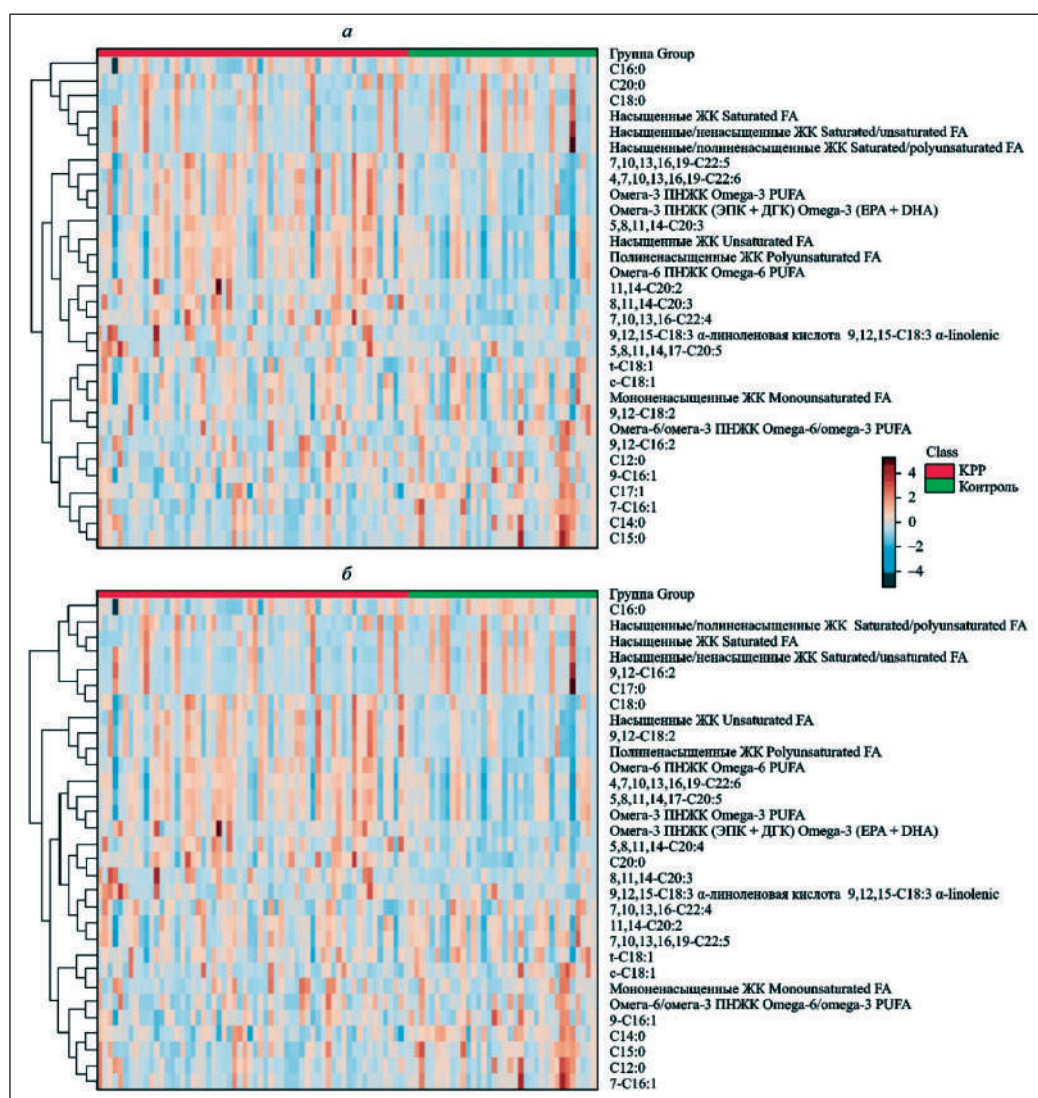


Рис. 7. Heatmap, обеспечивающая визуализацию жирнокислотных профилей мембран эритроцитов (а) и сыворотки крови (б) у больных КРР

I–II стадий (красная полоса сверху) и группы сравнения (зеленая полоса сверху). Цветовая гамма отражает степень представленности метаболита в данной группе (красно-коричневый диапазон – высокие уровни метаболита; сине-голубой – низкие уровни ЖК) Fig. 7. Heatmap, which provides visualization of fatty acid profiles of erythrocyte membranes (a) and blood serum (b) for patients with colorectal cancer I–II stage (red bar top) and healthy controls (green bar top). The color scale reflects the degree of representation of the metabolite in this group (red-brown range – high levels of metabolite; blue-blue – low levels of fatty acids)

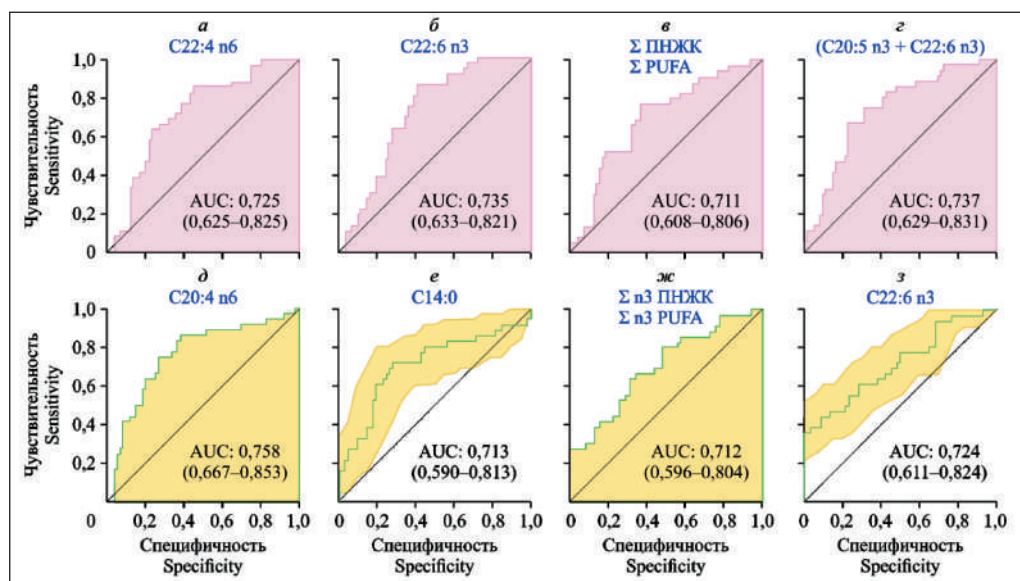


Рис. 8. ROC-анализ по использованию уровней отдельных ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови для дифференцирования больных КРР I–II стадий от здоровых лиц

Fig. 8. ROC analysis using the levels of individual fatty acids of erythrocyte membranes and blood serum to differentiate patients with colorectal cancer I–II stage from healthy individuals

лирования, посттрансляционной модификации секретируемых сигнальных белков Hedgehog (Hh), Wnt, что приводит к значительному возрастанию активности последних с последующим влиянием на пролиферацию, дифференциацию и миграцию клеток [17].

Расходование миристиновой кислоты происходит и для синтеза фермента N-миристоилтрансферазы, необходимого для работы антиоксиданта FSP1, который защищает раковые клетки от ферроптоза (гибели клеток в присутствии железа из-за разрушения липидов в составе мембраны), что обеспечивает устойчивость опухолевых клеток [18]. Очевидно, вносит вклад и повышенная активность фермента стеароил-КоА-десатуразы-1 (жирный ацил-Δ9-десатурирующий фермент), который превращает насыщенные жирные кислоты в мононенасыщенные жирные кислоты [19].

Вклад стеароил-КоА-десатуразы в распространение клеток рака зависит от МНЖК (в т. ч. наиболее распространенной олеиновой ЖК – C18:1 n-9), подавляющих передачу сигналов PTEN/Akt и регулирующих эпителиально-мезенхимальный переход. PTEN, классический ген-супрессор опухолей, является наиболее важным негативным регулятором сигнального пути PI3K/Akt [20]. Показано, что потеря функции PTEN способствует прогрессированию КРР. Снижение уровня МНЖК, по данным настоящего исследования, может быть обусловлено их избыточным расходом в связи с подавлением сигнальных путей PI3K/Akt [21].

L. Varó et al. было показано, что сниженные уровни линолевой кислоты в мембранах эритроцитов могут повышать активность ферментативной системы – десатуразы α-6-ЖК в печени, приводя

к значительному повышению уровня арахидоновой кислоты [22]. F. Veglia et al. установили, что полиморфноядерные миелоидные супрессорные клетки (PMN-MDSC), которые являются патологически активированными нейтрофилами и имеют решающее значение для регуляции иммунных реакций при раке, исключительно активируют транспортный белок жирных кислот 2 (FATP2). Основной механизм подавляющей активности, опосредованной FATP2, заключался в повышенном поглощении линолевой, арахидоновой кислот и синтезе простагландина E2 [23].

Показана активация синтеза ПНЖК, ассоциированная с канцерогенезом. R.M. Kortlever et al. выявили, что два онкогена KRAS и MYC, значимых для КРР, взаимодействуют, что приводит к немедленному переходу к развитию высокопролиферативных и инвазивных аденокарцином, которые характеризуются выраженной воспалительной, ангиогенной и иммуносупрессивной стромой [24]. MYC индуцирует белок транскрипционного стерол-регулируемого фактора (transcription factor sterol-regulated element-binding protein) SREBP1, и они взаимодействуют для активации синтеза жирных кислот из глюкозы и глутамина и регуляции удлинением цепи жирных кислот [25].

Ацил-КоА-связывающий белок (АСВР) высоко экспрессируется в опухолевых клетках, и, связываясь с ацил-КоА, он автономно поддерживает высокие скорости пролиферации, стимулирование роста опухоли, приводя к снижению выживаемости пациентов. АСВР поддерживает рост опухоли, контролируя доступ длинноцепочечных жирных ацил-КоА к митохондриям и способствуя их окислению, что обеспечивает высокие энергетические потребности опухолевых клеток [26].

Одним из факторов, ведущих к нарастанию уровня жирных кислот при развитии опухолевого процесса, следует считать повышение активности синтазы жирных кислот – фермента FASN при KPP, а также активацию гена LUR1, регулятора поглощения липидов 1, который активирует гены белков, непосредственно участвующих в поглощении липидов из внеклеточного пространства [27].

В ряде исследований показано изменение роли ПНЖК, в т. ч. омега-3, в канцерогенезе в зависимости от их концентрации. Известно, что омега-3 ПНЖК в мембране могут конкурировать с омега-6 ПНЖК в качестве субстратов ферментов циклооксигеназы и липоксигеназы, они могут уменьшить продукцию производных омега-6 – эйкозаноидов, таких как PGE2, LTB4, которая требуется для нормальной функции Т-клеток. Кроме того, при низкой концентрации омега-3 ПНЖК могут связываться с PPAR-γ для регулирования уровней IL-8, iNOS и MMP-1, что приводит к ингибированию пролиферации клеток, они также могут увеличить ROS с нарастанием апоптоза клеток. При высокой концентрации омега-3 ПНЖК могут встраиваться в мембранные фосфолипиды, изменяя текучесть липидного бислоя, в результате чего происходит ингибирование пролиферации Т-клеток. Высокие уровни n-3 ПНЖК могут подавлять иммунную среду посредством изменений в производстве цитокинов, пролиферации Т-клеток и опосредуемой Т-клеточной цитотоксичности. Кроме того, C22:6 n-3 также может исключительно подавлять регуляторную функцию Т-лимфоцитов [28].

Другие авторы обнаружили, что высокая активность воспаления и канцерогенез, вызванные диетическим C22: 6 n-3, были связаны с измененными популяциями Т-клеток CD8 +, активацией CD69 +, экспрессией FoxP3 и активностью клеток FoxP3 + CD25 + CD4 + Treg, экспрессирующих L-селектин. Эти данные свидетельствуют о том, что высокие дозы потребления ДНА могут способствовать ослаблению иммунной функции [29].

Высокие уровни омега-3 ПНЖК нарушают липидные «плоты» с последующим изменением структуры белковой композиции, локализованной в липидном слое внутренней части мембраны, и ингибируют реакции Т-киллеров. Кроме того, активные формы кислорода, ROS, повышенная продукция которых приводит к оксидативному стрессу, могут вызвать окисление ДНК, что приводит к повреждению всех четырех оснований и молекулы дезоксирибозы, провоцируя возникновение генетических мутаций и инициирование канцерогенеза колоректального рака [30].

Вероятно, омега-3 ПНЖК обладают протективным эффектом в отношении развития предопухолы, что продемонстрировано в 6 исследованиях по использованию омега-3 ПНЖК у пациентов со спорадическими колоректальными аденомами. Результаты этих исследований показали снижение

индекса пролиферации эпителиальных клеток слизистой оболочки на 13–70 % по сравнению с группой плацебо [31]. Канцерогенез, по-видимому, обуславливает изменение роли ПНЖК, которые уже на ранних стадиях обеспечивают промоцию опухолевого процесса.

Данные нашей работы позволяют сделать выводы о наличии значимых различий между здоровыми донорами и пациентами с KPP I–II стадий, а также выявить жирные кислоты, отвечающие требованиям для дифференцирующих биомаркеров. Ограничениями настоящего этапа исследований являются небольшая численность обследованных, отсутствие групп сравнения – пациентов с доброкачественными заболеваниями – аденомами и полипами толстой кишки, проспективного наблюдения, внутренней и внешней валидации. Тем не менее изучение уровней и соотношений жирных кислот в мембранах эритроцитов и сыворотке крови следует считать перспективным направлением в поиске биомаркеров для ранней диагностики KPP.

Заключение

Таким образом, у пациентов с KPP I–II стадий выявлено снижение насыщенных, отдельных мононасыщенных и высокодостоверное повышение большей части полиненасыщенных ЖК с преобладанием омега-3. Для большей части уровней жирных кислот достоверные различия в группах касались мембран эритроцитов с той же тенденцией в сыворотке крови.

Уровни эритроцитарных миристиновой, пентадекановой, 7-пальмитолеиновой, отношения насыщенные/полиненасыщенные ЖК (содержание которых достоверно ниже при KPP I–II стадий, чем в контроле) и уровни α-линоленовой, эйкозапентаеновой, докозапентаеновой, докозагексаеновой, суммы омега-3 ЖК, EPA + DHA, докодиеновой, дигомо-γ-линоленовой, докозатетраеновой ЖК (содержание которых достоверно выше при KPP, чем у здоровых) являются дифференцирующими при различении больных KPP I–II стадий от здоровых лиц.

В сыворотке крови уровень биомаркеров имели следующие ЖК: арахидоновая, миристиновая, докозагексаеновая, сумма омега-3 ПНЖК, отношение омега-6/омега-3 ПНЖК, пентадекановая, докозапентаеновая и докодиеновая. Модель, включающая перечень жирных кислот C14:0, C15:0, C16:1;7, C18:3 n-3, C20:2 n-6, C20:3 n-6, C20:5 n-3, C22:4 n-6, C22:5 n-3, C22:6 n-3, сумма омега-3, омега-3 (EPA+DHA), отношение насыщенные/полиненасыщенные ЖК, обеспечила AUC 0,916 со специфичностью 0,90, чувствительностью 0,95 при различении пациентов с KPP I–II стадий от здоровых лиц. Полученные данные свидетельствуют о перспективности исследования изучаемых показателей как возможных маркеров для ранней диагностики KPP.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015; 136(5): 359–86. doi: 10.1002/ijc.29210.
2. Garborg K., Holme O., Loberg M., Kalager M., Adami H.O., Bretthauer M. Current status of screening for colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2013; 24(8): 1963–72. doi: 10.1093/annonc/mdt157.
3. Brenner H., Arndt V., Stürmer T. Cost-effectiveness of colonoscopy in screening for colorectal cancer. *Arch Intern Med*. 2002; 162(19): 2249. doi: 10.1001/archinte.162.19.2249.
4. Pignone M., Rich M., Teutsch S.M., Berg A.O., Lohr A.N. Screening for colorectal cancer in adults at average risk: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2002; 137(2): 132–41. doi: 10.7326/0003-4819-137-2-200207160-00015.
5. Bian X., Qian Y., Tan B., Li K., Hong X., Wong C.C., Fu L., Zhang D., Li D., Wu J.-L. In-depth mapping carboxylic acid metabolome reveals the potential biomarkers in colorectal cancer through characteristic fragment ions and metabolic flux. *Anal Chim Acta*. 2020; 1128: 62–71. doi: 10.1016/j.aca.2020.06.064.
6. Monedeiro F., Monedeiro-Milanowski M., Ligor T., Buszewski B. A Review of GC-Based Analysis of Non-Invasive Biomarkers of Colorectal Cancer and Related Pathways. *J Clin Med*. 2020; 9: 3191–224. doi: 10.3390/jcm9103191.
7. Sun L., Kang Q., Pan Y., Li N., Wang X., He Y., Wang H., Yu D., Xie H., Yang L., Lu Y., Jin P., Sheng J. Serum metabolite profiling of familial adenomatous polyposis using ultra performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Cancer Biol Ther*. 2019; 20(7): 1–12. doi: 10.1080/15384047.2019.1595277.
8. Arab L., Akbar J. Biomarkers and the measurement of fatty acids. *Public Health Nutr*. 2002; 5: 865–71. doi: 10.1079/phn2002391.
9. Zeleniuch-Jacquotte A., Chajes V., Van Kappel A.L., Riboli E., Toniolo P. Reliability of fatty acid composition in human serum phospholipids. *Eur J Clin Nutr*. 2000; 54: 367–72. doi: 10.1038/sj.ejcn.1600964.
10. Katan M.B., van Birgelen A., Deslypere J.P., Penders M., van Staveren W.A. Biological markers of dietary intake, with emphasis on fatty acids. *Ann Nutr Metab*. 1991; 35: 249–52. doi: 10.1159/000177653.
11. Mika A., Kobiela J., Czumaj A., Chmielewski M., Stepnowski P., Sledzinski T. Hyper-Elongation in Colorectal Cancer Tissue – Cerotic Acid is a Potential Novel Serum Metabolic Marker of Colorectal Malignancies. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 41(2): 722–30. doi: 10.1159/000458431.
12. Rifkin S.B., Shrubsole M.J., Cai Q., Smalley W.E., Ness R.M., Swift L.L., Zheng W., Murff H.J. PUFA levels in erythrocyte membrane phospholipids are differentially associated with colorectal adenoma risk. *Br J Nutr*. 2017; 117(11): 1615–22. doi: 10.1017/S0007114517001490.
13. Crotti S., Agnoletto E., Cancemi G., Di Marco V., Traldi P., Pucciarelli S., Nitti D., Agostini M. Altered plasma levels of decanoic acid in colorectal cancer as a new diagnostic biomarker. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2016; 408(23): 6321–8. doi: 10.1007/s00216-016-9743-1.
14. Kang J.X., Wang J. A simplified method for analysis of polyunsaturated fatty acids. *BMC Biochem*. 2005; 6: 5–13. doi: 10.1186/1471-2091-6-5.
15. Shashkov M.V., Sidelnikov V.N. Properties of columns with several pyridinium and imidazolium ionic liquid stationary phases. *J Chromatogr A*. 2013; 1309: 56–63. doi: 10.1016/j.chroma.2013.08.030.
16. Breiman L. Random Forests. *Machine Learning*. 2001; 45: 5–32. <https://doi.org/10.1023/A:1010933404324>.
17. Gradilla A.-C., Sanchez-Hernandez D., Brunt S., Scholpp L. From top to bottom: Cell polarity in Hedgehog and Wnt trafficking. *BMC Biology*. 2018; 16: 37–46. doi: 10.1186/s12915-018-0511-x.
18. Doll S., Freitas F.P., Shah R., Aldrovandi M., da Silva M.C., Ingold I., Goya Grocin A., Xavier da Silva T.N., Panzilius E., Scheel C.H., Mourao A., Buday K., Sato M., Wanning J., Vignane T., Mohana V., Rehberg M., Flatley A., Schepers A., Kurz A., White D., Sauer M., Sattler M., Tate E.W., Schmitz W., Schulze A., O'Donnell V., Proneth B., Popowicz G.M., Pratt D.A., Angeli J.P.F., Conrad M. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature*. 2019; 575(7784): 693–8. doi: 10.1038/s41586-019-1707-0.
19. Igal R.A. Stearoyl-CoA desaturase-1: a novel key player in the mechanisms of cell proliferation, programmed cell death and transformation to cancer. *Carcinogenesis*. 2010; 31: 1509–15. doi: 10.1093/carcin/bqg131.
20. Danielsen S.A., Eide P.W., Nesbakken A., Guren T., Leithe E., Lothe R.A. Portrait of the PI3K/AKT pathway in colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1855: 104–21. doi: 10.1016/j.bbcan.2014.09.008.
21. Zhou X.P., Loukola A., Salovaara R., Nystrom-Lahti M., Peltomaki P., de laChapelle A., Aaltonen L.A., Eng C. PTEN mutational spectra, expression levels, and subcellular localization in microsatellite stable and unstable colorectal cancers. *Am J Pathol*. 2002; 161: 439–47. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64200-9.
22. Baro L., Hermoso J.C., Nunez M.C., Jimenez-Rios J.A., Gil A. Abnormalities in plasma and red blood cell fatty acid profiles of patients with colorectal cancer. *Br J Cancer*. 1998; 77: 1978–83. doi: 10.1038/bjc.1998.328.
23. Veglia F., Tyurin V.A., Blasi M., De Leo A., Kossenkova A.V., Donthireddy L., To T.K.J., Schug Z., Basu S., Wang F., Ricciotti E., Di Russo C., Murphy M.E., Vonderheide R.H., Lieberman P.M., Mulligan C., Nam B., Hockstein N., Masters G., Guarino M., Lin C., Nefedova Y., Black P., Kagan V.E., Gabrilovich D.I. Fatty acid transport protein 2 reprograms neutrophils in cancer. *Nature*. 2019; 569(7754): 73–8. doi: 10.1038/s41586-019-1118-2.
24. Kortlever R.M., Sodin N.M., Wilson C.H., Burkhart D.L., Pellegrinet L., Swigart L.B., Littlewood T.D., Evan G.I. Myc Cooperates with Ras by Programming Inflammation and Immune Suppression. *Cell*. 2017; 171: 1301–15. doi: 10.1016/j.cell.2017.11.013.
25. Singh K.B., Hahn E.R., Kim S.H., Wendell S.G., Singh S.V. A novel metabolic function of Myc in regulation of fatty acid synthesis in prostate cancer. *Oncogene*. 2021; 40(3): 592–602. doi: 10.1038/s41388-020-01553-z.
26. Duman C., Yaqubi K., Hoffmann A., Acikgoz A.A., Korshunov A., Bendszus M., Herold-Mende C., Liu H.K., Alfonso J. Acyl-CoA-Binding Protein Drives Glioblastoma Tumorigenesis by Sustaining Fatty Acid Oxidation. *Cell Metabolism*. 2019; 30(2): 274–89. doi: 10.1016/j.cmet.2019.04.004.
27. Aregger M., Lawson K.A., Billmann M., Costanzo M., Tong A.H.Y., Chan K., Rahman M., Brown K.R., Ross C., Usaj M., Nedyalkova L., Sizova O., Habsid A., Pawling J., Lin Z.-Y., Abdouni H., Wong C.J., Weiss A., Mero P., Dennis J.W., Gingras A.C., Myers C.L., Andrews B.J., Boone C., Moffat J. Systematic mapping of genetic interactions for de novo fatty acid synthesis identifies C12orf49 as a regulator of lipid metabolism. *Nature Metabolism*. 2020; 2: 499–513. doi: 10.1038/s42255-020-0211-z.
28. Yessoufou A., Ple A., Moutairou K., Hichami A., Khan N.A. Docosahexaenoic acid reduces suppressive and migratory functions of CD4+ CD25+ regulatory T-cells. *J Lipid Res*. 2009; 50: 2377–88. doi: 10.1194/jlr.M900101-JLR200.
29. Woodworth H.L., McCaskey S.J., Durancic D.M., Clinthorne J.F., Langohr I.M., Gardner E.M., Fenton J.I. Dietary fish oil alters T lymphocyte cell populations and exacerbates disease in a mouse model of inflammatory colitis. *Cancer Res*. 2010; 70(20): 7960–9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1396.
30. Ohmori H., Fujii K., Kadachi Y., Mori S., Nishiguchi Y., Fujiwara R., Kishi S., Sasaki T., Kuniyasu H. Elaidic Acid, a Trans-Fatty Acid, Enhances the Metastasis of Colorectal Cancer Cells. *Pathobiology*. 2017; 84(3): 144–51. doi: 10.1159/000449205.
31. Cockbain A.J., Toogood G.J., Hull M.A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment and prevention of colorectal cancer. *Gut*. 2012; 61: 135–49. doi: 10.1136/gut.2010.233718.

Поступила/Received 21.06.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 06.10.2021

Принята к публикации/Accepted 27.10.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кручинина Маргарита Витальевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией гастроэнтерологии, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). E-mail: kruchmargo@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-0077-3823.

Кручинин Владимир Николаевич, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). Researcher ID: AAC-3686-2019. ORCID: 0000-0002-9905-9031.

Громов Андрей Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-9254-4192

Шашков Михаил Вадимович, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-9022-1525

Соколова Анастасия Сергеевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-5227-9996.

Яковина Ирина Николаевна, кандидат технических наук, руководитель СКБ РИИ, доцент кафедры вычислительной техники, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный технический университет» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0002-3265-8865.

Шестов Александр Александрович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Медицинский факультет Перельмана, Университет Пенсильвании (г. Филадельфия, США).

ВКЛАД АВТОРОВ

Кручинина Маргарита Витальевна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление рукописи, ее критический пересмотр, коррекция фрагментов статьи.

Кручинин Владимир Николаевич: анализ научной работы, подготовка иллюстративного материала, проработка аспектов обсуждения.

Громов Андрей Александрович: разработка дизайна исследования, критический анализ материалов статьи, составление черновика рукописи.

Шашков Михаил Вадимович: измерение уровней жирных кислот, обработка и интерпретация полученных результатов, составление черновика рукописи.

Соколова Анастасия Сергеевна: подготовка биологических образцов, интерпретация полученных результатов, критический анализ материалов статьи, составление черновика рукописи.

Яковина Ирина Николаевна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Шестов Александр Александрович: статистическая обработка, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Работа выполнена в рамках темы государственного задания «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению», Рег. № 122031700094-5.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Margarita V. Kruchinina, MD, DSc, Head of the Laboratory of Gastroenterology, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the RAS; Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk, Russia). E-mail: kruchmargo@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-0077-3823.

Vladimir N. Kruchinin, PhD, Senior Researcher, Rzhzanov Institute of Semiconductor Physics, Siberian Branch of the RAS (Novosibirsk, Russia). Researcher ID: AAC-3686-2019. ORCID: 0000-0002-9905-9031.

Andrey A. Gromov, MD, PhD, Senior Researcher, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the RAS (Novosibirsk, Russian). ORCID: 0000-0001-9254-4192.

Mikhail V. Shashkov, PhD, Senior Researcher, Boreskov Institute of Catalysis, Siberian Branch of the RAS (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-9022-1525.

Anastasiya S. Sokolova, PhD, Senior Researcher, N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the RAS (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-5227-9996.

Irina N. Yakovina, PhD, Head of SKB RII, Associate Professor of Department of Computing Engineering, Novosibirsk State Technical University (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-3265-8865.

Aleksander A. Shestov, PhD, Senior Researcher, Perelman School of Medicine, Perelman Center for Advanced Medicine, University of Pennsylvania (Philadelphia, USA).

AUTHOR CONTRIBUTION

Margarita V. Kruchinina: study conception and design, statistical data analysis, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, editing of the manuscript.

Vladimir N. Kruchinin: analysis of scientific work, preparation of illustrative material, study of aspects of the discussion.

Andrey A. Gromov: research design development, critical revision of the manuscript for important intellectual content, drafting of the manuscript.

Mikhail V. Shashkov: measurement of fatty acid levels, data interpretation and analysis, drafting the manuscript.

Anastasiya S. Sokolova: preparation of biological samples, data interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content, drafting of the manuscript.

Irina N. Yakovina: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Aleksander A. Shestov: statistical processing, data analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Funding

The study was carried out within the framework of the project “Epidemiological monitoring of the state of public health and the study of molecular genetic and molecular biological mechanisms for the development of common diseases in Siberia to improve approaches to their diagnosis, prevention and treatment”, No. 122031700094-5.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-81-87

УДК: 616.33-006.6-089

Для цитирования: Павлов Р.В., Тимофеева К.О., Черных М.А., Данилин В.Н. Безопасность и преимущества раннего перорального питания в рамках программы fast-track среди пациентов, перенесших гастрэктомию по поводу рака желудка. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 81–87. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-81-87

For citation: Pavlov R.V., Timofeeva K.O., Chernykh M.A., Danilin V.N. Safety and benefits of early oral nutrition as part of the fast-track program among patients who have undergone gastrectomy for stomach cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 81–87. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-81-87

БЕЗОПАСНОСТЬ И ПРЕИМУЩЕСТВА РАННЕГО ПЕРОРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ В РАМКАХ ПРОГРАММЫ FAST-TRACK СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ГАСТРЭКТОМИЮ ПО ПОВОДУ РАКА ЖЕЛУДКА

Р.В. Павлов, К.О. Тимофеева, М.А. Черных, В.Н. Данилин

Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова
Санкт-Петербургского государственного университета, г. Санкт-Петербург, Россия
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9

Аннотация

На протяжении последнего десятилетия рак желудка продолжает оставаться одним из самых распространенных заболеваний в мире. В настоящее время методы консервативного и хирургического лечения данного заболевания достаточно стандартизированы. Однако тактика послеоперационного ведения больных, в том числе сроков начала перорального питания после оперативного вмешательства, до сих пор дискуссионна. К тому же современные методы лечения основываются на применении протоколов ускоренного восстановления после операции, вопрос безопасности которых остается спорным и требует обсуждения. **Целью исследования** явилась оценка безопасности и преимуществ раннего энтерального питания пациентов, перенесших гастрэктомию. **Материал и методы.** Представлен собственный опыт нутритивной поддержки больных после гастрэктомии. В исследование вошли 82 пациента с местнораспространенным раком желудка, получившие оперативное лечение в Клинике высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова в период с 2016 по 2019 г. **Результаты.** Доказан положительный эффект от применения раннего перорального питания в виде снижения времени до отхождения первых газов ($2,8 \pm 1,0$ сут vs $3,9 \pm 1,2$ сут; $p=0,001$), сокращения послеоперационного пребывания пациентов в стационаре ($5,4 \pm 1,5$ сут vs $9,5 \pm 2,3$ сут; $p=0,001$), а также более динамичного восстановления лабораторных показателей. **Заключение.** Раннее пероральное питание позволяет сократить продолжительность пребывания пациентов в стационаре и как следствие снизить расходы на лечение, не увеличивая при этом частоту возникновения осложнений, что указывает на его безопасность и целесообразность включения в клинические рекомендации.

Ключевые слова: рак желудка, гастрэктомию, послеоперационная нутритивная поддержка, раннее пероральное питание, энтеральное питание, ускоренная реабилитация.

SAFETY AND BENEFITS OF EARLY ORAL NUTRITION AS PART OF THE FAST-TRACK PROGRAM AMONG PATIENTS WHO HAVE UNDERGONE GASTRECTOMY FOR STOMACH CANCER

R.V. Pavlov, K.O. Timofeeva, M.A. Chernykh, V.N. Danilin

N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies of Saint-Petersburg State University,
Saint-Petersburg, Russia
7/9, Universitetskaya Emb., 199034, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Over the past decade, stomach cancer continues to be one of the most common diseases in the world. Currently, the methods of conservative and surgical treatment of this disease are fairly standardized. However, the issue of postoperative management of patients, including the timing of the start of oral nutrition after surgery still remains debatable. In addition, modern methods of treatment are based on the use of protocols for enhanced recovery after surgery, the safety of which remains controversial and requires discussion. **Study object** was to explore the safety and benefits of early oral nutrition among patients who have undergone gastrectomy for stomach cancer. **Material and Methods.** The authors present their own experience of nutritional support for patients who underwent gastrectomy. The study included 82 patients with locally advanced stomach cancer who received surgical treatment at the N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies in the period from 2016 to 2019. **Results.** The safety and positive effect of the use of early oral feeding was proved. It was associated with shorter first exhaust time (2.8 ± 1.0 days vs 3.9 ± 1.2 days, $p=0.001$), shorter postoperative length of stay in the hospital (5.4 ± 1.5 days vs 9.5 ± 2.3 days; $p=0.001$), as well as a more dynamic recovery of laboratory parameters. **Conclusion.** Early per oral nutrition after gastrectomy can reduce the length of hospital stay without increasing the incidence of concomitant complications, which indicates its safety, expediency and potential benefit for patients with gastric cancer.

Key words: gastric cancer, gastrectomy, nutritional support, early oral nutrition, enteral nutrition, fast-track surgery, perioperative care.

Введение

Рак желудка является одной из самых распространенных и агрессивных опухолей среди злокачественных новообразований, что представляет собой глобальную проблему для системы здравоохранения. Современная статистика показывает, что медиана выживаемости на поздних стадиях не превышает 12 мес [1]. В 2020 г. было выявлено более 1 млн новых случаев заболевания и, по некоторым оценкам, около 769 тыс. смертей, что делает его 5-м по частоте диагностируемым раком и 4-й ведущей причиной смерти от онкологических заболеваний в мире [2].

Оперативное вмешательство является основным компонентом комплексного лечения местнораспространенного рака желудка. Технологии радикальных операций достаточно четко стандартизированы в последнее время. Внедрение минимально инвазивной хирургии привело к более быстрой реабилитации, сокращению продолжительности пребывания в стационаре и более раннему началу адъювантной химиотерапии [3, 4]. Однако вопрос послеоперационного ведения пациентов, в особенности сроков и способов постепенного восстановления питания, остается дискуссионным. Пациенты, не получающие должной нутритивной поддержки после операции, подвергаются гораздо большему риску нежелательных явлений, что сопровождается высокой частотой послеоперационных осложнений и низкими показателями выживаемости [5].

При стандартном ведении пациентов после операций на желудочно-кишечном тракте практикуется голодание до появления перистальтики кишечника для профилактики несостоятельности швов анастомоза. Однако в обзоре И.Н. Пасечника и соавт. отмечено, что раннее энтеральное введение питательных веществ способствует сохранению и восстановлению целостности слизистой оболочки

кишечника. При отсутствии энтерального поступления пищи происходят изменения в слизистой оболочке и развивается атрофия лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником [6]. Ряд исследований указывает на безусловные преимущества раннего начала перорального питания, в т. ч. более быстрое восстановление функций ЖКТ и перистальтики после операции [7–9]. Аналогичные рекомендации представлены в руководстве Европейского общества парентерального и энтерального питания (ESPEN) [10].

Кроме того, раннее пероральное питание было включено в протокол программы ускоренного восстановления после операции – ERAS (Enhanced Recovery After Surgery) или FAST-TRACK. Протоколы ERAS начали широко распространяться в мире с 1990-х гг. Целью внедрения их являлось уменьшение частоты хирургических осложнений, сокращение длительности госпитализации и уменьшение затраченных на лечение пациента ресурсов. Впервые термин «ERAS» был использован на ежегодном съезде ESPEN в 2002 г., позже, в 2009 г., выпущены первые руководства по ERAS для пациентов после колоректальных операций [11]. В 2012 г. ERAS Study Group выпустила рекомендации для ведения пациентов после операций на панкреатодуоденальной зоне, в 2014 г. – после гастрэктомии [12, 13]. Сегодня программа Fast Track делает акцент на минимизацию медицинских манипуляций и снижение травматического стресса в отношении организма, а каждый ERAS-протокол включает мультидисциплинарный подход к диагностике и лечению, адекватное обезболивание, отказ от механической подготовки кишечника перед операцией, свободное потребление пациентом жидкостей, отказ от рутинного применения назогастральных зондов, дренирования брюшной полости и раннее энтеральное питание.

Цель исследования – оценка безопасности и преимуществ раннего энтерального питания пациентов, перенесших оперативное лечение в объеме гастрэктомии.

Материал и методы

Исследование проводилось на базе Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова. Проведен анализ результатов лечения 82 пациентов в возрасте от 26 до 65 лет с гистологически подтвержденным диагнозом рака желудка (РЖ), оперированных в период с 2016 по 2019 г. В исследование включались больные РЖ T1–4aN0–3M0 стадии с функциональным статусом по шкале ECOG 0–1. Во всех случаях диагноз установлен на основании патоморфологического исследования биопсийного материала, полученного во время фиброгастроуденоскопии. До лечения проводилось обследование, включающее в себя КТ органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза с внутривенным контрастным усилением; при необходимости также использовалось эндосонографическое исследование желудка. Стадирование проводилось в соответствии с Международной классификацией злокачественных опухолей по системе TNM Американской объединенной комиссии по раку (AJCC) и Международного противоракового союза (UICC) в 7-й редакции (2009). Все пациенты получили оперативное лечение в объеме тотальной гастрэктомии с лимфаденэктомией D2, выбор хирургического доступа (открытый или лапароскопический) определялся оперирующим хирургом. Антибиотикопрофилактика и профилактика венозных тромбэмболических осложнений у пациентов обеих групп проводились аналогичным образом. Основным оцениваемым параметром была частота возникновения осложнений в послеоперационном периоде. Дополнительно проводился сравнительный анализ количества койко-дней после операции, длительности пареза кишечника, данные лабораторных показателей: СРБ, прокальцитонин, амилаза плазмы, амилаза дренажной жидкости (на 1, 3 и 5-й дни после операции), а также показатели ранней мобилизации пациентов и возможность употреблять пищу и жидкости.

Статистический анализ данных выполнялся с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и программы Statistica (версия 7.0). Данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – среднеквадратичное отклонение. Проверка показателей на нормальность закона распределения проводилась с использованием критерия Шапиро–Уилка и с учетом правила распределения Гаусса. Для сравнения полученных количественных показателей в группах, при условии нормального закона распределения, использовали параметрический критерий Стьюдента. Во всех остальных случаях – непараметрический

U-критерий Манна–Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Проведено ретроспективное исследование на базе Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета. Все пациенты были разделены на 2 группы (табл. 1):

– исследуемую группу составили 37 пациентов, у которых в послеоперационном периоде использовались протоколы FTS, в т. ч. с применением раннего перорального питания, из них мужчин – 24 (64,9 %), женщин – 13 (35,1 %); средний возраст – $50 \pm 7,7$ года (27–63); распределение РЖ по стадиям: I стадия – 2 (5,4 %), II стадия – 20 (54,1 %), III стадия – 15 (40,5 %) пациентов;

– контрольную группу составили 45 пациентов после гастрэктомии, у которых применялись стандартные методы послеоперационного ведения, из них мужчин – 27 (60,0 %), женщин – 18 (40,0 %); средний возраст – $52 \pm 8,3$ года (26–65); распределение РЖ по стадиям: I стадия – 3 (6,7 %), II стадия – 24 (53,3 %), III стадия – 18 (40,0 %) пациентов.

Пациентам контрольной группы было рекомендовано воздержание от употребления жидкости и пищи в течение суток после операции, в то время как первое употребление жидкости пациентами исследуемой группы производилось через 2–4 ч после операции, а через 24 ч они начинали употреблять питательные смеси (пептисорб Nutrison® / Nutridrink® 250 мл + 250 мл воды). Вместе с питательными смесями пациенты принимали капсулы Креон® (75 000 ЕД) и Эспумизан® (по 9 таблеток в сут). Назначение Креона® было обусловлено тем, что данные ферменты облегчают переваривание углеводов, жиров и белков, что способствует их более полному всасыванию в тонкой кишке. Эспумизан®, в свою очередь, снижал симптомы вздутия, которые проявлялись после употребления питательной смеси. Кроме этого, пациентам исследуемой группы было рекомендовано жевание жевательной резинки без сахара 3 раза в сутки для стимуляции работы желудочно-кишечного тракта. Пациенты контрольной группы данные препараты не получали. Вместо этого им в качестве парентерального питания назначали питательную эмульсию Кабивен®. Данный препарат был ассоциирован с высокой частотой жалоб на боли в животе, головные боли, учащение дыхания, повышение температуры тела. В 5 (11,1 %) случаях наблюдались нарушения водно-электролитного баланса и повышение активности ферментов печени на фоне его введения. Вышеперечисленные симптомы отсутствовали у пациентов исследуемой группы.

При сравнении групп отмечалась статистически значимая тенденция к уменьшению времени до

Таблица 1/Table 1

Характеристика исследуемой и контрольной групп
Characteristics of the study and control groups

Характеристика/ Characteristics	Исследуемая группа/ Study group (n=37)	Контрольная группа/ Control group (n=45)
Мужской пол/Male	24 (64,9 %)	27 (60,0 %)
Женский пол/Female	13 (35,1 %)	18 (40,0 %)
Средний возраст, лет/Average age, years	50 ± 7,7	52 ± 8,3
Стадия опухолевого процесса (TNM 7-th ed., 2019)/ Stage (TNM 7-th ed., 2019)		
I стадия /Stage I	2 (5,4 %)	3 (6,7 %)
II стадия /Stage II	20 (54,1 %)	24 (53,3 %)
III стадия /Stage III	15 (40,5 %)	18 (40,0 %)

Таблица 2/Table 2

Сравнение тактики ведения и результатов лечения у пациентов двух групп
Comparison of patient-management strategies and treatment outcomes between the groups

Показатели/Parameters	Исследуемая группа/ Study group	Контрольная группа/ Control group	p
Длительность пареза кишечника, сут/ First exhaust time, days	2,8 ± 1,0	3,9 ± 1,2	p=0,001
Послеоперационное пребывание в стационаре, сут/ Postoperative hospital stay, days	5,4 ± 1,5	9,5 ± 2,3	p=0,001
Повторная госпитализация в течение 30 дней после выписки/ Re-hospitalization within 30 days after discharge	2 (5,4 %)	4 (8,8 %)	p=0,05

Таблица 3/Table 3

Лабораторные показатели пациентов двух групп
Laboratory parameters of patients of two groups

Показатель/Parameter	Исследуемая группа/ Study group	Контрольная группа/ Control group	p
Прокальцитонин, нг/мл/Procalcitonin ng/ml			
До операции/Before operation	0,04 ± 0,013	0,03 ± 0,01	p=0,05
1-й день после операции/The 1-st postoperative day	0,46 ± 0,05	0,55 ± 0,1	p=0,05
3-й день после операции/The 3-d postoperative day	0,08 ± 0,02	0,22 ± 0,011	p<0,05
5-й день после операции/The 5-th postoperative day	0,05 ± 0,016	0,09 ± 0,02	p<0,05
СРБ, мг/л/CRP, mg/l			
До операции/Before operation	3,80 ± 0,10	2,6 ± 0,88	p>0,05
1-й день после операции/The 1-st postoperative day	41,11 ± 10,51	69,4 ± 11,82	p=0,05
3-й день после операции/The 3-d postoperative day	60,05 ± 12,32	59,3 ± 9,22	p<0,05
5-й день после операции/The 5-th postoperative day	35,63 ± 11,23	22,6 ± 10,1	p=0,05
Амилаза плазмы, Ед/л/Serum amylase, U/l			
До операции/Before operation	48 ± 15	49 ± 11	p>0,05
1-й день после операции/The 1-st postoperative day	105 ± 21	116 ± 3	p=0,05
3-й день после операции/The 3-d postoperative day	96 ± 9	107 ± 6	p=0,001
5-й день после операции/The 5-th postoperative day	65 ± 11	89 ± 10	p=0,05
Амилаза дренажной жидкости, Ед/л/Drain fluid amylase, U/l			
1-й день после операции/The 1-st postoperative day	102 ± 10	109 ± 90	p=0,05
3-й день после операции/The 3-d postoperative day	98 ± 13	105 ± 70	p=0,05
5-й день после операции/The 5-th postoperative day	55 ± 6	80 ± 35	p=0,001

момента отхождения первых газов в исследуемой группе $2,8 \pm 1,0$ сут vs $3,9 \pm 1,2$ сут ($p=0,001$). С момента восстановления активной перистальтики кишечника пациентам исследуемой группы вводилась жидкая диета (например, овсяный отвар, бульон, компот и т. д.). Как правило, на следующие сутки разрешалась жидкая диета (каши, вермишель, картофельное пюре и т. д.). В свою очередь, пациенты контрольной группы приступали к пероральному питанию, в среднем на 4–5-е сут послеоперационного периода.

При анализе частоты послеоперационных осложнений выявлено, что несостоятельность анастомоза возникла у 2 (5,4 %) пациентов исследуемой и у 3 (6,6 %) пациентов контрольной группы ($p<0,05$) (рис. 1). В исследуемой группе наблюдались следующие послеоперационные осложнения со стороны легких: пневмония – у 3 (8,1 %), ОРДС – у 1 (2,7 %) пациента. В контрольной группе легочные осложнения отмечены у 9 (19,8 %) больных ($p=0,05$), в т. ч. пневмония – у 5 (11 %), ОРДС – у 3 (6,6 %), ТЭЛА – у 1 (2,2 %) больного. Панкреатическая фистула возникла у 3 (8,1 %) и у 2 (4,4 %) пациентов в исследуемой и контрольной группах соответственно ($p=0,05$), раневые инфекционные осложнения – у 4 (10,8 %) и у 6 (13,2 %) пациентов соответственно ($p=0,05$).

Следует отметить снижение продолжительности послеоперационных койко-дней в исследуемой группе по сравнению с контрольной – $5,4 \pm 1,5$ vs $9,5 \pm 2,3$ ($p=0,001$). Также зафиксирована разница в частоте повторных госпитализаций пациентов в течение 30 дней после выписки (табл. 2), в исследуемой группе 2 (5,4 %) пациента были вновь госпитализированы для устранения возникших осложнений, в контрольной группе таких пациентов оказалось 4 (8,8 %) ($p=0,05$).

В послеоперационном периоде проводились контроль и оценка лабораторных показателей у всех пациентов сравниваемых групп: прокальцитонин, СРБ крови, значения амилазы плазмы крови и амилазы дренажной жидкости на 1, 3 и 5-й день после вмешательства (табл. 3). Лабораторные показатели пациентов в исследуемой группе отражали

более благоприятную динамику восстановления функций организма по сравнению с пациентами из группы контроля.

Обсуждение

Современный подход к периоперационному ведению больных все чаще включает в себя концепцию FAST-TRACK. Основной причиной, по которой данная программа пока не применяется повсеместно, особенно после операций на верхних отделах ЖКТ, является не до конца изученный вопрос безопасности раннего энтерального питания в послеоперационном периоде. Однако влияние нутритивного статуса пациента на процессы восстановления, заживления послеоперационных ран и продолжительности пребывания в стационаре, бесспорно, велико. Результаты нашего ретроспективного исследования показывают, что раннее назначение энтерального питания пациентам после гастрэктомии не ухудшает результаты лечения и может быть активно внедрено в клиническую практику. Полученные нами результаты в целом не противоречат данным зарубежных коллег.

Одним из важных оцениваемых параметров была частота несостоятельности эзофагоэнтероанастомоза, которая возникла у 2 (5,4 %) пациентов исследуемой и у 3 (6,6 %) пациентов контрольной группы ($p<0,05$). А. Jang et al. в ретроспективном исследовании показали значимую разницу между группой раннего перорального питания и группой обычного питания – 1,5 % vs 4,9 % ($p=0,048$) [14]. В проспективном когортном исследовании J.S. Ford et al., при аналогичном нашему подходу ведении больных, выявили несостоятельность анастомоза у 3 (4 %) пациентов исследуемой и у 2 (5 %) пациентов контрольной группы ($p=0,05$) [15].

Нами установлено наличие взаимосвязи между сроками начала перорального питания и восстановлением функций желудочно-кишечного тракта. Так, в исследуемой группе значительно снизилось время до отхождения первых газов – $2,8 \pm 1,0$ vs $3,9 \pm 1,2$ сут ($p=0,001$). Аналогичные данные получены в крупных зарубежных исследованиях. В частности, Y.X. Lu et al. в проспективном ко-

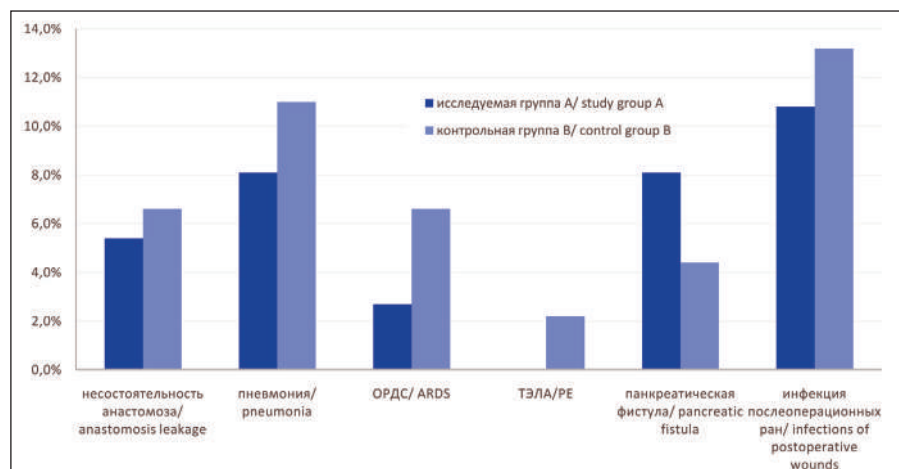


Рис. 1. Частота послеоперационных осложнений в группах
Fig. 1. Frequency of postoperative complications in groups

гортном исследовании отметили более короткое время восстановления перистальтики кишечника в группе раннего перорального питания – $2,48 \pm 1,17$ vs $3,37 \pm 1,42$ сут ($p=0,001$) [16].

В связи с частым наличием у онкологических больных опухолевой интоксикации, истощения, анемии, а также учитывая предшествующую химиотерапию, крайне важно было оценить влияние диеты на возникновение инфекционных осложнений после оперативного вмешательства. Нами отмечена некоторая разница в частоте раневой инфекции – $10,8$ vs $13,2$ % ($p=0,05$) в исследуемой и контрольной группах соответственно. Однако стоит обратить внимание на неоднородность распределения пациентов по методу хирургического вмешательства (открытый метод или лапароскопия), что может несколько исказить результаты.

В послеоперационном периоде наблюдался ряд осложнений со стороны дыхательной системы, с процентным преобладанием в контрольной группе: пневмония 11 vs $8,1$ % ($p<0,05$), ОРДС – $6,6$ vs $2,7$ % ($p=0,05$). В контрольной группе 32 пациентам была проведена назогастральная интубация. В исследуемой группе назогастральный зонд пациентам вводился лишь с целью декомпрессии воздуха, попавшего в желудок во время вентиляции легких при вводимом наркозе. Зонд удалялся после операции в обеих группах пациентов. Вероятно, в связи с этим частота легочных осложнений у пациентов контрольной группы была выше.

С учетом объема операции нами также были проведены контроль и оценка лабораторных показателей в послеоперационном периоде. Отмечены отсутствие явного прироста маркеров воспаления, а также тенденция к более динамичному восстановлению показателей в группе пациентов с ранним пероральным питанием. Подобные резуль-

таты в своих исследованиях получили зарубежные коллеги [17, 18].

Таким образом, полученные нами данные в совокупности с результатами крупных современных исследований свидетельствуют о преимуществах и безопасности применения раннего перорального питания у пациентов, перенесших гастрэктомию по поводу рака желудка. Пациенты исследуемой группы быстрее восстановили свою физическую активность и нормальный нутритивный статус после операции. Пациентам контрольной группы потребовалось больше времени для восстановления и наблюдения в стационаре после операции. Не выявлено статистически значимой разницы в показателях частоты инфекционных осложнений и возникновении панкреатических фистул в сравниваемых группах. Частота повторных госпитализаций среди пациентов из группы раннего питания также была несколько ниже, чем в контрольной группе.

Заключение

Современная хирургия развивается по пути минимизации травмы и ускоренного восстановления после оперативного вмешательства. Раннее пероральное питание является одной из самых главных и неотъемлемых частей протокола Fast-Track, что способствует более быстрому восстановлению функции желудочно-кишечного тракта, позволяет сократить продолжительность пребывания в стационаре и, как следствие, снизить расходы на лечение, не увеличивая при этом частоту осложнений, что указывает на его безопасность и целесообразность включения в клинические рекомендации. Помимо этого, быстрое восстановление после операции способствует более раннему началу адъювантной химиотерапии, что крайне важно для онкологических больных.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Machlowska J., Baj J., Sitarz M., Maciejewski R., Sitarz R. Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(11): 4012. doi: 10.3390/ijms21114012.
2. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.
3. 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(5): 721–7. doi: 10.1097/SLA.0b013e318185e62e.
4. Park J.M., Jin S.H., Lee S.R., Kim H., Jung I.H., Cho Y.K., Han S.U. Complications with laparoscopically assisted gastrectomy: multivariate analysis of 300 consecutive cases. *Surg Endosc.* 2008; 22(10): 2133–9. doi: 10.1007/s00464-008-9962-4.
5. Kanda M., Mizuno A., Tanaka C., Kobayashi D., Fujiwara M., Iwata N., Hayashi M., Yamada S., Nakayama G., Fujii T., Sugimoto H., Koike M., Takami H., Niwa Y., Murotani K., Kodera Y. Nutritional predictors for postoperative short-term and long-term outcomes of patients with gastric cancer. *Medicine (Baltimore).* 2016; 95(24): 3781. doi: 10.1097/MD.0000000000003781.
6. Пасечник И.Н., Губайдуллин Р.Р., Борисов А.Ю. Основы нутритивной поддержки больных в критических состояниях. М., 2012. 160 с. [Pasechnik I.N., Gubaidullin R.R., Borisov A.Yu. Fundamentals of nutritional support for patients in critical conditions. Moscow, 2012. 160 p. (in Russian)].

7. Hur H., Kim S.G., Shim J.H., Song K.Y., Kim W., Park C.H., Jeon H.M. Effect of early oral feeding after gastric cancer surgery: a result of randomized clinical trial. *Surgery.* 2011; 149(4): 561–8. doi: 10.1016/j.surg.2010.10.003.
8. Laffitte A.M., Polakowski C.B., Kato M. Early oral re-feeding on oncology patients submitted to gastrectomy for gastric cancer. *Arq Bras Cir Dig.* 2015; 28(3): 200–3. doi: 10.1590/S0102-67202015000300014.
9. Sierzega M., Choruz R., Pietruszka S., Kulig P., Kolodziejczyk P., Kulig J. Feasibility and outcomes of early oral feeding after total gastrectomy for cancer. *J Gastrointest Surg.* 2015; 19(3): 473–9. doi: 10.1007/s11605-014-2720-0.
10. Arends J., Bachmann P., Baracos V., Barthelemy N., Bertz H., Bozzetti F., Fearon K., Hütterer E., Isenring E., Kaasa S., Krznaric Z., Laird B., Larsson M., Laviano A., Mühlebach S., Muscaritoli M., Oldervoll L., Ravasco P., Solheim T., Strasser F., de van der Schueren M., Preiser J.C. ESPEN guidelines on nutrition in cancer patients. *Clin Nutr.* 2017; 36(1): 11–48. doi: 10.1016/j.clnu.2016.07.015.
11. Lassen K., Soop M., Nygren J., Cox P.B., Hendry P.O., Spies C., von Meyenfeldt M.F., Fearon K.C., Revhaug A., Norderval S., Ljungqvist O., Lobo D.N., Dejong C.H.; Enhanced Recovery After Surgery (ERAS) Group. Consensus review of optimal perioperative care in colorectal surgery: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS) Group recommendations. *Arch Surg.* 2009; 144(10): 961–9. doi: 10.1001/archsurg.2009.170.
12. Lassen K., Coolsen M.M., Slim K., Carli F., de Aguilar-Nascimento J.E., Schäfer M., Parks R.W., Fearon K.C., Lobo D.N., Demartines N., Braga M., Ljungqvist O., Dejong C.H.; ERAS® Society; European Society for Clinical Nutrition and Metabolism; International Association for Surgical Metabolism and Nutrition. Guidelines for perioperative care for pancreaticoduodenectomy: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS®)

Society recommendations. Clin Nutr. 2012; 31(6): 817–30. doi: 10.1016/j.clnu.2012.08.011.

13. Mortensen K., Nilsson M., Slim K., Schäfer M., Mariette C., Braga M., Carli F., Demartines N., Griffin S.M., Lassen K.; Enhanced Recovery After Surgery (ERAS®) Group. Consensus guidelines for enhanced recovery after gastrectomy: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS®) Society recommendations. Br J Surg. 2014; 101(10): 1209–29. doi: 10.1002/bjs.9582.

14. Jang A., Jeong O. Early Postoperative Oral Feeding After Total Gastrectomy in Gastric Carcinoma Patients: A Retrospective Before-After Study Using Propensity Score Matching. J Parenter Enteral Nutr. 2019; 43(5): 649–57. doi: 10.1002/jpen.1438.

15. Ford S.J., Adams D., Dudnikov S., Peyser P., Rahamim J., Wheatley T.J., Berrisford R.G., Sanders G. The implementation and effectiveness of an enhanced recovery programme after oesophago-gastrectomy:

a prospective cohort study. Int J Surg. 2014; 12(4): 320–4. doi: 10.1016/j.ijsu.2014.01.015.

16. Lu Y.X., Wang Y.J., Xie T.Y., Li S., Wu D., Li X.G., Song Q.Y., Wang L.P., Guan D., Wang X.X. Effects of early oral feeding after radical total gastrectomy in gastric cancer patients. World J Gastroenterol. 2020; 26(36): 5508–19. doi: 10.3748/wjg.v26.i36.5508.

17. Chen Z.X., Liu A.H., Cen Y. Fast-track program vs traditional care in surgery for gastric cancer. World J Gastroenterol. 2014; 20(2): 578–83. doi: 10.3748/wjg.v20.i2.578.

18. Liu G., Jian F., Wang X., Chen L. Fast-track surgery protocol in elderly patients undergoing laparoscopic radical gastrectomy for gastric cancer: a randomized controlled trial. Onco Targets Ther. 2016; 9: 3345–51. doi: 10.2147/OTT.S107443.

Поступила/Received 08.02.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 24.03.2022

Принята к публикации/Accepted 08.04.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Павлов Ростислав Владимирович, заместитель директора по медицинской части (онкология) онкологического отделения, Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7433-8383. ORCID: 0000-0003-2187-2388.

Тимофеева Ксения Олеговна, ординатор 2-го года обучения онкологического отделения, Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: dr_kse@mail.ru. ORCID: 0000-0002-8585-2063.

Черных Максим Александрович, врач-онколог онкологического отделения, Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-8476-729X.

Данилин Валерий Николаевич, кандидат медицинских наук, заведующий онкологическим отделением, Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Павлов Ростислав Владимирович: разработка концепции научной работы, сбор материала исследования, статистическая обработка, утверждение публикуемой рукописи.

Тимофеева Ксения Олеговна: разработка концепции научной работы, сбор материала исследования, составление черновика рукописи.

Черных Максим Александрович: составление черновика рукописи.

Данилин Валерий Николаевич: рецензирование, 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

Rostislav V. Pavlov, MD, Deputy Director of the Medical Department (oncology), Oncology Department, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies of Saint-Petersburg State University (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-2187-2388.

Kseniia O. Timofeeva, MD, 2-d year resident of the Oncology Department, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies of Saint-Petersburg State University (Saint-Petersburg, Russia). E-mail: dr_kse@mail.ru. ORCID: 0000-0002-8585-2063.

Maxim A. Chernykh, MD, Oncologist, Oncology Department, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies of Saint-Petersburg State University (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-8476-729X.

Valerii N. Danilin, MD, PhD, Head of Oncology Department, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies of Saint-Petersburg State University (Saint-Petersburg, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Rostislav V. Pavlov: study conception and design, acquisition of data, statistical analysis, final approval of the published manuscript.

Kseniia O. Timofeeva: study conception and design, acquisition of data drafting of the manuscript.

Maxim A. Chernykh: drafting of the manuscript.

Valerii N. Danilin: manuscript review, 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: Саприна О.А., Бацев А.Ф., Оганян Е.Р., Пхешхова Б.Г., Михайлова А.М. Использование слизисто-мышечного лоскута на лицевой артерии в реконструктивной хирургии у пациентов со злокачественными опухолями полости рта. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 88–95. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-88-95
For citation: Saprina O.A., Batsev A.F., Oganyan E.R., Pkheshkhova B.G., Mihailova A.M. The use of the facial artery musculomucosal flap for reconstruction of oral cavity defects after cancer resection. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 88–95. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-88-95

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЛИЗИСТО-МЫШЕЧНОГО ЛОСКУТА НА ЛИЦЕВОЙ АРТЕРИИ В РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ У ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ПОЛОСТИ РТА

О.А. Саприна, А.Ф. Бацев, Е.Р. Оганян, Б.Г. Пхешхова, А.М. Михайлова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, г. Москва, Россия
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23. E-mail: belapkheshkhova@mail.ru

Аннотация

Актуальность. Реконструктивная хирургия головы и шеи при злокачественных опухолях представляет собой один из сложных разделов в онкологии и требует от специалиста владения и знания различных методов замещения дефектов. Выбор варианта реконструкции определяется различными факторами: размером, локализацией и составом дефекта, возрастом, сопутствующей патологией, прогнозом заболевания, предпочтениями хирурга и пациента. В арсенале хирурга довольно широкий выбор пластического материала – от свободного расщепленного до сложных по составу реваскуляризированных лоскутов. Лидирующим методом в лечении больных со сложными дефектами органов головы и шеи является микрохирургия. Однако использование реваскуляризированных аутооттрансплантатов возможно не у всех категорий больных, в связи с чем продолжается поиск новых методов реконструкции с целью улучшения функциональных, эстетических результатов и снижения травматичности. **Материал и методы.** Представлен анализ использования различных вариантов слизисто-мышечного лоскута на лицевых сосудах для реконструкции дефектов 7 первичных пациентов с морфологически верифицированным раком слизистой оболочки полости рта T2–4N0–1 стадии, которые получали лечение в НМИЦ онкологии им.Н.Н. Блохина в период с июня 2020 г. по март 2021 г. На первом этапе комбинированного лечения выполнялось хирургическое вмешательство с одномоментной реконструкцией различными вариантами слизисто-мышечного лоскута на лицевых сосудах в плане. Всем пациентам была проведена адъювантная лучевая терапия. **Результаты.** При выкраивании лоскута не выполняется дополнительного кожного разреза, дефект в полости рта замещается аналогичными по составу тканями с сохранением малых слюнных желез, соответственно, отсутствует рост волос и дефект донорского ложа. Ни в одном случае не было нарушения питания лоскута. **Заключение.** Полученные хорошие функциональные и эстетические результаты при использовании данного лоскута могут определить новый стандарт для замещения малых и средних мягкотканых дефектов полости рта.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта, реконструктивная хирургия, слизисто-мышечный лоскут, лоскут на лицевых сосудах.

THE USE OF THE FACIAL ARTERY MUSCULOMUCOSAL FLAP FOR RECONSTRUCTION OF ORAL CAVITY DEFECTS AFTER CANCER RESECTION

O.A. Saprina, A.F. Batsev, E.R. Oganyan, B.G. Pkheshkhova, A.M. Mihailova

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia
23, Kashirskoe shosse, 115478, Moscow, Russia. E-mail: belapkheshkhova@mail.ru

Abstract

Background. Reconstruction of defects following surgery for head and neck cancer possess challenges for surgeons. The choice of the reconstruction option is determined by various factors, namely: the size and location of the defect, patients' age, concomitant pathology, prognosis of the disease, and individual decisions of surgeons and patients. Microvascular surgery is a highly successful and relatively safe method for the reconstruction of large head and neck defects. However, the use of revascularized autografts is not possible in all categories of patients, and therefore the search for new reconstruction techniques is necessary to improve functional, aesthetic results and reduce trauma. **Material and Methods.** The use of different types of facial artery mucous-muscular (FAMM) flaps for the reconstruction of oral cavity defects after tumor resection was analyzed. From June 2020 to March 2021, 7 patients with histologically verified T2–4N0–1 oral cancer were treated at Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow). The patients underwent tumor resection with one-stage reconstruction using different types of FAMM flaps. All patients underwent adjuvant radiation therapy. **Results.** When cutting out the flap, an additional skin incision was not performed, the defect in the oral cavity was replaced by tissues of the same composition while preserving the small salivary glands, respectively, there was no hair growth and a defect in the donor bed. None of the cases had malnutrition of the flap. **Conclusion.** Good functional and cosmetic results in patients who underwent FAMM flap reconstruction may set a new standard in the replacement of small-to medium-size soft tissue defects in the oral cavity.

Key words: squamous cell carcinoma of the oral cavity, reconstructive surgery, muco-muscular flap, flap on the facial vessels.

Введение

В структуре общей заболеваемости злокачественными опухолями плоскоклеточный рак органов головы и шеи занимает 7-е место в мире [1]. Данные новообразования относятся к опухолям визуальной локализации, но их диагностика на ранних стадиях остается на крайне низком уровне. В специализированные отделения пациенты поступают с местнораспространенными процессами, что приводит к высокой смертности на первом году с постановки диагноза [2]. С учетом сложной анатомии и распространенности опухоли выполняются расширенно-комбинированные операции, которые приводят к обширным дефектам и нарушению ряда важных функций, таких как глотание, речь, дыхание, жевание, что делает невозможным реабилитацию, в связи с чем необходима одномоментная реконструкция. В настоящее время в арсенале хирурга обширный выбор пластического материала – от свободных расщепленных до сложных по составу реваскуляризированных лоскутов. Владение микрохирургической реконструкцией является обязательным условием работы в отделении опухолей головы и шеи, однако не всем пациентам показаны данные виды реконструкции, а лишь при условии, что регионарные лоскуты не смогут дать сопоставимые функциональные и эстетические результаты.

Для замещения мягкотканых дефектов наиболее часто используют следующие регионарные лоскуты: носогубный, подбородочный, надключичный, лоскуты с включением подкожной мышцы, грудино-ключично-сосцевидной, большой грудной, трапецевидной, передних длинных мышц шеи и широчайшей мышц. В более ранние периоды активно использовался кожно-жировой носогубный лоскут, который хорошо адаптируется в полости рта, прост в выкраивании, с низкой частотой

осложнений, однако к недостаткам относятся выраженный косметический дефект в эстетически значимой зоне, двухэтапность вмешательства, а также обильный рост волос у мужчин в полости рта. Часть авторов используют островковый носогубный лоскут [3], однако, по нашему мнению, его использование возможно только в группе пациентов с сопутствующей патологией и с выраженными возрастными изменениями кожи.

Подподбородочный лоскут, который в нашей клинике используется с 2015 г., зарекомендовал себя как надежный пластический материал с низкой частотой осложнений, имеет ряд достоинств, таких как близость к полости рта, широкая дуга вращения, постоянство питающих сосудов, отсутствие дополнительного разреза на шее. Однако одним из противопоказаний для использования лоскута, по мнению ряда авторов, является метастатическое поражение лимфоузлов I уровня, что заставляет отказаться от данного пластического материала в пользу лучевого реваскуляризованного аутоотрансплантата. По данным нашей работы, включавшей 36 наблюдений и опубликованной в 2017 г., поражение лимфоузлов I уровня не является противопоказанием, при условии забора лоскута на питающей сосудистой ножке с контралатеральной стороны [4]. На наш взгляд, одним из недостатков данного лоскута является обильный рост волос у мужчин и чрезмерная толщина лоскута у пациентов с избыточной массой тела, что приводит к ограничению подвижности языка у части больных.

Надключичный лоскут, который в последнее время набирает все большую популярность, имеет довольно много преимуществ, к ним относят надежность и постоянство сосудистой ножки, простоту выкраивания, отсутствие обильного роста волос, возможность закрытия обширных дефектов,

минимальный дефект донорского ложа, сохранение чувствительности (при условии сохранения нервов С3). Из недостатков надключичного лоскута следует отметить ранее выполненные операции с пересечением питающих сосудов, ограниченную длину лоскута, при ширине лоскута более 7 см требуется применение дополнительно расщепленного лоскута для укрытия дефекта донорского ложа [5].

Среди кожно-мышечных лоскутов лидирующую позицию занимает лоскут с включением большой грудной мышцы, который позволяет замещать довольно разнообразные по составу и форме дефекты. Однако при его использовании требуется разрез на грудной стенке, возникают выраженная деформация молочной железы у женщин и нарушения двигательной функции верхней конечности, имеются ограничения у пациентов с избыточной массой тела, кроме того, из-за массивности лоскута возникает сложности в реабилитации, что зачастую требует хирургической коррекции.

Обсуждая реvascularизированные лоскуты, чаще всего имеют в виду кожно-фасциальные лоскуты, которые используют для замещения дефектов средних и больших размеров [6]. В частности, лучевой лоскут является идеальным материалом для реконструкции за счет относительно простого выкраивания, довольно длинной сосудистой ножки, достаточно большого диаметра вен, является тонким, пластичным, имеется возможность различного дизайна. Значимые недостатки: в донорской зоне образуются выраженные косметические дефекты [7].

Несмотря на наличие разнообразных вариантов, не существует идеального пластического материала, который бы удовлетворял все потребности как пациента, так и хирурга. В связи с чем продолжается поиск методов реконструкции с целью улучшения функциональных результатов, снижения травматичности без ущерба для онкологической радикальности.

Цель исследования – определить показания и оценить результаты использования слизисто-мышечного лоскута на лицевых сосудах в реконструктивной хирургии у больных со злокачественными опухолями слизистой оболочки полости рта.

Материал и методы

В НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в отделении опухолей головы и шеи с июня 2020 г. по март 2021 г. выполнено 7 хирургических вмешательств с использованием слизисто-мышечного лоскута на лицевых сосудах для замещения дефектов полости рта. У всех пациентов был морфологически верифицирован плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки. Пациенты, включенные в исследование, ранее не получали специального лечения, и операция являлась первым этапом комбинированного лечения.

Среди пациентов преобладали лица мужского пола (5 мужчин и 2 женщины). Средний возраст – 58 лет (44–70 лет). Рак слизистой оболочки дна полости рта диагностирован в 5, рак слизистой оболочки альвеолярного края нижней челюсти – в 2 наблюдениях. У 2 больных опухоль локализовалась в области альвеолярного края нижней челюсти, у 1 пациента диагностирован рак языка, у 4 – поражение слизистой оболочки дна полости рта. Классификация осуществлялась по системе TNM 8-го пересмотра. Первичные опухоли соответствовали T2 – в 3, T3 – в 3, T4 – в 1 случае. У 4 пациентов отсутствовало поражение лимфоузлов шеи, у 3 – регионарные метастазы соответствовали N1. Отдаленных метастазов не было.

В зависимости от локализации опухолей выполнялись различные объемы резекций, чаще всего – резекция тканей дна полости рта с резекцией нижней поверхности языка и краевой резекцией нижней челюсти (n=4), 1 пациенту выполнена половинная резекция языка с тканями дна полости рта, по 1 случаю – краевая и сегментарная резекции нижней челюсти. Всем пациентам выполнялись шейные лимфодиссекции различных объемов. При срединной локализации опухоли или опухоли ипсилатеральной локализации с распространением до средней линии осуществлялись двусторонние лимфодиссекции (n=4), при этом на ипсилатеральной стороне выполнялись модифицированные радикальные, на контралатеральной – супраомохиодальные шейные лимфодиссекции. При отсутствии данных о наличии регионарных метастазов выполнялись супраомохиодальные шейные лимфодиссекции I–IV уровней, при N+ – удаление I–V уровней.

Пациентам, которым выполнялись двусторонние шейные лимфодиссекции, выкраивание слизисто-мышечного лоскута осуществлялось на контралатеральной стороне, а при односторонней лимфодиссекции – на ипсилатеральной стороне. На первом этапе всегда выполнялась лимфодиссекция с сохранением наружной яремной, лицевой вен и лицевой артерии до точной визуализации венозного оттока от лоскута, далее после выполнения лимфодиссекции производили операции на первичном очаге и затем выкраивался лоскут, который проводился под нижней челюстью в зону дефекта. Во всех случаях выкраивался максимально допустимый размер лоскута, который не вызывал бы функциональных и эстетических изменений в донорской зоне. Размер варьировал от 4,5–6,0 см на 2,5–3,5 см и определялся конституциональными особенностями. В большинстве случаев общий размер дефекта в полости рта превышал размер лоскута на 15–20 %, однако ввиду эластичности лоскута без каких-либо технических сложностей и без натяжения производилась фиксация к краям дефекта. Ни в одном случае не выполнялась превентивная трахеотомия. Питание пациентов в по-

слеоперационном периоде осуществлялось через носопищеводный зонд.

Результаты и обсуждение

При анализе послеоперационных осложнений ни в одном случае не отмечено частичного или тотального некроза лоскута, заживление в полости рта первичным натяжением. Закрывание донорского ложа у 2 пациентов производилось путем мобилизации слизистой оболочки и сшивания последней, в остальных случаях проводилась частичная диссекция и транспозиция жировых «комков» Биша с фиксацией к краям дефекта. Реабилитация пациентов происходила в ранние сроки, возобновление приема пищи на 6–7 сут, за исключением 1 пациента, которому носопищеводный зонд был удален на 14-е сут, ввиду расхождения швов в области донорского ложа (данному пациенту выполнялось ушивание дефекта путем сшивания слизистой оболочки). У 3 пациентов в послеоперационном периоде отмечался парез маргинальной ветви лицевого нерва. У 2 пациентов на контрольном осмотре через 3 мес функция мимических мышц восстановлена в полном объеме, у 1 отмечалась выраженная положительная динамика, но сохранялось некоторое отставание. Согласно градации степени тяжести осложнений по Clavien–Dindo, у 2 пациентов диагностированы осложнения I степени.

При плановом гистологическом исследовании операционного материала во всех случаях морфологически подтверждены R0-резекции, отсутствовали периневральная и сосудистая инвазия, а также ни у одного пациента с регионарными метастазами не было экстракапсулярного распространения. В связи с чем доза послеоперационной лучевой терапии на ложе первичной опухоли и регионарные зоны с двух сторон составила у всех пациентов – РОД 2 Гр, СОД 50 Гр при N0, при N + – до 60 Гр на регионарную зону. Сроки начала адъювантной терапии соблюдены у всех пациентов.

Нами получены отличные функциональные и эстетические результаты в группе пациентов после краевой резекции нижней челюсти и тканей дна полости рта. У пациента, которому выполнялась половинная резекция языка с тканями дна полости рта, отмечается некоторое ограничение подвижности языка, что сказывается на качестве речи и, на наш взгляд, связано с недостаточной длиной лоскута. Однако учитывая единичное наблюдение, сложно сделать окончательные выводы.

Использованный нами у 1 пациента классический FAMM- внутриротовой щечный лоскут был описан J. Pribaz et al. в 1992 г. [8]. В состав трансплантата входят слизистая оболочка, подслизистый слой, части щечной мышцы и частично круговая мышца рта. Лоскут можно использовать на ретроградном и антеградном кровотоке лицевой артерии. Чаще всего такой вариант лоскута

используют в челюстно-лицевой хирургии для реконструкции твердого неба и губ. Расположение дефектов будет определять использование FAMM-лоскута с верхним или нижним основанием. Мы использовали FAMM-лоскут с нижним основанием у одного пациента после краевой резекции нижней челюсти с хорошим функциональным результатом. Существуют несколько модификаций лоскута, так, M. Duranceau et al. представили модификацию хирургического доступа FAMM-лоскута, позволяющую провести одноэтапную процедуру [9]. Модификация заключалась в использовании ножки для заполнения задней части дефекта дна полости рта, путем расширения переднего разреза над альвеолярным гребнем, чтобы достичь дефекта дна полости рта. Затем основание лоскута рассекается поднадкостнично над альвеолярным гребнем и используется для закрытия заднего дефекта дна полости рта, а также альвеолярного гребня. В нашем исследовании мы не использовали данную модификацию ввиду отсутствия ограниченного поражения тканей дна полости рта.

В 1995 г. V. Uglesic et al. описан артериализированный островковый слизисто-мышечный лоскут (a-FAMMIF). Он представляет собой FAMM, расположенный исключительно на лицевой артерии, венозный возврат осуществляется по коммитантным венам [10]. Далее данный вариант был упрощен за счет добавления внеротового разреза в носогубной складке для лучшей визуализации и снижения частоты некроза лоскута, связанной со скелетизацией лицевой артерии через интраоральный доступ. Артериализированный лоскут нами был использован у одного пациента, но мы не выполняли рассечение кожи носогубной складки для визуализации ножки, и, на наш взгляд, целесообразнее выполнять забор лоскута с лицевой веной и без рассечения кожи в эстетически значимой зоне. Данный вариант одноступенчатой процедуры описан O. Massarelli et al. [11]. Это туннельный островковый лоскут FAMM, эта модификация представляет собой слизисто-мышечный лоскут с включением лицевой артерии с ее ветвями и лицевой веной, который после внутриротовой мобилизации проводят через тоннель на шею и далее под нижней челюстью к зоне дефекта. Недостатком является более высокий риск травмы маргинальной ветви лицевого нерва, поскольку требуется широкое рассечение сосудистой ножки через узкий канал. Этот вариант впервые был опубликован под названием «островковый слизисто-мышечный лоскут щеки», а затем под названием туннелизированного островкового слизисто-мышечного лоскута на лицевой артерии (t-FAMMIF). Также O. Massarelli et al. опубликовали опыт использования свободного реваскуляризированного FAMM-лоскута для реконструкции дефекта в области противоположной щеки [12]. Туннелизированный островковый слизисто-мышечный лоскут на лицевой артерии,

что, на наш взгляд, является оптимальным, и был использован нами чаще всего (5 случаев).

Как показывает проведенный анализ литературы, лоскут чаще использовали для замещения небольших и средних по размеру дефектов полости рта при различных клинических ситуациях после удаления опухоли, при расщелине твердого неба, остеорадионекрозе, травме, артериовенозной мальформации, перфорации носовой перегородки, микростомии. На основании нашего опыта можно сделать вывод, что лоскут может быть использован для замещения дефектов не более 5,0-6,0 см с шириной до 4,0 см с различной локализацией дефектов в полости рта. Противопоказанием к использованию данного лоскута являются ранее проведенные операции на шее, однако Р. О'Leary et al. опубликовали исследование, в котором у 14 пациентов использован данный лоскут после шейной диссекции без увеличения частоты осложнений. Основным противопоказанием является пересечение лицевых сосудов [13]. Данное утверждение было также подтверждено О. Massarelli et al., которые использовали лоскут у 39 больных после ранее выполненной диссекции с сохраненными лицевыми сосудами [14].

С учетом использования лоскута у пациентов со злокачественными опухолями, которым проводилась ранее лучевая терапия, соответственно, возникает вопрос о возможности забора лоскута в такой клинической ситуации. Проводя аналогию с подподбородочным лоскутом, при котором лучевая терапия в анамнезе не является абсолютным противопоказанием, но в группе облученных больных возникают технические сложности при заборе лоскута, что может повлиять на его жизнеспособность. В литературе встречается небольшое количество наблюдений и, соответственно, нет убедительных данных о влиянии предшествующей лучевой терапии на жизнеспособность лоскута. Частота осложнений в группе облученных больных варьирует. Р. О'Leary et al отмечают осложнения в виде частичных некрозов, расхождения швов, кровотечений у 7 (32 %) больных, при этом у большинства из них (57 %) была предшествующая лучевая терапия. В исследовании с наибольшим количеством наблюдений (n=61) осложнения возникли в 36 %, частичный некроз – у 15 больных, 10 пациентам ранее проводилась лучевая терапия, но авторы не сообщили о частоте осложнений в этой группе. Следует отметить, что ни в одном из опубликованных исследований нет указаний на дозы лучевой терапии и ее влияния на частоту осложнений. Кроме того, авторы представляют оценку использования всех модификаций лоскута без уточнений, что затрудняет анализ материала.

Немаловажным в выборе пластического материала является и эстетический результат. Во всех исследованиях косметический результат оценен как отличный, при условии правильного забора

лоскута и закрытия донорского ложа. Лишь при использовании модификации с рассечением кожи в проекции носогубной складки имеется рубец, что может вызвать деформацию. Если говорить о закрытии донорского ложа, то существует несколько методик. При небольшом дефекте выполняется первичное ушивание, однако необходимо учитывать возможные рубцовые деформации щеки, что впоследствии может привести к тризму. При больших дефектах используют жировые комки Биша с отличным результатом. К недостатку лоскута можно отнести парез маргинальной ветви лицевого нерва при использовании островкового туннелизированного лоскута, однако с учетом временного характера нарушений этот недостаток нивелируется большинством преимуществ. В 5 случаях мы использовали для закрытия донорского ложа комки Биша, в 2 случаях мобилизовали края слизистой оболочки с ушиванием последних.

Из-за небольшого срока мы не смогли оценить отдаленные онкологические результаты, но все пациенты находятся под наблюдением, продолжается набор материала и после анализа большего количества случаев будут представлены отдаленные результаты. За время наблюдения случаев прогрессирования не наблюдалось.

В связи с ограниченным количеством случаев, связанных с использованием данного пластического материала при злокачественных опухолях полости рта в отечественной литературе, мы решили представить клинический случай нашего первого пациента.

Клинический случай

Пациент К., 53 года, обратился в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина с жалобами на наличие образования в области тканей дна полости рта. При осмотре контуры лица и шеи не изменены. В области тканей дна полости рта в проекции 32–36 зубов определяется опухоль инфильтративно-язвенной формы роста диаметром до 3,5 см, распространяющаяся на нижнюю поверхность языка, прилежит к слизистой оболочке альвеолярного края нижней челюсти, при бимануальном осмотре опухоль подвижна относительно нижней челюсти (рис. 1). Лимфоузлы шеи справа не пальпируются. В левой подчелюстной области пальпируется образование до 1,5 см плотной консистенции, подвижное относительно подлежащих тканей, трудно дифференцировать между слюнодентом подчелюстной слюнной железой или метастатическим поражением лимфатических узлов.

При обследовании морфологически верифицирован плоскоклеточный рак слизистой оболочки тканей дна полости рта T3N1M0 стадии. По данным УЗИ (10.07.20) лимфоузлы шеи справа не увеличены. Слева по краю нижней челюсти определяются гипозохогенные лимфатические узлы до 1,6×1,4 см, 1,6–0,7 см, в верхней трети шеи округлый лим-

фатический узел 0,6 см. Подчелюстная слюнная железа размером $3,7 \times 1,2$ см, протоки расширены. КТ (15.07.20): в передне-левых отделах тканей дна полости рта определяется участок уплотнения тканей, накапливающий контрастный препарат, размером до $3,1 \times 1,5 \times 3,2$ см, который приводит к блоку выводного протока. Инфильтрат тесно прилежит к мышцам дна полости рта. В левой подчелюстной области лимфатический узел до $1,8 \times 1,6$ см, по ходу яремной вены слева – лимфатические узлы до $1,2 \times 0,7$ см.

30.07.20 выполнена операция в объеме краевой резекции нижней челюсти от проекции 3 справа до 6 зуба слева тканей дна полости рта, с атипичной резекцией языка (рис. 2) с восстановлением дефекта туннелизованным

островковым слизисто-мышечным лоскутом на лицевых сосудах, селективная лимфодиссекция справа (I–III уровни), модифицированная шейная лимфодиссекция слева (I–V уровни). Выкраивание лоскута происходило через комбинированный доступ (внутриротовой и шейный) с включением лицевых артерии и вены (рис. 3). Разрез в проекции носогубной складки не производился. После мобилизации сосудистой ножки через подкожный туннель лоскут проведен под маргинальной ветвью лицевого нерва для увеличения дуги вращения. Далее через поднижнечелюстной канал лоскут проведен в полость рта и фиксирован к краям дефекта, сформирована культя языка. Область забора лоскута после мобилизации слизистой оболочки уха. Установлен носопищеводный зонд,



Рис. 1. Вид первичной опухоли
Fig. 1. Image of primary tumor

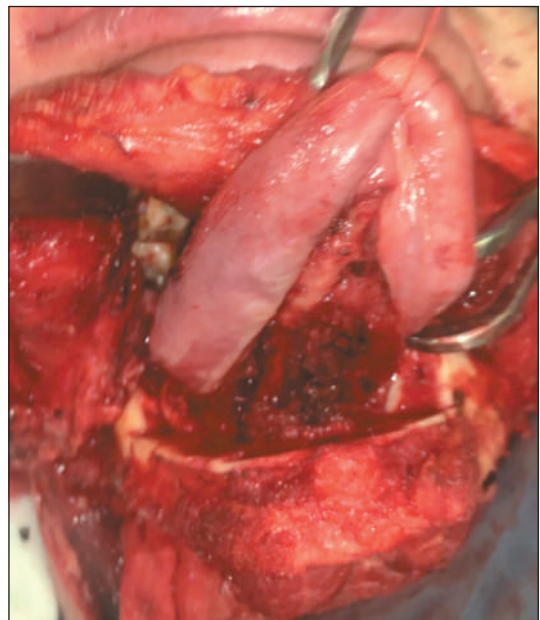


Рис. 2. Вид операционной раны после резекционного этапа
Fig. 2. Wound after tumor removal of surgery



Рис. 3. Выкраенный лоскут на питающих сосудах
Fig. 3. Flap on supply vessels



Рис. 4. Вид лоскута на 5-е сут после операции
Fig. 4. Flap inside the oral cavity on the 5 day after surgery



Рис. 5. Вид полости рта через 3 мес
Fig. 5. Flap inside the oral cavity in 3 months

трахеостома не выполнялась с учетом сохранения нижнечелюстной дуги.

На рис. 4 представлен вид лоскута в полости рта на 5-е сут после операции. Лоскут хорошо адаптирован в полости рта, швы в области фиксации состоятельны, ограничения подвижности языка не выявлено. Отмечается расхождение шва в области донорского ложа, в связи с чем потребовалось более длительное питание через носопищеводный зонд.

При гистологическом исследовании операционного материала: умереннодифференцированный плоскоклеточный рак, толщиной 10 мм, край резекции в пределах здоровых тканей, в 1-м лимфатическом узле метастаз плоскоклеточного рака без экстракапсулярного роста.

В плане комбинированного лечения проведена адъювантная лучевая терапия на полость рта и регионарные зоны РОД 2 Гр, СОД 50 Гр.

При контрольном осмотре через 3 мес открывание рта в полном объеме, отмечается хорошая адаптация лоскута (рис. 5), подвижность языка достаточная, обращает на себя внимание некоторый избыток лоскута, который не влияет на качество речи и прием пищи, но затрудняет изготовление съемного протеза. Пациенту планируется коррекция лоскута с последующим восстановлением зубного ряда съемным протезом.

Таким образом, на основе наших собственных данных и данных литературы можно сделать вывод, что туннелизированный островковый слизисто-мышечный лоскут на лицевых сосудах имеет ряд преимуществ перед другими регионарными и ревааскуляризованными лоскутами и может определить новый стандарт в реконструктивной хирургии полости рта.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: estimated cancer incidence, mortality, and prevalence worldwide in 2012 [cited 2016 Jan 13]. URL: <http://globocan.iarc.fr>.
2. Саприна О.А., Кропотов М.А., Ломая М.В. Применение подподбородочного лоскута в замещении дефектов у больных со злокачественными опухолями слизистой оболочки полости рта. Сибирский онкологический журнал. 2016; 15(2): 56–62. [Saprina O.A., Kropotov M.A., Lomaja M.V. Application of the submental flap for repair of oral defects in patients with oral cancer, Siberian Journal of Oncology. 2016; 15(2): 56–62. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-2.
3. Sharma V., Pandey S., Gandhi A.K., Pandey A., Rastogi M., Sethi R., Hadi R., Hussain N. Island Nasolabial Flap for Tongue Reconstruction: Locoregional Flap of Choice and an Alternative to Free Flap for Tongue Cancer. Indian J Surg Oncol. 2021; 12(1): 94–9. doi: 10.1007/s13193-020-01214-3.
4. Саприна О.А., Азизян Р.И., Бржезовский В.Ж., Мудунов А.М., Романов И.С., Аллавердиева Г.Ф., Алиева С.Б., Ломая М.В. Использование субментального лоскута в реконструкции дефектов головы и шеи. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(3): 51–7. [Saprina O.A., Azizjan R.I., Brzhezovskij V.Zh., Mudunov A.M., Romanov I.S., Allahverdieva G.F., Alieva S.B., Lomaja M.V. The use of the submental flap in reconstruction of head and neck defects. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17(3): 51–7. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-3-51-57.
5. Саприна О.А., Азизян Р.И., Ломая М.В. Надключичный лоскут в реконструкции дефектов головы и шеи (обзор литературы) Опухоли головы и шеи. 2017; 7(1): 46–9. [Saprina O.A., Azizjan R.I., Lomaja M.V. Supraclavicular flap in the reconstruction of defects of the head and neck (literature review). Head and Neck Tumors. 2017; 7(1): 46–9. (in Russian)]. doi: 10.17650/2222-1468-2017-7-1-46-49.

6. Gender E.M. Reconstruction of the Head and Neck. New York: Thieme, 2012. P. 1–26.
7. Neligan P.C., Wei Fu-Chan. Microsurgical reconstruction of the head and neck, QMP. St. Louis, 2010. P. 591–613.
8. Pribaz J., Stephens W., Crespo L., Gifford G. A new intraoral flap: facial artery musculomucosal (FAMM) flap. Plast Reconstr Surg. 1992; 90(3): 421–9. doi: 10.1097/00006534-199209000-00009.
9. Duranceau M., Ayad T. The facial artery musculomucosal flap: modification of the harvesting technique for a single-stage procedure. Laryngoscope. 2011; 121(12): 2586–9. doi: 10.1002/lary.22343.
10. Uglesic V., Virag M. Musculomucosal nasolabial island flaps for floor of mouth reconstruction. Br J Plast Surg. 1995; 48(1): 8–10. doi: 10.1016/0007-1226(95)90022-5.
11. Massarelli O., Gobbi R., Soma D., Tullio A. The folded tunnelized-facial artery myomucosal island flap: a new technique for total soft palate reconstruction. J Oral Maxillofac Surg. 2013; 71(1): 192–8. doi: 10.1016/j.joms.2012.03.030.
12. Massarelli O., Gobbi R., Biglio A., Tullio A. Facial artery myomucosal free flap for cheek mucosa reconstruction: a case report. Microsurgery. 2013; 33(5): 401–5. doi: 10.1002/micr.22113.
13. O'Leary P., Bundgaard T. Good results in patients with defects after intraoral tumour excision using facial artery musculo-mucosal flap. Dan Med Bull. 2011; 58(5).
14. Massarelli O., Baj A., Gobbi R., Soma D., Marelli S., De Riu G., Tullio A., Gianni A.B. Cheek mucosa: a versatile donor site of myomucosal flaps. Technical and functional considerations. Head Neck. 2013; 35(1): 109–17. doi: 10.1002/hed.22933.

Поступила/Received 11.09.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 25.10.2021

Принята к публикации/Accepted 12.11.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Саприна Оксана Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник онкологического отделения хирургических методов лечения опухолей головы и шеи № 10, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: isabekian@mail.ru. SPIN-код: 7819-9917.

Бацев Ахмед Фуаедович, кандидат медицинских наук, врач-онколог онкологического отделения хирургических методов лечения опухолей головы и шеи № 10, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3231-5685. ORCID: 0000-0002-1794-7247.

Оганян Ерануи Размиковна, врач-онколог онкологического отделения хирургических методов лечения опухолей головы и шеи № 10, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5526-5112. ORCID: 0000-0001-6287-4836.

Пхешхова Бэла Газраилловна, аспирант онкологического отделения хирургических методов лечения опухолей головы и шеи № 10, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1788-1895. ORCID: 0000-0003-1448-1733

Михайлова Анастасия Михайловна, ординатор онкологического отделения хирургических методов лечения опухолей головы и шеи № 10, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Саприна Оксана Александровна: набор клинического материала, выполнение хирургических вмешательств, анализ полученных данных, написание статьи.

Бацев Ахмед Фуаедович: набор клинического материала, анализ полученных данных.

Оганян Ерануи Размиковна: набор и обработка материала, написание статьи.

Пхешхова Бэла Газраилловна: редактирование окончательного варианта статьи с критическим пересмотром и внесением ценного интеллектуального содержания.

Михайлова Анастасия Михайловна: редактирование окончательного варианта статьи с критическим пересмотром и внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oxana A. Saprina, MD, PhD, Senior Researcher, Surgery Department № 10, Tumors of the Head and Neck, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). E-mail: isabekian@mail.ru.

Ahmed F. Bacev, MD, PhD, Oncologist, Surgery Department № 10, Tumors of the Head and Neck, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-1794-7247.

Eranui R. Oganjan, MD, Oncologist, Surgery Department № 10, Tumors of the Head and Neck, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-6287-4836.

Bela G. Pkhashkhova, MD, Postgraduate, Surgery Department № 10, Tumors of the Head and Neck, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-1448-1733.

Anastasia M. Mihajlova, MD, Resident, Surgery Department № 10, Tumors of the Head and Neck, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Oxana A. Saprina: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Ahmed F. Bacev: data collection and analysis.

Eranui R. Oganjan: collection and analysis, drafting of the manuscript

Bela G. Pkhashkhova: critical review for important intellectual content.

Anastasia M. Mihajlova: critical review for important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-96-108
УДК: 616.711-033.2-07-08

Для цитирования: Бухаров А.В., Ерин Д.А., Державин В.А., Ядрина А.В. Вопросы диагностики и лечения метастазов в позвоночник и длинные кости. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 96–108. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-96-108

For citation: Bukharov A.V., Erin D.A., Derzhavin V.A., Yadrina A.V. Issues of diagnosis and treatment of metastases in the spine and long bones. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 96–108. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-96-108

ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ МЕТАСТАЗОВ В ПОЗВОНОЧНИК И ДЛИННЫЕ КОСТИ

А.В. Бухаров, Д.А. Ерин, В.А. Державин, А.В. Ядрина

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия
Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, 3. E-mail: ErinDmAl@yandex.ru

Аннотация

Цель исследования – провести систематический анализ данных, имеющихся в современной литературе, современных диагностических алгоритмов, прогностических факторов, выживаемости и вариантов хирургического лечения метастазов в позвоночник и длинные кости конечностей. **Материал и методы.** В обзор включены данные рандомизированных клинических исследований, оценивающих различные диагностические алгоритмы выявления метастатического поражения костей, частоту метастазов в позвоночный столб и длинные кости в зависимости от гистологической структуры первичной опухоли, их количество, в соответствии с этим и варианты хирургического или лучевого лечения, опубликованные за последние 10 лет. Также оценивались различные прогностические факторы, на основании которых можно определить ожидаемую продолжительность жизни пациента. **Результаты.** Опубликованы диагностические алгоритмы и шкалы, которые помогают выбрать оптимальную тактику лечения с учетом факторов прогноза заболевания. Благодаря этому улучшаются результаты лечения больных с метастатическим поражением позвоночника и длинных костей за счет индивидуализированного выбора тактики и объема хирургического вмешательства. **Заключение.** Необходимо продолжать научные исследования для выявления новых прогностических факторов, влияющих на онкологический прогноз при метастатическом поражении костей. Это приведет к оптимизации методик хирургического лечения пациентов с метастазами в кости и разработке новых алгоритмов выбора объема хирургических вмешательств.

Ключевые слова: метастазы, хирургическое лечение, позвоночник, компрессия спинного мозга, патологический перелом, длинные кости скелета.

ISSUES OF DIAGNOSIS AND TREATMENT OF METASTASES IN THE SPINE AND LONG BONES

A.V. Bukharov, D.A. Erin, V.A. Derzhavin, A.V. Yadrina

P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
31, 2-nd Botkhinskii Proezd, 125284, Moscow, Russia. E-mail: ErinDmAl@yandex.ru

Abstract

Purpose: to conduct a systematic analysis of data available in the current literature, modern diagnostic algorithms, prognostic factors, survival and options for surgical treatment of metastases in the spine and long bones of the extremities. **Material and Methods.** The review included data from randomized clinical trials evaluating various diagnostic algorithms for detecting bone metastases, the frequency of metastases to the vertebral column and long bones, their number, and options for surgical or radiation treatment published over the past 10 years. The review also evaluated various prognostic factors that can be used to determine the patient's life expectancy. **Results.** Diagnostic algorithms and scales that help choose treatment strategy, taking into account prognostic factors, were published. The treatment outcomes in patients with spine and long bone metastases were shown to be improved due to personalized surgical treatment strategies. **Conclusion.** Further studies are needed to identify new prognostic factors determining the oncological outcomes in patients with bone metastases. This will lead to the optimization of surgical treatment methods and the development of new algorithms for choosing the extent of surgery in patients with bone metastases.

Key words: metastasis, surgical treatment, spine, spinal cord compression, pathological fracture, long bones of the skeleton.

В общей структуре смертности онкологические заболевания занимают 2-е место. Согласно данным реестра злокачественных новообразований в России, в последнее десятилетие заболеваемость увеличивается, но благодаря улучшению лечения показатели смертности остаются практически на том же уровне с небольшой тенденцией к уменьшению [1]. По частоте метастатического поражения скелет занимает 3-е место после легких и печени. Современные инструментальные методы диагностики (ПЭТ-КТ, МРТ всего тела и т.д.), которые позволяют обнаружить метастазы в костях на ранних этапах, включены в протоколы обследования онкологических больных. В последнее время происходят существенные изменения тактики в лечении метастатического поражения костей. Раньше в большинстве случаев применялись анальгетическая лекарственная, лучевая и паллиативная терапия. В настоящее время происходит совершенствование лучевых и лекарственных методов лечения, появилась новая таргетная терапия, в том числе бифосфонаты и деносумаб, что, в свою очередь, позволило значительно продлить жизнь пациентов с метастатическим поражением скелета. Стали доступны различные варианты хирургических вмешательств с реконструкцией тканевых дефектов, многие варианты остеосинтеза возможно выполнить минимально инвазивными методами. Все вышеперечисленные факторы приводят к значительному увеличению выживаемости пациентов с метастазами, даже при их множественности, и позволяют улучшить качество жизни пациентов с осложнениями скелетных метастазов, например при переломах, сдавлении спинного мозга и т.д. В обзоре литературы обсуждаются вопросы диагностики, прогностические факторы, выживаемость и хирургическое лечение метастазов в позвоночник и длинные кости конечностей.

Диагностический алгоритм

Многие авторы [2–8] рекомендуют использовать различные диагностические протоколы для

оценки метастатического поражения. Эти блок-схемы помогают хирургам-ортопедам и онкологам установить правильный диагноз и спланировать наиболее корректное лечение. Протокол, который в 2017 г. опубликован M. Szendrői et al. [9], представлен на рис. 1.

При вторичном поражении костей у пациента с онкологическим заболеванием в анамнезе основной вопрос заключается в количестве метастазов. Для постановки диагноза следует использовать простые рентгенограммы, остеосцинтиграфию, МРТ [4, 5] или, в некоторых случаях, ПЭТ-КТ всего тела. При солитарном поражении необходимо оценить прогностические факторы, связанные с общим состоянием пациента и первичной опухолью. Биопсию необходимо выполнять при подозрении на появление второго онкологического заболевания или если показана операция, направленная на радикальное удаление опухоли. Оценив данные обследования, состояние пациента и местную распространенность опухоли, можно решить, проводить радикальную или паллиативную операцию.

При множественном метастатическом поражении скелета хирургическое вмешательство всегда является паллиативным. Вопрос здесь заключается в локальном статусе пораженной кости независимо от состояния пациента. Риск перелома может быть определен в соответствии со шкалой Mirels [10], где учитываются 4 фактора: локализация вторичного процесса (верхняя, нижняя конечность или ацетабуло-трохантерная область), объем разрушения костной массы по данным рентгенограмм и компьютерных томограмм (меньше 1/3 диаметра кости, 1/3–2/3 диаметра кости, больше 2/3 диаметра кости), тип метастаза (остеобластический, смешанный или остеолитический), наличие и выраженность болевого синдрома (выраженный, умеренный, незначительный) (табл. 1). Каждую ситуацию оценивают в баллах (1, 2 или 3), которые суммируют для получения общего числа. Если суммарный балл составляет 7 или меньше, рекомендуется наблюдать за патологическим

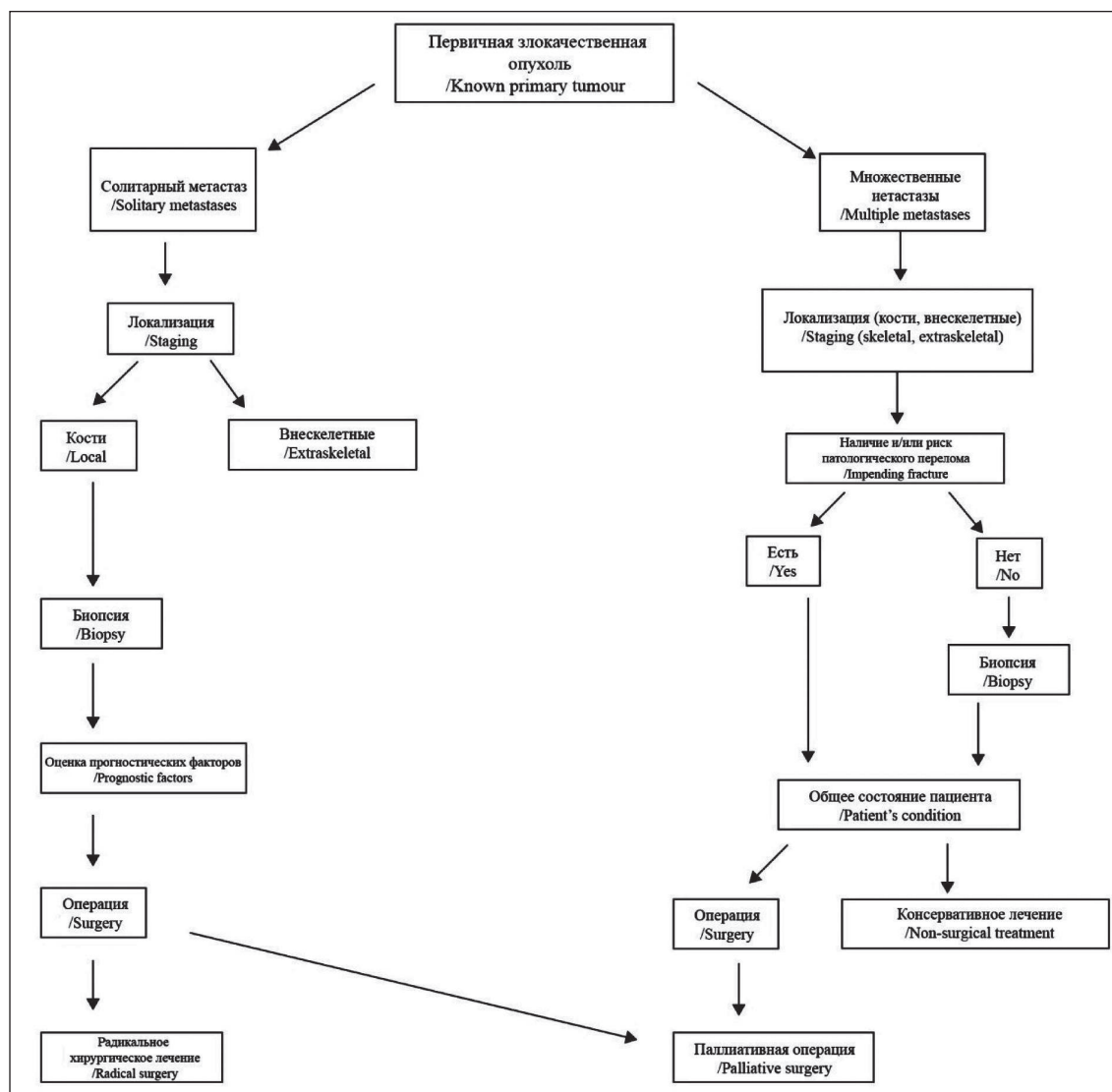


Рис. 1. Диагностический алгоритм при наличии риска патологического перелома (первичный очаг известен)
Fig. 1. Diagnostic algorithm at impending fracture (known primary tumor)

процессом, а при суммарном балле 8 и более риск развития патологического перелома высокий, поэтому рекомендуется выполнить внутреннюю фиксацию пораженной кости. Таким образом, самый высокий риск развития патологического перелома наблюдается при локализации процесса в ацетабуло-трохантерной зоне, поражении более 2/3 диаметра кости, при остеолитическом типе метастаза и при наличии выраженного болевого синдрома (суммарный балл – 12). В данных случаях, согласно шкале Mirels, показано хирургическое вмешательство (табл. 1).

Биопсия (тонкоигольная аспирационная биопсия или трепан-биопсия) необходима, если в анамнезе у пациента присутствуют два различных первичных злокачественных заболевания. В случае высокого риска патологического перелома необходима тщательная оценка всех аспектов, таких как тип первичной опухоли, химиочувствительность, радиочувствительность, количество метастазов и

общее состояние больного. Не всегда при высоком риске возникновения патологического перелома, особенно длинных костей верхней конечности, необходимо проводить хирургическое лечение в профилактических целях [11].

Если неизвестна первичная опухоль, то необходимо дополнительно исследовать опухолевые маркеры. Хирург-ортопед должен иметь в виду, что рак молочной железы, щитовидной железы, легких, почек и предстательной железы в 70 % случаев являются основными источниками метастатического поражения костей. Помогают выявить первичную опухоль МРТ всего тела, КТ грудной клетки, брюшной полости и малого таза, остеосцинтиграфия и ПЭТ-КТ. Последний метод обладает высокой чувствительностью, но низкой специфичностью, его необходимо выполнять при всех опухолях, обладающих высоким риском метастатического поражения костей (рак молочной железы, почек и т.д.). Для морфологического

Таблица 1/Table 1

Шкала Mirels

Mirels Score

Баллы/Score		1	2	3
Критерии оценки/ Criteria	Локализация/ Localization	Верхняя конечность/ Upper limb	Нижняя конечность/ Lower limb	Ацетабуло-трохантерная зона/ Peritrochanteric
	Боль/Pain	Незначительная/ Mild	Умеренная/Moderate	Выраженная/ Functional
	Тип метастаза/Lesion	Бластический/Blastic	Смешанный/Mixed	Литический/Lytic
	Размер/Size	Меньше 1/3 диаметра кости/ Less 1/3 of bone diameter	1/3–2/3 диаметра кости/ 1/3–2/3 of bone diameter	Более 2/3/ More 2/3

исследования требуется выполнение биопсии, которая также поможет выявить первичный очаг. Биопсия должна проводиться в конце комплекса диагностических исследований, поскольку нарушает целостность пораженной кости, что может привести к патологическому перелому.

Примерно 20 % пациентов с костными метастазами направляются с наличием патологического перелома в отделение травматологии. Очень важно понять, что данный перелом является патологическим, тактика лечения которых отличается от травматических [2]. При травмах для сопоставления отломков требуется срочный остеосинтез, лечение патологического перелома, как правило, может быть отсрочено. Гораздо важнее оценить общее состояние пациента и прогностические факторы, определить характер опухоли (первичный или метастатический), нежели просто выполнить какой-либо вариант хирургического лечения, например эндопротезирование или цементную пластику. Это позволяет избежать ошибок в выборе тактики лечения, таких как применение интрамедуллярного остеосинтеза на протяжении всей кости при первичной остеосаркоме.

Несмотря на то, что пациенты с патологическими переломами конечностей часто находятся в тяжелом состоянии, проведение обследования для выявления первичной опухоли необходимо. Эндоскопическое исследование желудочно-кишечного тракта, МРТ, остеосцинтиграфия, КТ органов грудной клетки, брюшной полости и таза, а также рентгенография позволяют выявить пять наиболее частых первичных опухолей.

Прогностические факторы и выживаемость

Потенциальные прогностические факторы широко исследованы. Ряд авторов предложили прогностические модели выживаемости пациентов на основе скрининговых систем [12–17]. Однако очень трудно точно оценить фактическую выживаемость при метастатическом поражении костей. Необходимо учитывать множество факторов при поражении длинных костей или позвоночного столба. Большинство авторов до сих пор рассматривают

гистотип первичной опухоли как один из наиболее важных прогностических факторов выживаемости. Основываясь на крупных исследованиях регрессионного анализа Кокса, выявили следующие дополнительные важные факторы: общее состояние в соответствии с индексом Карновского; наличие висцеральных метастазов; уровень гемоглобина и количество метастазов. Спорным вопросом является наличие патологического перелома как прогностического фактора. Некоторые авторы [18–20] не нашли статистически доказанной релевантной корреляции в этом отношении, в то время как большинство, включая M.N. Kirkinis et al. [19], которые в метаанализе выявили меньшую выживаемость у пациентов с патологическим переломом. При этом при одномерном анализе по Каплану–Мейеру локализация, временной интервал между выявлением онкологического заболевания и метастазированием (более 3 лет), дополнительные консервативные методы лечения и тип хирургического вмешательства также являлись значимыми факторами в случаях с солитарными метастазами. В другом исследовании возраст, пол, способ хирургической фиксации и локализация в различных длинных костях существенной роли не играли.

Самое высокое количество солитарных метастазов – 38,8 % – наблюдалось в реестре Скандинавской саркомной группы (n=1195) среди пациентов с почечно-клеточным раком [2]. Логически можно было бы предположить, что наилучшая пятилетняя выживаемость также наблюдается в этой группе, после радикального хирургического лечения, но это не так. Это может быть связано с тем, что в большинстве случаев наблюдается рецидив заболевания через несколько лет и дополнительные консервативные методы лечения (лучевая терапия, интерферон и др.) мало влияют на общую выживаемость. P.P. Lin et al. обнаружили, что светлоклеточный гистологический подтип был связан с лучшей выживаемостью [21]. По данным S.A. Fuhrman et al., первичная опухоль не является прогностическим фактором [22]. M. Szendrői et al. подтверждают это, кроме того, они смогли продемонстрировать хорошую корреляцию между степенью метастатического поражения и выжи-

ваемостью [9]. При сравнении данных с показателями S.A. Fuhrman et al. [22] у 40 % пациентов отмечались прогрессирование онкологического заболевания и увеличение количества метастазов, в 30 % случаев выявлена стабилизация процесса и в 30 % отмечалась положительная динамика. Прогноз выживаемости в большей степени зависит от количества метастазов, чем от гистологического строения первичной опухоли почки. Y. Toyoda et al. обнаружили значительную разницу в продолжительности жизни пациентов в зависимости от синхронного или метасинхронного появления метастазов в анамнезе. При интервале между диагностикой первичной опухоли и появлением метастазов, превышающем 24 мес, отмечено увеличение выживаемости [17].

По данным исследования большой когорты пациентов (n=7064), примерно у 22 % женщин, у которых имеется рак молочной железы, развиваются метастазы в кости [23]. Факторами риска развития метастазов в кости являются размер опухоли (>5 см), низкая степень дифференцировки опухоли, подтип опухоли и количество пораженных лимфатических узлов. При наличии рака молочной железы с метастазами в кости факторами, влияющими на выживаемость, являются распространенность заболевания (множественность метастазов, наличие висцеральных метастазов) и длительность симптомов [24]. Другие авторы в многофакторной регрессионной модели Кокса в качестве благоприятных прогностических факторов отмечают эстроген-положительный рецепторный статус, солитарный характер метастатического поражения и включение в терапию бифосфонатов [25]. Также в качестве негативных факторов отмечают возраст (старше 60 лет) и уровень гемоглобина менее 110 г/л [26].

Лечение пациентов с метастатическим поражением костей при раке легких и меланоме, с точки зрения выживаемости имеет плохие результаты (табл. 2) [2, 17, 25, 27–34]. У больных раком легких метастазы в основном множественные. Медиана выживаемости у данной группы составляет менее одного года. H. Sugiura et al. выделили следующие факторы, которые положительно влияют на выживаемость: гистологический подтип – аденокарцинома, солитарные поражения, отсутствие висцеральных метастазов, хорошее общее состояние пациента, применение химиотерапии или таргетной терапии (ингибитор EGFR) [29].

Данные последних исследований по оценке выживаемости больных, которым проводилось хирургическое лечение метастазов в кости, представлены в табл. 2. В исследованиях, включающих все типы первичной опухоли, показатели однолетней выживаемости находились в диапазоне от 40 до 50 %, что значительно ниже, чем при метастазах рака молочной железы, почки, предстательной железы и дифференцированного рака щитовид-

ной железы, но выше, чем при метастазах рака легких. Отмечены высокие значения однолетней выживаемости при раке молочной железы и почки (45–59 %), в течение первых 5 лет показатели выживаемости снижаются (8–20 %). Наилучшие пятилетние результаты достигнуты при хирургическом лечении солитарных метастазов.

Хирургическое лечение

Оперативное вмешательство не является основным методом лечения метастазов в кости. В частности, при множественных метастазах в кости лечение начинается с паллиативной химио-, радио- или гормональной терапии или новых таргетных методов лечения в зависимости от гистологической структуры первичной опухоли. Вероятность патологического перелома может быть эффективно снижена при использовании бисфосфонатов и деносумаба.

Основными целями хирургического лечения являются уменьшение болевого синдрома, профилактика патологического перелома, восстановление мобильности пациента и улучшение качества его жизни. Выраженный болевой синдром и наличие патологического перелома являются показаниями к операции. При наличии угрозы патологического перелома показания к хирургическому вмешательству не так очевидны, необходимо учитывать многие аспекты, такие как общее состояние пациента, гистотип первичной опухоли, а также предположительную эффективность других консервативных методов лечения, которые должны быть оценены до принятия решения о проведении операции по профилактике патологического перелома. С одной стороны, хирургическое вмешательство несет в себе риски для пациента, а также влияет на иммунный статус. С другой стороны, имеются достоверные данные о том, что на фоне консервативного лечения с высокой вероятностью патологический перелом произойдет. Статистические данные подтверждают это: из 1195 пациентов, которым выполнено хирургическое лечение, у 74,2 % патологический перелом уже произошел и у 18,3 % – имелся риск возникновения патологического перелома [2].

Вероятность метастатического поражения различных областей скелета неодинакова. Согласно данным реестра онкологических заболеваний в России [1], бедренная кость поражается в 64 %, плечевая кость – в 21 %, таз – в 9 % случаев. Менее 1 % метастазов приходится на области кистей и стоп. Три четверти поражений приходится на проксимальный отдел бедренной кости, тогда как в плечевой кости наиболее часто поражается диафиз.

Существует множество хирургических методов для остеосинтеза и реконструкции костных дефектов. Гистологическая структура первичной опухоли, общее состояние пациента, другие прогностические факторы ожидаемой продолжительности жизни и локальная степень распространения

Таблица 2/Table 2

Выживаемость онкологических больных, которым проводилось хирургическое лечение метастазов в кости

Survival of cancer patients after surgery

Авторы/ Authors	Кол-во пациентов, первичная опухоль/ Number of patients, primary tumor	Выживаемость/Survival						
		Медиана/ Median	6 мес/ 6 months	1 год/ 1 year	2 года/ 2 years	3 года/ 3 years	5 лет/ 5 years	10 лет/ 10 years
Lin et al., 2007	Рак почки/ Renal cell cancer (n=295)	–	–	47 %	30 %	–	11 %	–
Hwang et al., 2014	Рак почки/ Renal cell cancer (n=135)	–	–	72 %	–	45 %	28 %	–
Toyoda et al., 2007	Рак почки/ Renal cell cancer (n=50)	12 мес/ 12 months	–	–	37 %	–	–	–
Szendrői et al., 2010	Рак почки/ Renal cell cancer (n=64)	–	–	58 %	39,5 %	30 %	19,2 %; При солитар- ных – 35,5 %/ With solitary – 35,5 %	–
Dürr et al., 2002	Рак молочной железы/ Breast cancer (n=70)	–	–	59 %	36 %	–	13%; При солитар- ных – 39 %/ With solitary – 39 %	7
Ahn et al., 2013	Рак молочной железы/ Breast cancer (n=110)	55 мес/ 55 months	–	–	–	–	–	При солитар- ных – 34,9 %/ With solitary – 34,9 %
Weiss et al., 2014	Рак молочной железы/ Breast cancer (n=301)	–	–	45 %	27 %	–	8 %	–
Oster et al., 2013	Рак молочной железы/ Breast cancer (n=621)	–	–	66,3 %	–	32,8 %	–	–
Sugiura et al., 2008	Рак легкого/ Lung cancer (n=118)	9,7 мес/ 9,7 months	59,9 %	36 %	11 %	–	–	–
Weiss and Wedin 2011	Рак легкого/ Lung cancer (n=98)	3 мес/ 3 months	24 %	13 %	6 %	–	–	–
Oster et al., 2013	Рак легкого/ Lung cancer (n=477)	–	–	19 %	–	2,5 %	–	–
Ratasvuori et al., 2013	Все типы опухолей/ All types (n=1107)	–	58 %	41 %	–	–	2 %	–
Harvey et al., 2012	Все типы опухолей/ All types (n=158)	–	–	51 %	29 %	–	–	–
Nakayama et al., 2014	Рак щитовидной же- лезы/ Thyroid cancer (n=40)	–	–	77 %	–	–	64 %	45 %

метастаза в кости – все это играет определенную роль в планировании операции. В редких случаях (например, при солитарных метастазах, небольшом поражении или когда очаг можно резецировать без большой операционной травмы) опухоль должна быть удалена радикально, чтобы избежать дальнейшего продолженного роста и рецидива болевого синдрома. В большинстве случаев хирургический подход с использованием мини-инвазивной методики оправдан в качестве сугубо паллиативной

помощи в исходе заболевания для предотвращения осложнений [3, 5].

Более двух третей метастазов бедренной кости локализируются в проксимальном эпи-метафизе. Большинство авторов отдают предпочтение обычным эндопротезам длинных костей с использованием цемента или модульным онкологическим эндопротезам в тех случаях, когда выполнение подобной операции обеспечивает пациенту восстановление мобильности и сопряжено с меньшим количеством

осложнений, чем интрамедуллярный или накостный остеосинтез [35, 36]. При наличии опухоли в области вертлужной впадины используется классификация K.D. Harrington [37], когда при выборе варианта лечения учитываются локализация и объем поражения [38]. При патологическом переломе или угрозе его возникновения в области диафиза длинной кости могут использоваться также экстракорткальный, интрамедуллярный остеосинтез или эндопротез. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки. При малой прогнозируемой продолжительности жизни оптимальным является использование интрамедуллярного остеосинтеза, дополненного использованием костного цемента. Пациент сможет сразу же нагружать конечность, а при необходимости лучевую терапию можно начать на ранних сроках послеоперационного периода. Однако с течением времени возрастают риски развития патологического перелома и асептической нестабильности из-за продолженного роста опухоли [39]. Для лечения метастазов, расположенных в области коленного сустава, у пациентов с небольшой ожидаемой продолжительностью жизни рационально использовать также интрамедуллярный и накостный остеосинтез. У пациентов с лучшим прогнозом следует использовать эндопротезирование. Однако следует принимать во внимание высокую цену этих типов эндопротезов. Хорошие результаты описаны при использовании пластины с цементной фиксацией для коррекции проксимальных патологических переломов плечевой кости [40]. В то же время R. Wedin et al. рекомендовали выполнять сегментарную резекцию с эндопротезированием для значительных по объему поражений метастазов проксимального отдела плечевой кости и блокирующего интрамедуллярного остеосинтеза для лечения патологических переломов диафизарного сегмента [36].

Частота осложнений, связанных с хирургическим лечением метастатических поражений кости, довольно высока – от 9 до 22 % для плечевой кости [33, 40] и от 10 до 30 % для бедренной кости [2, 5, 36]. Осложнения связаны в основном со значительной деструкцией кости, неудачным выбором имплантата, прогрессированием заболевания, ухудшением общего состояния пациента, а также вывихом протеза, расшатыванием, перипротезной инфекцией и переломом имплантата.

Метастатическое поражение позвоночника

Наиболее часто метастазы поражают позвоночный столб [41]. Частота симптомных метастазов в позвоночник постоянно растет вместе с ростом онкологической заболеваемости и увеличившейся выживаемостью. Учитывая особенности анатомии и биомеханики позвоночника, ранняя диагностика и адекватное лечение таких метастазов имеют решающее значение для сохранения качества жизни пациента [42]. Определение показаний к хирур-

гическому вмешательству является ключевым вопросом, и оно тесно связано с клиническими проявлениями и общим прогнозом. В последние годы внедрены новые методы лечения, такие как малоинвазивная и стереотаксическая лучевая терапия, позволяющие достичь долгосрочного местного контроля.

Диагностические аспекты, стабильность

После комплексного обследования пациента, проводимого по поводу метастатического поражения костей, при наличии метастазов в позвонки, необходимо оценить биомеханическую стабильность позвоночного столба. Нестабильность связана с последующими патологическими переломами и неврологическими нарушениями, которые значительно снижают качество жизни пациента, а также влияют на его продолжительность жизни. Раннее выявление очагов нестабильности имеет решающее значение в выборе метода лечения. Это является сложной задачей, поскольку необходимо учитывать совокупность как рентгенологических, так и клинических данных. Опухолевая нестабильность характеризуется потерей структурной целостности позвоночника на фоне неопластического процесса, который может сопровождаться болевым синдромом при движении, появлением неврологических нарушений и деформацией позвоночного столба при физиологических нагрузках.

Первая научно обоснованная, комплексная и простая в использовании шкала оценки нестабильности позвоночника при метастатическом поражении была опубликована в 2010 г. исследовательской группой по изучению онкологических заболеваний позвоночника (SOSG) [44]. Онкологическая шкала нестабильности позвоночника (SINS) – это балльная система, основанная на 6 признаках (табл. 3). Сумма этих параметров оценивается баллами (от 0 до 18), где более высокий указывает на большую нестабильность позвоночника. Программа разработана для того, чтобы помочь онкологу поликлинического звена решить, следует ли направлять пациента к вертебрологу или нет. Необходимо направлять пациентов на консультацию при поражениях с общим баллом 7 и более (потенциально нестабильные и нестабильные повреждения) [44, 45]. Достоверность и специфичность данной шкалы доказана в различных независимых исследованиях. В своем исследовании члены SOSG выявили высокую достоверность и чувствительность (95,7 %), но умеренную специфичность (79,5 %) шкалы SINS. Опубликованы новые данные трех независимых исследований (в том числе AOSpine KF) о клиническом применении шкалы SINS. В настоящее время она включена в клинические рекомендации западноевропейских стран. Шкала также используется для решения вопросов о тактике дальнейшего лечения пациентов с метастазами в позвоночник. В SINS используются такие кри-

Таблица 3/Table 3

Онкологическая шкала нестабильности позвоночника (SINS)

Spine instability neoplastic score (SINS)

Локализация/Location	
3 балла	Переходный уровень (C0-C2, C7-T2, T11-L1, L5-S1)/Junctional
2 балла	Мобильный сегмент (C3-C6, L2-L4)/Mobile spine
1 балл	Полуригидный (Th3-Th10) /Semi-rigid
0 баллов	Ригидный (S2-S5) /Regid
Боль/Pain	
3 балла	Да/Yes
1 балл	Нет (периодически при надавливании)/Occasional pain but not mechanical
0 баллов	Безболезненно/Pain-free
Характеристика метастаза /Bone lesion	
2 балла	Литический/Lytic
1 балл	Смешанный (литическое/бластическое)/ Mixed
0 баллов	Бластический/Blastic
Рентгенологическая картина: /Radiographic spinal alignment	
4 балла	Подвывих/нестабильность/Subluxation/translation present
2 балла	De novo деформация (кифоз/сколиоз)/De novo deformity (kyphosis/scoliosis)
0 баллов	Без патологии/Normal alignment
Снижение высоты тел позвонков	
3 балла	>50 % высоты тела/>50 % collapse
2 балла	<50 % высоты тела/<50 % collapse
1 балл	Без уменьшения высоты тела, >50 % тела позвонков поражено/ No collapse with >50 % body involved
0 баллов	Ничего вышеперечисленного/None of the above
Вовлечение задних элементов (фасетки, ножки или реберно позвоночные суставы)/ Posterolateral involvement of spinal elements	
3 балла	Двустороннее/Bilateral
1 балл	Одностороннее/Unilateral
0 баллов	Ничего вышеперечисленного/None of the above
Интерпретация/ Total score	
0–6	Стабильное поражение/Stable
7–12	Умеренная нестабильность/Potentially unstable
13–18	Выраженная нестабильность/Unstable
При наличии 7 баллов и более необходимо направить пациента на консультацию к вертебрологу/ SINS score of 7 or higher requires consultation with a spine surgeon	

терии, как степень неврологических нарушений, онкологические параметры заболевания, механические критерии стабильности позвоночного столба, системные критерии заболевания (NOMS) [46], а также показатели физического статуса (LMNOP) [47].

За последние несколько лет опубликованы результаты ряда исследований, касающихся клинического прогностического значения шкалы SINS, наиболее высокий балл был достоверно связан с необходимостью повторного облучения и с возникновением неврологических нарушений после проведения лучевой терапии метастатических очагов [48]. Установлено, что выживаемость после хирургического лечения не связана с количеством баллов SINS, но последующий компрессионный перелом позвоночника, в случаях с более высоким показателем шкалы SINS, значительно снижал качество жизни пациентов [49] (табл. 3).

Прогностические факторы и выживаемость

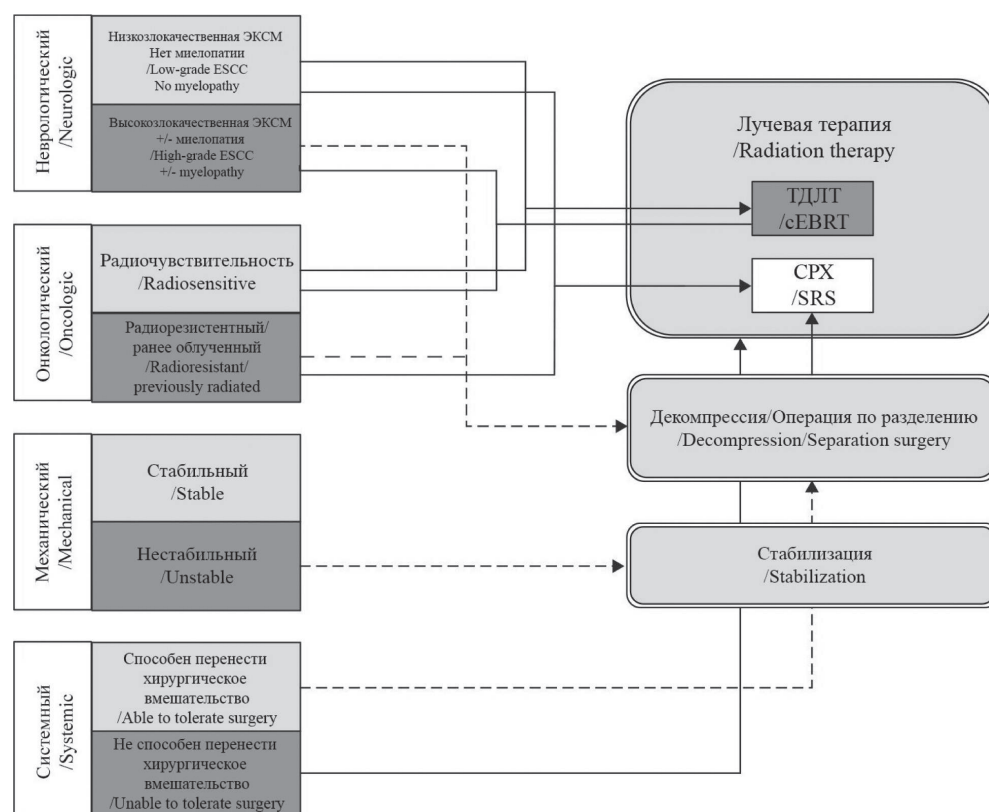
Недавно был опубликован ряд исследований, посвященных использованию различных систем прогнозирования при метастазах в позвоночник. L. Bollen et al. [50] сравнили 6 прогностических шкал оценки выживаемости 1379 пациентов, у которых диагностировано метастатическое поражение позвоночника. Общая медиана выживаемости составила 5,1 мес (0,8–18,6 мес) в зависимости от гистотипа первичной опухоли. Отмечена существенная разница в ожидаемой продолжительности жизни в зависимости от трех наиболее часто встречающихся гистологических типов первичной опухоли, метастазирующих в кости. Наибольшая выживаемость отмечена при метастазах рака молочной железы – 28 %, медиана – 18,6 мес; второй наиболее распространенный тип – диссеминированный рак легких – показал низкую продолжительность

жизни, медиана – 2,0 мес; в то время как третий гистологический тип (предстательная железа) показал среднюю выживаемость, медиана – 7,4 мес. Это крупное исследование лежит в основе важнейшего онкологического принципа оценки выживаемости – ожидаемая продолжительность жизни пациента в основном определяется гистологическим типом первичной опухоли. Неудивительно, что этот фактор является основным прогностическим фактором во всех ранее опубликованных прогностических шкалах при метастатическом поражении позвоночника. L. Bollen et al. [51] сообщают, что оценка общего состояния пациента и наличие висцеральных метастазов в сочетании с гистологической структурой первичной опухоли представляют собой наиболее эффективную и простую шкалу оценки. Общее состояние, оцениваемое по шкале Карновского, является значимым фактором оценки качества жизни у пациентов, получивших хирургическое лечение [52]. Достоверно выявлено, что пациенты с низким значением индекса Карновского (<60) не отметили значительного улучшения после операции независимо от предоперационного неврологического статуса. J.J. Verlaan et al. проанализировали данные большой когорты пациентов (n=1266), проживших менее 3 мес или более 2 лет после хирургического лечения по поводу метастатического поражения позвоночника. Авторы отмечают, что возраст старше

65 лет и индекс Карновского менее 60 % связаны с низкой продолжительностью жизни, в то время как меньшее количество пораженных позвонков и благоприятный первичный тип опухоли (рак молочной железы, рак щитовидной железы) связаны с длительной выживаемостью [53].

Лучевая терапия и хирургическое лечение

Лучевая терапия и хирургическое лечение являются двумя наиболее эффективными вариантами локального лечения метастазов в позвоночный столб. Оба метода за последнее десятилетие значительно усовершенствованы, поэтому правильная оценка и выбор метода лечения позволяют значительно улучшить локальный контроль с минимальным количеством осложнений. За последнее десятилетие опубликовано несколько алгоритмов выбора тактики лечения пациентов с метастатическим поражением костей, однако ни один из них не показал свою достоверность в рандомизированных исследованиях. Мультидисциплинарная команда Мемориального онкологического центра Sloan-Kettering разработала шкалу NOMS (рис. 2), включающую все ранее описанные значимые факторы, которые применимы в клинической практике. При этом каждый из описанных факторов должен быть проанализирован у всех пациентов с метастатическим поражением позвоночника, однако, как



ЭКМ: эпидуральная компрессия спинного мозга /ESCC: epidural spinal cord compression

CPX: стереотаксическая радиохирургия /SRS: stereotactic radiosurgery

ТДЛТ: традиционная дистанционная лучевая терапия /cEBRT: conventional external beam radiation therapy

Рис. 2. Шкала NOMS.

Система принятия решений по лечению метастазов в позвоночник при системных заболеваниях

Fig.2. NOMS score. Decision-making system for the treatment of spinal metastases

отмечают авторы, доступность различных вариантов лечения сильно отличается в зависимости от страны, в которой лечится пациент [46].

Для выработки тактики хирургического лечения больных с метастатическим поражением позвоночника необходимо проводить оценку неврологического статуса для выявления вовлечения спинного мозга или корешков и оценивать связанный с этим неврологический дефицит. Степень эпидуральной компрессии спинного мозга (ЭКСМ) является ключевым элементом в выборе лечения, длительность и скорость развития неврологических симптомов определяют сроки проведения хирургического вмешательства. После систематического обзора AOSpine KF были опубликованы рекомендации относительно необходимости и срочности хирургической декомпрессии, согласно которым пациент с неврологическим дефицитом, вызванным ЭКСМ, приводящим к потере мобильности, нуждается в срочной хирургической декомпрессии, если нет онкологических или медицинских противопоказаний. Диагностика ЭКСМ должна быть достаточно быстрой, а после выявления с целью минимизации неврологических нарушений необходимо в кратчайшие сроки выполнить операцию [54]. Для рассмотрения возможности проведения лучевой терапии необходимо оценить радиочувствительность опухоли, предшествующее лучевое лечение и доступность лучевой терапии. Принимать решение о выборе тактики лечения можно только с учетом вышеописанных данных. Солитарные опухоли имеют различную радиочувствительность. Рак молочной железы, рак предстательной железы и яичников обычно чувствительны к лучевой терапии, в то время как рак почки, щитовидной железы, толстой кишки и немелкоклеточный рак легких, саркома и меланома обладают меньшей радиочувствительностью, вплоть до полной радиорезистентности.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году. М., 2019. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2018. Moscow, 2019. 250 p. (in Russian)].
2. Ratasvuori M., Wedin R., Keller J., Nottrott M., Zaikova O., Bergh P., Kalen A., Nilsson J., Jonsson H., Laitinen M. Insight opinion to surgically treated metastatic bone disease: Scandinavian Sarcoma Group Skeletal Metastasis Registry report of 1195 operated skeletal metastasis. *Surg Oncol.* 2013; 22(2): 132–8. doi: 10.1016/j.suronc.2013.02.008.
3. Willeumier J.J., van der Linden Y.M., van de Sande M.A.J., Dijkstra P.D.S. Treatment of pathological fractures of the long bones. *EFORT Open Rev.* 2017; 1(5): 136–45. doi: 10.1302/2058-5241.1.000008.
4. Biermann J.S., Holt G.E., Lewis V.O., Schwartz H.S., Yaszemski M.J. Metastatic bone disease: diagnosis, evaluation, and treatment. *J Bone Joint Surg Am.* 2009; 91(6): 1518–30.
5. Bickels J., Dadia S., Lidar Z. Surgical management of metastatic bone disease. *J Bone Joint Surg Am.* 2009; 91(6): 1503–16. doi: 10.2106/JBJS.H.00175.
6. Ashford R.U., Pendlebury S., Stalley P.D. Management of metastatic disease of the appendicular skeleton. *Curr Orthop* 2006; 20: 299–315.
7. Shibata H., Kato S., Sekine I., Abe K., Araki N., Iguchi H., Izumi T., Inaba Y., Osaka I., Kawai A., Kimya S., Kodaira M., Kobayashi E., Kobayashi T., Sato J., Shinohara N., Takahashi S., Takamatsu Y., Takayama K., Takayama K., Tateishi U., Nagakura H., Hosaka M., Morioka H., Morioka T., Yuasa T., Yurikusa T., Yomiya K., Yoshida M. Diagnosis and treatment of bone metastasis: comprehensive guideline of the Japanese

Стереотаксическая радиохирургия (SRS) должна использоваться при лечении радиорезистентных опухолей для достижения длительного локального контроля [55, 56]. Шкала нестабильности позволяет оценить механическую стабильность. Нестабильные повреждения требуют стабилизирующей операции. Использование малоинвазивных хирургических методов, таких как транскutánная стабилизация, трубчатые ретракторы и минидоступ, уменьшает количество периоперационных осложнений.

Важным фактором прогнозирования хирургического вмешательства авторы шкалы NOMS считают оценку соматического состояния пациента и его возможность перенести тот или иной вид хирургического вмешательства. Необходимо оценить сопутствующие заболевания, общее состояние здоровья и опухолевую интоксикацию. Минимизация хирургического вмешательства может сделать операцию более безопасной для пациентов. Таким образом, малоинвазивные технологии декомпрессии дурального мешка с послеоперационной лучевой терапией SRS были бы оптимальным и эффективным вариантом лечения в большинстве случаев [57].

Заключение

Изучение прогноза онкологического заболевания позволяет улучшить результаты лечения больных с метастазами в позвоночник и длинные кости за счет индивидуализированного выбора тактики и объема хирургического лечения. Дальнейшие научные исследования, позволяющие выявить новые факторы, влияющие на онкологический прогноз при метастатическом поражении костей, приведут к оптимизации методик хирургического лечения и разработке алгоритма выбора объема оперативных вмешательств [58].

Society of Medical Oncology, Japanese Orthopedic Association, Japanese Urological Association, and Japanese Society for Radiation Oncology. *ESMO Open.* 2016; 1(2). doi: 10.1136/esmoopen-2016-000037.

8. Ruggieri P., Mavrogenis A.F., Casadei R., Errani C., Angelini A., Calabrò T., Pala E., Mercuri M. Protocol of surgical treatment of long bone pathological fractures. *Injury.* 2010; 41: 1161–7. doi: 10.1016/j.injury.2010.09.018.

9. Szendrői M., Antal I., Szendrői A., Lazáry A., Varga P.P. Diagnostic algorithm, prognostic factors and surgical treatment of metastatic cancer diseases of the long bones and spine. *EFORT Open Rev.* 2017; 2(9): 372–381. doi: 10.1302/2058-5241.2.170006.

10. Mirels H. Metastatic disease in long bones. A proposed scoring system for diagnosing impending pathologic fractures. *Clin Orthop Relat Res.* 1989; 249: 256–64.

11. Laitinen M., Ratasvuori M., Pakarinen T.-K. The multi-modal approach to metastatic diseases. *European Instructional Lectures.* Berlin, Heidelberg: Springer, 2012. 35–44. doi:10.1007/978-3-642-27293-6_4.

12. Forsberg J.A., Eberhardt J., Boland P.J., Wedin R., Healey J.H. Estimating survival in patients with operable skeletal metastases: an application of a bayesian belief network. *PLoS One.* 2011; 6(5). doi: 10.1371/journal.pone.0019956.

13. Katagiri H., Okada R., Takagi T., Takahashi M., Murata H., Harada H., Nishimura T., Asakura H., Ogawa H. New prognostic factors and scoring system for patients with skeletal metastasis. *Cancer Med.* 2014; 3: 1359–67. doi: 10.1002/cam4.292.

14. Westhoff P.G., de Graeff A., Monnikhof E.M., Bollen L., Dijkstra S.P., van der Steen-Banasik E.M., van Vulpen M., Leer J.W., Marijnien C.A., van der Linden Y.M.; Dutch Bone Metastasis Study Group. An easy tool

to predict survival in patients receiving radiation therapy for painful bone metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2014; 90(4): 739–47. doi: 10.1016/j.ijrobp.2014.07.051.

15. Janssen S.J., van der Heijden A.S., van Dijke M., Ready J.E., Raskin K.A., Ferrone M.L., Hornicek F.J., Schwab J.H. 2015 Marshall Urist Young Investigator Award: Prognostication in Patients With Long Bone Metastases: Does a Boosting Algorithm Improve Survival Estimates? *Clin Orthop Relat Res*. 2015; 473(10): 3112–21. doi: 10.1007/s11999-015-4446-z.

16. Bollen L., van der Linden Y.M., Pondaag W., Fiocco M., Pattynama B.P., Marijnen C.A., Nelissen R.G., Peul W.C., Dijkstra P.D. Prognostic factors associated with survival in patients with symptomatic spinal bone metastases: a retrospective cohort study of 1,043 patients. *Neuro Oncol*. 2014; 16(7): 991–8. doi: 10.1093/neuonc/not318.

17. Toyoda Y., Shinohara N., Harabayashi T., Abe T., Akino T., Sazawa A., Nonomura K. Survival and prognostic classification of patients with metastatic renal cell carcinoma of bone. *Eur Urol*. 2007; 52(1): 163–8. doi: 10.1016/j.eururo.2006.10.060.

18. Nathan S.S., Healey J.H., Mellano D., Hoang B., Lewis I., Morris C.D., Athanasian E.A., Boland P.J. Survival in patients operated on for pathologic fracture: implications for end-of-life orthopedic care. *J Clin Oncol*. 2005; 23(25): 6072–82. doi: 10.1200/JCO.2005.08.104.

19. Kirkinis M.N., Lyne C.J., Wilson M.D., Choong P.F. Metastatic bone disease: A review of survival, prognostic factors and outcomes following surgical treatment of the appendicular skeleton. *Eur J Surg Oncol*. 2016; 42(12): 1787–97. doi: 10.1016/j.ejso.2016.03.036.

20. Hansen B.H., Keller J., Laitinen M., Berg P., Skjeldal S., Trovik C., Nilsson J., Walloe A., Kalén A., Wedin R. The Scandinavian Sarcoma Group Skeletal Metastasis Register. Survival after surgery for bone metastases in the pelvis and extremities. *Acta Orthop Scand Suppl*. 2004; 75(311): 11–5. doi: 10.1080/00016470410001708270.

21. Lin P.P., Mirza A.N., Lewis V.O., Cannon C.P., Tu S.M., Tannir N.M., Yasko A.W. Patient survival after surgery for osseous metastases from renal cell carcinoma. *J Bone Joint Surg Am*. 2007; 89(8): 1794–801. doi: 10.2106/JBJS.F.00603.

22. Fuhrman S.A., Lasky L.C., Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1982; 6(7): 655–63. doi: 10.1097/00000478-198210000-00007.

23. Harries M., Taylor A., Holmberg L., Agbaje O., Garma H., Kabilan S., Purushotham A. Incidence of bone metastases and survival after a diagnosis of bone metastases in breast cancer patients. *Cancer Epidemiol*. 2014; 38(4): 427–34. doi: 10.1016/j.canep.2014.05.005.

24. Dürr H.R., Müller P.E., Lenz T., Baur A., Jansson V., Refior H.J. Surgical treatment of bone metastases in patients with breast cancer. *Clin Orthop Relat Res*. 2002; (396): 191–6.

25. Ahn S.G., Lee H.M., Cho S.H., Lee S.A., Hwang S.H., Jeong J., Lee H.D. Prognostic factors for patients with bone-only metastasis in breast cancer. *Yonsei Med J*. 2013; 54(5): 1168–77. doi: 10.3349/ymj.2013.54.5.1168.

26. Weiss R.J., Tullberg E., Forsberg J.A., Bauer H.C., Wedin R. Skeletal metastases in 301 breast cancer patients: patient survival and complications after surgery. *Breast*. 2014; 23(3): 286–90. doi: 10.1016/j.breast.2014.02.012.

27. Hwang N., Nandra R., Grimer R.J., Carter S.R., Tillman R.M., Abudu A., Jeys L.M. Massive endoprosthetic replacement for bone metastases resulting from renal cell carcinoma: factors influencing patient survival. *Eur J Surg Oncol*. 2014; 40(4): 429–34. doi: 10.1016/j.ejso.2013.08.001.

28. Oster G., Lamerato L., Glass A.G., Richert-Boe K.E., Lopez A., Chung K., Richhariya A., Dodge T., Wolff G.G., Balakumaran A., Edelsberg J. Natural history of skeletal-related events in patients with breast, lung, or prostate cancer and metastases to bone: a 15-year study in two large US health systems. *Support Care Cancer*. 2013; 21(12): 3279–86. doi: 10.1007/s00520-013-1887-3.

29. Sugiura H., Yamada K., Sugiura T., Hida T., Mitsudomi T. Predictors of survival in patients with bone metastasis of lung cancer. *Clin Orthop Relat Res*. 2008; 466(3): 729–36. doi: 10.1007/s11999-007-0051-0.

30. Weiss R.J., Wedin R. Surgery for skeletal metastases in lung cancer. *Acta Orthop*. 2011; 82: 96–101. doi: 10.3109/17453674.2011.552779.

31. Harvey N., Ahlmann E.R., Allison D.C., Wang L., Menendez L.R. Endoprostheses last longer than intramedullary devices in proximal femur metastases. *Clin Orthop Relat Res*. 2012; 470(3): 684–91. doi: 10.1007/s11999-011-2038-0.

32. Mavrogenis A.F., Pala E., Romagnoli C., Romantini M., Calabro T., Ruggieri P. Survival analysis of patients with femoral metastases. *J Surg Oncol*. 2012; 105(2): 135–41. doi: 10.1002/jso.22061.

33. Wedin R., Hansen B.H., Laitinen M., Trovik C., Zaikova O., Bergh P., Kalén A., Schwarz-Lausten G., Vult von Steyern F., Walloe A., Keller J., Weiss R.J. Complications and survival after surgical treatment of 214 metastatic lesions of the humerus. *J Shoulder Elbow Surg*. 2012; 21(8): 1049–55. doi: 10.1016/j.jse.2011.06.019.

34. Nakayama R., Horiuchi K., Susa M., Watanabe I., Watanabe K., Tsuji T., Matsumoto M., Toyama Y., Morioka H. Clinical outcome after bone metastasis (BM) surgery in patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC): a retrospective study of 40 cases. *Jpn J Clin Oncol*. 2014; 44(10): 918–25. doi: 10.1093/jjco/hyu099.

35. Liska F., Schmitz P., Harrasser N., Prodinger P., Rechl H., von Eisenhart-Rothe R. [Metastatic disease in long bones: Review of surgical treatment options]. *Unfallchirurg*. 2018. 121, 37–46. doi: 10.1007/s00113-016-0282-1.

36. Wedin R., Bauer H.C. Surgical treatment of skeletal metastatic lesions of the proximal femur: endoprosthesis or reconstruction nail? *J Bone Joint Surg Br*. 2005; 87(12): 1653–7. doi: 10.1302/0301-620X.87B12.16629.

37. Harrington K.D. The management of acetabular insufficiency secondary to metastatic malignant disease. *J Bone Joint Surg Am*. 1981 Apr; 63(4): 653–64. PMID: 6163784.

38. Tillman R.M., Myers G.J.C., Abudu A.T., Carter S.R., Grimer R.J. The three-pin modified ‘Harrington’ procedure for advanced metastatic destruction of the acetabulum. *J Bone Joint Surg [Br]*. 2008; 90-B: 84–7. doi: 10.1302/0301-620X.90B1.19892.

39. Miller B.J., Soti E.E., Gibbs C.P., Scarborough M.T. Intramedullary nails for long bone metastases: why do they fail? *Orthopedics*. 2011; 34(4). doi: 10.3928/01477447-20110228-12.

40. Weiss K.R., Bhumbra R., Biau D.J., Griffin A.M., Dehesi B., Wunder J.S., Ferguson P.C. Fixation of pathological humeral fractures by the cemented plate technique. *J Bone Joint Surg Br*. 2011; 93(8): 1093–7. doi: 10.1302/0301-620X.93B8.26194.

41. Jacobs W.B., Perrin R.G. Evaluation and treatment of spinal metastases: an overview. *Neurosurg Focus*. 2001; 11(6). doi: 10.3171/foc.2001.11.6.11.

42. Smith B.D., Smith G.L., Hurria A., Hortobagyi G.N., Buchholz T.A. Future of cancer incidence in the United States: burdens upon an aging, changing nation. *J Clin Oncol*. 2009; 27(17): 2758–65. doi: 10.1200/JCO.2008.20.8983.

43. Fisher C.G., DiPaola C.P., Ryken T.C., Bilsky M.H., Shaffrey C.I., Berven S.H., Harrop J.S., Fehlings M.G., Boriani S., Chou D., Schmidt M.C., Polly D.W., Biagini R., Burch S., Dekutoski M.B., Ganju A., Gerszten P.C., Gokaslan Z.L., Groff M.W., Liebsch N.J., Mendel E., Okuno S.H., Patel S., Rhines L.D., Rose P.S., Sciubba D.M., Sundaresan N., Tomita K., Varga P.P., Vialle L.R., Vrionis F.D., Yamada Y., Fourny D.R. A novel classification system for spinal instability in neoplastic disease: an evidence-based approach and expert consensus from the Spine Oncology Study Group. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010; 35(22): 1221–9. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181e16ae2.

44. Campos M., Urrutia J., Zamora T., Román J., Canessa V., Borghero Y., Palma A., Molina M. The Spine Instability Neoplastic Score: an independent reliability and reproducibility analysis. *Spine J*. 2014; 14(8): 1466–9. doi: 10.1016/j.spinee.2013.08.044.

45. Arana E., Kovacs F.M., Royuela A., Asenjo B., Pérez-Ramírez Ú., Zamora J.; Spanish Back Pain Research Network Task Force for the Improvement of Inter-Disciplinary Management of Spinal Metastasis. Spine Instability Neoplastic Score: agreement across different medical and surgical specialties. *Spine J*. 2016; 16(5): 591–9. doi: 10.1016/j.spinee.2015.10.006.

46. Laufer I., Rubin D.G., Lis E., Cox B.W., Stubblefield M.D., Yamada Y., Bilsky M.H. The NOMS framework: approach to the treatment of spinal metastatic tumors. *Oncologist*. 2013; 18(6): 744–51. doi: 10.1634/theoncologist.2012-0293.

47. Ivanishvili Z., Fourny D.R. Incorporating the Spine Instability Neoplastic Score into a treatment strategy for spinal metastasis: LMNOP. *Global Spine J*. 2014; 4: 129–36. doi: 10.1055/s-0034-1375560.

48. Lam T.C., Uno H., Krishnan M., Lutz S., Groff M., Cheney M., Balboni T. Adverse Outcomes After Palliative Radiation Therapy for Uncomplicated Spine Metastases: Role of Spinal Instability and Single-Fraction Radiation Therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015; 93(2): 373–81. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.06.006.

49. Lee S.H., Tatsui C.E., Ghia A.J., Amini B., Li J., Zavarella S.M., Tannir N.M., Brown P.D., Rhines L.D. Can the spinal instability neoplastic score prior to spinal radiosurgery predict compression fractures following stereotactic spinal radiosurgery for metastatic spinal tumor?: a post hoc analysis of prospective phase II single-institution trials. *J Neurooncol*. 2016; 126(3): 509–17. doi: 10.1007/s11060-015-1990-z.

50. Bollen L., Wibmer C., van der Linden Y.M., Pondaag W., Fiocco M., Peul W.C., Marijnen C.A., Nelissen R.G., Leithner A., Dijkstra P.D. Predictive Value of Six Prognostic Scoring Systems for Spinal Bone Metastases: An Analysis Based on 1379 Patients. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2016; 41(3): 155–62. doi: 10.1097/BRS.0000000000001192.

51. Bollen L., van der Linden Y.M., Pondaag W., Fiocco M., Pattynama B.P., Marijnen C.A., Nelissen R.G., Peul W.C., Dijkstra P.D. Prognostic factors associated with survival in patients with symptomatic spinal bone metastases: a retrospective cohort study of 1,043 patients. *Neuro Oncol*. 2014; 16(7): 991–8. doi: 10.1093/neuonc/not318.

52. Choi D., Fox Z., Albert T., Arts M., Balabaud L., Bunger C., Buchowski J.M., Coppes M.H., Depreitere B., Fehlings M.G., Harrop J., Kawahara N., Martin-Benlloch J.A., Massicotte E.M., Mazel C., Oner F.C., Peul W., Quraishi N., Tokuhashi Y., Tomita K., Verlaan J.J., Wang M., Crockard H.A. Prediction of Quality of Life and Survival After Surgery for Symptomatic Spinal Metastases: A Multicenter Cohort Study to Determine Suitability for Surgical Treatment. *Neurosurgery*. 2015; 77(5): 698–708. doi: 10.1227/NEU.0000000000000907.
53. Verlaan J.J., Choi D., Versteeg A., Albert T., Arts M., Balabaud L., Bunger C., Buchowski J.M., Chung C.K., Coppes M.H., Crockard H.A., Depreitere B., Fehlings M.G., Harrop J., Kawahara N., Kim E.S., Lee C.S., Leung Y., Liu Z., Martin-Benlloch A., Massicotte E.M., Mazel C., Meyer B., Peul W., Quraishi N.A., Tokuhashi Y., Tomita K., Ulbricht C., Wang M., Oner F.C. Characteristics of Patients Who Survived < 3 Months or > 2 Years After Surgery for Spinal Metastases: Can We Avoid Inappropriate Patient Selection? *J Clin Oncol*. 2016; 34(25): 3054–61. doi: 10.1200/JCO.2015.65.1497.
54. Laufer I., Zuckerman S.L., Bird J.E., Bilsky M.H., Lazary A., Quraishi N.A., Fehlings M.G., Sciubba D.M., Shin J.H., Mesfin A., Sahgal A., Fisher C.G. Predicting Neurologic Recovery after Surgery in Patients with Deficits Secondary to MESCC: Systematic Review. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2016; 224–30. doi: 10.1097/BRS.0000000000001827.
55. Gerszten P.C., Mendel E., Yamada Y. Radiotherapy and radiosurgery for metastatic spine disease: what are the options, indications, and outcomes? *Spine (Phila Pa 1976)*. 2009; 34(22): 78–92. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181b8b6f5.
56. Chang J.H., Shin J.H., Yamada Y.J., Mesfin A., Fehlings M.G., Rhines L.D., Sahgal A. Stereotactic Body Radiotherapy for Spinal Metastases: What are the Risks and How Do We Minimize Them? *Spine (Phila Pa 1976)*. 2016; 238–45. doi: 10.1097/BRS.0000000000001823.
57. Zuckerman S.L., Laufer I., Sahgal A., Yamada Y.J., Schmidt M.H., Chou D., Shin J.H., Kumar N., Sciubba D.M. When Less Is More: The indications for MIS Techniques and Separation Surgery in Metastatic Spine Disease. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2016; 246–53. doi: 10.1097/BRS.0000000000001824.
58. Бухаров А.В., Алиев М.Д., Державин В.А., Ядрина А.В. Стратегия персонализированного хирургического лечения онкологических больных с метастазами в костях. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2020. 9(3): 61–5. doi: 10.17116/onkolog2020903161. [Bukharov A.V., Aliev M.D., Derzhavin V.A., Yadrina A.V. Strategy for personalized surgical treatment of cancer patients with bone metastases. *Oncology. Journal them. P.A. Herzen*. 2020. 9(3): 61–5. (in Russian)]. doi: 10.17116/onkolog2020903161.

Поступила/Received 11.12.2020

Одобрена после рецензирования/Revised 16.06.2021

Принята к публикации /Accepted 07.07.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бухаров Артем Викторович, кандидат медицинских наук, заведующий, группа по лечению опухолей мягких тканей и костей, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8349-0930. ORCID: 0000-0002-2976-8895.

Ерин Дмитрий Алексеевич, врач-онколог, группа по лечению опухолей мягких тканей и костей, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: erindmal@yandex.ru. SPIN-код: 1769-2667. ORCID: 0000-0002-3501-036X.

Державин Виталий Андреевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, группа по лечению опухолей мягких тканей и костей, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1811-2737. ORCID: 0000-0002-4385-9048.

Ядрина Анна Викторовна, кандидат медицинских наук, врач-онколог, группа по лечению опухолей мягких тканей и костей, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9058-3922. ORCID: 0000-0002-7944-3108.

ВКЛАД АВТОРОВ

Бухаров Артем Викторович: разработка концепции научной работы, анализ работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Ерин Дмитрий Алексеевич: анализ научной работы, составление черновика рукописи.

Державин Виталий Андреевич: анализ работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Ядрина Анна Викторовна: составление черновика рукописи, статистическая обработка.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительное финансирование.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Artem V. Bukharov, MD, PhD, Head of the Department of Soft Tissue and Bone Tumors, P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-2976-8895.

Dmitry A. Erin, MD, Oncologist, Department of Soft Tissue and Bone Tumors, P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). E-mail: erindmal@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-3501-036X.

Vitaly A. Derzhavin, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Soft Tissue and Bone Tumors, P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-4385-9048.

Anna V. Yadrina, MD, PhD, Oncologist, Department of Soft Tissue and Bone Tumors P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-7944-3108.

AUTHOR CONTRIBUTION

Artem V. Bukharov: study conception, supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Dmitry A. Erin: drafting of the manuscript, data interpretation and analysis

Vitaly A. Derzhavin: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Anna V. Yadrina: data statistical analysis.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Малкова А.М., Орлова Р.В., Жукова Н.В., Губаль А.Р., Шаройко В.В. Анализ возможных маркеров эффективного противоопухолевого клеточного иммунного ответа при назначении ингибиторов контрольных точек. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 109–117. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-109-117

For citation: Malkova A.M., Orlova R.V., Zhukova N.V., Gubal A.R., Sharoyko V.V. Analysis of possible markers of effective antitumor cellular immune response before starting therapy with immune check-point inhibitors. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 109–117. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-109-117

АНАЛИЗ ВОЗМОЖНЫХ МАРКЕРОВ ЭФФЕКТИВНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ НАЗНАЧЕНИИ ИНГИБИТОРОВ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК

А.М. Малкова¹, Р.В. Орлова^{1,2}, Н.В. Жукова^{1,2}, А.Р. Губаль¹, В.В. Шаройко^{1,3}

ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Россия¹
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9, Россия.

E-mail: anya.malkova.95@mail.ru¹

СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Россия²
Россия, 198255, г. Санкт-Петербург, пр-т Ветеранов, 56²

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург, Россия³

Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8³

Аннотация

Цель исследования – анализ возможных маркеров эффективного противоопухолевого клеточного иммунного ответа. **Материал и методы.** С помощью ключевых слов: ингибиторы контрольных точек, иммунотерапия, Т-лимфоциты, истощенные Т-лимфоциты, противоопухолевый иммунный ответ – были отобраны обзорные и оригинальные статьи (n=34), опубликованные с 2005 по 2020 г. в международных базах данных PubMed, Web of Science, Elsevier. **Результаты.** Исследование выявило потенциальные маркеры, отражающие высокую активность адаптивного иммунного ответа, основанного на эффективном распознавании антигенов опухоли через молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС), достаточном количестве Т-лимфоцитов и преобладании Т-цитотоксических клеток, а также на низком уровне экспрессии ингибиторных рецепторов и малых молекул. Свою предиктивную значимость показали наличие полиморфизмов единичных нуклеотидов в генах HLA-I и HLA-II, кодирующих белки МНС-I и МНС-II соответственно, высокий уровень лимфоцитов, среди которых наиболее важно преобладание CD8+ Т-клеток и низкий уровень Т-регуляторных клеток (Т-reg), а также наличие полиморфизмов единичных нуклеотидов в генах, кодирующих FcγR рецепторы Т-лимфоцитов. Также была выявлена диагностическая значимость определения экспрессии ингибиторных рецепторов Т-лимфоцитов – TIM3, LAG3, TIGIT, особенно в комплексе с определением уровня экспрессии PD1. **Заключение.** Полученные результаты могут быть актуальны для внедрения новых методов оценки функциональной активности Т-клеточного иммунного ответа перед назначением ИКТ, а также для разработки новых диагностических панелей, что может представлять интерес для сотрудников клинко-диагностических лабораторий и исследовательских центров.

Ключевые слова: опухоль, адаптивный иммунный ответ, маркеры, эффективность, противоопухолевая терапия.

ANALYSIS OF POSSIBLE MARKERS OF EFFECTIVE ANTITUMOR CELLULAR IMMUNE RESPONSE BEFORE STARTING THERAPY WITH IMMUNE CHECK-POINT INHIBITORS

A.M. Malkova¹, R.V. Orlova^{1,2}, N.V. Zhukova^{1,2}, A.R. Gubal¹, V.V. Sharoiko^{1,3}

Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia¹

7–9, Universitetskaya Emb., 199034, Saint Petersburg, Russia.

E-mail: anya.malkova.95@mail.ru¹

Saint Petersburg Clinical Oncology Center, Saint Petersburg, Russia²

56, Veteranov Ave., 56, 198255, Saint Petersburg, Russia²

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia³

6-8, Tolstoy St., 197022, Saint Petersburg, Russia³

Abstract

The aim of the study. To analyse possible markers of an effective antitumor cellular immune response. **Material and Methods.** Using the keywords «checkpoint inhibitors, immunotherapy, T-lymphocytes, exhausted T-lymphocytes, anti-tumor immune response», review and original articles (n=34) published from 2005 to 2020 in the PubMed, Web of Science, Elsevier databases were selected. **Results.** The study revealed possible markers reflecting a high activity of an adaptive immune response based on effective recognition of tumor antigens through MHC molecules, a sufficient number of T-lymphocytes and a predominance of T-cytotoxic cells, as well as a low level of expression of inhibitory receptors and small molecules. The presence of single nucleotide polymorphisms in the HLA-I and HLA-II genes encoding MHC-I and MHC-II proteins, respectively, a high level of lymphocytes, among which the most important is the predominance of CD8+ T cells and a low level of T-regulatory cells (T-reg), as well as the presence of single nucleotide polymorphisms in the genes encoding FcγR receptors of T-lymphocytes showed their predictive significance. The diagnostic significance of determining the expression of inhibitory receptors for T-lymphocytes (TIM3, LAG3, TIGIT), especially in combination with the determination of PD-1 expression, was also revealed. **Conclusion.** The results obtained may be relevant for applying new methods for the assessment of the functional activity of the T-cell immune response before starting therapy with checkpoint inhibitors, as well as for the development of new diagnostic panels, which may be of interest to employees of clinical diagnostic laboratories and research centers.

Key words: tumor, adaptive immune response, biomarkers, efficacy, antitumor therapy.

Введение

Наиболее доступными препаратами для иммунной терапии (ИТ) являются ингибиторы контрольных точек (ИКТ), моноклональные антитела, ингибирующие рецепторы CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 – гликопротеин цитотоксических Т-лимфоцитов 4) и PD-1 (programmed cell death 1 – рецептор программируемой клеточной гибели 1) на Т-клетках и PD-L1 (ligand of programmed cell death 1 receptor – лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1) на опухолевых клетках. Ингибирование контрольных точек CTLA-4 и PD-1, лиганда PD-L1 помогает CD-8+ Т-клеткам идентифицировать опухолевый антиген в комплексе с молекулами гистосовместимости МНС-I. Этот процесс способствует дифференциации Т-лимфоцитов (Т-ЛФ) в цитотоксические клетки. Одновременно происходит активация CD4+ Т-лимфоцитов, которые распознают опухолевый антиген в комплексе с молекулой МНС-II антигенпрезентирующих клеток (АПК). Т-хелперы способствуют дифференциации CD-8+ Т-клеток через продукцию IL-2. Цитотоксические

Т-лимфоциты начинают секретировать различные цитокины, в основном интерферон γ (IFN- γ), фактор некроза опухоли α (TNF- α), вызывая цитотоксические реакции, осуществляемые Т-клетками и натуральными киллерами (НК). Кроме того, ингибирование контрольных точек снижает активность Т-регуляторных клеток (Т-рег), синтезирующих противовоспалительный IL-10, что также способствует противоопухолевому иммунному ответу [1]. Таким образом, препараты индуцируют и усиливают цитотоксический иммунный ответ.

Подобный патогенетический подход в лечении неоплазий показал высокую цитотоксическую активность препаратов в экспериментальных работах, но в клинической практике данная терапия оказалась эффективной не во всех случаях [2]. Поэтому анализ возможных характеристик Т-клеточного иммунного ответа является весьма важным при назначении и контроле эффективности иммунотерапии.

В клинической практике в качестве предиктивного маркера при назначении ИКТ используется определение суррогатных маркеров – PD1/PDL1

молекул, экспрессируемых опухолевыми или иммунными клетками [3]. Однако иммуногистохимический анализ описанных молекул не отражает полной картины состояния адаптивного иммунного ответа пациента. Более того, в клинических исследованиях применения ИКТ при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) и меланоме было показано, что определение уровня экспрессии контрольных точек не позволяет объективно оценить прогностическую значимость этих маркеров [4, 5]. Поэтому представляется важным выявление дополнительных критериев, согласно которым назначение терапии ИКТ будет оправдано и результативно.

Цель исследования – анализ возможных маркеров эффективного противоопухолевого клеточного иммунного ответа.

Материал и методы

Были исследованы обзорные и оригинальные статьи (n=34), опубликованные с 2005 по 2020 г. в международных базах данных PubMed, Web of Science, Elsevier, отобранные с использованием ключевых слов: ингибиторы контрольных точек, иммунотерапия, Т-лимфоциты, истощенные Т-лимфоциты, противоопухолевый иммунный ответ.

Результаты и обсуждение

Для эффективного иммунного ответа необходима активация каскада последовательных реакций, в которых участвуют различные рецепторы Т-клеток, опухоли и антиген-презентирующие клетки. Развитие цитотоксического ответа зависит от пре-

обладания стимулирующих или ингибирующих молекул на поверхности всех клеток – участников процесса. Данная система способствует защите от аутоиммунных реакций, которая основана на взаимодействии Т-клеток с ингибирующими рецепторами при контакте с нормальными клетками. Способность опухолевых клеток избежать иммунный ответ, в частности, основана на гиперэкспрессии ингибирующих рецепторов, среди которых в качестве таргетного белка известна молекула PD-L1 [6]. Другие стимулирующие и ингибирующие рецепторы представлены на рис. 1.

Характеристика опухолевых антигенов

Так как активация цитотоксического иммунного ответа инициируется распознаванием чужеродных антигенов в комплексе с молекулами МНС, можно предположить, что чем более вариабельны антигены опухоли или молекулы МНС, тем эффективнее Т-клеточный иммунный ответ [7]. Характеристиками разнообразия мутаций могут служить несинонимичные варианты одиночных нуклеотидных полиморфизмов (ОНП), которые определяют уровень мутационной нагрузки опухоли (tumor mutational burden – TMB). Для меланомы и НМРЛ была показана положительная взаимосвязь высокого уровня несинонимичных вариантов одиночных нуклеотидов (nonsynonymous single nucleotide variants – nsSNVs) с ответом на иммунотерапию и увеличением общей выживаемости [7–9]. Наличие микросателлитных нестабильностей (MSI) или нарушения восстановления ДНК (MMRd) также оказалось положительным предиктивным фактором

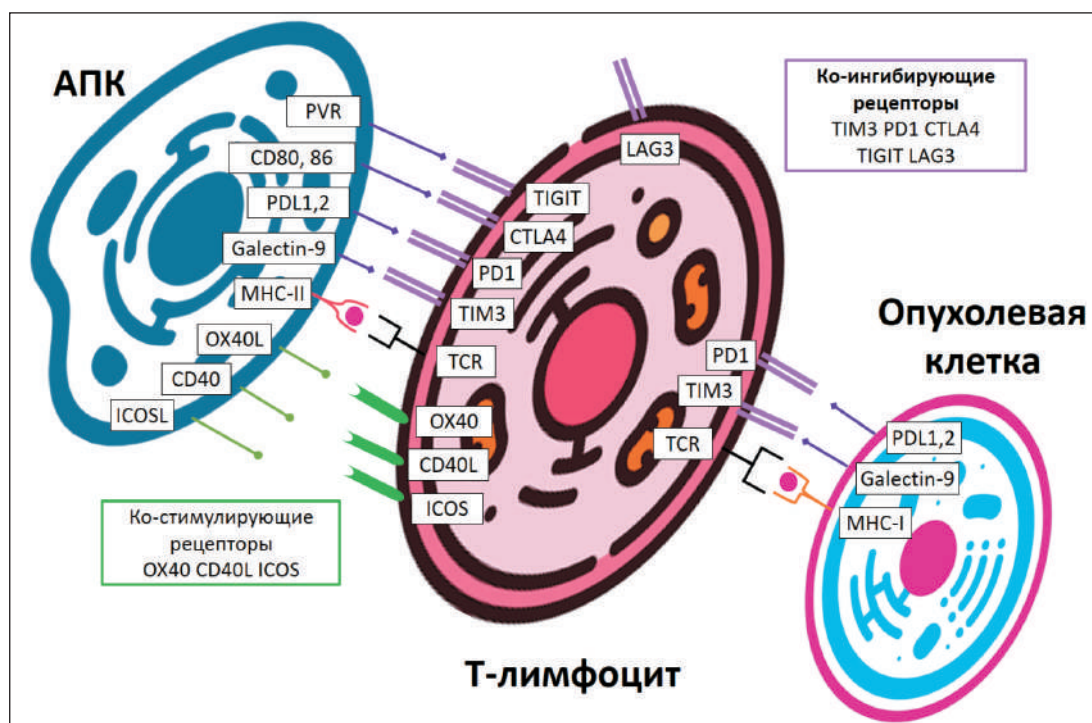


Рис. 1. Ко-стимулирующие и ко-ингибирующие рецепторы, экспрессируемые АПК, Т-лимфоцитами и опухолевыми клетками
Fig. 1. Co-stimulating and co-inhibiting receptors expressed by antigen-presenting cells, T-lymphocytes, tumor cells

в независимости от типа солидной опухоли [10]. Исследовательская группа Ascierto et al. выявила, что наличие гиперэкспрессии 5 генов (IGK, GBP1, STAT1, IGLL5, OCLN) при раке молочной железы может использоваться в качестве биомаркеров эффективности терапии ИКТ [11]. Важно отметить, что уровень мутаций в циркулирующих ДНК (цДНК) коррелирует с относительным уровнем ТМВ и ответом на терапию, а, значит, результаты генотипирования цДНК также могут отражать мутагенную вариабельность опухоли и служить предиктивным маркером [12].

Вариабельность генотипов HLA, кодирующих молекулы МНС, также показала свою предиктивную значимость при оценке эффективности терапии ингибиторами контрольных точек. D. Chowell et al. выявили, что при наличии гетерозиготности по генотипам HLA-B and HLA-C наблюдается более высокая общая выживаемость, в частности, среди пациентов с меланомой, получающих ИКТ, наиболее благоприятным генотипом является HLA-B44 [13]. У пациентов с меланомой, принимающих ипилимумаб, обнаружена взаимосвязь увеличения общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования с общей мутационной нагрузкой, неоантигенной нагрузкой, экспрессией цитолитических маркеров в иммунном микроокружении, а также высоким уровнем вариабельности генотипов HLA класса I – эволюционной дивергенцией HLA-I (HLA evolutionary divergence -HED) [14]. У пациентов с высоким уровнем HED и ТМВ выживаемость была значительно выше, чем при высоком уровне каждого параметра в отдельности [15].

В исследовании D.B. Johnson et al. показано, что экспрессия МНС-II на опухолевых клетках меланомы ассоциирована с терапевтическим ответом, более высоким уровнем выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости, а также с инфильтрацией опухоли CD4 и CD8 Т-лимфоцитами [16], что впоследствии было подтверждено для других типов опухолей [17, 18] и при комбинированной иммунотерапии [19].

У HR+/HER2-негативных пациентов экспрессия МНС-II опухолевыми клетками показала свою предиктивную значимость для анти-PD-1 терапии в комбинации с химиотерапией, но не для химиотерапии в монорежиме [18]. Авторы объясняют данную закономерность тем, что экспрессия МНС-II на опухолевых клетках способствует более эффективному распознаванию антигенных пептидов Т- и В-клетками, что может усиливать ответ на лечение. При этом в микроокружении опухолей, экспрессирующих МНС-II, позже был выявлен лиганд молекулы МНС-II, подобный рецептору Fc6 (FCRL6), который активируется после проведения иммунотерапии анти-PD-1 препаратами. Рецептор FCRL6, взаимодействуя с МНС-II, обеспечивает иммуносупрессивный сигнал, который напрямую подавляет цитотоксическую активность НК и

секрецию эффекторных Т-клеточных цитокинов. В связи с этим авторы предлагают рассматривать FCRL6 как новую мишень для иммунотерапии [20].

Количество и функциональная активность Т-лимфоцитов

Наиболее простым критерием функциональности адаптивного иммунитета является количество лимфоцитов. В многочисленных исследованиях был показан предиктивный потенциал определения соотношения нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови [21]. По данным T. Jiang et al., при соотношении нейтрофилов и лимфоцитов (НФ:ЛФ) до лечения более 5:1 уровень общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования на терапии анти-CTLA4 и анти-PD1 снижается [22]. Также важно соотношение активных и регуляторных Т-клеток. Увеличение количества CD4+ и CD8+ Т-клеток памяти и IL-2, активатора Т-клеточного цитотоксического ответа на фоне общего повышения лимфоцитов ассоциировано с улучшением противоопухолевого ответа при терапии ипилимумабом при меланоме [23–25]. При этом, согласно другим исследованиям, эффективность ИКТ при лечении метастатической меланомы также ассоциирована с низким уровнем Т-рег, продуцируемого ими IL-10, и миелоидных клеток супрессоров [25–27].

Помимо количества лимфоцитов весьма важно определять и их функциональную активность [28]. F. Arce Vargas et al. показали, что при наличии однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms – SNP) в генах, кодирующих FcγR рецепторы Т-лимфоцитов, наблюдается повышение эффективности анти-CTLA4 терапии. Наблюдаемая закономерность объясняется тем, что при большем разнообразии рецепторов Т-клеток повышается их способность реагировать на большее количество антигенов, что способствует более эффективному противоопухолевому иммунному ответу [29].

Одной из причин снижения эффективности является увеличение количества истощенных Т-лимфоцитов, у которых снижена функциональная способность к делению и продукции цитокинов. Истощенные Т-клетки характеризуются гиперэкспрессией ингибиторных рецепторов: PD-1, CTLA-4, муцинового домена-3 (TIM3), белка, кодируемого геном активации лимфоцитов-3 (LAG3), иммуноглобулина Т-клеток и доменов ITIM (TIGIT), CD160, CD244 и др [30]. Ниже перечислены причины, которые отвечают за подобную гиперэкспрессию:

- повышенная антигенная нагрузка [31, 32]. С ростом опухоли антигенная нагрузка растет, а значит, размер опухоли может отражать вероятность наличия истощенных Т-клеток. Подтверждением данной гипотезы может служить исследование

М. Katsurada et al., показавшее, что при исходном размере опухоли более 10 см (basal tumor size-BTS) у пациентов с НМРЛ на монотерапии ИКТ выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость были значительно короче [33]. Поэтому назначение ИКТ в качестве первой линии имеет патогенетическое значение и обладает большей эффективностью при сравнении с назначением данных препаратов во второй линии, в том числе в комбинации с химиотерапией [34];

- повышение уровня Т-рег, синтезирующих иммуносупрессивные молекулы: IL-10, IL-35, трансформирующий ростовой фактор бета (TGFβ), индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO), аденозин [34, 35]. Т-рег активируют несколько ингибирующих рецепторов, включая PD-1, CTLA-4, Tim-3 и TIGIT [34, 36–38]. Они также активируют молекулы, участвующие в дисфункции Т-клеток: CD39, CD73 и CCR4 [39];

- нарушение распознавания антигенов CD4-Т-клетками;

- конкуренция с костимулирующими рецепторами за связывание с-лигандами [40, 41];

- усиление экспрессии ингибиторных генов, например, при активации генов BATF при связывании с PD-1 [42];

- дисбаланс ингибиторных рецепторов и костимулирующих рецепторов, конкурирующих за один и тот же лиганд, например, лиганды, активирующие TIGIT и ингибирующие CD226 [43].

Определение экспрессии ингибиторных рецепторов Т-ЛФ как в ткани опухоли, так и в периферической крови потенциально может рассматриваться в качестве оценки истощенности Т-лимфоцитов, что может служить предиктивным маркером эффективности иммунной терапии [44]. Например, у пациентов с метастатической меланомой при анализе опухоль-специфичных CD8+ Т-клеток было обнаружено, что при коэкспрессии Tim-3 и PD-1 противоопухолевая активность Т-лимфоцитов гораздо ниже, чем у PD-1⁺Tim-3⁺ и PD-1⁺Tim-3⁺ Т-клеток [45], тогда как коэкспрессия PD-1 и TIGIT не влияла на функциональную активность Т-ЛФ [43]. Повышенная экспрессия Tim-3 оказалась ассоциирована с неблагоприятным прогнозом для больных раком простаты [46], почек [47], желудка [48] и шейки матки [49]. Подобная ассоциация была обнаружена при анализе экспрессии LAG3 у пациентов с колоректальным раком [50] и хроническим лимфолейкозом [51].

Помимо определения экспрессии рецепторов лимфоцитов в качестве предиктивных маркеров были предложены растворимые показатели, ассоциированные с низкой функциональностью адаптивного иммунного ответа. Например, IL-10, синтезируемый Т-лимфоцитами, НК, антиген-презентирующими клетками и клетками опухоли [52], повышение уровня которого оказалось взаимосвязано с неблагоприятным прогнозом для паци-

ентов [53]. Среди малых молекул можно выделить аденозин, который нарушает эффекторные функции Т-клеток непосредственно через активацию аденозинового рецептора A2aR [54] и косвенно за счет увеличения функций Т-рег, уменьшения активации антиген-презентирующих клеток и индукции миелоидных супрессорных клеток [55], и индоламин-2,3-диоксигеназу (IDO), которая подавляет активность Т-клеток за счет уменьшения незаменимой аминокислоты триптофана и активирует Т-регуляторные клетки за счет биосинтеза кинуренина [56]. Было показано, что IDO способствует развитию резистентности к терапии ИКТ анти-CTLA-4 и анти-PD-1 [57].

Новые подходы усиления Т-клеточного иммунного ответа

В настоящее время имеется достаточно доказательств того, что двойное ингибирование ингибиторных рецепторов более эффективно, чем однократное ингибирование с целью усиления опухоль-специфичной цитотоксической активности CD8+ Т-клеток *in vitro* и *in vivo*, что было показано при изучении комбинаций ингибиторов PD-1 и CTLA-4, PD-1 и Tim-3, PD-1 и LAG-3 и PD-1 и TIGIT, PD1 и CD137 [43, 45, 58–61].

В качестве стимулирующего воздействия изучалось воздействие агонистами рецепторов-индукторов Т-лимфоцитов OX-40 [62]. Инъекция OX-40L:Ig или анти-OX-40R *in vivo* мышам с различными неоплазиями привела к активации противоопухолевого иммунного ответа CD4+ Т-лимфоцитов даже при малоиммуногенных опухолях.

В клинической практике можно найти примеры применения иммуномодуляторов совместно с ИКТ. D. Rafei-Shamsabadi et al. выявили стимулирующую роль IL-2 у пациентов с начальной резистентностью к терапии ингибиторами PD-1. После локального введения цитокина наблюдался полный или частичный ответ у 6 из 9 пациентов, а в биоптатах опухоли обнаружили образование воспалительного инфильтрата, включающего Т-лимфоциты и повышенный уровень эозинофилов [63].

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* показана иммуностимулирующая функция D-изомера 1-метил-триптофана, ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), что усиливало противоопухолевый эффект в режимах химио-иммунотерапии с использованием циклофосфида, паклитаксела или гемцитабина на мышинных моделях трансплантируемой меланомы и трансплантируемого и аутохтонного рака молочной железы [64]. Клиническая эффективность двойной блокады IDO/PD-1 наблюдалась в ходе продолжающегося исследования эпикадостата (ингибитор IDO) в комбинации с пембролизумабом (моноклональные антитела к PD-1) у пациентов с запущенными формами рака, включая меланому [65].

Закключение

Анализ литературных источников выявил потенциальные маркеры, отражающие высокую активность адаптивного иммунного ответа, основанного на эффективном распознавании антигенов опухоли через молекулы МНС, достаточном количестве Т-лимфоцитов и преобладании Т-цитотоксических клеток, а также на низком уровне экспрессии ингибиторных рецепторов и малых молекул. Согласно ряду исследований, свою предиктивную значимость показали наличие полиморфизмов единичных нуклеотидов в генах HLA-I

и HLA-II, кодирующих белки МНС-I и МНС-II соответственно, высокий уровень лимфоцитов, среди которых наиболее важно преобладание CD8⁺ Т-клеток и низкий уровень Т-рег, а также наличие полиморфизмов единичных нуклеотидов в генах, кодирующих FcγR рецепторы Т-лимфоцитов. Также была выявлена диагностическая значимость определения уровня экспрессии ингибиторных рецепторов Т-лимфоцитов – TIM3, LAG3, TIGIT, особенно в комплексе с определением уровня экспрессии PD1.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Darwin P, Toor S.M., Sasidharan Nair V, Elkord E. Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers. *Exp Mol Med*. 2018; 50(12): 1–11. doi: 10.1038/s12276-018-0191-1.
2. Longo V, Brunetti O, Azzariti A, Galetta D, Nardulli P, Leonetti F, Silvestris N. Strategies to Improve Cancer Immune Checkpoint Inhibitors Efficacy, Other Than Abscopal Effect: A Systematic Review. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(4): 539. doi: 10.3390/cancers11040539.
3. Kambayashi Y, Fujimura T, Hidaka T, Aiba S. Biomarkers for Predicting Efficacies of Anti-PD1 Antibodies. *Front Med*. 2019; 6: 174. doi: 10.3389/fmed.2019.000174.
4. Davis A.A., Patel V.G. The role of PD-L1 expression as a predictive biomarker: an analysis of all US Food and Drug Administration (FDA) approvals of immune checkpoint inhibitors. *J Immunother Cancer*. 2019; 7(1): 278. doi: 10.1186/s40425-019-0768-9.
5. Aguiar P.N. Jr., Santoro I.L., Tadokoro H., de Lima Lopes G., Filardi B.A., Oliveira P., Mountzios G., de Mello R.A. The role of PD-L1 expression as a predictive biomarker in advanced non-small-cell lung cancer: a network meta-analysis. *Immunotherapy*. 2016; 8(4): 479–88. doi: 10.2217/imt-2015-0002.
6. Munhoz R.R., Postow M.A. Recent advances in understanding antitumor immunity. *F1000Res*. 2016; 5: 2545. doi: 10.12688/f1000research.9356.1.
7. McGranahan N, Furness A.J., Rosenthal R., Ramskov S., Lyngaa R., Saini S.K., Jamal-Hanjani M., Wilson G.A., Birkbak N.J., Hiley C.T., Watkins T.B., Shafi S., Murugaesu N., Mitter R., Akarca A.U., Linares J., Marafioti T., Henry J.Y., Van Allen E.M., Miao D., Schilling B., Schadendorf D., Garraway L.A., Makarov V., Rizvi N.A., Snyder A., Hellmann M.D., Merghoub T., Wolchok J.D., Shukla S.A., Wu C.J., Peggs K.S., Chan T.A., Hadhri S.R., Quezada S.A., Swanton C. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science*. 2016; 351(6280): 1463–9. doi: 10.1126/science.aaf1490.
8. Rizvi N.A., Hellmann M.D., Snyder A., Kvistborg P., Makarov V., Havel J.J., Lee W., Yuan J., Wong P., Ho T.S., Miller M.L., Rekhtman N., Moreira A.L., Ibrahim F., Bruggeman C., Gamsi B., Zappasodi R., Maeda Y., Sander C., Garon E.B., Merghoub T., Wolchok J.D., Schumacher T.N., Chan T.A. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. 2015; 348(6230): 124–8. doi: 10.1126/science.aal1348.
9. Snyder A., Makarov V., Merghoub T., Yuan J., Zaretsky J.M., Desrichard A., Walsh L.A., Postow M.A., Wong P., Ho T.S., Hollman T.J., Bruggeman C., Kannan K., Li Y., Elipenahli C., Liu C., Harbison C.T., Wang L., Ribas A., Wolchok J.D., Chan T.A. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med*. 2014; 371(23): 2189–99. doi: 10.1056/NEJMoa1406498.
10. Le D.T., Durham J.N., Smith K.N., Wang H., Bartlett B.R., Aulakh L.K., Lu S., Kemberling H., Wilt C., Luber B.S., Wong F., Azad N.S., Rucki A.L., Laheru D., Donehower R., Zaheer A., Fisher G.A., Crocenzi T.S., Lee J.J., Greten T.F., Duffy A.G., Ciombor K.K., Eyring A.D., Lam B.H., Joe A., Kang S.P., Holdhoff M., Danilova L., Cope L., Meyer C., Zhou S., Goldberg R.M., Armstrong D.K., Bever K.M., Fader A.N., Taube J., Housseau F., Spetzler D., Xiao N., Pardoll D.M., Papadopoulos N., Kinzler K.W., Eshleman J.R., Vogelstein B., Anders R.A., Diaz L.A. Jr. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017; 357(6349): 409–13. doi: 10.1126/science.aan6733.
11. Ascierto M.L., Kmiecik M., Idowu M.O., Manjili R., Zhao Y., Grimes M., Dumur C., Wang E., Ramakrishnan V., Wang X.Y., Bear H.D., Marincola F.M., Manjili M.H. A signature of immune function genes associated with recurrence-free survival in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2012; 131(3): 871–80. doi: 10.1007/s10549-011-1470-x.
12. Simeone E., Gentilecore G., Giannarelli D., Grimaldi A.M., Caracò C., Curvietto M., Esposito A., Paone M., Palla M., Calvacanti E., Sandomenico F., Petrillo A., Botti G., Fulciniti F., Palmieri G., Quei-

13. Chowell D., Morris L.G.T., Grigg C.M., Weber J.K., Samstein R.M., Makarov V., Kuo F., Kendall S.M., Requena D., Riaz N., Greenbaum B., Carroll J., Garon E., Hyman D.M., Zehir A., Solit D., Berger M., Zhou R., Rizvi N.A., Chan T.A. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy. *Science*. 2018; 359(6375): 582–7. doi: 10.1126/science.aao4572.
14. Van Allen E.M., Miao D., Schilling B., Shukla S.A., Blank C., Zimmer L., Sucker A., Hillen U., Foppen M.H.G., Goldinger S.M., Utikal J., Hassel J.C., Weide B., Kaehler K.C., Loquai C., Mohr P., Gutzmer R., Dummer R., Gabriel S., Wu C.J., Schadendorf D., Garraway L.A. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science*. 2015; 350(6257): 207–11. doi: 10.1126/science.aad0095.
15. Bradburn M.J., Clark T.G., Love S.B., Altman D.G. Survival analysis part II: multivariate data analysis—an introduction to concepts and methods. *Br J Cancer*. 2003; 89(3): 431–6. doi: 10.1038/sj.bjc.6601119.
16. Johnson D.B., Estrada M.V., Salgado R., Sanchez V., Doxie D.B., Opalenik S.R., Vilgelm A.E., Feld E., Johnson A.S., Greenplate A.R., Sanders M.E., Lovly C.M., Frederick D.T., Kelley M.C., Richmond A., Irish J.M., Shyr Y., Sullivan R.J., Puzanov I., Sosman J.A., Balko J.M. Melanoma-specific MHC-II expression represents a tumour-autonomous phenotype and predicts response to anti-PD-1/PD-L1 therapy. *Nat Commun*. 2016; 7: 10582. doi: 10.1038/ncomms10582.
17. Roemer M.G.M., Redd R.A., Cader F.Z., Pak C.J., Abdelrahman S., Ouyang J., Sasse S., Younes A., Fanale M., Santoro A., Zinzani P.L., Timmerman J., Collins G.P., Ramchandren R., Cohen J.B., De Boer J.P., Kuruvilla J., Savage K.J., Trneny M., Ansell S., Kato K., Farsaci B., Sumbul A., Armand P., Neuberg D.S., Pinkus G.S., Ligon A.H., Rodig S.J., Shipp M.A. Major Histocompatibility Complex Class II and Programmed Death Ligand 1 Expression Predict Outcome After Programmed Death 1 Blockade in Classic Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2018; 36(10): 942–50. doi: 10.1200/JCO.2017.77.3994.
18. Wulfkühle J.D., Yau C., Wolf D.M., Gallagher R.I., Swigart L.B., Hirst G.J., Campbell M., Nanda R., Liu M., Pusztai L., Esserman L., Berry D.A., Veer L., Petricoin E. Quantitative MHC II protein expression levels in tumor epithelium to predict response to the PD1 inhibitor pembrolizumab in the I-SPY 2 Trial. *J Clin Oncol*. 2019; 37(15).
19. Rodig S.J., Gusenleitner D., Jackson D.G., Gjini E., Giobbie-Hurder A., Jin C., Chang H., Lovitch S.B., Horak C., Weber J.S., Weirather J.L., Wolchok J.D., Postow M.A., Pavlick A.C., Chesney J., Hodi F.S. MHC proteins confer differential sensitivity to CTLA-4 and PD-1 blockade in untreated metastatic melanoma. *Sci Transl Med*. 2018; 10(450). doi: 10.1126/scitranslmed.aar3342.
20. Johnson D.B., Nixon M.J., Wang Y., Wang D.Y., Castellanos E., Estrada M.V., Ericsson-Gonzalez P.I., Cote C.H., Salgado R., Sanchez V., Dean P.T., Opalenik S.R., Schreeder D.M., Rimm D.L., Kim J.Y., Bordeaux J., Loi S., Horn L., Sanders M.E., Ferrell P.B. Jr., Xu Y., Sosman J.A., Davis R.S., Balko J.M. Tumor-specific MHC-II expression drives a unique pattern of resistance to immunotherapy via LAG-3/FCRL6 engagement. *JCI Insight*. 2018; 3(24). doi: 10.1172/jci.insight.120360.
21. De Angulo G., Yuen C., Palla S.L., Anderson P.M., Zweidler-McKay P.A. Absolute lymphocyte count is a novel prognostic indicator in ALL and AML: implications for risk stratification and future studies. *Cancer*. 2008; 112(2): 407–15. doi: 10.1002/cncr.23168.
22. Jiang T., Qiao M., Zhao C., Li X., Gao G., Su C., Ren S., Zhou C. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with outcome of advanced-stage cancer patients treated with immunotherapy: a meta-analysis. *Cancer Immunol Immunother*. 2018; 67(5): 713–27. doi: 10.1007/s00262-018-2126-z.

23. Martens A., Wistuba-Hamprecht K., Yuan J., Postow M.A., Wong P., Capone M., Madonna G., Khammari A., Schilling B., Sucker A., Schadendorf D., Martus P., Dreno B., Ascierto P.A., Wolchok J.D., Pawelec G., Garbe C., Weide B. Increases in Absolute Lymphocytes and Circulating CD4+ and CD8+ T Cells Are Associated with Positive Clinical Outcome of Melanoma Patients Treated with Ipilimumab. *Clin Cancer Res.* 2016; 22(19): 4848–58. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0249.
24. Subrahmanyam P.B., Dong Z., Gusenleitner D., Giobbie-Hurder A., Severgnini M., Zhou J., Manos M., Eastman L.M., Maecker H.T., Hodi F.S. Distinct predictive biomarker candidates for response to anti-CTLA-4 and anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *J Immunother Cancer.* 2018; 6(1): 18. doi: 10.1186/s40425-018-0328-8.
25. Reuben J.M., Lee B.N., Li C., Gomez-Navarro J., Bozon V.A., Parker C.A., Hernandez I.M., Gutierrez C., Lopez-Berestein G., Camacho L.H. Biologic and immunomodulatory events after CTLA-4 blockade with ticilimumab in patients with advanced malignant melanoma. *Cancer.* 2006; 106(11): 2437–44. doi: 10.1002/cncr.21854.
26. Kelderman S., Heemskerk B., van Tinteren H., van den Brom R.R., Hospers G.A., van den Eertwegh A.J., Kapiteijn E.W., de Groot J.W., Soetekouw P., Jansen R.L., Fiets E., Furness A.J., Renn A., Krzystanek M., Szallasi Z., Lorigan P., Gore M.E., Schumacher T.N., Haanen J.B., Larkin J.M., Blank C.U. Lactate dehydrogenase as a selection criterion for ipilimumab treatment in metastatic melanoma. *Cancer Immunol Immunother.* 2014; 63(5): 449–58. doi: 10.1007/s00262-014-1528-9.
27. Xia A., Zhang Y., Xu J., Yin T., Lu X.J. T Cell Dysfunction in Cancer Immunity and Immunotherapy. *Front Immunol.* 2019; 10: 1719. doi: 10.3389/fimmu.2019.01719.
28. Arce Vargas F., Furness A.J.S., Litchfield K., Joshi K., Rosenthal R., Ghorani E., Solomon I., Lesko M.H., Ruef N., Roddie C., Henry J.Y., Spain L., Ben Aissa A., Georgiou A., Wong Y.N.S., Smith M., Strauss D., Hayes A., Nicol D., O'Brien T., Mårtensson L., Ljungars A., Teige I., Frendeus B.; TRACERx Melanoma; TRACERx Renal; TRACERx Lung consortia, Pule M., Marafioti T., Gore M., Larkin J., Turajlic S., Swanton C., Peggs K.S., Quezada S.A. Fe Effector Function Contributes to the Activity of Human Anti-CTLA-4 Antibodies. *Cancer Cell.* 2018; 33(4): 649–63. doi: 10.1016/j.ccell.2018.02.010.
29. Fujii S., Shimizu K., Shimizu T., Lotze M.T. Interleukin-10 promotes the maintenance of antitumor CD8(+) T-cell effector function in situ. *Blood.* 2001; 98(7): 2143–51. doi: 10.1182/blood.v98.7.2143.
30. Wherry E.J., Blattman J.N., Murali-Krishna K., van der Most R., Ahmed R. Viral persistence alters CD8 T-cell immunodominance and tissue distribution and results in distinct stages of functional impairment. *J Virol.* 2003; 77(8): 4911–27. doi: 10.1128/jvi.77.8.4911-4927.2003.
31. Gros A., Robbins P.F., Yao X., Li Y.F., Turcotte S., Tran E., Wunderlich J.R., Mixon A., Farid S., Dudley M.E., Hanada K., Almeida J.R., Darko S., Douek D.C., Yang J.C., Rosenberg S.A. PD-1 identifies the patient-specific CD8+ tumor-reactive repertoire infiltrating human tumors. *J Clin Invest.* 2014; 124(5): 2246–59. doi: 10.1172/JCI173639.
32. Katsurada M., Nagano T., Tachihara M., Kiri T., Furukawa K., Koyama K., Otsu T., Sekiya R., Hazama D., Tamura D., Nakata K., Katsurada N., Yamamoto M., Kobayashi K., Nishimura Y. Baseline Tumor Size as a Predictive and Prognostic Factor of Immune Checkpoint Inhibitor Therapy for Non-small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res.* 2019; 39(2): 815–25. doi: 10.21873/anticancer.13180.
33. Qu J., Wang L., Jiang M., Zhao D., Wang Y., Zhang F., Li J., Zhang X. A Review About Pembrolizumab in First-Line Treatment of Advanced NSCLC: Focus on KEYNOTE Studies. *Cancer Manag Res.* 2020; 12: 6493–6509. doi: 10.2147/CMAR.S257188.
34. Wherry E.J., Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol.* 2015; 15(8): 486–99. doi: 10.1038/nri3862.
35. Francisco L.M., Sage P.T., Sharpe A.H. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev.* 2010; 236: 219–42. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00923.x.
36. Joller N., Lozano E., Burkett P.R., Patel B., Xiao S., Zhu C., Xia J., Tan T.G., Sefik E., Yajnik V., Sharpe A.H., Quintana F.J., Mathis D., Benoist C., Hafler D.A., Kuchroo V.K. Treg cells expressing the coinhibitory molecule TIGIT selectively inhibit proinflammatory Th1 and Th17 cell responses. *Immunity.* 2014; 40(4): 569–81. doi: 10.1016/j.immuni.2014.02.012.
37. Kurtulus S., Sakuishi K., Ngiew S.F., Joller N., Tan D.J., Teng M.W., Smyth M.J., Kuchroo V.K., Anderson A.C. TIGIT predominantly regulates the immune response via regulatory T cells. *J Clin Invest.* 2015; 125(11): 4053–62. doi: 10.1172/JCI181187.
38. Sugiyama D., Nishikawa H., Maeda Y., Nishioka M., Tanemura A., Katayama I., Ezoe S., Kanakura Y., Sato E., Fukumori Y., Karbach J., Jäger E., Sakaguchi S. Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110(44): 17945–50. doi: 10.1073/pnas.1316796110.
39. Egen J.G., Allison J.P. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 accumulation in the immunological synapse is regulated by TCR signal strength. *Immunity.* 2002; 16(1): 23–35. doi: 10.1016/s1074-7613(01)00259-x.
40. Quigley M., Pereyra F., Nilsson B., Porichis F., Fonseca C., Eichbaum Q., Julg B., Jesneck J.L., Brosnahan K., Imam S., Russell K., Toth I., Piechocka-Trocha A., Dolfi D., Angelosanto J., Crawford A., Shin H., Kwon D.S., Zupkosky J., Francisco L., Freeman G.J., Wherry E.J., Kaufmann D.E., Walker B.D., Ebert B., Haining W.N. Transcriptional analysis of HIV-specific CD8+ T cells shows that PD-1 inhibits T cell function by upregulating BATF. *Nat Med.* 2010; 16(10): 1147–51. doi: 10.1038/nm.2232.
41. Chauvin J.M., Pagliano O., Fourcade J., Sun Z., Wang H., Sander C., Kirkwood J.M., Chen T.H., Maurer M., Korman A.J., Zarour H.M. TIGIT and PD-1 impair tumor antigen-specific CD8+ T cells in melanoma patients. *J Clin Invest.* 2015; 125(5): 2046–58. doi: 10.1172/JCI80445.
42. He Q.F., Xu Y., Li J., Huang Z.M., Li X.H., Wang X. CD8+ T-cell exhaustion in cancer: mechanisms and new area for cancer immunotherapy. *Brief Funct Genomics.* 2019; 18(2): 99–106. doi: 10.1093/bfpg/ely006.
43. Fourcade J., Sun Z., Benallaoua M., Guillaume P., Luescher I.F., Sander C., Kirkwood J.M., Kuchroo V., Zarour H.M. Upregulation of TIM-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8+ T cell dysfunction in melanoma patients. *J Exp Med.* 2010; 207(10): 2175–86. doi: 10.1084/jem.20100637.
44. Piao Y.R., Piao L.Z., Zhu L.H., Jin Z.H., Dong X.Z. Prognostic value of T cell immunoglobulin mucin-3 in prostate cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013; 14(6): 3897–901. doi: 10.7314/apjcp.2013.14.6.3897.
45. Yuan J., Jiang B., Zhao H., Huang Q. Prognostic implication of TIM-3 in clear cell renal cell carcinoma. *Neoplasma.* 2014; 61(1): 35–40.
46. Jiang J., Jin M.S., Kong F., Cao D., Ma H.X., Jia Z., Wang Y.P., Suo J., Cao X. Decreased galectin-9 and increased Tim-3 expression are related to poor prognosis in gastric cancer. *PLoS One.* 2013; 8(12). doi: 10.1371/journal.pone.0081799.
47. Cao Y., Zhou X., Huang X., Li Q., Gao L., Jiang L., Huang M., Zhou J. Tim-3 expression in cervical cancer promotes tumor metastasis. *PLoS One.* 2013; 8(1). doi: 10.1371/journal.pone.0053834.
48. Chen J., Chen Z. The effect of immune microenvironment on the progression and prognosis of colorectal cancer. *Med Oncol.* 2014; 31(8): 82. doi: 10.1007/s12032-014-0082-9.
49. Kotaskova J., Tichy B., Trbusek M., Francova H.S., Kabathova J., Malcikova J., Doubek M., Brychtova Y., Mayer J., Pospisilova S. High expression of lymphocyte-activation gene 3 (LAG3) in chronic lymphocytic leukemia cells is associated with unmutated immunoglobulin variable heavy chain region (IGHV) gene and reduced treatment-free survival. *J Mol Diagn.* 2010; 12(3): 328–34. doi: 10.2353/jmoldx.2010.090100.
50. Chen Q., Daniel V., Maher D.W., Hersey P. Production of IL-10 by melanoma cells: examination of its role in immunosuppression mediated by melanoma. *Int J Cancer.* 1994; 56(5): 755–60. doi: 10.1002/ijc.2910560524.
51. Koustas E., Sarantis P., Papavassiliou A.G., Karamouzis M.V. The Resistance Mechanisms of Checkpoint Inhibitors in Solid Tumors. *Biomolecules.* 2020; 10(5): 666. doi: 10.3390/biom10050666.
52. Raskovalova T., Lokshin A., Huang X., Su Y., Mandic M., Zarour H.M., Jackson E.K., Gorelik E. Inhibition of cytokine production and cytotoxic activity of human antimalanoma specific CD8+ and CD4+ T lymphocytes by adenosine-protein kinase A type I signaling. *Cancer Res.* 2007; 67(12): 5949–56. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4249.
53. Ohta A., Sitkovsky M. Extracellular adenosine-mediated modulation of regulatory T cells. *Front Immunol.* 2014; 5: 304. doi: 10.3389/fimmu.2014.00304.
54. Munn D.H., Mellor A.L. Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor-induced tolerance. *J Clin Invest.* 2007; 117(5): 1147–54. doi: 10.1172/JCI11178.
55. Holmgard R.B., Zamarin D., Munn D.H., Wolchok J.D., Allison J.P. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4. *J Exp Med.* 2013; 210(7): 1389–402. doi: 10.1084/jem.20130066.
56. Woo S.R., Turnis M.E., Goldberg M.V., Bankoti J., Selby M., Nirschl C.J., Bettini M.L., Gravano D.M., Vogel P., Liu C.L., Tangsombatvisit S., Grosso J.F., Netto G., Smeltzer M.P., Chaux A., Utz P.J., Workman C.J., Pardoll D.M., Korman A.J., Drake C.G., Vignali D.A. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res.* 2012; 72(4): 917–27. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1620.
57. Fourcade J., Sun Z., Pagliano O., Guillaume P., Luescher I.F., Sander C., Kirkwood J.M., Olive D., Kuchroo V., Zarour H.M. CD8(+) T cells specific for tumor antigens can be rendered dysfunctional by the tumor microenvironment through upregulation of the inhibitory receptors BTLA and PD-1. *Cancer Res.* 2012; 72(4): 887–96. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2637.

58. Curran M.A., Montalvo W., Yagita H., Allison J.P. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(9): 4275–80. doi: 10.1073/pnas.0915174107.

59. Shayan G., Srivastava R., Li J., Schmitt N., Kane L.P., Ferris R.L. Adaptive resistance to anti-PD1 therapy by tim-3 upregulation is mediated by the PI3k-akt pathway in head and neck cancer. *Oncotarget*. 2017; 6(1). doi: 10.1080/2162402X.2016.1261779.

60. Wei H., Zhao L., Li W., Fan K., Qian W., Hou S., Wang H., Dai M., Hellstrom I., Hellstrom K.E., Guo Y. Combinatorial PD-1 blockade and CD137 activation has therapeutic efficacy in murine cancer models and synergizes with cisplatin. *PLoS One*. 2013; 8(12). doi: 10.1371/journal.pone.0084927.

61. Chen S., Lee L.F., Fisher T.S., Jessen B., Elliott M., Evering W., Logronio K., Tu G.H., Tsaparikos K., Li X., Wang H., Ying C., Xiong M., VanArsdale T., Lin J.C. Combination of 4-1BB agonist and PD-1 antagonist promotes antitumor effector/memory CD8 T cells in a poorly immunogenic tumor model. *Cancer Immunol Res*. 2015; 3(2): 149–60. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0118.

62. Weinberg A.D., Rivera M.M., Prell R., Morris A., Ramstad T., Vetto J.T., Urba W.J., Alvord G., Bunce C., Shields J. Engagement of the

OX-40 receptor in vivo enhances antitumor immunity. *J Immunol*. 2000; 164(4): 2160–9. doi: 10.4049/jimmunol.164.4.2160.

63. Rafei-Shamsabadi D., Lehr S., von Bubnoff D., Meiss F. Successful combination therapy of systemic checkpoint inhibitors and intralesional interleukin-2 in patients with metastatic melanoma with primary therapeutic resistance to checkpoint inhibitors alone. *Cancer Immunol Immunother*. 2019; 68(9): 1417–28. doi: 10.1007/s00262-019-02377-x.

64. Hou D.Y., Muller A.J., Sharma M.D., DuHadaway J., Banerjee T., Johnson M., Mellor A.L., Prendergast G.C., Munn D.H. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells by stereoisomers of 1-methyl-tryptophan correlates with antitumor responses. *Cancer Res*. 2007; 67(2): 792–801. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2925.

65. Gangadhar T.C., Hamid O., Smith D.C., Bauer T.M., Wasser J.S., Luke J.J., Balmanoukian A.S., Kaufman D.R., Zhao Yu., Maleski J., Leopold L., Gajewski T.F. Preliminary results from a Phase I/II study of epacadostat (incb024360) in combination with pembrolizumab in patients with selected advanced cancers. *J Immunother cancer*. 2015; 3(2). doi: 10.1186/2051-1426-3-S2-O7.

Поступила/Received 01.02.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 07.06.2021

Принята к публикации/Accepted 28.06.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Малкова Анна Михайловна, аспирант кафедры онкологии, медицинский факультет ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет» (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: anya.malkova.95@mail.ru. SPIN-код: 3479-1355. Researcher ID (WOS): AAY-3212-2020. Author ID (Scopus): 57213621564. ORCID: 0000-0002-6008-1354.

Орлова Рашида Вахидовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой онкологии, медицинский факультет, ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»; главный специалист по клинической онкологии и реабилитации, СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 9932-6170. Author ID (Scopus): 22836067900.

Жукова Наталья Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии, медицинский факультет, ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»; заведующая отделением, СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 3480-2098.

Губаль Анна Романовна, кандидат химических наук, младший научный сотрудник кафедры аналитической химии, Институт химии, ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет» (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-3790-7311.

Шаройко Владимир Владимирович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинской химии, Институт химии, ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»; ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинского материаловедения, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-3717-0471.

ВКЛАД АВТОРОВ

Малкова Анна Михайловна: разработка концепции научной работы, написание обзора.

Орлова Рашида Вахидовна: анализ научной литературы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Жукова Наталья Владимировна: анализ научной литературы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Губаль Анна Романовна: анализ научной литературы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Шаройко Владимир Владимирович: анализ научной литературы, обсуждение результатов исследований, редактирование обзора, финансирование.

Финансирование

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ), проект № 20-015-00498 А от 19.02.2020.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Anna M. Malkova, MD, Postgraduate Student, Department of Oncology, Saint Petersburg State University (Saint Petersburg, Russia). E-mail: anya.malkova.95@mail.ru. Researcher ID (WOS): AAY-3212-2020. Author ID (Scopus): 57213621564. ORCID: 0000-0002-6008-1354.

Rashida V. Orlova, MD, Professor, Head of Department of Oncology, Saint Petersburg State University; Chief Specialist in Clinical Oncology and Rehabilitation, Saint Petersburg Clinical Oncology Center (Saint Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 22836067900.

Natalya V. Zhukova, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Oncology, Saint Petersburg State University; Head of the Department of Saint Petersburg Clinical Oncology Center, Saint Petersburg (Saint Petersburg, Russia).

Anna R. Gubal, PhD, Junior Researcher, Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemistry, Saint Petersburg State University (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-3790-7311.

Vladimir V. Sharoyko, DSc, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Biomedical Chemistry, Institute of Chemistry, Saint Petersburg State University; Leading Researcher, Laboratory of Biomedical Materials Science, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-3717-0471.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Anna M. Malkova: study conception, drafting of the manuscript.

Rashida V. Orlova: data analysis and interpretation, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Natalya V. Zhukova: data analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Anna R. Gubal: supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Vladimir V. Sharoyko: conceptualization, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, funding.

Funding

This work is supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR), project number 20-015-00498 A of 19.02.2020.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Селедцов В.И., Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П. Иммуноterapia в комплексном лечении опухолевых заболеваний. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 118–129. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-118-129

For citation: Seledtsov V.I., Seledtsova G.V., Dorzhieva A.B., Ivanova I.P. Immunotherapy in the complex treatment of tumor diseases. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 118–129. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-118-129

ИММУНОТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В.И. Селедцов¹, Г.В. Селедцова², А.Б. Доржиева², И.П. Иванова²

ФГБНУЗ «Центральная клиническая больница РАН», г. Москва, Россия¹

Россия, 117593, г. Москва, Литовский бульвар, 1А. E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru¹

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия²

Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14²

Аннотация

Цель исследования – проанализировать базу научной литературы с целью выявления и анализа возможностей противоопухолевой иммунотерапии, направленной на усиление способности иммунной системы противостоять развитию опухоли и(или) ослабление способности опухоли поддерживать свой рост. **Материал и методы.** Проведен поиск доступных литературных источников, опубликованных в базе данных Medline, Pubmed и др. Было найдено 215 источников, посвященных изучению формирования противоопухолевых механизмов и возможности их модуляции, из которых 57 были включены в данный обзор. **Результаты.** Обзор посвящен анализу литературы по супрессии опухолевого роста путем модуляции воспаления, коррекции концентрации факторов и ферментов, ингибирования формирования иммуносупрессорных клеток, усиления антительной цитотоксичности, стимуляции клеточной цитотоксичности. Оценены возможности противоопухолевой вакцинации. **Заключение.** Установлено, что разные иммунотерапевтические агенты могут усиливать противоопухолевое действие друг друга. На ранних стадиях болезни иммуноterapia может элиминировать опухолевые клетки, оставшиеся в организме после хирургического удаления первичной опухоли. На поздних стадиях заболевания комбинированное лечение, включающее в себя традиционное циторедуктивное и иммунотерапевтическое лечение, должно быть направлено на остановку или торможение развития болезни. Прогноз течения заболевания можно оценивать по воспалительной шкале, основанной на определении 3 параметров крови: содержания С-реактивного белка, лактат-дегидрогеназы и нейтрофил-лимфоцитарного соотношения.

Ключевые слова: опухоль, воспаление, противоопухолевая иммуноterapia, радиохимиотерапия, прогноз заболевания.

IMMUNOTHERAPY IN THE COMPLEX TREATMENT OF TUMOR DISEASES

V.I. Seledtsov¹, G.V. Seledtsova², A.B. Dorzhieva², I.P. Ivanova²

Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia¹

1A, Litovsky Blvd., 117593, Moscow, Russia. E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru¹

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia²

14, Yadrintsevskaya St., 630099, Novosibirsk, Russia²

Abstract

The purpose of the study was to identify and analyze the potential of immunotherapy aimed at enhancing the immune system's ability to resist tumor development and (or) weakening the ability of the tumor to maintain its growth. **Material and Methods.** A search for available literature sources published in Medline, Pubmed, etc. databases was made. We found 215 publications regarding the study of the formation of antitumor mechanisms, of which 57 were included in this review. **Results.** The review was devoted to the analysis of the literature on tumor growth suppression by modulating inflammation, correcting the concentration of factors and enzymes, inhibiting the formation of immunosuppressive cells, enhancing antibody cytotoxicity, and stimulating cellular cytotoxicity. The feasibilities of antitumor vaccination were evaluated. **Conclusion.** Different immunotherapeutic effects were found can enhance the antitumor effect of each other. In the early stages of the disease, immunotherapy can eliminate tumor cells remaining in the body after surgical removal of the primary tumor. In the advanced stages of the disease, combined treatment, including traditional cytoreductive and immunotherapeutic treatment, should be aimed at inhibiting the development of the disease. The prognosis of the disease can be assessed on an inflammatory scale based on the determination of 3 blood parameters: the content of C-reactive protein, the level of lactate dehydrogenase, and the determination of the neutrophil-lymphocyte ratio.

Key words: tumor, inflammation, anticancer immunotherapy, radiochemotherapy, disease prognosis.

Введение

Внутриклеточные биохимические и сигнальные процессы в опухолевых и нормальных клетках сходные. Поэтому разработка химиопрепаратов с селективным противоопухолевым действием представляется весьма проблематичной. Вместе с тем, опухолевые клетки отличаются от нормальных клеток по экспрессии иммуногенных молекул маркеров (антигенов). Точно установлено, что иммунная система способна распознавать эти антигены и контролировать развитие опухоли. В зависимости от воспалительной активности опухоль можно рассматривать как «холодную», «теплую», «горячую» или «перегретую» (рис. 1). «Холодная» опухоль характеризуется слабой иммуногенностью и низкой инфильтрацией иммунными клетками. В этом случае иммунная система как бы «не видит» опухоль. В строме «теплой» опухоли обнаруживается большое количество иммунных клеток, которые, однако, не проникают в опухолевую массу. Миграционная и функциональная активность иммунных клеток в окружении «теплой» опухоли эффективно контролируется локальными иммуносупрессорными механизмами. В «горячей» опухоли имеет место активное проникновение иммунных клеток в толщу опухоли. «Горячая»

опухоль характеризуется высокой экспрессией иммуностимулирующих и костимулирующих молекул; наличием активированных иммунных клеток с высокой цитостатической и цитолитической активностью и повышенной транскрипцией интерфероновых генов [1]. Конверсия «холодной» или «теплой» опухоли в «горячую» указывает на развитие противоопухолевых иммунных реакций, способных контролировать опухолевый рост. Вместе с тем, опухоль способна активно защищать себя от иммунного отторжения посредством генерации избыточного воспаления, которое оказывает негативное влияние на противоопухолевый иммуногенез. «Перегревание» опухоли обычно развивается на поздних стадиях заболевания за счет высвобождения из поврежденных опухолевых и нормальных клеток иммуноактивных молекул (DAMPs, damage-associated molecular pattern molecules), взаимодействие которых со своими рецепторами (PAMPs, pathogen-associated molecular patterns) стимулирует асептическое воспаление, усиливающее регенеративные процессы. Цель иммунотерапии заключается в снижении негативного влияния опухоли на иммунитет и усилении эффективности иммунологического контроля над опухолевым ростом.

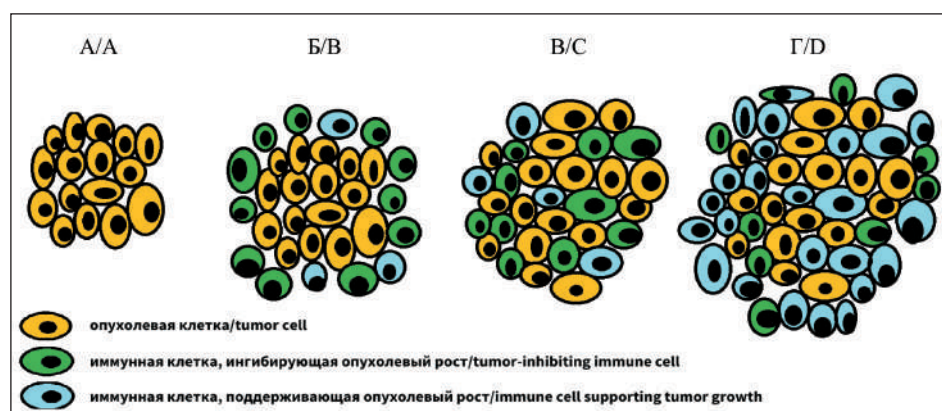


Рис. 1. Уровни опухолевого воспаления. «Холодная» (а), «теплая» (б), «горячая» (в) и «перегретая» опухоль (г). (Пояснения в тексте)

Fig. 1. Types of cancer from the immunological and immunotherapeutic perspective. Tumors (yellow cells) are considered as immunologically cold (a), warm (b) or hot (c), and overheated (d) based on immune cell (green cells) infiltration. The description is in the text

Иммунологическая регуляция опухолевого роста

Дендритные клетки являются профессиональными антиген-презентирующими клетками, которые запускают первичные иммунные реакции и поддерживают вторичные иммунные процессы. Эти клетки процессируют эндогенные и экзогенные антигены (АГ) до небольших пептидов и презентуют их в комплексе с продуктами главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) I или II класса антиген-специфичным Т-лимфоцитам. Дендритные клетки синтезируют полный набор растворимых и мембранных костимуляторных молекул, необходимых для дифференцировки нативных Т-лимфоцитов в эффекторные Т-клетки и Т-клетки памяти [2]. По сравнению с нативными Т-клетками клетки памяти более чувствительны к антигенной стимуляции и менее зависимы от влияния костимуляторных сигналов [3, 4], поэтому они могут быть активированы не только дендритными клетками, но и другими АГ-презентирующими клетками, такими как В-лимфоциты, макрофаги и гранулоциты. Активированные Т-клетки привлекают в опухолевое микроокружение другие иммунные клетки, которые способны контролировать опухолевый рост посредством как АГ-зависимых, так и АГ-независимых механизмов [5]. Роль дирижеров иммунных процессов, регулирующих опухолевый рост, выполняют CD4+ Т-хелперные лимфоциты: Th1, Th2, Th17 и др. Th1 продуцируют интерферон-гамма (ИФ-γ) и другие цитокины, необходимые для классической активации N1-нейтрофилов и M1-макрофагов и генерации CD8+ цитотоксических лимфоцитов

(ЦТЛ), а также для усиления цитотоксической активности натуральных НК-клеток, натуральных киллерных Т-клеток (НКТ) и Тγδ-клеток. НК-клетки экспрессируют активационные и ингибиторные рецепторы, вовлекаемые в распознавание стресс-лигандов опухолевых клеток. НКТ-клетка экспрессирует как рецептор НК-клеток, так и инвариантный CD1d-рестриктированный Т-клеточный рецептор. Тγδ-клетки несут на своей поверхности полиинвариантные γ/δ Т-клеточные рецепторы, которые распознают опухолевые фосфоантигены и стресс-лиганды [6, 7]. В отличие от Th1-клеток, Th2-клетки продуцируют интерлейкин 4 (ИЛ-4) и другие цитокины, необходимые для альтернативной активации N2-нейтрофилов и M2-макрофагов, а также для генерации регуляторных Т-клеток (Трег) и миелоидных супрессорных клеток (МСК), обладающих выраженной иммуносупрессорной активностью. Важно, что активированные Th1- и Th2-лимфоциты могут непосредственно и опосредованно супрессировать функциональную активность друг друга и, таким образом, поддерживать поляризацию адаптивной иммунной реактивности [8]. Роль в противоопухолевом иммунитете Th17-клеток, секретирующих ИЛ-17, пока остается до конца не выясненной [9]. Функциональная активность В-лимфоцитов в иммунологических механизмах, регулирующих опухолевый рост, может быть разнонаправленной. В качестве антиген-презентирующих клеток они играют ключевую роль в поддержании адаптивного иммуногенеза [10]. Плазматические клетки, секретирующие цитотоксические антитела (АТ), – важный элемент противоопухолевой иммунной

Таблица 1/Table 1

Клетки иммунной системы и растворимые факторы, вовлекаемые в иммунную регуляцию опухолевого роста

Cells of the immune system and soluble factors involved in the immune regulation of tumor growth

Ингибция опухолевого роста/Tumor growth inhibition	Усиление опухолевого роста/Increased tumor growth
Клетки/Cells	
N1-нейтрофилы, M1-макрофаги, НК-клетки, НКТ-клетки, Тγδ-клетки, классические зрелые дендритные клетки, ЦТЛ, Th1, Th17, В-клетки/ N1-neutrophils, M1-macrophages, NK cells, NKT cells, Tγδ – cells, classical mature dendritic cells, CTL, Th1, Th17, B cells	N2-нейтрофилы, M2-макрофаги, МСК, незрелые толерогенные дендритные клетки, Th2, Th17, регуляторные Т- и В-клетки/ N2 neutrophils, M2 macrophages, MSCs, immature tolerogenic dendritic cells, Th2, Th17, regulatory T and B cells
Растворимые факторы/Soluble Factors	
Активные формы кислорода (АФК), протеазы, фосфолипазы, фактор некроза опухоли (ФНО), ИФ-γ, ИФ 1-го типа, ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-15, ИЛ-18, гранулоцит-макрофагальный колоние-стимулирующий фактор (ГМ-КСФ) внеклеточный аденозин-трифосфат (АТФ)/ Reactive oxygen species (ROS), proteases, phospholipases, tumor necrosis factor (TNF), IF-γ, type 1 IF, IL-2, IL-7, IL-15, IL-18, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) extracellular adenosine triphosphate (ATP)	АФК, протеазы, фосфолипазы, ФНО, ТГФ-бета, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, эндотелиальный ростовой фактор (ЭРФ), простагландин Е (ПГЕ), гистамин, гранулоцитарный колоние-стимулирующий фактор(Г-КСФ), ГМ-КСФ, аденозин (АД)/ ROS, proteases, phospholipases, TNF, THF-beta, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, endothelial growth factor (ERF), prostaglandin E (PGE), histamine, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), GM-CSF, adenosine (AD)

Примечание: дальнейшие исследования, несомненно, будут вносить изменения и дополнения в иммунные механизмы регуляции опухолевого роста.

Note: further research will undoubtedly introduce changes and additions to the immune mechanisms of tumor growth regulation.

защиты. Но, с другой стороны, регуляторные В-лимфоциты способны ингибировать иммунные, в т. ч. и противоопухолевые, реакции, продуцируя иммуносупрессорные цитокины, такие как трансформирующий ростовой фактор-бета (ТРФ-бета) и ИЛ-10. В табл. 1 представлены элементы разнонаправленной иммунной регуляции опухолевого роста.

Как можно заметить, некоторые виды клеток, например нейтрофилы и макрофаги, могут быть вовлечены как в негативную, так и в позитивную регуляцию опухолевого роста. Это же можно утверждать и в отношении растворимых факторов. В частности, реактивные формы кислорода (АФК) опосредуют цитотоксическую активность гранулоцитов и макрофагов, но, с другой стороны, АФК ингибируют адаптивную Т-клеточную реактивность [11]. Еще пример – фосфолипазы, которые могут участвовать в разрушении опухолевой клетки, а также вносить определенный вклад в разрушение внутритканевых барьеров, тем самым способствуя опухолевой инвазии. ИФ- γ также может играть двойную ключевую роль как в генерации, так и в поддержании противоопухолевой иммунореактивности. Вместе с тем, он способен усиливать в опухолевом микроокружении мембранную экспрессию иммуносупрессорных контрольных молекул и стимулировать иммуносупрессорную активность индоламин 2, 3,-диоксигеназы-1 (IDO-1) [12–14], регулируя иммунореактивность по механизму обратной связи. В этой связи заслуживает упоминания ИЛ-2, который является основным ростовым и костимуляторным фактором для Т-клеток, включая Th1 и ЦТЛ, и одновременно ключевым индуктором иммуносупрессорных Трег.

Противоопухолевый иммунный механизм чрезвычайно уязвим к действию повреждающих факторов. Дефект даже одного элемента этого механизма может самым неблагоприятным образом сказаться на эффективности всей работы. Так, иммунные элементы, поддерживающие опухолевый рост, являются одновременно составными частями врожденного регенеративного механизма, ответственного за целостность организма. Элементы этого механизма многократно дублируют друг друга, и поломка одного или нескольких из них обычно не оказывает серьезного влияния на его работу. Как замечено ранее, воспаление, с одной стороны, стимулирует приток иммунных клеток в опухолевое микроокружение и играет важную роль в обеспечении иммунологического контроля над ростом опухоли, что указывает на благоприятный прогноз течения заболевания. С другой стороны, на поздних стадиях опухоль через усиление воспаления стимулирует активность иммуносупрессорных механизмов. Поэтому противовоспалительная терапия должна быть включена в схему лечения любого опухолевого заболевания, особенно при распространенном процессе. Действительно, на

разных экспериментальных моделях показано, что препараты с противовоспалительной активностью, такие как нестероидные противовоспалительные средства, блокаторы H2-рецепторов, ингибиторы фосфодиэстеразы 5, статины, β -адреноблокаторы, холиномиметики и глюкокортикоиды, способны тормозить развитие опухоли и препятствовать метастазированию [1].

Ингибирование иммуносупрессорных механизмов

При физиологических условиях контрольные молекулы обеспечивают обратную связь между уровнем воспаления и иммунологической реактивностью, предотвращая развитие аутоиммунных реакций. Посредством как конститутивной, так и индуцированной в результате воспаления экспрессии этих молекул опухоль может подавлять развитие противоопухолевых иммунных реакций и, таким образом, избегать иммунологического отторжения. Противоопухолевые стратегии, основанные на функциональном ингибировании молекул Programmed Death (PD-1) и Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4 (CTLA-4), получили широкое применение. Иммунотерапевтические возможности ингибирования других контрольных молекул, таких как T-cell immunoglobulin-3 (TIM-3), lymphocyte activation gene 3 (LAG-3), V-domain Ig suppressor of T-cell activation (VISTA) и tyrosine-based inhibitory motif domain (TIGIT), активно исследуются.

IDO-1 – иммуносупрессивный фермент, который высоко экспрессируется в микроокружение многих опухолей. Ингибиторы IDO-1 (1-Methyl-tryptophan и INCB024360) в настоящее время позиционируются как противоопухолевые иммунотерапевтические средства. Показано, что ингибиторы IDO-1 способны вызывать супрессию опухолевого роста у мышей дикого типа, но не у иммунодефицитных животных и что блокировка активности IDO-1 может индуцировать апоптоз опухолевых клеток [15].

На экспериментальных моделях показано, что истощение регуляторных Трег посредством использования анти-CD25 АТ или конъюгата ИЛ-2 с дифтерийным токсином может усилить развитие противоопухолевых иммунных реакций [16, 17]. Трег высоко экспрессируют контрольные молекулы, включая CTLA-4 и PD-1 [18]. Поэтому эти клетки являются важными мишенями для терапевтических АТ, блокирующих активность контрольных молекул. Анти PD-1 АТ (Nivolumab) способны снижать иммуносупрессивную активность Трег [19]. Аналогичный эффект обнаружен у агониста TLR7/8 (Resiquimod) [20]. Активно разрабатываются стратегии трансформации Трег в клетки, продуцирующие ИФ-гамма.

Миелоидные супрессорные клетки (МСК) – еще одна мишень для противоопухолевой иммунотерапии. Показано, что ретиноевая кислота (АТРА,

all-trans-retinoic acid) способна индуцировать дифференцировку МСК в зрелые макрофаги и дендритные клетки. Иммуносупрессорная активность МСК может быть снижена под действием синтетического производного олеаноловой кислоты (2-cyano-3,12-dioxooleana-1,9(11)-dien-28-oic acid, CDDO-IM) или ее метилового эфира, через активацию Nrf2 гена. [21]. Существует целый ряд фармакологических агентов: ингибиторы PDE5, ингибиторы COX-2, ингибиторы аргиназы 1 (ARG1), бифосфонаты, Entinostat, Gemcitabine, Paclitaxel, которые в преclinical исследованиях показали способность ингибировать функциональную активность МСК [22].

Частым серьезным побочным эффектом снижения функциональной эффективности иммуносупрессорных механизмов является развитие аутоиммунных воспалительных реакций. Достижение компромисса между продвижением противоопухолевых иммунных процессов и сдерживанием патологических аутоиммунных реакций является основной целью всех иммунотерапевтических стратегий, основанных на ослаблении природных иммуносупрессорных механизмов.

Усиление противоопухолевых иммунных механизмов

Современные биоинженерные технологии позволяют получать гуманизированные низкоиммуногенные цитотоксические IgG-АТ любой специфичности. В настоящее время антительные препараты, такие как RITUXIMAB, TRASTUZUMAB, CETUXIMAB, PANITUMUMAB и др., нашли широкое применение в онкологической практике [23]. Связываясь с АГ, АТ индуцируют опосредуемую Fc-рецепторами иммунную цитотоксичность. Моноклональные АТ могут быть конъюгированы с химио- или радиопрепаратом. В этом случае АТ осуществляют прицельную доставку цитотоксического агента к опухолевой клетке. Однако следует иметь в виду, что большинство опухолеассоциированных АГ экспрессируются не только опухолевыми, но и нормальными клетками. Недавно мы предложили новую теоретическую концепцию одновременного применения в субоптимальных концентрациях нескольких АТ разной антигенной специфичности для достижения пороговой цитотоксической концентрации иммунных комплексов на опухолевых, но не на нормальных клетках [24]. На наш взгляд, такой подход позволит расширить возможность использования цитотоксических АТ в лечении разных опухолей, включая те, которые, строго говоря, не экспрессируют опухолеспецифичные АГ.

В качестве противоопухолевой вакцины могут быть использованы антигенные протеины/пептиды, аутологичные или аллогенные клетки опухоли (или их лизаты), а также нагруженные опухолеассоциированные антигены (ОАГ)

дендритные клетки (пример Sipuleucel-T) [25]. Активно разрабатываются РНК и ДНК-вакцины на основе генномодифицированных структур, кодирующих ОАГ [26]. Однако иммунизация одним или несколькими вакцинальными АГ может создать условия для селективного ускоренного роста опухолевых клонов, не экспрессирующих вакцинальных АГ. Следовательно, противоопухолевая вакцина должна быть полиантигенной для того, чтобы индуцировать широкий поликлональный иммунный ответ, способный подавить рост если не всех, то большинства опухолевых клеток. Следует также иметь в виду, что дифференцировочные ОАГ низкоиммуногенны, поскольку к ним исходно сформирована иммунологическая толерантность. Противоопухолевая вакцилотерапия должна быть нацелена на прерывание этой толерантности. Поэтому гомологичные клеточные и пептидные вакцины обычно комбинируют с иммуностимулирующими адъювантами (например, БЦЖ). Наиболее эффективными в прерывании иммунной толерантности являются, на наш взгляд, вакцины, содержащие ксеногенные дифференцировочные антигены. Небольшие структурные отличия ксеногенных антигенов от их человеческих аналогов делают их высокоиммуногенными для человека и способными индуцировать противоопухолевые иммунные реакции в отсутствие иммуоадъювантов [26, 27].

Среди дифференцировочных ОАГ тестикулярные (cancer/testis) антигены представляют наибольший интерес в качестве потенциальных вакцинальных антигенов. Продукты тестикулярных генов непосредственно вовлечены в разные этапы туморогенеза и являются обязательным элементом опухолевого фенотипа. Высокая экспрессия тестикулярных генов выявлена почти во всех типах опухолей, тогда как в нормальных тканях эти гены не экспрессируются или экспрессируются очень слабо (исключение клетки яичка и плаценты) [28].

Как известно, иммунная система распознает общие патоген-ассоциированные структуры (PAMPs, pathogen-associated molecular pattern), экспрессируемые на разных микроорганизмах, посредством патоген-распознающих рецепторов (pattern recognition receptors, PRRs). PRRs включают в себя ТЛР-подобные (Toll-like), НОД-подобные (NOD-like) рецепторы, а также RLRs (retinoic acid inducible gene 1-like receptors). Показано, что лиганды PRRs способны усиливать как врожденные, так и адаптивные противоопухолевые иммунные реакции. В частности, стимуляция внутриклеточных ТЛР 3, 7, 8 или 9 индуцирует секрецию ИФ- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и ФНО- α дендритными клетками и макрофагами и стимулирует Th1-опосредуемые иммунные ответы [29, 30].

В позитивную регуляцию противоопухолевых иммунных реакций могут быть также вовлечены

агонисты Т-клеточной активации. К этой группе молекул, в частности, относятся члены рецепторного семейства фактора некроза опухоли (tumour necrosis factor receptor superfamily, TNFRSF) [31]. Стимуляция специфическими АТ этих молекул обеспечивает многокомпонентную активацию иммунной системы, которая реализует вовлечение в противоопухолевый процесс как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций. Другой агонист Т-клеточной активации, индуцибельный Т-клеточный стимулятор (inducible T-cell co-stimulator, ICOS), экспрессируется преимущественно на активированных CD4⁺ клетках. Связывание его со своим лигандом (ICOSL) способствует развитию противоопухолевых Т-клеточных реакций [31]. Экспрессия трансмембранного фосфолипидного белка CD27 также практически ограничена иммунными клетками. При связывании CD27 с его естественным лигандом CD70 происходит усиление пролиферации Т-клеток и их дифференцировки в эффекторные клетки и клетки памяти. Антителный препарат Varlilumab (агонист CD27) продемонстрировал многообещающие эффекты в лечении гематологических и солидных опухолей [32].

Определенную нишу в лечении опухолевых заболеваний заняли цитокины. Интерфероны (ИФ) I и II типа играют индуктивную роль в противоопухолевой поляризации нейтрофилов и макрофагов, а также усиливают цитотоксическую активность НК клеток. ИФ способствуют развитию адаптивных иммунных ответов, опосредуемых Th1-клетками. Использование цитокинов позволяет ставить разные задачи, решение которых может повышать эффективность противоопухолевого иммунитета. Так, ГМ-КСФ может быть использован для стимуляции дифференцировки дендритных клеток, ИЛ-12/ИЛ-18 – для Th1 поляризации иммунных реакций, комплекс ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-21 – для экспансии АГ-активированных лимфоцитов [1]. В настоящее время цитокины применяются при лечении меланомы, рака почки и некоторых других опухолей.

Определенные надежды в лечении опухолевых заболеваний возлагаются на онколитические вирусы (ОВ). Долгое время прямой цитотоксический механизм считался основным в терапевтическом действии этих вирусов. Однако в настоящее время иммунологическим механизмом, включающим в себя иммуногенную клеточную смерть, иммуногенный апоптоз, некроз/некробиоз, пироптоз и аутофагию, отдают приоритетную роль в противоопухолевом действии ОВ [33]. Первый ОВ T-VEC одобрен FDA для лечения метастатической меланомы в 2015 г. T-VEC – генетически модифицированный вирус семейства герпеса I типа, экспрессирующий ГМ-КСФ [34]. Терапия, основанная на использовании разных ОВ, демонстрирует обнадеживающие результаты в лечении

ряда опухолей: РЕХА-VEC для рака печени, CG0070 для рака мочевого пузыря, G471 для глиобластомы и рака простаты. Несмотря на определенный успех, клиническое применение ОВ ограничено формированием иммунного ответа к ОВ, который делает малоэффективным их повторное использование [35].

Известно, что экзосомы (ЕВ), секретируемые активированными иммунокомпетентными клетками, могут воспроизводить функциональные эффекты этих клеток. Так, ЕВ, полученные из АГ-презентирующих М1 (но не М-2) макрофагов, способны индуцировать сильный антиген-специфичный Т-клеточный ответ [36]. ЕВ из НК-клеток обладают цитотоксической активностью против клеток различных человеческих опухолевых линий [37], ЕВ из активированных CD8⁺ клеток могут оказывать цитотоксический эффект на мезенхимальные стромальные опухолевые клетки [38]. Мы предполагаем, что ЕВ, полученные из клеток иммунной системы, могут, по крайней мере частично, заменить эти клетки при проведении адоптивной терапии уже в ближайшем будущем.

В обычном состоянии опухолевые клетки превращают 60–80% глюкозы в лактат, при гипоксии – до 90 %. Секретируемый опухолевыми клетками лактат, наряду с воспалением, формирует в опухолевом микроокружении ацидоз, который самым негативным образом воздействует на функциональную активность клеточного иммунитета. Для снижения ацидоза рационально включать в лечение онкологических пациентов подщелачивающие буферные реагенты, такие, например, как бикарбонат натрия или калия, а также рекомендовать им щелочное питание [39].

Аминокислоты L-цистеин, L-аргинин и L-триптофан необходимы для Т-клеточной активации и пролиферации. Опухолевое микроокружение, как правило, характеризуется дефицитом содержания этих аминокислот. Восполнение этого дефицита должно быть важным элементом иммунотерапевтического лечения [21].

Онкологические пациенты часто принимают витамины для снижения риска рецидива заболевания и поддержания качества жизни. В экспериментальных моделях показана противоопухолевая активность у витаминов А, С, D и Е [40]. Их противоопухолевые свойства, возможно, объясняются наличием антиоксидантной активности и умеренной противовоспалительной активности. В дополнение к витаминам для усиления иммунитета часто используются минеральные добавки, включающие селен и цинк. Однако их клиническая эффективность пока не доказана. По нашему мнению, микроэлементы, как и витамины, могут быть эффективными не столько сами по себе, сколько из-за их способности усиливать действие других иммунотерапевтических препаратов. В свете этого мы рекомендуем любую

схему иммунотерапевтического лечения дополнять приемом подщелачивающих агентов, незаменимых аминокислот, витаминов и микроэлементов. Такая метаболическая поддержка призвана оказывать благотворное влияние не только на иммунитет, но и на другие органы и ткани организма, повышая общую сопротивляемость организма.

Нейрогормональные механизмы играют важную роль в регуляции иммуногенеза. С возрастом их эффективность падает. В частности, возрастное снижение уровня циркулирующего мелатонина совпадает с возрастным снижением противoinфекционной иммунной защиты. Показана способность мелатонина стимулировать иммунные реакции, опосредуемые Th1-клетками. Антиоксидантные и иммуностимулирующие эффекты мелатонина являются обоснованием его применения в качестве «заместительной терапии» у онкологических больных [6].

Тимус – основное место формирования Т-клеток. С возрастом его способность генерировать Т-клетки неуклонно падает. Поэтому в лечении пожилых пациентов представляется целесообразным использовать тимические пептиды для того, чтобы частично компенсировать снижение тимусной активности. Показано, что натуральный тимический пептид тимозина $\alpha 1$ (Ta1) способен усиливать противоопухолевую активность не только Т-клеток, но и макрофагов [41]. Теоретически по сравнению с одним пептидом комплекс разных тимических пептидов должен быть более эффективным в поддержании иммунной реактивности. В эксперименте показано, что препарат ТИМАЛИН, представляющий собой смесь низкомолекулярных тимусных пептидов, обладает способностью ингибировать опухолевый рост в более низких дозах, чем рекомендуемые в инструкции [42]. Блокирование половых гормонов может приводить к «омоложению» тимуса, увеличению экспорта из тимуса наивных Т-клеток и снижению прививаемости опухолей у старых мышей. Эти данные указывают на возможность использования антигормональной терапии в качестве иммунотерапевтического средства. У пожилых пациентов часто понижен уровень тиреоидных гормонов, вовлеченных в позитивную регуляцию как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций [43]. Включение в лечение таких пациентов тиреоидных гормонов заслуживает тщательного рассмотрения.

Многочисленные данные указывают на важность в иммунорегуляции нейроэндокринных гормонов, таких как пролактин, гормон роста и инсулин-подобный ростовой фактор-1 [44]. К сожалению, влияние этих гормонов на противоопухолевые иммунные реакции и возможность их использования в иммунотерапии остаются пока малоисследованными.

Микробиота кишечника участвует не только в патогенезе желудочно-кишечных заболеваний, но

также играет значимую роль в канцерогенезе [45]. У мышей, получавших *Bifidobacterium*, обнаружено торможение опухолевого роста, ассоциированное с проникновением CD8 + Т-клеток внутрь опухоли. Такие пробиотики, как *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium* и *Collinsella aerofaciens*, могут способствовать нормализации иммунных процессов у пациентов. Модуляция микробиоты кишечника с помощью трансплантации фекальных микробов может повышать чувствительность к иммунотерапии (ИТ), тогда как антибиотикотерапия, по-видимому, снижает эффективность ИТ [46].

Адоптивная клеточная иммунотерапия позволяет в течение относительно короткого времени мобилизовать разные типы иммунных клеток на борьбу с опухолью. Эта технология включает в себя получение иммунных клеток из крови или опухолевого микроокружения, их *in vitro* активацию и размножение с последующим их возвратом пациенту. Следует, однако, заметить, что размножение клеток в искусственных условиях в присутствии высоких концентраций ростовых факторов может приводить к культуральной селекции клеток, не приспособленных к выживанию и функционированию в условиях *in vivo*. Имея это в виду, мы разработали технологию адоптивной лейкоцитарной иммунотерапии, которая включает в себя кратковременную инкубацию (до 18 ч) лейкоцитов крови *ex vivo* с активирующими стимулами с последующим возвратом активированных лейкоцитов пациенту. Разработанная технология не использует наращивание клеток вне организма. Ее назначение – одновременная стимуляция всех типов иммунных клеток, обладающих противоопухолевым потенциалом.

Комбинированная иммунотерапия

Опухоли характеризуются генетической лабильностью: различные опухолевые клоны могут отличаться по мембранной экспрессии иммуногенных и иммунорегуляторных молекул, а также по способности мигрировать и образовывать метастатические очаги. Эффективное противодействие опухолевой экспансии требует от иммунной системы слаженной работы всех ее элементов. Поэтому эффективная ИТ должна строиться на комплексе воздействий, затрагивающих разные элементы противоопухолевой защиты. Комбинация различных иммунотерапевтических подходов оказалась более эффективной и обеспечивала более высокую общую выживаемость по сравнению с монотерапией при различных опухолях [47, 48]. Комплексная ИТ может одновременно включать воздействия, направленные на ингибирование иммуносупрессорных механизмов и усиление противоопухолевой иммунореактивности. Определение оптимального баланса между разными иммунотерапевтическими воздействиями позволяет получать максимальный

противоопухолевый эффект как на ранних, так и на поздних стадиях заболевания. По сравнению с монотерапией комбинированная ИТ может строиться на использовании гораздо более низких доз провоспалительных иммуномодуляторов и поэтому может ассоциироваться со сниженным риском развития тяжелых иммуноопосредованных расстройств.

Комбинирование противоопухолевой иммунотерапии с традиционными методами лечения

Хирургическое удаление первичной опухоли является радикальным методом лечения, особенно на ранних стадиях опухолевого процесса. Следует иметь в виду, что появление опухоли указывает на сбой в работе противоопухолевого иммунитета. Кроме того, хирургическое вмешательство приводит к возникновению временной иммуносупрессии, которая может спровоцировать развитие рецидива заболевания. Отсюда имеются четкие показания к проведению ИТ в предоперационном и/или в послеоперационном периоде. Эта терапия должна стимулировать иммунную систему к распознаванию и уничтожению опухолевых клеток, оставшихся после удаления первичного очага. Для этого могут быть использованы стимуляция опухолеспецифической иммунной реактивности, а также воздействия, направленные на нейрогормональную иммунореабилитацию и коррекцию возрастных иммунологических отклонений. Для усиления иммунных процессов в зоне оперативного вмешательства может применяться локальная термотерапия. Показано, что умеренная гипертермия (39–41 °C) способна усиливать клеточную иммунореактивность, в т. ч. и противоопухолевую [49].

Химиотерапия (ХТ) приводит к избирательному росту опухолевых клеток, резистентных к действию цитостатиков. Поэтому преждевременное применение ХТ может приводить к раннему росту доминированию таких клеток и, в ко-

нечном итоге, к неэффективности химиотерапии на поздних стадиях заболевания, когда лекарственная циторедукция могла бы продлить жизнь пациента. По нашему мнению, ИТ должна занять ведущее место в протоколах лечения опухолей на ранних стадиях заболевания, отодвигая на второй план применение химиопрепаратов (табл. 1).

Уничтожить все опухолевые клетки на поздних стадиях заболевания в большинстве случаев невозможно. Под влиянием цитодеструктивных агентов опухоль с течением времени становится малочувствительной к цитотоксическим воздействиям. Вместе с тем, такая опухоль в значительной степени сохраняет чувствительность к биологическим воздействиям, контролирующим ее рост [50, 51].

Опухоль наделена патологической регенеративной активностью. Поэтому разрушение части опухолевых клеток стимулирует появление гораздо большего их количества. Системное противоопухолевое лечение на поздних стадиях заболевания должно быть направлено не столько на прямое уничтожение опухоли, сколько на усиление в опухолевом микроокружении иммунных процессов, препятствующих реализации регенеративного потенциала опухоли и торможению ростовой активности стволовых опухолевых клеток. Другими словами, стратегия лечения должна быть нацелена на достижение состояния опухолевого покоя (dormant state) (рис. 2).

Результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют, что опухоль может находиться в таком состоянии в течение длительного времени и что именно иммунная система играет ключевую роль в его поддержании [52]. Важно заметить, что низкодозовая (метрономная) радиохимиотерапия может повышать чувствительность опухоли к иммунотерапевтическим воздействиям [26]. По нашему мнению, стратегия, основанная на комбинировании традиционных циторедуктивных и иммунотерапевтических методов и нацеленная на поддержание долговременного контроля над опухолевым ростом, могла бы быть наиболее це-

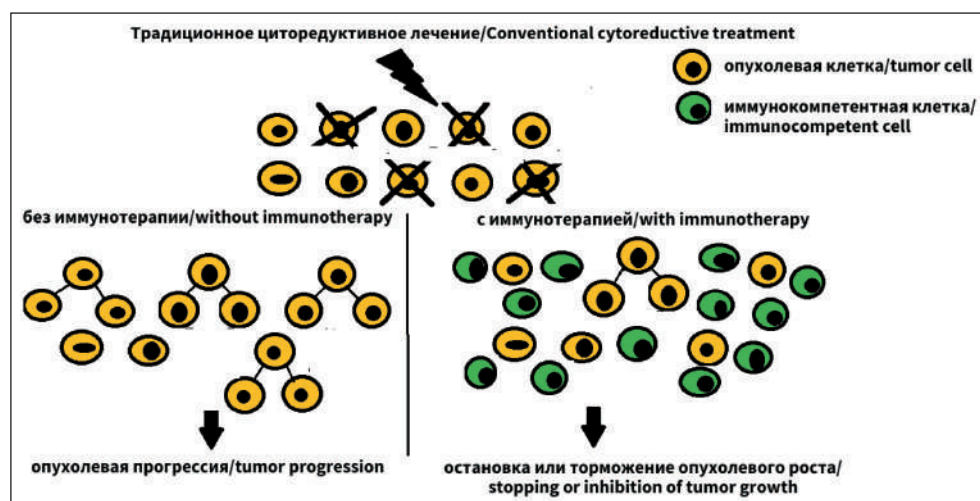


Рис. 2. Восстановление иммунологического контроля над опухолевым ростом. (Пояснения в тексте)

Fig. 2. Tumor growth-controlling effects of immunotherapy in advanced cancer patients. The description is in the text

лесообразной и эффективной на поздних стадиях болезни (рис. 2). Такая стратегия могла бы обеспечить продление жизни пациента с максимально возможным сохранением ее качества. Необходимо формировать взгляд на диссеминированный опухолевый процесс как на хроническую болезнь, которую невозможно излечить, но с которой можно длительно сосуществовать. Аналогию здесь можно провести с сердечно-сосудистыми заболеваниями и неврологическими расстройствами.

Прогностическая оценка эффективности комплексной противоопухолевой терапии

Объективный мониторинг противоопухолевой терапии имеет важное значение, поскольку позволяет своевременно вносить необходимые изменения в протоколы лечения. Воспаление может сделать опухолевые очаги более заметными при инструментальных исследованиях. Часто это воспринимается как прогрессирование заболевания. Однако у части пациентов такая воспалительная реакция может сопровождаться последующим уменьшением размеров опухоли. Псевдопрогрессирование определяется как увеличение размера первичной опухоли или появление нового очага поражения с последующей регрессией опухоли или остановкой ее роста. Это явление доказано гистологической биопсией, которая обнаружила выраженную воспалительную инфильтрацию опухоли Т- или В-лимфоцитами [53]. С другой стороны, иммуносупрессивная химиорадиотерапия может сделать опухолевые очаги менее замет-

ными за счет снижения воспаления, и это явление можно рассматривать как псевдорегрессирование. Поэтому необходимо проявлять осторожность при интерпретации данных инструментальной визуализации и обращать больше внимания на результаты лабораторных исследований.

Умеренное локальное воспаление может быть положительным прогностическим фактором течения опухолевого заболевания. Однако неспецифическое системное воспаление, вызванное опухолевой прогрессией, несомненно, ассоциируется с отрицательным прогнозом. Через усиление воспаления опухоль дезориентирует и ослабляет противоопухолевую защиту и создает благоприятные условия для опухолевой инвазии. Принимая во внимание все вышесказанное, мы разработали новую прогностическую воспалительную шкалу (ПШВ), основанную на определении 3 параметров крови: С-реактивного белка (СРБ), лактатдегидрогеназы ЛДГ и соотношение нейтрофилов к лимфоцитам (НЛС). СРБ – белок острой фазы печеночного происхождения, который используется для оценки системного воспаления. Повышенный уровень СРБ идентифицирован как негативный прогностический фактор при многих формах рака [47]. ЛДГ катализирует превращение лактата в пирuvat. Фермент считается маркером повреждения тканей, а также маркером опухолевой нагрузки. Уровень ЛДГ обратно коррелирует с эффективностью иммунотерапии [39]. НЛС в крови повышены при запущенных или высокоагрессивных формах опухолей. Высокие значения НЛС коррелируют

Таблица 2/Table 2

**Лечение рака на ранних и поздних стадиях заболевания
Treatment of cancer in early and advanced stages**

Стадия заболевания/ Stage of the disease	Лечение/Treatment
Локальная опухоль (I–II стадии)/ Local tumor (stages I–II)	Хирургическое лечение; вакцинация; локальная гипертермия; нейрогормональная иммунореабилитация; метаболическая терапия; лекарственная иммунотерапия/ Surgery; vaccination; local hyperthermia; neurohormonal immunorehabilitation; metabolic therapy; drug immunotherapy
Распространенная опухоль (III–IV стадии)/ Advanced tumor (stage III–IV)	Хирургическое лечение; радиотерапия; химиотерапия; антигормональная терапия; противовоспалительная терапия; гипертермия; вакцинация; нейрогормональная иммунореабилитация; метаболическая терапия; лекарственная иммунотерапия; адоптивная клеточная терапия/ Surgery; radiotherapy; chemotherapy; antihormonal therapy; anti-inflammatory therapy; hyperthermia; vaccination; neurohormonal immunorehabilitation; metabolic therapy; drug immunotherapy; adoptive cell therapy

Таблица 3/Table 3

**Прогностическая оценка воспаления
Prognostic assessment of inflammation**

Параметр/Parameter	Норма/Norm	Превышение/Excess
СРБ/SRP	0	1
ЛДГ/LDH	0	1
НЛС/NLS	0	1

Примечание: прогноз хороший – 0; сомнительный – 1; умеренно плохой – 2; плохой – 3.

Note: prognosis good – 0; doubtful – 1; moderately – 2; bad – 3.

с низкой общей выживаемостью при многих солидных новообразованиях [54, 55]. Лишь при раке желудка повышенное количество нейтрофилов в крови ассоциируется с положительным прогнозом [55]. Как показано в табл. 2, на основе суммирования показателей шкала дает возможность получить четыре прогноза: 0 – хороший; 1 – сомнительный; 2 – умеренно плохой; 3 – плохой. Для больных с распространенной опухолью плохой прогноз подразумевает предположительную продолжительность жизни менее 4 мес, умеренно плохой – менее 8 мес, хороший – более 8 мес.

В клинике традиционно используется прогностическая шкала Глазго (GPS), которая основана на

оценке уровня альбумина и СРБ в крови. Эта шкала показала свою эффективность в прогнозировании выживаемости пациентов с различными типами рака [56]. Наши клинические данные указывают на высокую корреляцию прогностической оценки нашей шкалы с оценкой шкалы Глазго для больных с IV стадией заболевания. Однако наша шкала дает более точную и значимую информацию, необходимую для анализа эффективности иммуномодулирующих и противовоспалительных терапевтических мероприятий. Тем не менее необходимы дополнительные клинические данные для определения прогностической ценности предложенной шкалы при разном течении и разных формах заболевания.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Seledtsov V.I., von Delwig A. Clinically feasible and prospective immunotherapeutic interventions in multidirectional comprehensive treatment of cancer. *Expert Opin Biol Ther.* 2021; 21(3): 323–42. doi: 10.1080/14712598.2021.1828338.
2. Santos P.M., Butterfield L.H. Dendritic Cell-Based Cancer Vaccines. *J Immunol.* 2018; 200(2): 443–9. doi: 10.4049/jimmunol.1701024.
3. Tanel A., Fonseca S.G., Yassine-Diab B., Bordin R., Zeidan J., Shi Y., Benne C., Sékaly R.P. Cellular and molecular mechanisms of memory T-cell survival. *Expert Rev Vaccines.* 2009; 8(3): 299–312. doi: 10.1586/14760584.8.3.299.
4. Seledtsov V.I., von Delwig A.A. Immune memory limits human longevity: the role of memory CD4⁺ T cells in age-related immune abnormalities. *Expert Rev Vaccines.* 2020; 19(3): 209–15. doi: 10.1080/14760584.2020.1745638.
5. Ayers M., Lunceford J., Nebozhyn M., Murphy E., Loboda A., Kaufman D.R., Albright A., Cheng J.D., Kang S.P., Shankaran V., Piha-Paul S.A., Yearley J., Seiwert T.Y., Ribas A., McClanahan T.K. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest.* 2017; 127(8): 2930–40. doi: 10.1172/JCI91190.
6. Seledtsov V.I., Goncharov A.G., Seledtsova G.V. Clinically feasible approaches to potentiating cancer cell-based immunotherapies. *Hum Vaccin Immunother.* 2015; 11(4): 851–69. doi: 10.1080/21645515.2015.1009814.
7. Andzinski L., Kasnitz N., Stahnke S., Wu C.F., Gereke M., von Köckritz-Blickwede M., Schilling B., Brandau S., Weiss S., Jablonska J. Type I IFNs induce anti-tumor polarization of tumor associated neutrophils in mice and human. *Int J Cancer.* 2016; 138(8): 1982–93. doi: 10.1002/ijc.29945.
8. Seledtsov V.I., Seledtsova G.V. A balance between tissue-destructive and tissue-protective immunities: a role of toll-like receptors in regulation of adaptive immunity. *Immunobiology.* 2012; 217(4): 430–5. doi: 10.1016/j.imbio.2011.10.011.
9. Darcy P.K., Neeson P., Yong C.S., Kershaw M.H. Manipulating immune cells for adoptive immunotherapy of cancer. *Curr Opin Immunol.* 2014; 27: 46–52. doi: 10.1016/j.coi.2014.01.008.
10. Seledtsov V.I., Seledtsova G.V. A Possible Role for Idiotype/Anti-idiotype B-T Cell Interactions in Maintaining Immune Memory. *Front Immunol.* 2017; 8: 409. doi: 10.3389/fimmu.2017.00409.
11. Zhang Z., Liu S., Zhang B., Qiao L., Zhang Y., Zhang Y. T Cell Dysfunction and Exhaustion in Cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 17. doi: 10.3389/fcell.2020.00017.
12. Qian J., Wang C., Wang B., Yang J., Wang Y., Luo F., Xu J., Zhao C., Liu R., Chu Y. The IFN- γ /PD-L1 axis between T cells and tumor microenvironment: hints for glioma anti-PD-1/PD-L1 therapy. *J Neuroinflammation.* 2018; 15(1): 290. doi: 10.1186/s12974-018-1330-2.
13. Tran L., Theodorescu D. Determinants of Resistance to Checkpoint Inhibitors. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(5): 1594. doi: 10.3390/ijms21051594.
14. Liang C., Jiang E., Yao J., Wang M., Chen S., Zhou Z., Zhai W., Ma Q., Feng S., Han M. Interferon- γ mediates the immunosuppression of bone marrow mesenchymal stem cells on T-lymphocytes in vitro. *Hematology.* 2018; 23(1): 44–9. doi: 10.1080/10245332.2017.1333245.
15. Liu Y., Liang X., Yin X., Lv J., Tang K., Ma J., Ji T., Zhang H., Dong W., Jin X., Chen D., Li Y., Zhang S., Xie H.Q., Zhao B., Zhao T., Lu J., Hu Z.W., Cao X., Qin F.X., Huang B. Blockade of IDO-kynurenine-AhR metabolic circuitry abrogates IFN- γ -induced immunologic dormancy of tumor-repopulating cells. *Nat Commun.* 2017; 8: 15207. doi: 10.1038/ncomms15207.
16. Onizuka S., Tawara I., Shimizu J., Sakaguchi S., Fujita T., Nakayama E. Tumor rejection by in vivo administration of anti-CD25 (interleukin-2 receptor alpha) monoclonal antibody. *Cancer Res.* 1999; 59(13): 3128–33.
17. Palena C., Schlom J. Vaccines against human carcinomas: strategies to improve antitumor immune responses. *J Biomed Biotechnol.* 2010. doi: 10.1155/2010/380697.
18. Kim J.H., Kim B.S., Lee S.K. Regulatory T Cells in Tumor Microenvironment and Approach for Anticancer Immunotherapy. *Immune Netw.* 2020; 20(1). doi: 10.4110/in.2020.20.e4.
19. Giancchetti E., Fierabracci A. Inhibitory Receptors and Pathways of Lymphocytes: The Role of PD-1 in Treg Development and Their Involvement in Autoimmunity Onset and Cancer Progression. *Front Immunol.* 2018; 9: 2374. doi: 10.3389/fimmu.2018.02374.
20. Dunne A., Marshall N.A., Mills K.H. TLR based therapeutics. *Curr Opin Pharmacol.* 2011; 11(4): 404–11. doi: 10.1016/j.coph.2011.03.004.
21. Law A.M.K., Valdes-Mora F., Gallego-Ortega D. Myeloid-Derived Suppressor Cells as a Therapeutic Target for Cancer. *Cells.* 2020; 9(3): 561. doi: 10.3390/cells9030561.
22. Orillion A., Hashimoto A., Damayanti N., Shen L., Adelaiye-Ogala R., Arisa S., Chintala S., Ordenlich P., Kao C., Elzey B., Gabrilovich D., Pili R. Entinostat Neutralizes Myeloid-Derived Suppressor Cells and Enhances the Antitumor Effect of PD-1 Inhibition in Murine Models of Lung and Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2017; 23(17): 5187–5201. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0741.
23. Singh S., Kumar N.K., Dwiwedi P., Charan J., Kaur R., Sidhu P., Chugh V.K. Monoclonal Antibodies: A Review. *Curr Clin Pharmacol.* 2018; 13(2): 85–99. doi: 10.2174/1574884712666170809124728.
24. Seledtsov V.I., Seledtsova G.V. Attaining threshold antibody cytotoxicity for selective tumor cell destruction: an opinion article. *Oncotarget.* 2018; 9(87): 35790–4. doi: 10.18632/oncotarget.26271.
25. Kantoff P.W., Higano C.S., Shore N.D., Berger E.R., Small E.J., Penson D.F., Redfern C.H., Ferrari A.C., Dreicer R., Sims R.B., Xu Y., Frohlich M.W., Schellhammer P.F.; IMPACT Study Investigators. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med.* 2010; 363(5): 411–22. doi: 10.1056/NEJMoa1001294.
26. Lopes A., Vandermeulen G., Pr  at V. Cancer DNA vaccines: current preclinical and clinical developments and future perspectives. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019; 38(1): 146. doi: 10.1186/s13046-019-1154-7.
27. Seledtsova G.V., Shishkov A.A., Kaschenko E.A., Seledtsov V.I. Xenogeneic cell-based vaccine therapy for colorectal cancer: Safety, association of clinical effects with vaccine-induced immune responses. *Biomed Pharmacother.* 2016; 83: 1247–52. doi: 10.1016/j.biopha.2016.08.050.
28. Seledtsova G.V., Shishkov A.A., Kaschenko E.A., Goncharov A.G., Gazatova N.D., Seledtsov V.I. Xenogeneic cell-based vaccine therapy for stage III melanoma: safety, immune-mediated responses and survival benefits. *Eur J Dermatol.* 2016; 26(2): 138–43. doi: 10.1684/ejd.2016.2733.
29. Gordeeva O. Cancer-testis antigens: Unique cancer stem cell biomarkers and targets for cancer therapy. *Semin Cancer Biol.* 2018; 53: 75–89. doi: 10.1016/j.semcancer.2018.08.006.
30. Chiang C.L., Kandalaft L.E., Koukos G. Adjuvants for enhancing the immunogenicity of whole tumor cell vaccines. *Int Rev Immunol.* 2011; 30(2–3): 150–82. doi: 10.3109/08830185.2011.572210.
31. M  ller E., Speth M., Christopoulos P.F., Lunde A., Avdagic A., O  nebr  ten I., Corthay A. Both Type I and Type II Interferons Can Activate Antitumor M1 Macrophages When Combined With TLR Stimulation. *Front Immunol.* 2018; 9: 2520. doi: 10.3389/fimmu.2018.02520.
32. Sanmamed M.F., Pastor F., Rodriguez A., Perez-Gracia J.L., Rodriguez-Ruiz M.E., Jure-Kunkel M., Melero I. Agonists of Co-stimulation in Cancer Immunotherapy Directed Against CD137, OX40, GITR, CD27, CD28, and ICOS. *Semin Oncol.* 2015; 42(4): 640–55. doi: 10.1053/j.seminoncol.2015.05.014.

33. Starzer A.M., Berghoff A.S. New emerging targets in cancer immunotherapy: CD27 (TNFRSF7). *ESMO Open*. 2020; 4(3). doi: 10.1136/esmoopen-2019-000629.
34. Schirmacher V. Cancer vaccines and oncolytic viruses exert profoundly lower side effects in cancer patients than other systemic therapies: a comparative analysis. *Biomedicine*. 2020; 8(3): 61. doi:10.3390/biomedicine8030061.
35. Dobosz P., Dzieciatkowski T. The intriguing history of cancer immunotherapy. *Front Immunol*. 2019; 10: 2965. doi:10.3389/fimmu.2019.02965.
36. Hamid O., Ismail R., Puzanov I. Intratumoral Immunotherapy-Update 2019. *Oncologist*. 2020; 25(3): 423–38. doi: 10.1634/theoncologist.2019-0438.
37. Cheng L., Wang Y., Huang L. Exosomes from M1-Polarized Macrophages Potentiate the Cancer Vaccine by Creating a Pro-inflammatory Microenvironment in the Lymph Node. *Mol Ther*. 2017; 25(7): 1665–75. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.02.007.
38. Lugini L., Cecchetti S., Huber V., Luciani F., Macchia G., Spadaro F., Paris L., Abalsamo L., Colone M., Molinari A., Podo F., Rivoltini L., Ramoni C., Fais S. Immune surveillance properties of human NK cell-derived exosomes. *J Immunol*. 2012; 189(6): 2833–42. doi: 10.4049/jimmunol.1101988.
39. Im H., Lee K., Weissleder R., Lee H., Castro C.M. Novel nanosensing technologies for exosome detection and profiling. *Lab Chip*. 2017; 17(17): 2892–8. doi:10.1039/c7lc00247e.
40. Van Wilpe S., Koornstra R., Den Brok M., De Groot J.W., Blank C., De Vries J., Gerritsen W., Mehra N. Lactate dehydrogenase: a marker of diminished antitumor immunity. *Oncoimmunology*. 2020; 9(1): 1731942. doi: 10.1080/2162402X.2020.1731942.
41. Davis-Yadley A.H., Malafa M.P. Vitamins in pancreatic cancer: a review of underlying mechanisms and future applications. *Adv Nutr*. 2015; 6(6): 774–802. doi: 10.3945/an.115.009456.
42. Shrivastava P., Singh S.M., Singh N. Activation of tumor-associated macrophages by thymosin alpha 1. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2004; 17(1): 39–47. doi: 10.1177/039463200401700106.
43. Zhukova G.V., Schikhlyarova A.I., Barteneva T.A., Shevchenko A.N., Zakhar'yuta F.M. Effect of Thymalin on the Tumor and Thymus under Conditions of Activation Therapy In Vivo. *Bull Exp Biol Med*. 2018; 165(1): 80–3. doi: 10.1007/s10517-018-4104-z.
44. Mascanfroni I., Montesinos Mdel M., Susperregui S., Cervi L., Ibarregui J.M., Ramseyer V.D., Masini-Repiso A.M., Targovnik H.M., Rabinovich G.A., Pellizas C.G. Control of dendritic cell maturation and function by triiodothyronine. *FASEB J*. 2008; 22(4): 1032–42. doi: 10.1096/fj.07-8652com.
45. Kelley K.W., Weigent D.A., Kooijman R. Protein hormones and immunity. *Brain Behav Immun*. 2007; 21(4): 384–92. doi: 10.1016/j.bbi.2006.11.010.
46. Sekirov I., Russell S.L., Antunes L.C., Finlay B.B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*. 2010; 90(3): 859–904. doi: 10.1152/physrev.00045.2009.
47. Christofi T., Baritaki S., Falzone L., Libra M., Zaravinos A. Current Perspectives in Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(10): 1472. doi: 10.3390/cancers11101472.
48. Spranger S., Gajewski T. Rational combinations of immunotherapeutics that target discrete pathways. *J Immunother Cancer*. 2013; 1: 16. doi: 10.1186/2051-1426-1-16.
49. Bashraheel S.S., Domling A., Goda S.K. Update on targeted cancer therapies, single or in combination, and their fine tuning for precision medicine. *Biomed Pharmacother*. 2020; 125: 110009. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110009.
50. Cheng Y., Weng S., Yu L., Zhu N., Yang M., Yuan Y. The Role of Hyperthermia in the Multidisciplinary Treatment of Malignant Tumors. *Integr Cancer Ther*. 2019; 18. doi: 10.1177/1534735419876345.
51. Quail D.F., Joyce J.A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med*. 2013; 19(11): 1423–37. doi: 10.1038/nm.3394.
52. Jahanban-Esfahlan R., Seidi K., Manjili M.H., Jahanban-Esfahlan A., Javaheri T., Zare P. Tumor Cell Dormancy: Threat or Opportunity in the Fight against Cancer. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(8): 1207. doi: 10.3390/cancers11081207.
53. Wang H.F., Wang S.S., Huang M.C., Liang X.H., Tang Y.J., Tang Y.L. Targeting Immune-Mediated Dormancy: A Promising Treatment of Cancer. *Front Oncol*. 2019; 9: 498. doi: 10.3389/fonc.2019.00498.
54. Ma Y., Wang Q., Dong Q., Zhan L., Zhang J. How to differentiate pseudoprogession from true progression in cancer patients treated with immunotherapy. *Am J Cancer Res*. 2019; 9(8): 1546–53.
55. Uribe-Querol E., Rosales C. Neutrophils in Cancer: Two Sides of the Same Coin. *J Immunol Res*. 2015. doi: 10.1155/2015/983698.
56. Caruso R.A., Bellocchio R., Pagano M., Bertoli G., Inferriera C. Prognostic value of intratumoral neutrophils in advanced gastric carcinoma in a high-risk area in northern Italy. *Mod Pathol*. 2002; 15(8): 831–7. doi: 10.1097/01.MP.0000020391.98998.6B.

Поступила/Received 12.03.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 04.05.2021

Принята к публикации/Accepted 25.05.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Селедцов Виктор Иванович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, ФГБНУЗ «Центральная клиническая больница РАН» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6469-9230. ORCID: 0000-0002-4746-8853.

Селедцова Галина Викторовна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 1086-8579. Researcher ID (WOS): B-1085-2014. ORCID: 0000-0001-8072-6255.

Доржиева Аяна Бояровна, аспирант, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0002-7109-4687.

Иванова Ирина Петровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 9322-2073. Researcher ID (WOS): D-9386-2014. ORCID: 0000-0003-1435-2616.

ВКЛАД АВТОРОВ

Селедцов Виктор Иванович: разработка научной идеи, общая концепция написания статьи, подбор материала.

Селедцова Галина Викторовна: анализ научной работы с дополнением ее и критическими замечаниями.

Доржиева Аяна Бояровна: подбор и анализ научного материала для раздела «Комбинированная иммунотерапия».

Иванова Ирина Петровна: подбор и анализ научного материала для раздела «Противоопухолевые иммунные механизмы».

Финансирование

Работа выполнена в рамках ГЗ НИИФКИ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Viktor I. Seledtsov, MD, DSc, Leading Researcher of the Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-4746-8853.

Galina V. Seledtsova, MD, DSc, Leading Researcher of Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): B-1085-2014. ORCID: 0000-0001-8072-6255.

Ayana B. Dorzhieva, MD, Postgraduate of Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7109-4687.

Irina P. Ivanova, MD, PhD, Senior Researcher of Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-9386-2014. ORCID: 0000-0003-1435-2616.

AUTHOR CONTRIBUTION

Viktor I. Seledtsov: study conception, data collection, writing of the manuscript.

Galina V. Seledtsova: supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Ayana B. Dorzhieva: data collection and analysis.

Irina P. Ivanova: data collection and analysis.

Funding

This research was carried out as part of the state assignment of NII FCI.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Березина О.В., Чуркина М.И., Гуражева А.А., Максимов В.Н. Метилирование генов p53-респонзивных онкосупрессорных микроРНК при гемобластозах. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 130–142. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-130-142

For citation: Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Berezina O.V., Churkina M.I., Gurazheva A.A., Maksimov V.N. Methylation of p53-responsive oncosuppressive microRNA genes in hemoblastosis. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 130–142. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-130-142

МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ P53-РЕСПОНЗИВНЫХ ОНКОСУПРЕССОРНЫХ МИКРОРНК ПРИ ГЕМОБЛАСТОЗАХ

Е.Н. Воропаева¹, Т.И. Поспелова², О.В. Березина², М.И. Чуркина²,
А.А. Гуражева¹, В.Н. Максимов¹

НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск, Россия¹

Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1. E-mail: vena.81@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия²

Россия, 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52²

Аннотация

Цель исследования – представить современные данные о частоте и значении метилирования генов ряда p53-респонзивных онкосупрессорных микроРНК при опухолевых заболеваниях системы крови.

Материал и методы. Проведен поиск доступных литературных источников, опубликованных в базах данных PubMed и РИНЦ. Найдено 399 статей, из которых 62 были включены в данный обзор. **Результаты.** Белок p53 регулирует целый класс микроРНК – высококонсервативных малых молекул РНК, которые влияют на экспрессию генов в основном путем подавления трансляции. МикроРНК играют важную роль во всех клеточных процессах и могут иметь как онкосупрессорные, так и проонкогенные свойства. Нарушения экспрессии активируемых p53 онкосупрессорных микроРНК в различных опухолях могут быть связаны со специфическими эпигенетическими механизмами (метилированием ДНК и деацетилизацией гистонов). В обзоре рассмотрены молекулярно-генетические характеристики онкосупрессорных микроРНК, функционирующих при нормальном кроветворении, нарушение экспрессии которых показано при развитии гемобластозов, а именно: miR-34a, miR-34b/c, miR-145, miR-143 и miR-203. Известно, что транскрипция генов этих микроРНК осуществляется и регулируется с собственных промоторов. Приведены последние опубликованные результаты исследований по диагностическому, прогностическому и клиническому значению метилирования генов рассматриваемых микроРНК при злокачественных новообразованиях системы крови. Согласно данным литературных источников, частыми общими мишенями для микроРНК miR-34a, miR-34b/c, miR-145, miR-143 и miR-203 являются м-РНК ряда проонкогенов, а именно: транскрипционного фактора C-MYC, позитивных регуляторов клеточного цикла в контрольной точке перехода G1/S фаз CDK4, CDK6 и CYCLIN-D1, антиапоптотических белков MDM2, MDM4, BCL2 и MCL1, а также ДНК-метилтрансфераз DNMT3A и DNMT3B и других молекул. Описано наличие положительных обратных связей между p53 и активируемыми им микроРНК, а также отрицательных обратных связей между p53-респонзивными микроРНК и C-MYC и ДНК-метилтрансферазами. **Заключение.** Данные, представленные в обзоре, уточняют современные представления о работе регуляторной сети белка p53 и активируемых им микроРНК, а также подчеркивают функциональную ассоциацию p53-респонзивных микроРНК.

Ключевые слова: TP53, p53, микроРНК, miR-34a, miR-34b/c, miR-145, miR-143, miR-203, гемобластозы, экспрессия, метилирование.

METHYLATION OF P53-RESPONSIVE ONCOSUPPRESSIVE MICRORNA GENES IN HEMOBLASTOSIS

E.N. Voropaeva¹, T.I. Pospelova², O.V. Berezina², M.I. Churkina²,
A.A. Gurazheva¹, V.N. Maksimov¹

Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia¹
175/1, Boris Bogatkov St., 630089, Novosibirsk, Russia. E-mail: vena.81@mail.ru¹
Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Novosibirsk, Russia²
52, Red Ave., 630091, Novosibirsk, Russia²

Abstract

The purpose of the study was to present up-to-date data on the frequency and significance of a number of p53-responsive oncosuppressive microRNAs genes methylation in malignant neoplasms of the blood system. **Material and Methods.** The search for available literary sources published in the PubMed and RISC databases was carried out. A total of 399 articles were found, of which 62 were included in this review. **Results.** The p53 protein regulates a whole class of microRNAs – highly conserved small RNA molecules that affect gene expression mainly by suppressing translation. MicroRNAs play an important role in all cellular processes and can have both oncosuppressive and pro-oncogenic properties. Impaired expression of p53-activated oncosuppressive microRNAs in various tumors may be associated with specific epigenetic mechanisms (DNA methylation and histone deacetylation). The review examines the molecular and genetic characteristics of oncosuppressive microRNAs functioning in normal hematopoiesis, the violation of expression of which is shown in the development of hemoblastoses, namely: miR-34a, miR-34b/c, miR-145, miR-143 and miR-203. It is known that the transcription of the genes of these microRNAs is carried out and regulated from their own promoters. The latest published research results on the diagnostic, prognostic and clinical significance of gene methylation of the microRNAs under consideration in malignant neoplasms of the blood system are presented. According to literature data, common targets for miR-34a, miR-34b/c, miR-145, miR-143 and miR-203 microRNAs are mRNAs of a number of pro-oncogenes, namely: transcription factor C-MYC, positive cell cycle regulators at the G1/S transition point of CDK4, CDK6 and CYCLIN-D1 phases, anti-apoptotic proteins MDM2, MDM4, BCL2 and MCL1, as well as DNMT3A and DNMT3B methyltransferases and other molecules. In this regard, it should be noted that there are positive feedbacks between p53 and microRNAs activated by it, as well as negative feedbacks between p53-responsive microRNAs and C-MYC and DNA methyltransferases. **Conclusion.** Thus, the data presented in the review clarify the current understanding of the work of the regulatory network of the p53 protein and the microRNAs activated by it, and also emphasize the functional association of p53-responsive microRNAs.

Key words: TP53, p53, miR-34a, miR34b/c, miR-145, miR-143, miR-203, hemoblastosis, expression, methylation.

Введение

Роль микроРНК в развитии опухолей в последние десятилетия активно изучается, поскольку они участвуют практически во всех клеточных процессах, модулирующих злокачественную трансформацию клеток, а именно: контроле клеточного цикла, ответе на повреждение ДНК, дифференцировке, пролиферации, апоптозе, старении, обмене веществ, эпителиально-мезенхимальном переходе и метастазировании [1]. Получены данные, что микроРНК действуют не только как внутриклеточные мессенджеры, но также могут секретироваться и циркулировать в крови как часть апоптотических тел, микровезикул и экзосом [2].

МикроРНК могут быть отнесены к классу онкосупрессоров или проонкогенов, хотя подобное разделение подходит не для всех молекул [3]. Уровень экспрессии первых в процессе неопластической трансформации клетки может снижаться,

уровень вторых – повышаться. Хорошо изучены онкосупрессорные микроРНК кластера miR-34. Примером микроРНК с онкогенным потенциалом являются молекулы кластера miR-17-92. Входящие в него молекулы запускают пролиферацию, ангиогенез, эндотелиально-мезенхимальный переход и метастазирование при широком спектре опухолей [4]. Исследования по профилированию экспрессии генов и биоинформационный анализ показывают, что дерегуляция микроРНК является распространенным событием при новообразованиях. Опухоль имеет свой, отличный от нормальных клеток спектр экспрессии данных молекул.

Известно, что точная регуляция содержания микроРНК в гемопоэтических клетках необходима для нормального кроветворения. Так, существуют белки, участвующие в гемопоэзе, экспрессия которых должна очень четко регулироваться в клетке с помощью микроРНК, а ее нарушение приводит

к различным патологическим состояниям, в т. ч. развитию злокачественных новообразований.

МикроРНК имеют важнейшую регуляторную функцию и в работе иммунной системы, начиная от поддержания пула стволовых клеток и заканчивая созреванием и функционированием Т- и В-лимфоцитов. Они не только влияют на направление развития клетки, но также могут играть более тонкую роль в придании клетке устойчивости или чувствительности к важнейшим биологическим процессам – апоптозу, пролиферации, дифференцировке и т.д.

Участие микроРНК в лимфогенезе подтверждено в моделях на трансгенных мышах. Аберрантная экспрессия микроРНК не только приводит к развитию лимфопролиферативных заболеваний, но и способствует увеличению темпов их опухолевой прогрессии. Впервые значение дерегуляции микроРНК в биологии гемобластозов получило оценку, когда было показано, что в локусе 13q14, который часто подвергается делеции при хроническом лимфолейкозе, расположены гены онкосупрессорных микроРНК miR-15a и miR-16-1 [5].

Аберрантная экспрессия микроРНК наблюдается и при лимфомах, например при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ). Показана возможность разделения ДВККЛ на классификационные подгруппы герминального и негерминального происхождения на основе спектра экспрессии микроРНК, отмечены различия в экспрессии микроРНК в клетках лимфомы и нормальной лимфоидной ткани [6].

Ряд микроРНК имеют однонаправленные изменения экспрессии при различных подтипах лимфом, таковым, например, является повышение экспрессии онкогенных miR-155, miR-17-92b и miR-21, а также снижение экспрессии онкосупрессорных miR-15a/16, miR-34a, miR-150 и miR-29 [3, 7].

Метилирование генов микроРНК

Изменения уровня микроРНК в клетках могут быть вызваны различными механизмами. Гиперэкспрессия их может быть результатом амплификации кодирующего микроРНК региона генома, промоции транскрипции или потери эпигенетического сайленсига гена микроРНК. Снижение уровня экспрессии, напротив, может быть связано с делецией участка хромосомы, на котором расположен ген микроРНК, наличием мутаций в предшественниках и ключевых последовательностях зрелых молекул, а также гиперметилированием промотора генов микроРНК.

Нарушение гомеостаза метилирования ДНК – центральное звено в эволюции опухолей. Основной чертой генома злокачественной клетки является его глобальное деметилирование, приводящее к генетической нестабильности. С другой стороны, при опухолях происходит аномальное гипермети-

лирование ДНК в промоторных регионах генов-онкосупрессоров [8]. Причем такое аберрантное метилирование является ранним событием в эволюции опухолей и способствует дальнейшему прогрессированию заболевания [9].

Многие гены микроРНК находятся в интронах белок-кодирующих генов, и, следовательно, экспрессия микроРНК зависит от уровня транскрипции гена-«хозяина». Однако часть из внутрингенных, а также межгенно расположенных микроРНК имеют свои собственные промоторы. Поскольку большинство кодирующих микроРНК генов обнаружено в CpG-богатых регионах, было высказано предположение, что метилирование ДНК может иметь важное значение в нарушении их транскрипции [4]. Позднее было показано, что промоторы генов микроРНК подвергаются метилированию в пять-десять раз чаще, чем генов, кодирующих белки, а их аберрантное гиперметилирование – один из наиболее значимых механизмов снижения экспрессии микроРНК при опухолях [9].

В настоящее время выявлено около 200 генов микроРНК, которые регулируются путем метилирования ДНК при множестве типов неоплазий. Было показано, что 45,5 % этих генов аберрантно метилированы, по меньшей мере, при двух типах онкологических заболеваний. Так, например, гиперметилирование генов MIR-34B, MIR-34C и MIR-34A было показано при 24, 21 и 17 видах рака соответственно. Снижение экспрессии онкосупрессорных микроРНК, например miR-203, miR-124-1 и miR-129-2, при злокачественных новообразованиях, в т. ч. системы крови, также происходит путем аберрантного метилирования. Ряд микроРНК считаются специфично метилированными при отдельных типах рака, однако предполагается, что этот феномен отчасти связан с малой изученностью вопроса и может измениться при исследовании метилирования этих генов при расширенном спектре опухолей [10].

Можно предположить, что аберрантное метилирование генов микроРНК при опухолях – потенциально полезный молекулярный биомаркер как в диагностике, так и в предикции, прогнозе опухоли и разработке стратегии таргетной терапии злокачественных новообразований.

МикроРНК как посредники эффектов p53

В физиологических условиях точная и согласованная регуляция p53-индуцируемых микроРНК опосредует его противоопухолевые эффекты. Так, реализация p53-опосредованного ответа на генотоксический клеточный стресс во многом осуществляется за счет изменения спектра экспрессируемых микроРНК, а именно активации онкосупрессорных и подавления онкогенных молекул, что возможно как напрямую через транскрипционно-зависимые механизмы, так и косвенно (рис. 1).

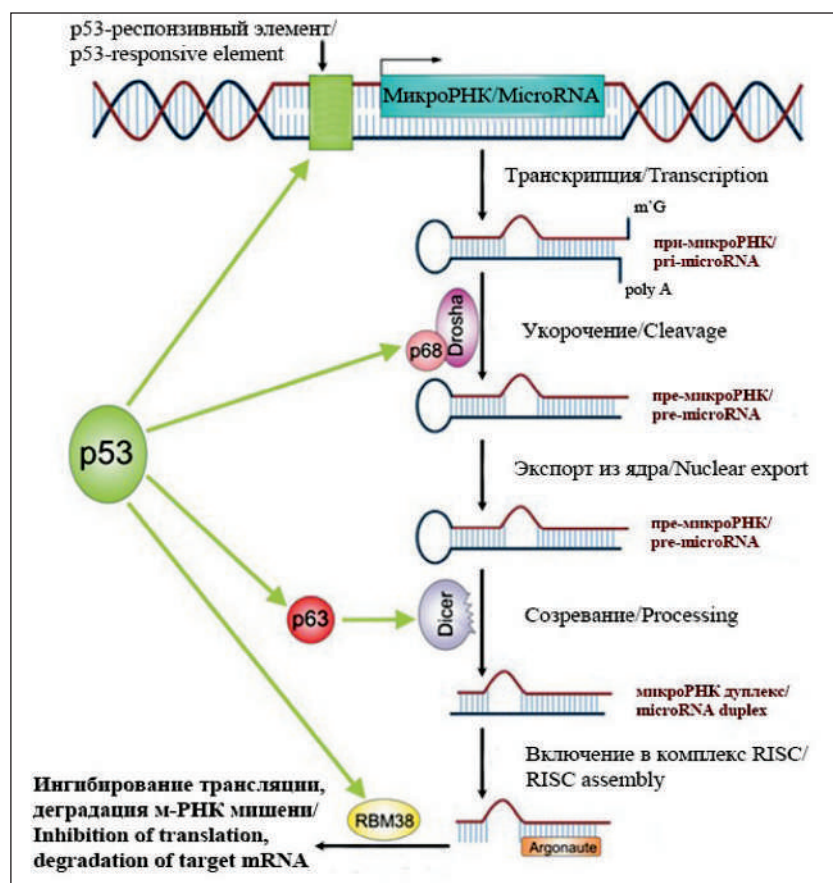


Рис. 1. Регуляция экспрессии микроРНК белком p53 на уровне транскрипции и созревания микроРНК (источник с изменениями [61]).

Fig. 1. Regulation of microRNA expression by p53 protein at the level of transcription and microRNA maturation.

Важно отметить, что вариабельность сигнатуры экспрессии p53-регулируемых микроРНК и их генов-мишеней зависит от типа клеток, природы стресса и причины повреждения ДНК. При этом регулируемые p53 микроРНК вовлечены в комплекс обратных и прямых связей с p53, что способствует совместному контролю, усилению и настройке сигналов в ответ на стресс.

Так, в генах ряда онкосупрессорных микроРНК, например, let-7, miR-16-2, miR-29b, miR-34a, miR-34b/c, miR-107, miR-145 и других, были выявлены p53-реактивные элементы, связываясь с которыми, p53 индуцирует их транскрипцию. Экспрессия других микроРНК, таких как miR-107, miR-122, miR-182, miR-200, miR-205, miR-605 и miR-1204, также потенциально может регулироваться за счет прямого связывания p53 с промоторами генов, однако необходимы экспериментальные подтверждения такого взаимодействия [5].

Помимо прямой регуляции транскрипции возможно участие p53 в регуляции экспрессии микроРНК на посттранскрипционном уровне путем влияния на процессинг данных молекул. Показано, что p53 усиливает посттранскрипционный процессинг онкосупрессорных микроРНК miR-16-1, miR-143 и miR-145 в ответ на повреждение ДНК как на уровне связывания с белковым комплексом Drosha, так и на уровне связывания с белковым комплексом Dicer [11, 12].

Большинство мутаций в гене *TP53*, ответственном за синтез p53, при злокачественных новообразованиях человека находятся в ДНК-связывающем домене, который имеет ряд функций [13]. Определение данных мутаций имеет большое значение для определения прогноза и тактики ведения больных НХЗЛ [14]. Давно известно, что ДНК-связывающий домен белка p53 не только контактирует с ДНК и позволяет активировать гены-мишени (включая гены микроРНК) для индуцирования апоптоза или остановки клеточного цикла, но и стимулирует запуск программируемой клеточной смерти через взаимодействие с белками семейства BCL2 в митохондриях. В экспериментах на мышах были получены убедительные доказательства того, что некоторые мутантные варианты p53 не просто утрачивают нормальные онкосупрессорные функции белка, но и приобретают стимулирующие опухолевый рост свойства, например, путем изменения спектра p53-регулируемых генов [15].

Позднее появились данные о том, что транскрипционно-неактивные мутантные варианты p53 препятствуют функциональной сборке комплекса Drosha, имеющего основную роль в инициации процессинга микроРНК в ядре. В частности, мутации в «горячих» точках p.R175H и p.R273H коррелируют с более низкой активностью Drosha, в то время как P53, с мутацией p.C135Y, которая редко встречается при опухолях, не име-

ет такого влияния на Drosha [16]. Эти данные свидетельствуют о том, что транскрипционно-независимая модуляция биогенеза микроРНК является еще одним из аспектов противоопухолевой активности p53.

В последнее десятилетие возрос интерес к изучению метилирования генов микроРНК при гемобластозах. Активно изучается значение данных молекул в нормальной дифференцировке и функционировании кроветворных клеток и их дерегуляции в развитии опухолей. Несмотря на то, что общие знания о роли микроРНК в развитии злокачественных новообразований системы крови накапливаются быстрыми темпами [6, 17], данные по частоте и спектру метилирования генов микроРНК, участию метилирования онкосупрессорных микроРНК в прогрессии опухоли, его прогностической, предиктивной и диагностической ценности при гемобластозах немногочисленны.

Далее будут описаны имеющиеся данные о роли p53-респонзивных онкосупрессорных микроРНК и частоте метилирования кодируемых ими генов при злокачественных новообразованиях системы крови.

Метилирование генов p53-респонзивных микроРНК при опухолях системы крови **Гены кластера miR-143/145**

Гены *MIR-143* и *MIR-145* находятся на расстоянии 1.3 kb (килобаз) друг от друга в хромосомном регионе 5q33. Предполагается, что miR-143 и miR-145 образуются с общего предшественника и их функции кооперированы [18]. Геном-«хозяином» данного кластера микроРНК является ген некодирующей РНК *CARMN*. Известно, что нокдаун *CARMN* снижает экспрессию miR-143 и miR-145. С другой стороны, для кластера идентифицированы независимые транскрипционные факторы и отдельная промоторная регуляция экспрессии miR-145 [19].

Показано, что уровень miR-145 повышается в ответ на стресс через PI3K/Akt и p53-опосредованные пути. Транскрипция ее индуцируется при связывании p53 с соответствующим регуляторным элементом в промоторе гена [18]. В отличие от такого прямого воздействия участие белка p53 в регуляции экспрессии miR-143 происходит на посттранскрипционном уровне. Созревание pri-miR-143 в pre-miR-143 в ядре клетки запускается за счет связи p53 с компонентами комплекса Drosha [20].

Учитывая количество и спектр целевых генов, кластер miR-143/145 является важным для онкогенеза (табл. 1). Мишенями miR-145 являются онкоген *BCL2*, промоторы клеточного цикла циклинкиназы *CDK4* и *CDK6*, циклин *D1*, регулятор деградации p53 убиквитинлигаза *MDM2*, а также транскрипционные факторы *ОСТ4*, *SOX2* и *KLF4*, ответственные за самообновление недифференцированных эмбриональных стволовых клеток [18,

21]. Соответственно, выключение этих генов на посттрансляционном уровне за счет микроРНК приводит к активации апоптоза, снижению способности к пролиферации и подавлению плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток.

Наиболее примечательное открытие в отношении miR-145 касается определения роли miR-145 в посттранскрипционной регуляции *C-MYC*. Так, miR-145 непосредственно нацелена на онкоген *C-MYC* [18]. Более поздние исследования показали, что мишенью данной микроРНК является также ген *ERK5*. Кодируемый им белок участвует в передаче сигнала по MAPK-путям в ответ на стимулы факторов роста, полученные клеткой через рецепторные тирозинкиназы или рецепторы, сопряженные с G-белками, что в конечном итоге приводит к активации *C-MYC* [22]. Другими мишенями miR-145 являются ДНК метилтрансфераза *DNMT3b* и онкоген *RAS*. Предполагается, что между miR-145 и *DNMT3b*, *K-RAS* и *C-MYC*, а также miR-143 и *DNMT3a*, *K-RAS* существует перекрестная регуляция через двойные отрицательные контуры обратных связей [18, 22].

Биоинформационный анализ и исследования на культурах опухолевых клеток показывают, что потенциальными мишенями для miR-143 и miR-145 могут быть и ряд других м-РНК, в т. ч. транскрипционных факторов, обладающих онкогенными функциями [23], но необходимо экспериментальное подтверждение полученных таким образом данных для разных патологических состояний и типов тканей. Однако уже сейчас понятно, что низкая экспрессия miR-143 и miR-145 может привести к несбалансированному сигнальному каскаду, включающему MAPK, и устойчивой клеточной пролиферации, а также напрямую и косвенно приводит к усилению клеточного роста и выживания, подавлению апоптоза и увеличению способности к адгезии, инвазии и миграции клеток [24, 25].

В отличие от здоровых тканей экспрессия данных молекул снижена при опухолях. На материале, полученном от здоровых доноров, показано, что miR-143 высоко экспрессируется в гемопоэтических клетках костного мозга различной стадии дифференцировки. MiR-145, напротив, в здоровых гемопоэтических клетках костного мозга практически не обнаруживается [26]. Известно также, что miR-145 менее выражено экспрессируется в В-клетках памяти в сравнении с наивными В-клетками [27]. Предполагается, что уровень miR-143 и miR-145 может служить биологическим маркером для отличия опухолевых и нормальных В-лимфоцитов. При В-клеточных лимфоидных новообразованиях экспрессия miR-145 и miR-143 резко снижена [28]. Даунрегуляция miR-145 была показана при ДВККЛ, в т. ч. при первичной ДВККЛ центральной нервной системы [29, 30].

В экспериментах на линиях клеток лимфомы Беркитта (ЛБ) также продемонстрировано снижение

уровня miR-143 и miR-145 [28]. Восстановление экспрессии данных микроРНК при ЛБ, множественной миеломе (ММ) и Т-клеточном остром лимфобластном лейкозе (Т-ОЛЛ) приводило к снижению роста опухолевых клеток [31]. Кроме того, как в клеточных моделях *in vitro*, так и в мышинной модели ксенотрансплантата для множественной миеломы человека нормализация экспрессии miR-145 потенцировала противоопухолевую активность бортезомиба [32], а при раках обуславливала радиочувствительность опухоли [33].

На большом числе солидных новообразований (глиома, рак простаты, толстой кишки, яичников, легких, молочных желез, нейроэндокринные опухоли гипофиза) показано, что низкая экспрессия микроРНК кластера miR-143/145 зачастую связана с aberrантным метилированием [33, 34], а обработка культур опухолевых клеток деметилирующими агентами приводила к восстановлению их транскрипции [24, 34].

В отличие от злокачественных новообразований эпителиальной природы данных о статусе метилирования генов микроРНК кластера miR-143/145 при гемобластозах и, в частности, при лимфомах практически нет. Единственное встреченное нами в литературных источниках сообщение об эпигенетическом выключении их экспрессии касается линии NK/Т-клеточной лимфомы miR-143 [22].

Гены семейства miR-34

Семейство miR-34 включает в себя три онко-супрессорных микроРНК: miR-34a, miR-34b и miR-34c, для которых характерна высокая степень (более 80 %) гомологичности последовательности. Однако точная гомология соблюдается в районе их 5'-концов – районе расположения ключевой последовательности, необходимой для связывания с м-РНК мишенями. Геном-«хозяином» *MIR-34A* является *EF570048*, а *MIR-34B/C* – ген *BC021736*. При этом показано, что регуляция транскрипции *MIR-34b/c* может осуществляться и с промотора не только хозяйского гена, но и промотора противоположно ориентированного гена *BTG4*. Промотор и сайт начала транскрипции *MIR-34A* был картирован более чем на 30 kb выше последовательности, кодирующей зрелую микроРНК [35].

Ген *MIR-34A* находится на 1-й хромосоме в регионе 1p36.22, тогда как ген *MIR-34B/C* – на хромосоме 11 в регионе 11q23.1. Последний отвечает за последовательность бицистронного транскрипта, с которого в последующем образуются две зрелые микроРНК. *MIR-34A* и *MIR-34B/C* были первыми генами микроРНК, для которых была показана прямая индукция транскрипции белком p53. Кроме того, miR34A может создавать положительную петлю обратной связи с p53 путем подавления деацетилазы SIRT1, что приводит к ацетилированию и активации p53. Даунрегуляция их экспрессии осуществляется белком C-MYC [36].

С помощью биоинформационного анализа и в экспериментальных исследованиях показано, что микроРНК семейства miR-34 имеют большое число общих мишеней, а именно, м-РНК регуляторов клеточного цикла в контрольной точке перехода G1/S фаз, репарации повреждений ДНК и программированной клеточной смерти, эпителиально-мезенхимального перехода, миграции, противоопухолевого иммунного ответа и неоангиогенеза [37]. Соответственно, уменьшение экспрессии miR-34a и miR-34b/c способствует злокачественному росту и может наблюдаться в различных опухолях (табл. 1).

Метилирование промоторных областей генов семейства miR-34 является причиной снижения их экспрессии при широком круге злокачественных новообразований, например, при раке толстого кишечника, поджелудочной железы, молочных желез, яичников, почек и саркомах мягких тканей и других [38]. Промоторы генов *MIR-34A* и *MIR-34B/C* содержат CpG-островки, гиперметилирование которых приводит к нарушению транскрипции кодируемых ими микроРНК. Другой причиной снижения их экспрессии при злокачественных новообразованиях могут быть хромосомные делеции [39].

В отличие от солидных опухолей микроРНК семейства miR-34 при гемобластозах менее изучены, за исключением хронического лимфолейкоза, при котором причины и неблагоприятное прогностическое значение снижения экспрессии miR-34a, miR-34b и miR-34c были подтверждены в нескольких исследованиях [40]. В клетках острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) экспрессия miR-34a и miR-34c была значительно ниже, чем в нормальных клетках [41]. Снижение экспрессии miR-34a отмечали при трансформации мальтом желудка в ДВККЛ [42]. Важно отметить, что в экспериментах на линиях клеток и на мышах восстановление экспрессии микроРНК семейства miR-34, например, с помощью введения миметиков, ингибирует рост и индуцирует апоптоз клеток ДВККЛ *in vitro* и *in vivo* [43]. В одном из исследований ЛБ было высказано предположение, что низкий уровень miR-34b/c является более распространенным механизмом гиперэкспрессии C-MYC, чем транслокация *IGH/MYC* [44].

Изучение роли метилирования генов кластера miR-34 при опухолях системы крови выявило следующее. В образцах опухолевой ткани пациентов с впервые выявленной ДВККЛ и в клеточных линиях ДВККЛ метилирование *MIR-34A* и *MIR-34B/C* было обнаружено в 28 и 78 % случаев соответственно с высокой степенью корреляции между генами ($p=0,001$). При этом в нормальных Т- и В-клетках и ткани реактивных лимфоузлов метилирования генов микроРНК семейства miR-34 не выявлено [36].

При множественной миеломе нарушение экспрессии микроРНК кластера miR-34 также зачастую связано с aberrантным метилированием

Таблица 1/Table 1

Краткие сведения об описанных p53-репонзивных онкосупрессорных микроРНК
Brief information about the described p53-responsive oncosuppressive microRNAs

МикроРНК/ MicroRNA	Ген/ Gene	Расположение/ Location	Локализация/ Localization	Биологический процесс/ Biological process	Снижение экспрессии микроРНК/ Reduction of microRNA expression	Метилирование гена микроРНК/ Methylation of the microRNA gene
miR-145	MIR-143/145	Внутригенное, ген-«хозяин» <i>CARMN</i> / Intragenic, host gene <i>CARMN</i>	5q33	Контроль клеточного цикла, апоптоз, дифференцировка клеток, клеточная адгезия, эпителиально- мезенхимальный переход/ Cell cycle control, apoptosis, cell differentiation, cell adhe- sion, epithelial-mesenchymal transition	ПЛЦНС, Т-ОЛЛ, ДВККЛ, ЛМЗС, В-НХЛ, ЛБ/ PLCNS, T-ALL, DLBCL, LMZS, B-NHL, BL	Нет данных/ No data
miR-143					ОЛЛ, В-НХЛ, ЛБ, NK/T-клеточная лимфома/ ALL, B-NHL, HL, NK/T-cell lym- phoma	NK/T-клеточная лимфома/ NK/T-cell lym- phoma
miR-34a	MIR-34A	Внутригенное, ген-«хозяин» <i>EF570048</i> / Intragenic, host gene <i>EF570048</i>	1p36.22	Контроль клеточного цикла, репарация ДНК, апоптоз, эпителиально- мезенхимальный переход, противоопухолевый иммунный ответ, неоангиогенез/ Cell cycle control, DNA repair, apoptosis, epithelial- mesenchymal transition, antitumor immune response, neoangiogenesis	ХЛЛ, ДВККЛ, ЛБ, ЛХ/ CLL, DLBCL, BL, HL	ДВККЛ, NK/T-клеточная лимфома, ЛХ/ DLBCL, NK/T- cell lymphoma, HL
miR-34b/c	MIR-34B/C	Внутригенное, ген-«хозяин» <i>BC021736</i> / Intragenic, host gene <i>BC021736</i>	11q23.1	Дифференцировка клеток, пролиферация и клеточный рост, апоптоз, репарация ДНК, радиационная чувствительность, неоангиогенез/ Cell differentiation, prolifera- tion and cell growth, apop- tosis, DNA repair, radiation sensitivity, neoangiogenesis	ХЛЛ, ММ, ДВККЛ/CLL, ММ, DLBCL	ХЛЛ, ДВККЛ/ CLL, DLBCL
miR-203	MIR-203	Межгенное/ Intergenic	14q32.33		ММ, ХМЛ, ЛХ/ ММ, CML, HL	Т-НХЛ, ОМЛ, ХЛЛ, В-НХЛ, ММ, ХМЛ, ЛХ/ T-NHL, MM, CLL, HL

Примечание: ПЛЦНС – первичная лимфома центральной нервной системы; ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз; ОМЛ – острый миелобластный лейкоз; ДВККЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; ЛМЗС – лимфома маргинальной зоны селезенки; В-НХЛ – В-клеточные неходжкинские лимфомы; Т-НХЛ – Т-клеточные неходжкинские лимфомы; ЛБ – лимфома Беркитта; ХЛЛ – хронический лимфоидный лейкоз; ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз; ММ – множественная миелома; ЛХ – лимфома Ходжкина.

Note: PLCNS – primary lymphoma of the central nervous system, ALL – acute lymphoblastic leukemia, AML – acute myeloblastic leukemia, DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma, LMZS – lymphoma of the marginal zone of the spleen, B-NHL – B-cell non-Hodgkin lymphoma, T-NHL – T-cell non-Hodgkin lymphoma, BL – Burkitt lymphoma, CLL – chronic lymphocytic leukemia, CML – chronic myelogenous leukemia, MM – multiple myeloma, HL – Hodgkin's lymphoma.

[45]. При этом было показано, что *MIR-34A* не метилирован в нормальных клетках крови, в отличие от клеточных линий ММ, лимфомы Ходжкина (ЛХ) и неходжкинских лимфом (НХЛ), что может свидетельствовать о специфичности гиперметилирования гена для лимфоидных клеток опухолевого происхождения и подтверждать онкосупрессорную

роль данной микроРНК [35, 46]. Согласно данным другого исследования, метилирование *MIR-34B/C* было выявлено в 34 % случаев ОЛЛ [47].

Таким образом, складывается впечатление, что гены кластера *miR-34* часто гиперметилированы при лимфопролиферативных заболеваниях опухолеспецифическим образом.

Ген *MIR-203*

MIR-203 расположен в межгенном участке хромосомного локуса 14q32.33, который часто подвергается делеции при опухолях. Кодированная им микроРНК *miR-203* впервые была идентифицирована в коже, где она способствует дифференцировке клеток эпидермиса и ограничивает их пролиферативный потенциал [48]. В недавнем исследовании было показано, что преходящее воздействие этой микроРНК улучшает дифференцировочную способность мышиных и человеческих плюрипотентных стволовых клеток [49].

MiR-203 является одной из наиболее часто упоминаемых в литературных источниках микроРНК. Обзорные работы показывают, что aberrантная экспрессия *miR-203* имеет место при множестве злокачественных новообразований, в т. ч. при раке желудка, аденокарциноме поджелудочной железы, раке толстой кишки, саркомах, глиоме и гематологических опухолях. Известно также, что данная молекула играет важную роль в процессах клеточного роста, пролиферации, апоптоза, репарации ДНК и инвазии клеток (табл. 1) [50].

Было отмечено, что повышение экспрессии *miR-203* происходит при активации *p53*. В основе этого явления лежит ускорение созревания *miR-203* путем усиления ее Drosha-опосредованного процессинга под действием белка *p53* [20]. Сообщалось также, что *miR-203* нацелена на эволюционно консервативную последовательность в 3'-нетранслируемой области м-РНК *BCL-W*, который имеет антиапоптотическую активность. Так, усиленная экспрессия *BCL-W* делает лимфоидные и миелоидные клетки рефрактерными к цитотоксическим воздействиям. Однако индукция *miR-203* приводит к подавлению экспрессии *BCL-W* и антиапоптотическому эффекту только в *p53* (+) клетках [51].

Биоинформационный анализ показывает, что *miR-203* может повышать радиационную чувствительность и миграционную способность клеток за счет посттранскрипционного контроля генов *PI3K/AKT*, *SRC*, *Ras/MAPK* и *JAK/STAT3* сигнальных путей, а именно, за счет нацеливания на следующие мишени: *ATM*, *RAD51*, *SRC*, *PLD2*, *FGF2*, *PI3K-AKT*, *JAK-STAT3*, *VEGF*, *HIF-1α* и *MMP2*. Также предсказанными мишенями *miR-203* является ДНК-метилтрансфераза *DNMT3b* и мРНК гена *CREB1*, который участвует в пролиферации и выживании лейкозных клеток.

MIR-203 имеет CpG островок протяженностью 804 п.н. [52]. Метилирование его как причина снижения экспрессии *miR-203* показано при солидных опухолях [50, 53]. При лимфопролиферативных заболеваниях впервые метилирование гена *MIR-203* показано при Т-клеточных лимфомах [54]. Частота данного события при ОЛЛ составляла 27 % [47].

Позднее была изучена экспрессия и метилирование *MIR-203* в смешанной выборке онкогема-

тологических больных (n=150). Метилирование обнаруживалось в образцах ОМЛ с частотой 10 %, хронического лимфоидного лейкоза (ХЛЛ) – 42 % и НХЛ – 38,8 % (в 60 % – при лимфомах из НК-клеток, в 40,9 % – при лимфомах В-клеточного, в 23,5 % – при Т-клеточного происхождения). В нормальных клетках крови и костного мозга метилирование *MIR-203* выявлено не было, что согласуется с идеей об опухолеспецифичном паттерне метилирования гена данной микроРНК [55].

В опухолевых клетках больных хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) и в линии бластных клеток Ph-позитивного ХМЛ К-562 метилирование промотора гена отсутствовало, что плохо согласовалось с данными предыдущих исследований о преимущественном гиперметилировании *MIR-203* при Ph-позитивных лейкозах (с экспрессией *BCR-ABL*) и редком его обнаружении при Ph-негативных острых лейкозах или хронических миелопролиферативных заболеваниях [54]. Также было показано, что ингибитор *BCR-ABL* иматиниб вызывает деметилирование промоторной области *MIR-203*, что приводит к низкой экспрессии целевого гена *BCR-ABL1* и остановке пролиферации лейкозных клеток [56].

Сопоставление частот фиксации aberrантного метилирования *MIR-203* при моноклональных гаммапатиях неясного генеза, впервые диагностированной множественной миеломе и в рецидиве заболевания позволяет предположить, что гиперметилирование данного гена является ранним событием в генезе заболевания, а не приобретается на этапах прогрессирования опухоли [57].

На клеточных линиях клеток лимфомы Ходжкина, неходжкинских лимфом и множественной миеломы была показана обратимость aberrантного метилирования промотора *MIR-203* под действием обработки 5-Аза-2'-дезоксцитидином, что приводило к восстановлению экспрессии *miR-203*. Нормализация уровня микроРНК в клетках ингибировала клеточную пролиферацию или индуцировала гибель опухолевых клеток, что подтверждало данные об ее онкосупрессорной роли при лимфоидных новообразованиях [46, 54–56].

Общие мишени *p53*-респонзивных онкосупрессорных микроРНК

Развитие кроветворения – это многоступенчатый четко регулируемый процесс, в ходе которого гемопоэтические клетки подвергаются пролиферации и линейной дифференцировке. Он требует включения сети транскрипционных факторов, которые на различных этапах активируются или ингибируются высокоорганизованным образом. За последние десятилетия ряд исследований показал, что микроРНК могут влиять на экспрессию регуляторных белков в клетке [1].

p53-респонзивные микроРНК связаны с контролем многочисленных внутриклеточных сиг-

Таблица 2/ Table 2

Общие значимые для развития гемобластозов мишени p53-респонзивных онкосупрессорных микроРНК

Common significant for the development of hemoblastosis targets of p53-responsive oncosuppressive microRNAs

Мишень/Target	miR-143	miR-145	miR-34a	miR-34b/c	miR-203
C-MYC					
CDK4/6					
MDM2/4					
BCL2/MCL1					
CYCLIN-D1					
DNMT3A/B					
K-RAS					
FOXPI					
NOTCH1/2					
VEGFA					
STAT3					
SOX2/4/9					

Примечание: серым цветом отмечены молекулярные мишени микроРНК.

Note: The molecular targets of microRNAs are marked in gray.

нальных путей, определяющих самообновление клеток, пролиферацию, репарацию повреждений ДНК, программированную клеточную смерть, эпителиально-мезенхимальный переход и миграцию, противоопухолевый иммунный ответ и неоангиогенез. По данным литературы, частыми общими мишенями для микроРНК miR-34a, miR-34b/c, miR-145, miR-143 и miR-203 являются м-РНК ряда проонкогенов (табл. 2). Для того чтобы продемонстрировать глубину имеющихся между ними взаимосвязей, необходимо отдельно остановиться на некоторых из мишеней данных молекул.

Циклин-D1 – это белок, который у человека кодируется геном *CCND1*. Совместно с Циклином-D2 данный белок образует комплекс с регуляторными субъединицами циклинкиназ CDK4 и CDK6. В свою очередь, комплекс циклинов с циклинкиназами активирует белок ретинобластомы Rb, что способствует переходу клеточного цикла из G1 в S-фазу. Избыточная экспрессия циклинов и циклинкиназ, ускоряющая прогрессию клеточного цикла и деление клеток, часто наблюдается в различных опухолях и может способствовать онкогенезу [58].

Транскрипционный фактор C-MYC прямо или косвенно активирует экспрессию генов клеточного цикла – *CCND2* и циклинкиназ, и, таким образом, также обеспечивает переход клеточного цикла в контрольной точке G1/S фаз. Другим важным проонкогенным свойством C-MYC является то, что с его участием в клетке останавливается апоптоз, вызванный белком p53.

BCL2 и MCL1 относятся к белкам семейства BCL2, соотношение которых в клетке регулирует проницаемость митохондриальной мембраны. Они играют важную роль в выживании клеток

и негативной регуляции программированной клеточной смерти, что реализуется как за счет прямого ингибирования ими проапоптотических белков, так и за счет предотвращения активации каспазозависимого пути апоптоза, гиперэкспрессия данных молекул в лимфоцитах в сочетании с повышением уровня C-MYC доказанно приводит к развитию агрессивных лимфопролиферативных опухолей [59].

Другая общая мишень активируемых p53 микроРНК – MDM2, который является важным негативным регулятором белка p53. Белок MDM2 функционирует как убиквитинлигаза, способствующая деградации p53, и как ингибитор транскрипционной активации гена *TP53* [60].

Гены *DNMT3A* и *DNMT3B* кодируют ДНК-метилтрансферазы, которые участвуют в метилировании генома *de novo*, в т. ч. aberrантном метилировании онкосупрессорных генов и генов p53-респонзивных микроРНК. Недавние наблюдения показывают, что DNMT3B – это основной фермент, метилирующий области активных генов, а нарушение его работы является общим признаком таких заболеваний человека, связанных с хромосомной и геномной нестабильностью, как опухоли [61]. Соматические мутации *DNMT3A* часто встречаются при ОМЛ и других гематологических злокачественных новообразованиях.

Таким образом, представленный обзор литературы показывает, что частыми общими мишенями для активируемых p53 микроРНК являются м-РНК ряда проонкогенных молекул, а именно транскрипционных факторов, а также позитивных регуляторов клеточного цикла в контрольной точке перехода G1/S фаз, антиапоптотических белков, метилтрансфераз.

Многие из описанных микроРНК встроены в двойные отрицательные регуляторные петли или регуляторные петли с положительной обратной связью. В связи с чем следует отметить наличие положительных обратных связей между p53 и активируемыми им микроРНК, а также отрицательные обратные связи между p53-респонзивными микроРНК и С-МУС и ДНК-метилтрансферазами. Соответственно, даже небольшое изменение уровня экспрессии микроРНК может иметь больший фенотипический эффект за счет усиления регуляторного контура.

Заключение

Поскольку aberrантное метилирование ДНК при опухолях может приводить к транскрипционной репрессии онкосупрессорных молекул и зачастую носит ткане- и/или опухолеспецифичный характер, нами проведен анализ имеющихся в литературе данных о частоте и значении метилирования генов ряда p53-респонзивных онкосупрессорных микроРНК при опухолевых заболеваниях системы крови. Обзор уточняет современные представления о регуляторной сети белка p53 и активируемых им микроРНК, а также подчеркивает функциональную ассоциацию p53-респонзивных молекул.

Важно, что каждая м-РНК содержит несколько эволюционно консервативных сайтов связывания с различными микроРНК, а каждая микроРНК может нацеливаться на несколько генов в одном и том же пути и, таким образом, достигать еще более значимой модуляции своей активности. При этом miR-34a, miR-34b/c, miR-145, miR-143 и miR-203 имеют множество общих мишеней. Таким образом, aberrантное метилирование генов, кодирующих данные микроРНК, потенциально может дерегулировать несколько функционально связанных мишеней, вовлеченных в отдельный

путь патогенеза, или затрагивать сразу несколько путей развития опухоли.

В отличие от солидных новообразований экспрессия и метилирование генов, активируемых p53 онкосупрессорных микроРНК, при гемобластозах менее изучены. Складывается впечатление, что зачастую aberrантное метилирование генов микроРНК miR-34a, miR-34b/c, miR-145, miR-143 и miR-203 при опухолевых заболеваниях системы крови является ранним событием и чаще встречается при лимфопролиферативных заболеваниях, чем при миелолипролиферативных. Однако, возможно, что последнее связано с меньшей изученностью вопроса при опухолях миелоидного происхождения.

Полученные в результате обзора литературных данных сведения свидетельствуют, что уровень экспрессии и метилирование генов микроРНК при гемобластозах могут быть использованы не только в качестве потенциальных диагностических, но и прогностических маркеров, поскольку, как было показано, они ассоциированы с исходом заболевания. А сами микроРНК могут служить терапевтическими мишенями при злокачественных опухолях системы кроветворения.

Так, нарушение экспрессии p53-респонзивных микроРНК, связанное с aberrантным метилированием, носит обратимый характер. Предполагается, что в клинической практике восстановление экспрессии онкосупрессорных микроРНК может быть достигнуто с использованием ингибиторов метилирования ДНК, таких как производные 5-азациитидина, которые уже одобрены для лечения отдельных злокачественных новообразований. Другим направлением таргетного лечения опухолей могут быть миметики микроРНК с модификациями в отношении стабильности и клеточного захвата для воспроизведения их эндогенных функций.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Bondada M.S., Yao Y., Nair V. Multifunctional miR-155 Pathway in Avian Oncogenic Virus-Induced Neoplastic Diseases. *Noncoding RNA*. 2019; 5(1): 24. doi: 10.3390/ncrna5010024.
- Jurj A., Pop L., Petrushev B., Pasca S., Dima D., Frinc I., Deak D., Desmirean M., Trifa A., Fetica B., Gafencu G., Selicean S., Moisoiu V., Micu W.T., Berce C., Sacu A., Moldovan A., Colita A., Bumbea H., Tanase A., Dascalescu A., Zdrenghea M., Stiufic R., Leopold N., Tetean R., Burzo E., Tomuleasa C., Berindan-Neagoe I. Exosome-carried microRNA-based signature as a cellular trigger for the evolution of chronic lymphocytic leukemia into Richter syndrome. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018; 55(7): 501–15. doi: 10.1080/10408363.2018.1499707.
- Hannafon B.N., Ding W.Q. Functional Role of miRNAs in the Progression of Breast Ductal Carcinoma in Situ. *Am J Pathol*. 2019; 189(5): 966–74. doi: 10.1016/j.ajpath.2018.06.025.
- Holubekova V., Mendelova A., Jasek K., Mersakova S., Zubor P., Lasabova Z. Epigenetic regulation by DNA methylation and miRNA molecules in cancer. *Future Oncol*. 2017; 13(25): 2217–22. doi: 10.2217/fon-2017-0363.
- Klein U., Lia M., Crespo M., Crespo M., Siegel R., Shen Q., Mo T., Ambesi-Impiombato A., Califano A., Migliozza A., Bhagat G., Dalla-Favera R. The DLEU2/miR-15a/16-1 cluster controls B cell proliferation and its deletion leads to chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell*. 2010; 17(1): 28–40. doi: 10.1016/j.ccr.2009.11.019.
- Larrabeiti-Etxebarria A., Lopez-Santillan M., Santos-Zorroza B., Lopez-Lopez E., Garcia-Orad A. Systematic Review of the Potential of MicroRNAs in Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 144. doi: 10.3390/cancers11020144.
- Cui B., Chen L., Zhang S., Mraz M., Fecteau J.F., Yu J., Ghia E.M., Zhang L., Bao L., Rassenti L.Z., Messer K., Calin G.A., Croce C.M., Kipps T.J. MicroRNA-155 influences B-cell receptor signaling and associates with aggressive disease in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014; 124(4): 546–54. doi: 10.1182/blood-2014-03-559690.
- Baylin S.B., Jones P.A. Epigenetic Determinants of Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016; 8(9). doi: 10.1101/cshperspect.a019505.
- Daniunaitė K., Dubikaitė M., Gibas P., Bakavicius A., Lazutka R.J., Ulys A., Jankevicius F., Jarmalaite S. Clinical significance of miRNA host gene promoter methylation in prostate cancer. *Hum Mol Genet*. 2017; 26(13): 2451–61. doi: 10.1093/hmg/ddx138.
- Strmsek Z., Kunj T. MicroRNA Silencing by DNA Methylation in Human Cancer: a Literature Analysis. *Noncoding RNA*. 2015; 1(1): 44–52. doi: 10.3390/ncrna1010044.
- Walter R.F., Vollbrecht C., Werner R., Wohlschlaeger J., Christoph D.C., Schmid K.W., Mairinger F.D. microRNAs are differentially regulated between MDM2-positive and negative malignant pleural mesothelioma. *Oncotarget*. 2016; 7(14): 18713–21. doi: 10.18632/oncotarget.7666.
- Wrighton K.H. Small RNAs: p53 makes microRNAs mature. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009; 10(9): 580–1. doi: 10.1038/nrm2749.
- Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N., Orlov Y.L., Seregina O.B. Clinical aspects of TP53 gene inactivation in diffuse large B-cell lymphoma. *BMC Med Genomics*. 2019; 12(2): 35. doi: 10.1186/s12920-019-0484-9.
- Аль-Ради Л.Г., Барях Е.А., Белоусова И.Э., Бессмельцев С.С., Воробьев В.И., Вотякова О.М., Губкин А.В., Демина Е.А., Доронин В.А.,

Желудкова О.Г., Загоскина Т.П., Коробкин А.В., Кравченко С.К., Кузьмин А.А., Лопаткина Т.Н., Лорие Ю.Ю., Луговская С.А., Менделеева Л.П., Михайлова Н.Б., Моисеева Т.Н., Мухоморова О.В., Никитин Е.А., Османов Е.А., Пивник А.В., Поддубная И.В., Поспелова Т.И., Птушкин В.В., Самоилова О.С., Самочатова Е.В., Стадник Е.А., Стефанов Д.Н., Тумян Г.С., Шатохин Ю.В., Шмаков Р.Г. Клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М., 2014. С. 288. [Al'-Radi L.G., Baryakh E.A., Belousova I.E., Bessmel'tsev S.S., Vorob'ev V.I., Votyakova O.M., Gubkin A.V., Demina E.A., Doronin V.A., Zheludkova O.G., Zagoskina T.P., Korobkin A.V., Kravchenko S.K., Kuz'min A.A., Lopatkin T.N., Lorie Yu.Yu., Lugovskaya S.A., Mendeleeva L.P., Mikhailova N.B., Moiseeva T.N., Mukhorova O.V., Nikitin E.A., Osmanov E.A., Pivnik A.V., Poddubnaya I.V., Pospelova T.I., Ptushkin V.V., Samoilova O.S., Samochatova E.V., Stadnik E.A., Stefanov D.N., Tumyan G.S., Shatokhin Yu.V., Shmakov R.G. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases. Moscow, 2014. 288 p. (in Russian)].

15. Lozano G. The oncogenic roles of p53 mutants in mouse models. *Curr Opin Gen Dev*. 2007; 17(1): 66–70. doi: 10.1016/j.gde.2006.12.003.

16. Solé C., Larrea E., Di Pinto G., Tellaetxe M., Lawrie C.H. miRNAs in B-cell lymphoma: Molecular mechanisms and biomarker potential. *Cancer Lett*. 2017; 405: 79–89. doi: 10.1016/j.canlet.2017.07.020.

17. Solé C., Arnaiz E., Lawrie C.H. MicroRNAs as Biomarkers of B-cell Lymphoma. *Biomark Insights*. 2018; 13. doi: 10.1177/1177271918806840.

18. Sachdeva M., Zhu S., Wu F., Wu H., Walia V., Kumar S., Elble R., Watabe K., Mo Y.Y. p53 represses c-Myc through induction of the tumor suppressor miR-145. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106(9): 3207–12. doi: 10.1073/pnas.0808042106.

19. Pidikova P., Reis R., Herichova I. miRNA Clusters with Down-Regulated Expression in Human Colorectal Cancer and Their Regulation. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(13): 4633. doi: 10.3390/ijms21134633.

20. Suzuki H.I., Yamagata K., Sugimoto K., Iwamoto T., Kato S., Miyazono K. Modulation of microRNA processing by p53. *Nature*. 2009; 460(7254): 529–33. doi: 10.1038/nature08199.

21. Xu N., Papagiannakopoulos T., Pan G., Thomson J.A., Kosik K.S. MicroRNA-145 regulates OCT4, SOX2, and KLF4 and represses pluripotency in human embryonic stem cells. *Cell*. 2009; 137(4): 647–58. doi: 10.1016/j.cell.2009.02.038.

22. Go H., Jang J.Y., Kim C.W., Huh J., Kim P.J., Jeon Y.K. Identification of microRNAs modulated by DNA hypomethylating drugs in extranodal NK/T-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2020; 61(1): 66–74. doi: 10.1080/10428194.2019.1654096.

23. Hao S., Huo S., Du Z., Yang Q., Ren M., Liu S., Liu T., Zhang G. MicroRNA-related transcription factor regulatory networks in human colorectal cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98(15). doi: 10.1097/MD.00000000000015158.

24. Chen W.Y., Lang Z.Q., Ren C., Yang P., Zhang B. miR-143 acts as a novel Big mitogen-activated protein kinase 1 suppressor and may inhibit invasion of glioma. *Oncol Rep*. 2019; 42(3): 1194–204. doi: 10.3892/or.2019.7218.

25. Manvati S., Mangalhar K.C., Kalaiarasan P., Chopra R., Agarwal G., Kumar R., Saini S.K., Kaushik M., Arora A., Kumari U., Bamezai R.N.K., Dhar P.K. miR-145 supports cancer cell survival and shows association with DDR genes, methylation pattern, and epithelial to mesenchymal transition. *Cancer Cell Int*. 2019; 19: 230. doi: 10.1186/s12935-019-0933-8.

26. Shen W.F., Hu Y.L., Uttarwar L., Passegue E., Largman C. MicroRNA-126 regulates HOXA9 by binding to the homeobox. *Mol Cell Biol*. 2008; 28(14): 4609–19. doi: 10.1128/MCB.01652-07.

27. Tan L.P., Wang M., Robertus J.L., Schakel R.N., Gibcus J.H., Diepstra A., Harms G., Peh S.C., Reijmers R.M., Pals S.T., Kroesen B.J., Kluin P.M., Poppema S., van den Berg A. miRNA profiling of B-cell subsets: specific miRNA profile for germinal center B cells with variation between centroblasts and centrocytes. *Lab Invest*. 2009; 89(6): 708–16. doi: 10.1038/labinvest.2009.26.

28. Akao Y., Nakagawa Y., Kitade Y., Kinoshita T., Naoe T. Downregulation of microRNAs-143 and -145 in B-cell malignancies. *Cancer Sci*. 2007; 98(12): 1914–20. doi: 10.1111/j.1349-7006.2007.00618.x.

29. Roehle A., Hoefig K.P., Repsilber D., Thorns C., Ziepert M., Wesche K.O., Thieme M., Loeffler M., Klapper W., Pfreundschuh M., Matolcsy A., Bernd H.W., Reiniger L., Merz H., Feller A.C. MicroRNA signatures characterize diffuse large B-cell lymphomas and follicular lymphomas. *Br J Haematol*. 2008; 142(5): 732–44. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07237.x.

30. Fischer L., Hummel M., Korfel A., Lenze D., Joehrens K., Thiel E. Differential micro-RNA expression in primary CNS and nodal diffuse large B-cell lymphomas. *Neuro Oncol*. 2011; 13(10): 1090–8. doi: 10.1093/neuonc/nor107.

31. Xia H., Yamada S., Aoyama M., Sato F., Masaki A., Ge Y., Ri M., Ishida T., Ueda R., Utsunomiya A., Asai K., Inagaki H. Prognostic impact of microRNA-145 down-regulation in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Hum Pathol*. 2014; 45(6): 1192–8. doi: 10.1016/j.humpath.2014.01.017.

32. Wu H., Liu C., Yang Q., Xin C., Du J., Sun F., Zhou L. MIR145-3p promotes autophagy and enhances bortezomib sensitivity in multiple myeloma by targeting HDAC4. *Autophagy*. 2020; 16(4): 683–97. doi: 10.1080/15548627.2019.1635380.

33. Liu J., Li M., Wang Y., Luo J. Curcumin sensitizes prostate cancer cells to radiation partly via epigenetic activation of miR-143 and miR-143 mediated autophagy inhibition. *J Drug Target*. 2017; 25(7): 645–52. doi: 10.1080/1061186X.2017.1315686.

34. Liu S.Y., Li X.Y., Chen W.Q., Hu H., Luo B., Shi Y.X., Wu T.W., Li Y., Kong Q.Z., Lu H.D., Lu Z.X. Demethylation of the MIR145 promoter suppresses migration and invasion in breast cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(37): 61731–41. doi: 10.18632/oncotarget.18686.

35. Chim C.S., Wong K.Y., Qi Y., Loong F., Lam W.L., Wong L.G., Jin D.Y., Costello J.F., Liang R. Epigenetic inactivation of the miR-34a in hematological malignancies. *Carcinogenesis*. 2010; 31(4): 745–50. doi: 10.1093/carcin/bgq033.

36. Asmar F., Hother C., Kulosman G., Treppendahl M.B., Nielsen H.M., Ralfkiaer U., Pedersen A., Møller M.B., Ralfkiaer E., de Nully Brown P., Gronbek K. Diffuse large B-cell lymphoma with combined TP53 mutation and MIR34A methylation: Another «double hit» lymphoma with very poor outcome? *Oncotarget*. 2014; 5(7): 1912–25. doi: 10.18632/oncotarget.1877.

37. Naghizadeh S., Mohammadi A., Duijff P.H.G., Baradaran B., Safarzadeh E., Cho W.C., Mansoori B. The role of miR-34 in cancer drug resistance. *J Cell Physiol*. 2020; 235(10): 6424–40. doi: 10.1002/jcp.29640.

38. Zhang L., Liao Y., Tang L. MicroRNA-34 family: a potential tumor suppressor and therapeutic candidate in cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019; 38(1): 53. doi: 10.1186/s13046-019-1059-5.

39. Xiong S., Hu M., Li C., Zhou X., Chen H. Role of miR-34 in gastric cancer: From bench to bedside (Review). *Oncol Rep*. 2019; 42(5): 1635–46. doi: 10.3892/or.2019.7280.

40. Van Roosbroeck K., Calin G.A. MicroRNAs in chronic lymphocytic leukemia: miRacle or miRage for prognosis and targeted therapies? *Semin Oncol*. 2016; 43(2): 209–14. doi: 10.1053/j.seminoncol.2016.02.015.

41. Peng D., Wang H., Li L., Ma X., Chen Y., Zhou H., Luo Y., Xiao Y., Liu L. miR-34c-5p promotes eradication of acute myeloid leukemia stem cells by inducing senescence through selective RAB27B targeting to inhibit exosome shedding. *Leukemia*. 2018; 32(5): 1180–8. doi: 10.1038/s41375-018-0015-2.

42. Craig V.J., Cogliatti S.B., Imig J., Renner C., Neuenschwander S., Rehrauer H., Schlapbach R., Dirnhofer S., Tzankov A., Müller A. Myc-mediated repression of microRNA-34a promotes high-grade transformation of B-cell lymphoma by dysregulation of FoxP1. *Blood*. 2011; 117(23): 6227–36. doi: 10.1182/blood-2010-10-312231.

43. Craig V.J., Tzankov A., Flori M., Schmid C.A., Bader A.G., Müller A. Systemic microRNA-34a delivery induces apoptosis and abrogates growth of diffuse large B-cell lymphoma in vivo. *Leukemia*. 2012; 26(11): 2421–4. doi: 10.1038/leu.2012.110.

44. Leucci E., Cocco M., Onnis A., De Falco G., van Cleef P., Bellan C., van Rijk A., Nyagol J., Byakika B., Lazzi S., Tosi P., van Krieken H., Leoncini L. MYC translocation-negative classical Burkitt lymphoma cases: an alternative pathogenetic mechanism involving miRNA deregulation. *J Pathol*. 2008; 216(4): 440–50. doi: 10.1002/path.2410.

45. Zarone M.R., Misso G., Grimaldi A., Zappavigna S., Russo M., Amle E., Di Martino M.T., Amodio N., Tagliaferri P., Tassone P., Caraglia M. Evidence of novel miR-34a-based therapeutic approaches for multiple myeloma treatment. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 17949. doi: 10.1038/s41598-017-18186-0.

46. Navarro A., Díaz T., Cordeiro A., Beyá M.D., Ferrer G., Fuster D., Martínez A., Monzó M. Epigenetic regulation of microRNA expression in Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2015; 56(9): 2683–9. doi: 10.3109/10428194.2014.995650.

47. Roman-Gomez J., Agirre X., Jiménez-Velasco A., Arqueros V., Vilas-Zornoza A., Rodríguez-Otero P., Martín-Subero I., Garate L., Cordeu L., San José-Eneriz E., Martín V., Castillejo J.A., Andrés E., Calasanz M.J., Siebert R., Heiniger A., Torres A., Prosper F. Epigenetic regulation of microRNAs in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2009; 27(8): 1316–22. doi: 10.1200/JCO.2008.19.3441.

48. Chakraborty C., Sharma A.R., Patra B.C., Bhattacharya M., Sharma G., Lee S.S. MicroRNAs mediated regulation of MAPK signaling pathways in chronic myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2016; 7(27): 42683–97. doi: 10.18632/oncotarget.7977.

49. Salazar-Roa M., Trakala M., Álvarez-Fernández M., Valdés-Mora F., Zhong C., Muñoz J., Yu Y., Peters T.J., Graña-Castro O., Serrano R., Zapatero-Solana E., Abad M., Bueno M.J., Gómez de Cedrón M., Fernández-Piqueras J., Serrano M., Blasco M.A., Wang D.Z., Clark S.J.,

- Izpisua-Belmonte J.C., Ortega S., Malumbres M.* Transient exposure to miR-203 enhances the differentiation capacity of established pluripotent stem cells. *EMBO J.* 2020; 39(16). doi: 10.15252/embj.2019104324.
50. *Braga E.A., Fridman M.V., Loginov V.I., Dmitriev A.A., Morozov S.G.* Molecular Mechanisms in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Role of miRNAs and Hypermethylated miRNA Genes in Crucial Oncogenic Pathways and Processes. *Front Genet.* 2019; 10: 320. doi: 10.3389/fgene.2019.00320.
51. *Funamizu N., Lacy C.R., Kamada M., Yanaga K., Manome Y.* MicroRNA-203 induces apoptosis by upregulating Puma expression in colon and lung cancer cells. *Int J Oncol.* 2015; 47(5): 1981–8. doi: 10.3892/ijo.2015.3178.
52. *Schoof C.R.G., Izzotti A., Jasiulionis M.G., dos Reis Vasques L.* The Roles of miR-26, miR-29, and miR-203 in the Silencing of the Epigenetic Machinery during Melanocyte Transformation. *Biomed Res Int.* 2015. doi: 10.1155/2015/634749.
53. *Benati M., Montagnana M., Danese E., Paviati E., Giudici S., Franchi M., Lippi G.* Evaluation of mir-203 Expression Levels and DNA Promoter Methylation Status in Serum of Patients with Endometrial Cancer. *Clin Lab.* 2017; 63(10): 1675–81. doi: 10.7754/Clin.Lab.2017.170421.
54. *Bueno M.J., Pérez de Castro I., Gómez de Cedrón M., Santos J., Calin G.A., Cigudosa J.C., Croce C.M., Fernández-Piqueras J., Malumbres M.* Genetic and epigenetic silencing of microRNA-203 enhances ABL1 and BCR-ABL1 oncogene expression. *Cancer Cell.* 2008; 13(6): 496–506. doi: 10.1016/j.ccr.2008.04.018.
55. *Chim C.S., Wong K.Y., Leung C.Y., Chung L.P., Hui P.K., Chan S.Y., Yu L.* Epigenetic inactivation of the hsa-miR-203 in haematological malignancies. *J Cell Mol Med.* 2011; 15(12): 2760–7. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01274.x.
56. *Shibuta T., Honda E., Shiotsu H., Tanaka Y., Vellamy S., Shiratsuchi M., Umemura T.* Imatinib induces demethylation of miR-203 gene: an epigenetic mechanism of anti-tumor effect of imatinib. *Leuk Res.* 2013; 37(10): 1278–86. doi: 10.1016/j.leukres.2013.07.019.
57. *Wong K.Y., Liang R., So C.C., Jin D.Y., Costello J.F., Chim C.S.* Epigenetic silencing of MIR203 in multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2011; 154(5): 569–78. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08782.x.
58. *Basso K., Saito M., Sumazin P., Margolin A.A., Wang K., Lim W.K., Kitagawa Y., Schneider C., Alvarez M.J., Califano A., Dalla-Favera R.* Integrated biochemical and computational approach identifies BCL6 direct target genes controlling multiple pathways in normal germinal center B cells. *Blood.* 2010; 115(5): 975–84. doi: 10.1182/blood-2009-06-227017.
59. *Zhao L., Samuels T., Winckler S., Korgaonkar C., Tompkins V., Horne M.C., Quelle D.E.* Cyclin G1 has growth inhibitory activity linked to the ARF-Mdm2-p53 and pRb tumor suppressor pathways. *Mol Cancer Res.* 2003; 1(3): 195–206.
60. *Gagliardi M., Strazzullo M., Matarazzo M.R.* DNMT3B Functions: Novel Insights From Human Disease. *Front Cell Dev Biol.* 2018; 6: 140. doi: 10.3389/fcell.2018.00140.
61. *Veland N., Chen T.* Mechanisms of DNA methylation and demethylation during mammalian development. In *Handbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics.* 2017; 1: 11–24. doi: 10.1016/b978-0-12-805388-1.00002-x.

Поступила/Received 19.01.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 05.04.2022

Принята к публикации/Accepted 20.04.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Воропаева Елена Николаевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). E-mail: vena.81@mail.ru. SPIN-код: 4424-2094. Researcher ID (WOS): A-5360-2014. Author ID (Scopus): 36020818100. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Поспелова Татьяна Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). Author ID (Scopus): 7005792562. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

Березина Ольга Валерьевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 8681-4310. Researcher ID (WOS): AAK-3117-2020. Author ID (Scopus): 36605828400. ORCID: 0000-0003-4584-658X.

Чуркина Мария Игоревна, аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 7455-5993. Researcher ID (WOS): AAN-6058-2021. Author ID (Scopus): 57219706690. ORCID: 0000-0002-1301-5944.

Гуражева Анна Александровна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических методов исследования терапевтических заболеваний, НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0003-1547-624X.

Максимов Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических методов исследования терапевтических заболеваний, НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 9953-7867. Researcher ID (WOS): H-7676-2012. Author ID (Scopus): 7202540327. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

ВКЛАД АВТОРОВ

Воропаева Елена Николаевна: разработка концепции, дизайна и структуры, сбор и обработка материала, написание черновика рукописи, редактирование окончательного варианта статьи, утверждение рукописи для публикации.

Поспелова Татьяна Ивановна: участие в разработке концепции, дизайна и структуры, анализ статьи с точки зрения интеллектуального содержания, редактирование окончательного варианта статьи, утверждение рукописи для публикации.

Березина Ольга Валерьевна: сбор и обработка материала, написание статьи, редактирование окончательного варианта статьи.

Чуркина Мария Игоревна: сбор и обработка материала, написание статьи, редактирование окончательного варианта статьи.

Гуражева Анна Александровна: сбор и обработка материала, написание статьи, редактирование окончательного варианта статьи.

Максимов Владимир Николаевич: участие в разработке концепции, дизайна и структуры, анализ статьи с точки зрения интеллектуального содержания, написание статьи, редактирование окончательного варианта статьи, утверждение рукописи для публикации.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00222.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena N. Voropaeva, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). E-mail: vena.81@mail.ru. Researcher ID (WOS): A-5360-2014. Author ID (Scopus): 36020818100. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Tatiana I. Pospelova, MD, Professor, Head of the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 7005792562. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

Olga V. Berezina, MD, PhD, Assistant, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAK-3117-2020. Author ID (Scopus): 36605828400. ORCID: 0000-0003-4584-658X.

Maria I. Churkina, MD, Postgraduate, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAH-6058-2021. Author ID (Scopus): 57219706690. ORCID: 0000-0002-1301-5944.

Anna A. Gurazheva, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-1547-624X.

Vladimir N. Maksimov, MD, Professor, Head of the Laboratory of Molecular-genetic Methods for the Study of Therapeutic Diseases of the Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): H-7676-2012. Author ID (Scopus): 7202540327. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena N. Voropaeva: study conception and design, data collection and analysis, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, editing of the final version of the manuscript, approval of the manuscript for publication

Tatiana I. Pospelova: study conception and design, critical revision of the manuscript for important intellectual content, editing of the final version of the manuscript, approval of the manuscript for publication.

Olga V. Berezina: data collection and analysis, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, editing of the final version of the manuscript, approval of the manuscript for publication

Maria I. Churkina: data collection and analysis, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, editing of the final version of the manuscript, approval of the manuscript for publication

Anna A. Gurazheva: data collection and analysis, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, editing of the final version of the manuscript, approval of the manuscript for publication

Vladimir N. Maksimov: study conception and design, data collection and analysis, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, editing of the final version of the manuscript, approval of the manuscript for publication.

Funding

This work was supported by the grant of the Russian Foundation of Basic Research № 22-25-00222.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Камаева И.А., Гончарова А.С., Лукбанова Е.А. Методы создания моделей рака мочевого пузыря и их применение в доклинических исследованиях (обзор литературы). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 143–149. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-143-149

For citation: Kamaeva I.A., Goncharova A.S., Lukbanova E.A. Methods of creation of bladder cancer models and their application in preclinical studies (literature review). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 143–149. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-143-149

МЕТОДЫ СОЗДАНИЯ МОДЕЛЕЙ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

И.А. Камаева, А.С. Гончарова, Е.А. Лукбанова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, ул. 14 Линия, 63, г. Ростов-на-Дону. E-mail: inkamaeva@yandex.ru

Аннотация

Цель исследования. Обобщение имеющихся данных о методах создания моделей рака мочевого пузыря для их использования в доклинических исследованиях. **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников производился в системах Elibrary, Pubmed, GoogleScholar, CyberLeninka. Количество иностранных источников составило свыше 80 %. **Результаты.** В обзоре отображены современные данные о различных моделях рака мочевого пузыря и их применении в практике. Патофизиология рака мочевого пузыря, определение диагностических маркеров, а также разработка новых методов терапии являются одними из основных задач современной онкоурологии. Для решения подобных проблем зачастую необходимо проведение доклинических исследований с использованием экспериментальных моделей. **Заключение.** Модели РМП, способные полностью воспроизводить заболевание человека с точки зрения гистологии и поведения, необходимы для изучения факторов, участвующих в инициации, прогрессии опухоли и ее метастазировании. Для этого в настоящее время используют различные экспериментальные модели. Наиболее широко применяют ксенографты опухолей человека на мышах, т.к. они позволяют воспроизвести основные патофизиологические особенности биологии многих злокачественных новообразований. Кроме того, модели трансплантируемых опухолей могут быть использованы для изучения многоступенчатых каскадов канцерогенеза, прогрессирования рака мочевого пузыря (РМП), метастазирования, а также изучения новых способов терапии. Однако необходимо четко представлять все плюсы и минусы выбираемых экспериментальных моделей. В литературном обзоре представлены современные данные зарубежных и отечественных авторов об этиопатогенезе рака мочевого пузыря, результаты доклинических исследований на различных экспериментальных моделях, включая ортотопические и гетеротопические ксенографты.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, ксенографт, ортотопические опухолевые модели, иммунодефицитные мыши, доклинические исследования.

METHODS OF CREATION OF BLADDER CANCER MODELS AND THEIR APPLICATION IN PRECLINICAL STUDIES (LITERATURE REVIEW)

I.A. Kamaeva, A.S. Goncharova, E.A. Lukbanova

National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia
63, 14 Line St., 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: inkamaeva@yandex.ru

Abstract

Purpose of the study to summarize available data on methods for creating bladder cancer models for their application in preclinical studies. **Material and Methods.** A systematic literature search was conducted in the Elibrary, Pubmed, GoogleScholar, CyberLeninka databases. **Results.** The review shows current data on various bladder cancer models and their application in practice. Bladder cancer pathology, identification of diagnostic markers and the development of new therapies are of the main challenges facing the management of bladder cancer. To solve these problems, it is often necessary to conduct preclinical studies using experimental models. **Conclusion.** Bladder cancer models that can fully reproduce a human disease in terms of histology and behavior are necessary to study the factors involved in cancer development, progression and metastasis. For this, various experimental models are currently used. Human tumor xenografts in mice are widely used. They can reproduce the main pathophysiological features of cancer biology. However, it is necessary to clearly present all the pros and cons of the selected experimental models. The literature review presents modern data on the etiology of bladder cancer, results of preclinical studies on various experimental models, including orthotopic and heterotopic xenografts.

Keywords: bladder cancer, xenograft, orthotopic tumor models, immunodeficiency mice, preclinical studies.

Рак мочевого пузыря (РМП) является одной из самых распространенных злокачественных опухолей, характеризуется высокими темпами ежегодного роста заболеваемости и занимает одно из ведущих мест в структуре онкологической смертности в развитых странах [1, 2]. В России РМП занимает 8-е место в структуре онкологической патологии у мужчин и 18-е место – у женщин. При этом на РМП I–II стадии приходится 57,4 % пациентов с первичным диагнозом, на II–III – 26,8 %, на IV – 11,4 % [3]. В структуре преобладают пациенты старше 60 лет, в России они составляют 78,4 %. Средний возраст пациентов в России составляет 65,7 года для мужчин и 69,2 – для женщин. Увеличение частоты встречаемости РМП связано в первую очередь со сложной диагностикой заболевания на начальных стадиях, обусловленной бессимптомным течением, или сходством клиники и симптомов с другими заболеваниями мочевого пузыря. Существует множество этиологических факторов, приводящих к РМП. Большинство случаев РМП связывают с влиянием выделяемых с мочой канцерогенных веществ на уротелий [4].

Значительную роль в улучшении методов лечения РМП играют доклинические исследования *in vivo*. В настоящее время разработано большое количество животных моделей, отражающих различные типы и стадии заболевания. В обзоре представлен анализ зарубежной и отечественной литературы, посвященный созданию и применению моделей *in vivo* в области экспериментальной онкологии [5]. Поиск статей был выполнен в базе данных PubMed, GoogleScholar, CyberLeninka с использованием следующих поисковых запросов: *xenograft*, *bladder cancer*, *orthotopic model*, *heterotopic model*.

На сегодняшний день наиболее часто для моделирования опухолевого роста применяют ксенографты опухолей человека на мышах, т. к. они позволяют воспроизвести основные патологические особенности биологии многих

злокачественных новообразований. Для получения этих моделей обычно используют иммунодефицитных животных линий SCID, NOD-SCID, NOG, NSG, Balb/cNude, т. к. вследствие их иммунодефицитного статуса не происходит отторжения чужеродного биологического материала [6, 7]. В многочисленных работах по созданию и использованию ксеногенных опухолевых моделей продемонстрированы примеры применения как гетеротопического (подкожного) варианта трансплантации опухолевого материала, так и ортотопического (гистологически соответствующая зона животного) [8, 9].

Большое значение имеет опухолевый потенциал клеточной линии. Необходимо иметь в виду, что не все линии опухолевых клеток, доступных на коммерческой основе, являются туморогенными. Известно, что клетки линии UM-UC3, TCCSUP имеют высокую степень приживаемости при ортотопической имплантации. KU7, KU-19, T24, UM-UC1, UM-UC3, UM-UC13 линии переходно-клеточных карцином могут быть привиты трансуретрально. Отличия клеточных линий обусловлены различным набором генетических свойств. Например, клеточная линия UM-UC-6 получена путем трансуретральной резекции и способна продуцировать опухоли преимущественно у мышей Balb/cNude. Конкретные характеристики клеточных линий представлены на коммерческих сайтах. Для получения опухолей мочевого пузыря часто используются клеточные линии MB49, MBT-2, VTT-T739 [10].

Ортотопические модели

Большинство мышинных ортотопических моделей могут быть получены тремя способами: индуцирование химическими канцерогенами, имплантация человеческих клеток РМП, имплантация мышинных клеток РМП (сингенные модели) [11]. В настоящее время достаточно широко используются ортотопические ксенографты, для которых необходимо использовать иммунодефицитных мышей во избежание иммунных реакций, предпочтительнее

использовать мышей SCID, NOD-SCID [12]. Мыши хорошо подходят для создания ортотопических ксенотрансплантатов РМП, т.к. структура и функция их мочевыделительной системы схожи с человеком. Для облегчения катетеризации мочевого пузыря в исследованиях следует использовать самок мышей [13]. Для надежности и воспроизводимости модели животного необходима высокая скорость приживления опухолевых клеток. Мыши SCID-beige наиболее восприимчивы к приживлению опухоли ввиду отсутствия Т-, В-клеток, а также нарушения активности НК-клеток.

Несмотря на то, что ортотопические модели обеспечивают нормальное микроокружение опухоли, они сильно ограничены из-за технических трудностей. Процедура создания ортотопического ксенографта занимает относительно много времени, а размер опухоли сильно ограничен из-за небольшой емкости мочевого пузыря мышей [13]. Недостатком данной модели также является невозможность оценки иммунного ответа на интравезикулярную терапию ввиду отсутствия характерного микроокружения опухоли [14].

Уротелиальные опухолевые клетки могут быть привиты трансуретрально с помощью 22G или 24G уретрального катетера. Повышение количества опухолевых клеток в образце означает увеличение продолжительности контакта опухолевых клеток со слизистой оболочкой мочевого пузыря, что способствует лучшему приживлению опухоли [15, 16]. Поверхность слизистой оболочки мочевого пузыря покрыта слоем гликозаминогликана, который действует как защитный барьер к имплантации опухоли. Следовательно, для того чтобы успешно привить опухоль, этот барьер необходимо убрать: возможно механическое нарушение слизистой оболочки путем предварительного выскабливания уротелия стилетом [17]. Слизистая оболочка мочевого пузыря может быть также удалена путем прижигания [18]. В других литературных источниках сообщается о внутрипузырном введении 0,1 мл 0,2 % трипсина в течение 30 мин и незамедлительной травматизации слизистой оболочки с последующим прививанием опухоли [19]. Во время катетеризации мочевых пузырей зачастую возможно образование воздушного пузыря за счет воздуха, содержащегося в катетере. Чтобы проанализировать, влияет ли это на возникновение опухоли, был опробован альтернативный метод инстилляций, при котором сам катетер заполняется суспензией опухолевых клеток до катетеризации мочевого пузыря. Это предотвращает образование воздушного пузыря. Однако сравнение обоих методов инстилляций не выявило различий в формировании опухоли у мышей линии SCID-beige [20].

Гетеротопические модели

Гетеротопические модели включают в себя имплантацию и рост опухоли в месте, отличном

от исходного органа, преимущественно подкожной локализации. При этом гетеротопические ксенографты обладают рядом преимуществ. При подкожной имплантации, когда опухоль прививают в подкожно-жировую клетчатку иммунодефицитных мышей, рост опухолей можно легко оценить визуально, при помощи пальпации или замеров. В литературе описаны и другие локализации гетеротопических ксенографтов РМП. Например, опухолевые клетки РМП могут прививаться под почечную капсулу мышей SCID путем открытого хирургического вмешательства, такая методика позволяет получить более высокую приживаемость ввиду обильного кровоснабжения анатомической области. Из-за наличия жировой ткани стромы опухоли, поддерживающей ее рост, данный способ обеспечивает имитацию оригинального микроокружения [21–23]. Клетки можно имплантировать в бок или заднюю ногу иммунодефицитной мыши, есть данные о прививании клеток через хвостовую вену и левый желудочек сердца, последние чаще используются для оценки процесса метастазирования. Подкожные ксенографты создать, несомненно, проще, чем ортотопические модели. Эту модель часто используют при оценке терапевтических средств. Она может применяться для изучения местного рецидива после иссечения. Гетеротопические ксенографты имеют существенный недостаток – они не воспроизводят реальное микроокружение опухоли и не метастазируют [24, 25].

Модели PDX

Новым инструментом в решении проблем гетерогенности опухолей стали модели, полученные путем имплантации опухолевого материала от пациента иммунодефицитным мышам – PDX (Patient-derived xenograft). PDX способны отражать биологические характеристики опухолей более точно, чем линии опухолевых клеток: линии опухолевых клеток могут не иметь сходств с исходной опухолью и не могут точно имитировать клиническую ситуацию [26]. Кроме того, культура клеток лишена стромальных и эндотелиальных элементов. Таким образом, чтобы справиться с микроокружением, эти опухолевые клетки претерпевают генетические и эпигенетические изменения, в результате которых фенотип отличается от исходной опухоли [27]. Модели PDX были разработаны достаточно давно, однако их характеристика была ограничена фенотипическими анализами, такими как гистологическое исследование с окраской гематоксилин-эозином или иммуноцитохимический метод, без детального молекулярного анализа. Для изучения молекулярных изменений в ксенотрансплантатах необходимо проводить дальнейшие генетические исследования. В литературе встречаются данные о шести моделях ксенотрансплантата РМП с гетерогенными клинико-патологическими осо-

бенностями. Четыре из шести моделей имеют мутацию HRAS, CTNNB1, BRAF, TP53, причем ни одна из них не имеет мутаций в других генах. Было доказано, что ранний перенос PDX-моделей ксенотрансплантата обеспечивает практически полное сходство со стороны гистологии, мутационного статуса и геномных изменений [27]. Исходя из этого, модели PDX являются актуальными для изучения противоопухолевого ответа. Существуют и недостатки использования PDX-моделей. Необходимо иметь в виду, что несмотря на фенотипические и генотипические сходства с первичными опухолями, не доказано, схожи ли они в «клинических» аспектах, например, обладают ли они лекарственной или радиационной резистентностью [28].

Индукцированные модели

Согласно литературным данным, существует прямая связь между количеством выкуриваемых сигарет и возникновением РМП. Поэтому крайне важно изучить взаимосвязь между химическим канцерогенезом и РМП. Первая модель индуцированного уротелиального рака была получена у крыс, после чего было открыто несколько канцерогенов у различных видов, включая мышей и собак [29–30]. Основными химическими канцерогенами являются 4-гидроксипутил-нитрозамин (BNN) N-(4,5-нитро-2-фурил)формамид (FANFT) и метил-нитрозомочевина (MNU). Большинство из них содержат ароматические аминные компоненты. BNN вводят либо перорально, добавляя его в питьевую воду, при этом происходит его дальнейшая дегградация до N-бутил-нитрозамина, либо внутривенно. BNN-индуцированные модели рака имеют мутации p53, высокий уровень EGFR [33]. Однако создание опухолевых моделей, индуцированных BNN, – процесс длительный и занимает от 5 до 8 мес. MNU – канцероген, который действует непосредственно на уротелий после внутрипузырной инстилляции, что приводит к метилированию ДНК [34]. Основное преимущество этой модели заключается в том, что карцинома развивается уже спустя 12 нед. Однако MNU крайне неустойчив во внешней среде и поэтому должен храниться при низких температурах и отсутствии света [35]. FANFT – химический канцероген, который стимулирует слизистую оболочку мочевого пузыря и в основном способствует развитию переходноклеточного рака [36].

Трансгенные модели

Особым типом сингенных моделей являются трансгенные мыши, геном которых модифицируется с целью изучения важности конкретного гена в развитии и прогрессировании рака. Активация онкогенов, таких как Ha-ras, или изменения в генах-супрессорах RB1, p53 в уротелии считаются пусковыми в развитии уротелиальных опухолей.

В литературе встречается информация о том, что трансгенные мыши с дефицитом pRB, p53 очень чувствительны к возникновению РМП, у них обнаружена инвазивная карцинома, гистологически схожая с РМП человека [37, 38]. Однако генно-инженерные модели имеют ряд ограничений. Во-первых, опухоли, развивающиеся в этих моделях, менее гетерогенны, чем опухоли мочевого пузыря человека. Во-вторых, трансгенные модели могут недостоверно отображать процессы, происходящие при РМП у человека [37]. У мышей с делецией зародышевой линии часто невозможно исследовать функцию гена – нокаут приводит к преждевременной или перинатальной смерти. Вследствие этого не получится четко разграничить тканеспецифический и клеточный вклад данного гена в развитие заболевания. Подход, который позволит избежать данного ограничения, включает в себя The Cre-loxP систему, содержащую бактериофаг P1 и позволяющую изучать функцию генов в конкретных клеточных и тканевых типах [39]. Уротелий-специфическая система The Cre-loxP доступна и выборочно используется для достижения нокаута генов в эпителии мочевого пузыря [27].

Возможности применения ксенографтов

Ортотопические ксенографты могут быть использованы для изучения новых терапевтических стратегий борьбы с РМП. Так, например, в исследованиях по изучению ингибирующего влияния экзогенной miR-145 на рост опухолей мочевого пузыря *in vivo* использовали мышиную модель с ортотопически привитыми опухолевыми клетками. Препарат miR-145 значительно ингибировал рост ортотопических ксенотрансплантантов РМП. Как известно, miR-145 выступает в качестве супрессора опухолевого роста [20]. Для подтверждения подавления роста ксенотрансплантированной опухоли путем внутрипузырного введения были исследованы уровень экспрессии miR-145 методом qRT-ПЦР, а уровни экспрессии возможных мишеней miR-145 генов методом вестерн-блоттинга. Ожидается, что уровень экспрессии miR-145 был достоверно повышен в ксенотрансплантированных тканях по сравнению с контрольной группой. Анализ вестерн-блоттингом показал, что уровни белка miR-145 таргетных генов, таких как c-Myc, socs7, FSCN1, E-кадгерин и β-Катенин, были значительно снижены. Интересно, что уровни c-Myc, socs7 были снижены в большей степени по сравнению с результатами экспериментов *in vitro*. Эти данные позволяют предположить, что внутрипузырное введение miR-145 эффективно проявило свой противоопухолевый эффект в ксенотрансплантированной опухоли. Согласно некоторым исследованиям также следует отметить, что оптимальным сроком начала терапевтического воздействия у животных-опухоленосителей может считаться интервал до 7 дней после процедуры инстилляции опухолевых клеток [40].

Согласно литературным данным, РМП метастазирует преимущественно лимфогенно: в обтураторные лимфатические узлы; гематогенные метастазы чаще всего возникают в печени. Несмотря на свою актуальность, на сегодняшний день существует очень мало доклинических моделей, доступных для изучения спонтанного метастазирования РМП. В литературе описывается роль эпителиально-мезенхимального перехода в прогрессировании и метастазировании РМП. Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – обратимый клеточный процесс, происходящий в эпителиальных тканях, при котором гомотипная адгезия и клеточная поляриность временно теряются, поскольку клетки приобретают мезенхимальные свойства, становятся инвазивными и мигрирующими [41]. Для изучения этого явления были созданы новые модели ксенотрансплантатов, полученные из линий клеток рака мочевого пузыря человека с использованием ортотопического метода «рециркуляции». В исследовании использовались мыши Balb/cNude, SCID-beige. Для инстилляций опухолевых клеток были отобраны самки 14 нед, мочевого пузыря которых катетеризировали с помощью 24G катетера. Метод «ортотопической рециркуляции» заключается в том, что опухолевые клетки имплантируются в их нативное микроокружение, способствуя переходу к более «эпителиальному» фенотипу и усилению роста первичной опухоли. Метастазы затем повторно имплантируют в ортотопический участок для обогащения спонтанного метастатического фенотипа. Этот процесс повторяется до тех пор, пока практически у всех мышей не развиваются метастазы после короткого латентного периода. На 20-й день после инстилляций опухолевых клеток МРТ-изображения демонстрируют пристеночные образования, выступающие в полость мочевого

пузыря мышей. При этом ксенографты локализовались преимущественно в области верхушки мочевого пузыря. Было показано, что ингибирование ЭМП в данной модельной системе полностью блокирует метастазирование [41].

Заключение

Увеличение количества случаев возникновения РМП связано со многими причинами. Прежде всего, это бессимптомное течение начальных стадий заболевания, что, безусловно, затрудняет диагностику процесса. В настоящее время разработаны различные экспериментальные модели. В зависимости от цели необходимо четко представлять преимущества и недостатки каждой из них. PDX-модели и остальные могут быть применены в изучении основных патофизиологических механизмов возникновения РМП, а также для изучения новых терапевтических средств лечения не только РМП, но и его метастазов. Модели PDX в настоящее время способны наиболее точно отражать фенотип опухоли, генетически стабильны, гетерогенны. Кроме того, они отлично подходят для изучения действия противоопухолевых препаратов. Имеются и недостатки использования PDX-моделей: экономические затраты для создания и хранения тканей в биобанках, низкая скорость приживления опухолей. С точки зрения пользы для пациентов такая модель представляет собой огромный интерес, но для больных с быстро прогрессирующим процессом такая модель не подходит. Что касается использования трансгенных мышей, то они не могут воспроизводить реальное микроокружение опухолей, как и ксенографты. Зачастую имеет смысл использовать несколько экспериментальных моделей, когда недостатки одной модели могут компенсироваться достоинствами другой.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 г. (заболеваемость и смертность). М., 2017. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality). Moscow, 2017. 250 p. (in Russian)].
2. Torre L.A., Siegel R.L., Ward E.M., Jemal A. Global cancer incidence and mortality rates and trends – an update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016; 25(1): 16–27. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0578.
3. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2006 году (заболеваемость, смертность). М., 2007. [Chissov V.I., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2006 (morbidity, mortality). Moscow, 2007. (in Russian)].
4. Давыдов М.И., Петровский А.В. Онкология. Клинические рекомендации. М., 2018; 976 с. [Davydov M.I., Petrovskii A.V. Oncology. Clinical guidelines. Moscow, 2018; 976 p. (in Russian)].
5. Кит О.И., Ващенко Л.Н., Дашкова И.Р., Кутилин Д.С., Максимов А.Ю., Гончарова А.С. Ксеногенные модели рака молочной железы человека в экспериментальных исследованиях. Современные проблемы науки и образования. 2019; 6: 184. [Kit O.I., Vashchenko L.N., Dashkova I.R., Kutulin D.S., Maksimov A.Yu., Goncharova A.S. Xenogenic models of human breast cancer in experimental studies. *Modern Problems of Science and Education.* 2019; 6: 184. (in Russian)].
6. Трещалина Е.М. Иммунодефицитные мыши Balb/cNude и моделирование различных вариантов опухолевого роста для доклинических исследований. Российский биотерапевтический журнал. 2017; 16(3): 6–13. doi: 10.17650/1726-9784-2017-16-3-6-13.
7. Холоденко И.В., Доронин И.И., Холоденко Р.В. Опухолевые модели в изучении онкологических заболеваний. *Иммунология.* 2013; (5): 282–6. [Kholodenko I.V., Doronin I.I., Kholodenko R.V. Tumor models in the study of cancer diseases. *Immunology.* 2013; (5): 282–6. (in Russian)].
8. Zhao X., Li L., Starr T.K., Subramanian S. Tumor location impacts immune response in mouse models of colon cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(33): 54775–87. doi: 10.18632/oncotarget.18423.
9. Holen I., Speirs V., Morrissey B., Blyth K. In vivo models in breast cancer research: progress, challenges and future directions. *Dis Model Mech.* 2017; 10(4): 359–71. doi: 10.1242/dmm.028274.
10. Huebner D., Rieger C., Bergmann R., Ulrich M., Meister S., Toma M., Wiedemuth R., Temme A., Novotny V., Wirth M.R., Bachmann M., Pietzsch J., Fuessel S. An orthotopic xenograft model for high-risk non-muscle invasive bladder cancer in mice: influence of mouse strain, tumor cell count, dwell time and bladder pretreatment. *BMC Cancer.* 2017; 17: 790. doi: 10.1186/s12885-017-2778-3.
11. Yang X.H., Ren L.S., Wang G.P., Zhao L.L., Zhang H., Mi Z.G., Bai X. A new method of establishing orthotopic bladder transplantable tumor in mice. *Cancer Biol Med.* 2012; 9(4): 261–5. doi: 10.7497/j.issn.2095-3941.2012.04.007.
12. Sabichi A., Keyhani A., Tanaka N., Delacerda J., Lee O.L., Zhou J.H., Benedict W.F., Grossman H.B. Characterization of a panel of

cell lines derived from urothelial neoplasms: genetic alterations, growth in vivo and the relationship of adenoviral mediated gene transfer of coxsackie adenovirus receptor expression. *J Urol.* 2006; 175(3): 1133–7.

13. Reis L.O., Sopena J.M., Fávoro W.J., Martín M.C., Simão A.F., Reis R.B., Andrade M.F., Domenech J.D., Cardo C.C. Anatomical features of the urethra and urinary bladder catheterization in female mice and rats. An essential translational tool. *Acta Cir Bras.* 2011; 2: 106–10. doi: 10.1590/s0102-86502011000800019.

14. Grossman H.B., Wedemeyer G., Ren L. UM-UC-1 and UM-UC-2: characterization of two new human transitional cell carcinoma lines. *J Urol.* 1984; 132(4): 834–7. doi: 10.1016/s0022-5347(17)49883-1.

15. Grivas P.D., Day K.C., Karatsinides A., Paul A., Shakir N., Owainati I., Liebert M., Kunju L.P., Thomas D., Hussain M., Day M.L. Evaluation of the antitumor activity of dacomitinib in models of human bladder cancer. *Mol Med.* 2013; 19(1): 367–76. doi: 10.2119/mol-med.2013.00108.

16. Eijan A.M., Lodillinsky C., Sandes E.O. Animal models for basic and preclinical research in bladder cancer. *Bladder Cancer-from basic science to Robotic Surgery / Ed. Canda A.E. In Tech.* 2012; 383–404. doi:10.5772/28580.

17. Smith E.B., Schwartz M., Kawamoto H., You X., Hwang D., Liu H., Scherr D.S. Antitumor effects of imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder. *J Urol.* 2007; 177(6): 2347–51. doi: 10.1016/j.juro.2007.01.112.

18. Cheon J., Moon D.G., Cho H.Y., Park H.S., Kim J.J., Gardner T.A., Kao C. Adenovirus-mediated suicide-gene therapy in an orthotopic murine bladder tumor model. *Int J Urol.* 2002; 9(5): 261–7. doi: 10.1046/j.1442-2042.2002.00464.x.

19. Jäger W., Moskalev I., Janssen C., Hayashi T., Awrey S., Gust K.M., So A.I., Zhang K., Fazli L., Li E., Thüroff J.W., Lange D., Black P.C. Ultrasound-guided intramural inoculation of orthotopic bladder cancer xenografts: a novel high-precision approach. *PLoS One.* 2013; 8(3). doi: 10.1371/journal.pone.0059536.

20. Yu D.S., Lee C.F., Chang S.Y. Immunotherapy for orthotopic murine bladder cancer using bacillus Calmette-Guérin recombinant protein Mpt-64. *J Urol.* 2007; 177(2): 738–42. doi: 10.1016/j.juro.2006.09.074.

21. Lodillinsky C., Rodriguez V., Vauthay L., Sandes E., Casabé A., Eijan A.M. Novel invasive orthotopic bladder cancer model with high cathepsin B activity resembling human bladder cancer. *J Urol.* 2009; 182(2): 749–55. doi: 10.1016/j.juro.2009.03.076.

22. Wang Y., Revelo M.P., Sudilovsky D., Cao M., Chen W.G., Goetz L., Xue H., Sadar M., Shappell S.B., Cunha G.R., Hayward S.W. Development and characterization of efficient xenograft models for benign and malignant human prostate tissue. *Prostate.* 2005; 64(2): 149–59. doi: 10.1002/pros.20225.

23. Cutz J.C., Guan J., Bayani J., Yoshimoto M., Xue H., Sutcliffe M., English J., Flint J., LeRiche J., Yee J., Squire J.A., Gout P.W., Lam S., Wang Y.Z. Establishment in severe combined immunodeficiency mice of subrenal capsule xenografts and transplantable tumor lines from a variety of primary human lung cancers: potential models for studying tumor progression-related changes. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(13): 4043–54. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0252.

24. Wu Z., Owens C., Chandra N., Popovic K., Conaway M., Theodorescu D. RalBP1 is necessary for metastasis of human cancer cell lines. *Neoplasia.* 2010; 12(12): 1003–12. doi: 10.1593/neo.101080.

25. Talmadge J.E., Singh R.K., Fidler I.J., Raz A. Murine models to evaluate novel and conventional therapeutic strategies for cancer. *Am J Pathol.* 2007; 170(3): 793–804. doi: 10.2353/ajpath.2007.060929.

26. Fichtner I., Slisow W., Gill J., Becker M., Elbe B., Hillebrand T., Bibby M. Anticancer drug response and expression of molecular markers

in early-passage xenotransplanted colon carcinomas. *Eur J Cancer.* 2004; 40(2): 298–307. doi: 10.1016/j.ejca.2003.10.011.

27. John B.A., Said N. Insights from animal models of bladder cancer: recent advances, challenges, and opportunities. *Oncotarget.* 2017; 8(34): 57766–81. doi: 10.18632/oncotarget.17714.

28. Park B., Jeong B.C., Choi Y.L., Kwon G.Y., Lim J.E., Seo S.I., Jeon S.S., Lee H.M., Choi H.-Y., Lee K.-S. Development and characterization of a bladder cancer xenograft model using patient-derived tumor tissue. *Cancer Science.* 2013; 104(5): 631–8. doi: 10.1111/cas.12123.

29. Babjuk M., Burger M., Zigeuner R., Shariat S.F., van Rhijn B.W., Compérat E., Sylvester R.J., Kaasinen E., Böhle A., Palou Redorta J., Rouprêt M.; European Association of Urology. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. *Eur Urol.* 2013; 64(4): 639–53. doi: 10.1016/j.eururo.2013.06.003.

30. Druckrey H., Preussmann R., Ivankovic S., Schmidt C.H., Mennel H.D., Stahl K.W. Selective induction of bladder cancer in rats by dibutyl and n-butyl-n-butanol-nitrosamine. *Deutsche Krebsforschungszentrum.* 1964; 66: 280–90.

31. Fukushima S., Hirose M., Tsuda H., Shirai T., Hirao K. Histological classification of urinary bladder cancers in rats induced by N-butyl-n-4-hydroxybutyl-nitrosamine. *Gann.* 1976; 67(1): 81–90.

32. Hicks R.M., Wakefield J.S. Rapid induction of bladder cancer in rats with N-nitrosourea. *Hystology.* 1972; 5(2): 139–52. doi: 10.1016/0009-2797(72)90040-3.

33. Masui T., Dong Y., Yamamoto S., Takada N., Nakanoshi H., Inada K., Fukushima S., Tatematsu M. p53 mutations in transitional cell carcinomas of the urinary bladder cancer in rats treated with N-butyl-n-hydroxybutyl-nitrosamine. *Cancer Letters.* 1996; 105(1): 105–12.

34. Reis L.O., Pereira T.C., Favaro W.J., Cagnon V.H., Lopes-Cendes I., Ferreira U. Experimental animal model and RNA interference: a promising association for bladder cancer research. *World J Urol.* 2009; 27(3): 353–61. doi: 10.1007/s00345-009-0374-4.

35. Spry L.A., Zenser T.V., Cohen S.M., Davis B.B. Role of renal metabolism and excretion in 5-nitrofurantoin-induced uroepithelial cancer in the rat. *J Clin Invest.* 1985; 76(3): 1025–31. doi: 10.1172/JCI112055.

36. Ahmad I., Sansom O.J., Leung H.Y. Exploring molecular genetics of bladder cancer: lessons learned from mouse models. *Dis Model Mech.* 2012; 5(3): 323–32. doi: 10.1242/dmm.008888.

37. He F., Mo L., Zheng X.Y., Hu C., Lepor H., Lee E.Y., Sun T.T., Wu X.R. Deficiency of pRb family proteins and p53 in invasive urothelial tumorigenesis. *Cancer Res.* 2009; 69(24): 9413–21. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2158.

38. Nagy A. Cre recombinase: the universal reagent for genome tailoring. *Genesis.* 2000; 26(2): 99–109.

39. Inamoto T., Papineni S., Clintharlapalli S., Cho S.D., Safe S., Kamat A.M. 1,1-Bis-1-p-chlorophenyl-methane activates the orphan nuclear receptor Nurrl and inhibits bladder cancer growth. *Mol Cancer Ther.* 2008; 7(12): 3825–33. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0730.

40. Bernardo C., Costa C., Palmeira C., Pinto-Leite R., Oliveira P., Freitas R., Amado F., Santos L.L. What we have learned from urinary bladder cancer models. *J Cancer Met Treat.* 2016; 2: 51–8.

41. Black P.C., Brown G.A., Dinney C.P., Kassouf W., Inamoto T., Arora A., Gallagher D., Munsell M.F., Bar-Eli M., McConkey D.J., Adam L. Receptor heterodimerization: a new mechanism for platelet-derived growth factor induced resistance to anti-epidermal growth factor receptor therapy for bladder cancer. *J Urol.* 2011; 185(2): 693–700. doi: 10.1016/j.juro.2010.09.082.

Поступила/Received 23.03.2020

Одобрена после рецензирования/Revised 23.11.2020

Принята к публикации/Accepted 02.12.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Камаева Инна Анатольевна, врач-ординатор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). Email: inkamaeva@yandex.ru. SPIN-код: 8953-3351. ORCID: 0000-0003-3001-0675.

Гончарова Анна Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующая отделением «Испытательный лабораторный центр», ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7512-2039. ORCID: 0000-0003-0676-0871.

Лукбанова Екатерина Алексеевна, научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4078-4200. ORCID: 0000-0002-3036-6199.

ВКЛАД АВТОРОВ

Камаева Инна Анатольевна: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, редактирование рукописи.

Гончарова Анна Сергеевна: концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи.
Лукбанова Екатерина Алексеевна: редактирование рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Inna A. Kamaeva, MD, Resident Doctor, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Email: inkamaeva@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-3001-0675.

Anna S. Goncharova, PhD, Head of Department «Testing Laboratory Center», National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-0676-0871.

Ekaterina A. Lukbanova, Researcher, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-3036-6199.

AUTHOR CONTRIBUTION

Inna A. Kamaeva: concept and design of the study, data collection and analysis, statistical processing, writing of the text, editing of the manuscript.

Anna S. Goncharova: concept and design of the study, editing of the manuscript.

Ekaterina A. Lukbanova: editing of the manuscript.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-150-155
УДК: 616.24-006.66

Для цитирования: Тонеев Е.А., Мартынов А.А., Лазаревский М.М., Пикин О.В. Редкое наблюдение первичной гепатоидной аденокарциномы легкого. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 150–155. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-150-155

For citation: Toneev E.A., Martynov A.A., Lazarevskiy M.M., Pikin O.V. Rare case of primary hepatoid adenocarcinoma of the lung. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 150–155. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-150-155

РЕДКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ ГЕПАТОИДНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО

Е.А. Тонеев^{1,2}, А.А. Мартынов¹, М.М. Лазаревский¹, О.В. Пикин³

ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер», г. Ульяновск, Россия¹

Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. 12 Сентября, 90. E-mail: e.toneev@inbox.ru¹

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия²

Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, 42²

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия³

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3³

Аннотация

Актуальность. Гепатоидная аденокарцинома представляет собой карциному с железистой и гепатоцеллюлярной дифференцировкой. Данная разновидность опухоли легкого встречается крайне редко. По данным базы редких клинических наблюдений, опухоль обладает склонностью к раннему метастазированию, агрессивному течению заболевания. Лечебная тактика по ведению данной группы пациентов в настоящее время не выработана ввиду малого количества наблюдений. Наиболее эффективным способом является хирургический метод. В литературе описано всего 51 наблюдение данной патологии. В отечественной литературе настоящее наблюдение является вторым. **Описание.** Представлен клинический случай гепатоидной аденокарциномы легкого у мужчины 54 лет, у которого при обследовании по поводу новообразования легкого выявлена гепатоидная аденокарцинома. Описаны сложности морфологической диагностики данного гистотипа опухоли, т.к. морфологическое сходство гепатоидной аденокарциномы и гепатоцеллюлярного рака требует комплексного подхода в дифференциальной диагностике данных патологий с целью постановки точного диагноза. Представлена тактика ведения пациента. **Заключение.** Гепатоидная аденокарцинома легкого представляет собой редкое по гистологической структуре злокачественное новообразование легкого, с неблагоприятным прогнозом, что продемонстрировано в нашем наблюдении.

Ключевые слова: гепатоидная аденокарцинома легкого, рак легкого.

RARE CASE OF PRIMARY HEPATOID ADENOCARCINOMA OF THE LUNG

Е.А. Toneev^{1,2}, А.А. Martynov¹, М.М. Lazarevskiy¹, О.В. Pikin³

Regional Clinical Oncological Dispensary, Ulyanovsk, Russia¹

90, September 12 Str., 432017, Ulyanovsk, Russia. E-mail: e.toneev@inbox.ru¹

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia²

42, Leo Tolstoy Str., 432017, Ulyanovsk, Russia²

P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – branch of National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia³

3, 2nd Botkinsky Ave., 125284, Moscow, Russia³

Abstract

Hepatoid adenocarcinoma is a rare type of adenocarcinoma with hepatocellular differentiation, which is characterized by early metastatic spread and poor prognosis. The treatment strategy is not clearly defined due to an extreme rarity of the tumor. Surgery is the most effective tool as a part of multimodality concept. So far, only 51 cases have been described in the literature, and only one in Russia. **Clinical case description.** We report a case of metastatic hepatoid adenocarcinoma of the lung in a 54-year-old male patient. The difficulties in morphologic differential diagnosis between adenocarcinoma of the lung and primary liver cancer were described. The strategy for managing patients with hepatoid adenocarcinoma of the lung was demonstrated. **Conclusion.** Hepatoid adenocarcinoma of the lung is a rare tumor with unfavourable outcome.

Key words: hepatoid adenocarcinoma of the lung, lung cancer.

Введение

Гепатоидная аденокарцинома (ГА) представляет собой злокачественную эпителиальную опухоль (рак), расположенную вне печени, однако обладающую схожими морфологическими и иммуногистохимическими характеристиками с гепатоцеллюлярной карциномой [1]. В литературе описано около 300 случаев гепатоидных аденокарцином различной локализации, большинство из них расположены в желудке (60 %), далее по частоте встречаемости идут: яичники (10 %), желчный пузырь (4 %), поджелудочная железа (4 %) [2]. Впервые гепатоидная аденокарцинома была описана в 1990 г. Н. Ishikura et al. [3], тогда же они сформировали критерии, по которым целесообразно диагностировать ГА: аденокарциноматозный компонент, состоящий из неопластических клеток тубулярной или папиллярной структуры; гепатоидный компонент, напоминающий гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК); неопластические клетки, содержащие обильную эозинофильную цитоплазму с центрально расположенным ядром. Эти клетки отвечают за продукцию АФП.

В настоящее время алгоритмы лечения данной патологии не разработаны ввиду ее редкой встречаемости, в отечественной литературе описан только один клинический случай гепатоидной аденокарциномы легкого [4]. Поэтому мы хотим представить наше клиническое наблюдение.

Клиническое наблюдение

Пациент Ш., 54 года, обратился в ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» в ноябре 2020 г. с жалобами на одышку при незначительной физической нагрузке, эпизодическое повышение температуры тела до 37,5 °С. Объективное состояние: индекс Карновского – 60 %, ECOG 2–3 балла. Индекс курящего человека: 30 пачка/лет. При обследовании по месту жительства данных за вирусный гепатит и цирроз печени не получено. Первые симптомы возникли в октябре 2020 г., проходил лечение с подозрением на COVID-19, который не подтвержден. При обследовании грудной клетки выявлено образование

диспансер», при котором общеклинические данные не содержали отклонений от нормы, показатели онкомаркеров: АФП в норме. При ФГДС и ФБС органической патологии не выявлено. Мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) органов грудной клетки и брюшной полости (19.11.20): в S6 левого легкого образование, размерами 76×92 мм, просвет бронхов сужен. Периферические и внутригрудные лимфатические узлы: надключичные слева, размерами до 19 мм, справа – 21 мм, паратрахеальные – до 23×21 мм, нижние паратрахеальные – 39×23 мм, бифуркационные – до 41 мм, лимфоузлы корня левого легкого в конгломерате 50×49 мм (рис. 1, 2). Печень гомогенной структуры, внутрипеченочные желчные протоки, воротная вена не расширены. Лимфоузлы верхнего этажа брюшной полости не изменены.

С диагностической целью 26.11.20 выполнена биопсия надключичного лимфатического узла слева. Гистологическое заключение: в лимфатическом узле метастаз рака солидного строения, состоящий из крупных клеток с обильной зернистой эозинофильной и амфифильной цитоплазмой, с очаговыми признаками железистой дифференцировки. Подозрение на метастаз гепатоидной аденокарциномы, с учетом анамнеза – из легкого.

Иммуногистохимическое исследование (автоматизированное, иммуногистостейнер Autostainer 360): опухолевые клетки экспрессируют Cytokeratin pan (клон AE1/AE3), Cytokeratin 7 (клон OVTL12/30), TTF-1 (клон 8G7G3/1) – (цитоплазматическая экспрессия), Anti-Her-Par-1 (клон OCH1E5), Alpha Fetoprotein (Polyclonal), Cytokeratin HMW (клон 34BetaE12); не экспрессируют: p63 (клон 7JUL), Synaptophysin (клон 9P11), S100 (клон 4C4.9). Заключение: в лимфоузле метастаз гепатоидной аденокарциномы.

Мультидисциплинарный консилиум врачей в составе торакального хирурга, радиотерапевта и химиотерапевта выставил диагноз: Рак нижней доли левого легкого cT4N3M0 IIIc стадии (TNM8) с метастазами в лимфатические узлы средостения, надключичные лимфатические узлы справа и слева. Назначено: пересмотр гистологических препаратов в UNIM (технопарк Сколково); молекулярно-генетическое исследование мутаций: BRAF, EGFR, ALK, ROS1, PD-L1; химиотерапия +

Пациенту проведено комплексное обследование в ГУЗ «Областной клинический онкологический

иммунотерапия по схеме паклитаксел + карбоплатин + пембролизумаб.

Заключение UNIM (технопарк Сколково), патологоанатомическое заключение: в лимфатических узлах метастазы низкодифференцированной гепатоидной аденокарциномы без ИГХ-признаков органной специфичности. ALK-статус опухоли – отрицательный, PD-L1 статус – позитивный (TPS 1–49 %). EGFR-статус – отрицательный (1+). ROS1-статус – неопределенный (2+). Дифференциальная диагностика. Реакции AT: Рах-8 (Polyclonal) – отрицательная, Alpha-Fetoprotein – отрицательная, TTF-1 – отрицательная, CK7 – положительная (+) диффузная, Arginase-1 – положительная (+) очаговая, PD-L1 – (TPS 2 %), ALK – отрицательная, PSA – отрицательная, GATA-3 – отрицательная, CDX2 – отрицательная, CK20 – отрицательная, Napsin A (poly) – отрица-

тельная. Микроскопическое описание: в готовых гистологических препаратах фрагменты лимфатических узлов со стертым гистологическим рисунком за счет роста опухоли преимущественно солидного строения из крупных эпителиальных клеток с развитой амфифильной зернистой и мелковаскулизированной цитоплазмой, с полиморфными округло-овальными ядрами с крупными ядрышками.

Таким образом, при гистологическом исследовании лимфатических узлов выявлены метастазы солидного рака, клетки которого по морфологии (обильная амфифильная зернистая цитоплазма, четкие межклеточные границы) напоминали гепатоциты – имели гепатоидный вид (рис. 3–5).

Иммунофенотип (экспрессия опухолевыми клетками HepPar-1, CK7, необычная цитоплазматическая экспрессия TTF-1) подтверждал

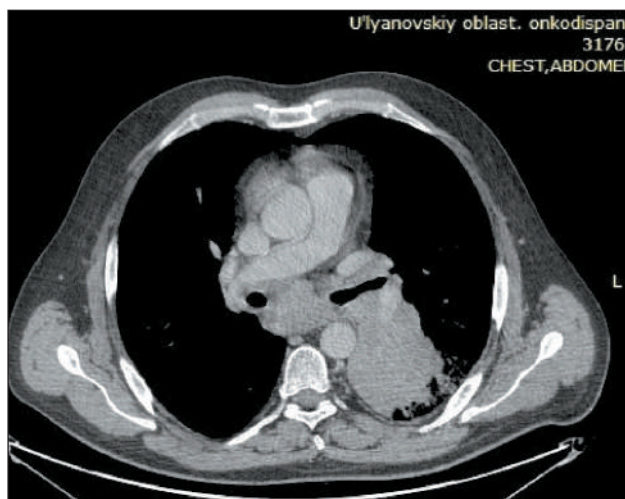


Рис. 1. Опухоль нижней доли левого легкого, метастазы в лимфатические узлы корня легкого, средостения
Fig. 1. Tumor of the lower lobe of the left lung, metastases in lymph nodes of the root of the lung and mediastinum

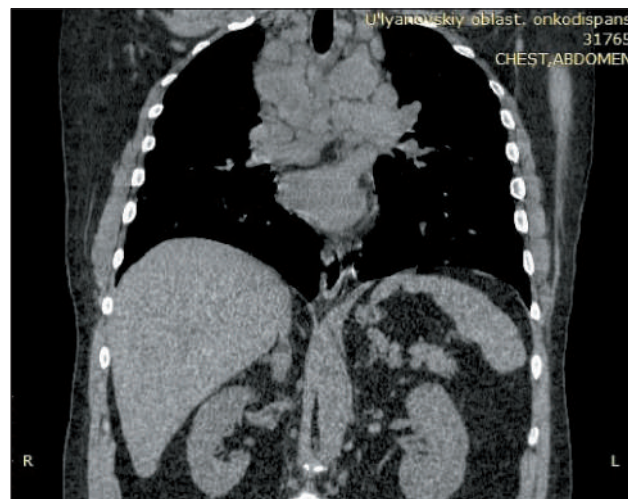


Рис. 2. Метастазы в лимфатические узлы средостения.
Печень гомогенной структуры
Fig. 2. Metastases in lymph nodes of the mediastinum.
Liver echogenicity is homogeneous

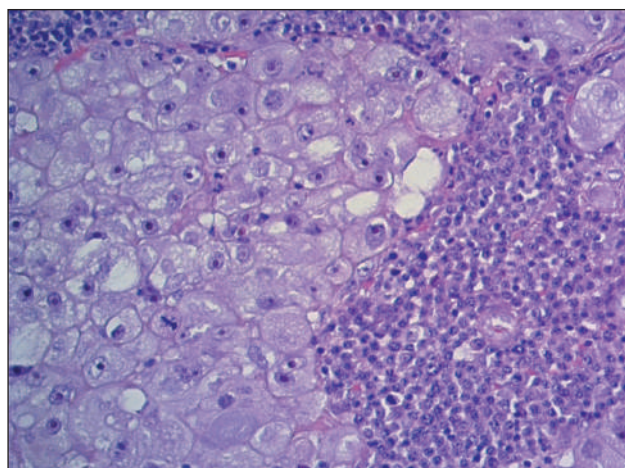


Рис. 3. Микрофото. В лимфатическом узле метастаз солидного рака с гепатоидными чертами клеток. Окраска гематоксилином и эозином, ×20
Fig. 3. Microphoto. Lymph node metastasis of hepatoid carcinoma. Hematoxylin and eosin staining, ×20

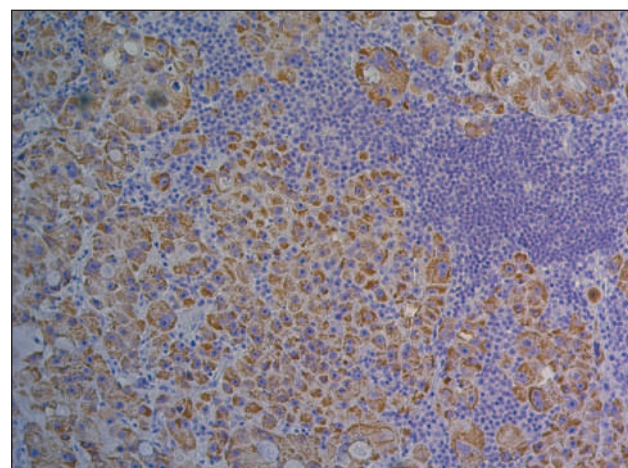


Рис. 4. Микрофото. Иммуногистохимическое окрашивание с антителом к HepPar-1, ×10. Цитоплазматическая экспрессия в опухолевых клетках
Fig. 4. Microphoto. Immunohistochemical staining with antibody to HepPar-1, ×10. Cytoplasmic expression in tumor cells

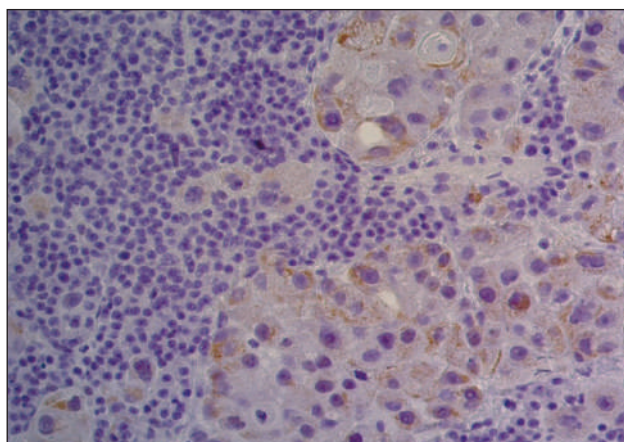


Рис. 5. Микрофото. Иммуногистохимическое окрашивание с антителом к TTF-1, $\times 20$. Необычная цитоплазматическая экспрессия опухолевыми клетками

Fig. 5. Microphoto. Immunohistochemical staining with anti-TTF-1 antibody, $\times 20$. Unusual cytoplasmic expression by tumor cells

метастаз гепатоидной аденокарциномы и исключал метастаз морфологически сходного гепатоцеллюлярного рака. При проведении дальнейшего ИГХ-исследования в другой лаборатории иммуногистохимические маркеры органной специфичности в опухоли обнаружены не были (отсутствие экспрессии PAX8, GATA3, PSA, CDX2, Napsin A poly).

Пациент получил 1 курс лекарственной терапии, которую перенес удовлетворительно. Выписан в состоянии средней степени тяжести. При повторном обращении состояние пациента расценивалось как тяжелое, ECOG 3–4 балла, индекс Карновского – 30 %, жалобы на выраженную одышку в покое, повышение температуры тела до 38 °С. МСКТ-контроль органов грудной клетки и брюшной полости (23.12.20): прогрессирование процесса в виде увеличения размеров лимфатических узлов, формирование полости деструкции в верхней доле левого легкого (рис. 6). С учетом тяжести состояния рекомендовано симптоматическое лечение. Пациент умер через 2 нед.

Обсуждение

При анализе баз данных PubMed, Google и Google Scholar, eLibrary.Ru установлено, что в настоящий момент в литературе описан 51 случай гепатоидной аденокарциномы легкого. По данным описанных клинических наблюдений, наиболее часто данная патология встречается у мужчин, с длительным анамнезом курения [5]. Наш случай не является исключением, у пациента – длительный анамнез табакокурения. Первичная гепатоидная аденокарцинома является крайне агрессивной опухолью с ранним метастазированием и плохим прогнозом [6]. Эффективным способом лечения ГА является радикальное хирургическое вмешательство. Наиболее длительный период наблюдения после операции – 9 лет – имеется у женщины с ГА легкого IA стадии [7].

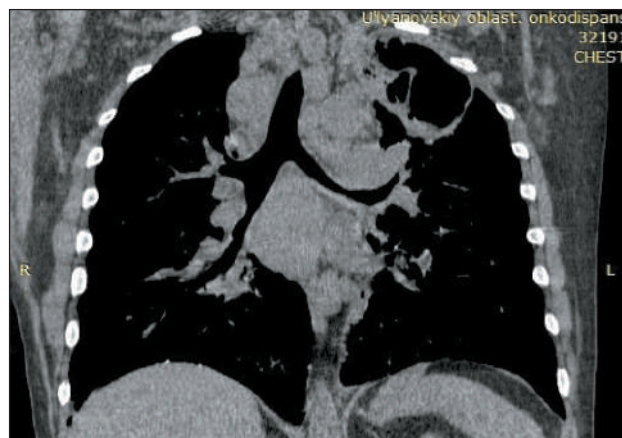


Рис. 6. Полость деструкции легочной ткани в верхней доле левого легкого. Лимфаденопатия средостения

Fig. 6. Cavity of lung tissue destruction in the upper lobe of the left lung. Mediastinal lymphadenopathy

H. Ishikura et al. впервые сообщили о гепатоидной аденокарциноме легкого и предложили следующие два диагностических критерия: наличие типичной ацинарной или папиллярной аденокарциномы и наличие компонента карциномы, который напоминает гепатоцеллюлярную карциному и продуцирует АФП [3]. Однако только в 17 из 51 (33,3 %) ранее описанных случаев наблюдались высокие уровни сывороточного АФП (>10 нг/мл) [8]. В 1 (2,7 %) случае уровень АФП в сыворотке был нормальным, а в 13 (50 %) наблюдениях АФП в сыворотке не определялся [9]. Иммуногистохимическое исследование опухоли показало положительную реакцию на АФП в 31 (60,8 %) из 51 случая, а 21 (41,1 %) из 51 случая были отрицательными на АФП. В нашем случае мы не выявили продукцию АФП опухолевыми клетками, что подтверждено дважды [10].

При первичной аденокарциноме легкого частота соматических мутаций составляет около 50 %, в нашем случае соматических мутаций BRAF, EGFR, ALK, ROS1 не выявлено, таким образом, провести эффективную терапию таргетными препаратами не представлялось возможным. Статус PD-L1 был положительным, мы использовали при лечении комбинацию химиотерапия + пембролизумаб, использование данной комбинации возможно без определения PD-L1-статуса, согласно рекомендациям AOP и NCCN [11–13]. V. Basse et al. сообщили, что при лечении ГА легкого возможно использование ингибиторов PD-L1, несмотря на отсутствие экспрессии PD-L1 [14]. К сожалению, в нашем случае необходимого эффекта при назначении комбинации цитостатиков и пембролизумаба мы не получили.

Таким образом, морфологическое сходство гепатоидной аденокарциномы и гепатоцеллюлярного рака требует комплексного подхода в дифференциальной диагностике данных патологий [15, 16].

Однако ввиду редкости данного новообразования единого протокола лечения не существует, и, как правило, при распространенных формах опухоли прогноз неблагоприятный [17, 18].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Nargund A., Agrawal M., Dharmalingam P., Amirtham U., Pai M. Primary hepatoid adenocarcinoma of the lung: A study of two cases with review of literature. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2020; 41(4): 591–5 doi: 10.4103/ijmpo.ijmpo_245_19.
2. Pasricha S., Grover S., Kamboj M., Bansal D., Batra U., Gupta G., Sharma A., Durga G., Jajodia A., B Koyyala V.P., Mehta A. Hepatoid adenocarcinoma of lung: A diagnostic challenge – Series of six cases with histopathological, predictive molecular and PD.L1 assessment. *Indian J Pathol Microbiol.* 2021; 64(1): 128–31. doi: 10.4103/IJPM.IJPM_334_20.
3. Ishikura H., Kanda M., Ito M., Nosaka K., Mizuno K. Hepatoid adenocarcinoma: a distinctive histological subtype of alpha-fetoprotein-producing lung carcinoma. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1990; 417(1): 73–80. doi: 10.1007/BF01600112.
4. Паклина О.В., Сетдикова Г.Р., Гордиенко Е.Н., Никитин П.Н. Гепатоидная аденокарцинома легкого с множественными метастазами в тонкую кишку. *Архив патологии.* 2011; 73(2): 40–2. [Paklina O.V., Setdikova G.R., Gordienko E.N., Nikitin P.N. Hepatoid adenocarcinoma of the lung with multiple metastases to the small intestine. *Pathology Archive.* 2011; 73(2): 40–2. (in Russian)].
5. Carlinfante G., Foschini M.P., Pasquinelli G., Scotti R., Cavazza A. Hepatoid carcinoma of the lung: a case report with immunohistochemical, ultrastructural and in-situ hybridization findings. *Histopathology.* 2000; 37(1): 88–9. doi: 10.1046/j.1365-2559.2000.00955-5.x.
6. Haninger D.M., Kloecker G.H., Bousamra Ii.M., Nowacki M.R., Stone S.P. Hepatoid adenocarcinoma of the lung: report of five cases and review of the literature. *Mod Pathol.* 2014; 27(4): 535–42. doi: 10.1038/modpathol.2013.170.
7. Motooka Y., Yoshimoto K., Semba T., Ikeda K., Mori T., Honda Y., Iyama K., Suzuki M. Pulmonary hepatoid adenocarcinoma: report of a case. *Surg Case Rep.* 2016; 2(1). doi.org/10.1186/s40792-016-0129-6.
8. Nasu M., Soma T., Fukushima H., Kudo K., Matsubara O. Hepatoid carcinoma of the lung with production of alpha-fetoprotein and abnormal prothrombin: an autopsy case report. *Mod Pathol.* 1997; 10(10): 1054–8.
9. Su J.S., Chen Y.T., Wang R.C., Wu C.Y., Lee S.W., Lee T.Y. Clinicopathological characteristics in the differential diagnosis of hepatoid adenocarcinoma: a literature review. *World J Gastroenterol.* 2013; 19(3): 321–7. doi: 10.3748/wjg.v19.i3.321.
10. Miyama Y., Fujii T., Murase K., Takaya H., Kondo F. Hepatoid adenocarcinoma of the lung mimicking metastatic hepatocellular

Заклучение

Данное редкое клиническое наблюдение подтверждает сложность морфологической диагностики и неблагоприятное клиническое течение гепатоидной аденокарциномы легкого.

carcinoma. *Autops Case Rep.* 2020; 10(2). e2020162. doi.org/10.4322/acr.2020.162.

11. Казанцева М.А., Бредер В.В., Лактионов К.К. Иммуноterapia гепатоцеллюлярного рака: начало и перспективы. *Медицинский Совет.* 2019; (10): 15–21. [Kazantseva M.A., Breder V.V., Laktionov K.K. Immunotherapy for hepatocellular cancer: beginning and future perspectives. *Medical Council.* 2019; (10): 15–21. (in Russian)]. doi: 10.21518/2079-701X-2019-10-15-21.

12. Paz-Ares L., Luft A., Vicente D., Tafreshi A., Günter M., Mazières J., Hermes B., Çay Şenler F., Csösz T., Fülöp A., Rodríguez-Cid J., Wilson J., Sugawara S., Kato T., Lee K.H., Cheng Y., Novello S., Halmos B., Li X., Lubiniecki G.M., Piperdi B., Kowalski D.M.; KEYNOTE-407 Investigators. Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018; 379(21): 2040–51. doi: 10.1056/NEJMoa1810865.

13. Gandhi L., Rodríguez-Abreu D., Gadgeel S., Esteban E., Felip E., De Angelis F., Domine M., Clingan P., Hochmair M.J., Powell S.F., Cheng S.Y., Bishoff H.G., Peled N., Grossi F., Jennens R.R., Reck M., Hui R., Garon E.B., Boyer M., Rubio-Viqueira B., Novello S., Kurata T., Gray J.E., Vida J., Wei Z., Yang J., Raftopoulos H., Pietanza M.C., Garassino M.C.; KEYNOTE-189 Investigators. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018; 378(22): 2078–92. doi: 10.1056/NEJMoa1801005.

14. Basse V., Schick U., Guéguen P., Le Maréchal C., Quintin-Roué I., Descourt R., Simon H., Uguen A., Quéré G. A Mismatch Repair-Deficient Hepatoid Adenocarcinoma of the Lung Responding to Anti-PD-L1 Durvalumab Therapy Despite no PD-L1 Expression. *J Thorac Oncol.* 2018; 13(7). doi: 10.1016/j.jtho.2018.03.004.

15. Shao Y., Zhong D.S., Wang D., Ma L. Hepatoid adenocarcinoma of the lung: A case report. *Int J Clin Exp Pathol* 2016; 9: 4067–72.

16. Ayub A., Nunez Lopez O., Booth A., Okereke I. Pulmonary hepatoid adenocarcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2019; 158(4): 139–40. doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.06.023.

17. Kuan K., Khader S.N., El Hussein S. Hepatoid adenocarcinoma of the lung. *Diagn Cytopathol.* 2019; 47(8): 831–3.

18. Tonyali O., Gonullu O., Ozturk M.A., Kosif A., Civi O.G. Hepatoid adenocarcinoma of the lung and the review of the literature. *J Oncol Pharm Pract.* 2020; 26(6): 1505–10. doi: 10.1177/1078155220903360.

Поступила/Received 12.05.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 09.08.2021

Принята к публикации/Accepted 30.08.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тонеев Евгений Александрович, хирург хирургического торакального отделения, ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер»; ассистент кафедры факультетской хирургии, медицинский факультет им. Т.З. Биктимирова, Институт медицины, экологии и физической культуры, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). E-mail: e.toneev@inbox.ru. ORCID: 0000-0001-8590-2350.

Мартынов Александр Александрович, заведующий хирургическим торакальным отделением, ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 6726-7147. ORCID: 0000-0003-4662-9886.

Лазаревский Михаил Михайлович, заведующий патологоанатомическим отделением, ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» (г. Ульяновск, Россия). ORCID: 0000-0002-5169-9291.

Пикин Олег Валентинович, доктор медицинских наук, заведующий торакальным хирургическим отделением, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2381-5969. ORCID: 0000-0001-6871-6804.

ВКЛАД АВТОРОВ

Тонеев Евгений Александрович: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Мартынов Александр Александрович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Лазаревский Михаил Михайлович: анализ научной работы, подготовка части статьи по анализу гистологических материалов.

Пикин Олег Валентинович: 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

Evgeny A. Toneev, MD, Surgeon, Thoracic Surgery Department, Regional Clinical Oncological Dispensary; Assistant, Surgery Department, Institute of Medicine, Ecology and Physical Culture, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). E-mail: e.toneev@inbox.ru. ORCID: 0000-0001-8590-2350.

Alexander A. Martynov, MD, Head of Thoracic Surgery Department, Regional Clinical Oncological Dispensary (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0000-0003-4662-9886.

Mikhail M. Lazarevsky, MD, Head of Pathomorphology Department, Regional Clinical Oncological Dispensary (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0000-0002-5169-9291.

Oleg V. Pikin, MD, DSc, Head of Thoracic 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). ORCID: 0000-0001-6871-6804.

AUTHOR CONTRIBUTION

Evgeny A. Toneev: study conception and design, drafting of the manuscript.

Alexander A. Martynov: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Mikhail M. Lazarevsky: data interpretation and analysis, histological analysis.

Oleg V. Pikin: research supervision, critical revision of the manuscript 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: *Сергеева А.В., Васильев В.Ю., Батов С.В.* Клинический случай успешного лекарственного лечения аденокарциномы пищевода IV стадии. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 156–159. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-156-159

For citation: *Sergeeva A. V., Vasiliev V. Yu., Batov S. V.* Clinical case of a successful treatment of stage IV esophageal adenocarcinoma. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 156–159. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-156-159

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПИЩЕВОДА IV СТАДИИ

А.В. Сергеева¹, В.Ю. Васильев¹, С.В. Батов²

БУЗ УР «Республиканский клинический онкологический диспансер им. С.Г. Примушко»

Минздрава Удмуртской Республики, г. Ижевск, Россия¹

Россия, 426009, г. Ижевск, ул. Труда, 3. E-mail: any6018@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России,

г. Ижевск, Россия²

Россия, 426034, Удмуртская Республика, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281²

Аннотация

Введение. Аденокарцинома пищевода часто диагностируется на поздних стадиях. При метастатическом процессе общая пятилетняя выживаемость составляет менее 15 %, основным методом лечения является лекарственная терапия. Продолжается поиск новых лекарственных средств. Поэтому актуальна оценка эффективности существующих опций лечения. **Описание клинического случая.** Представлено клиническое наблюдение успешного применения трастузумаба в поддерживающем режиме, после 4 циклов химиотерапии и 3 циклов в комбинации с трастузумабом у пациента 45 лет с распространенным раком пищевода, с поражением лимфоузлов малой сальниковой сумки, средостения и подключичных лимфоузлов. После 25 циклов поддерживающей терапии наблюдается стабилизация процесса. На данный момент пациент ведет активный образ жизни, без симптомов болезни. Значимых нежелательных явлений, связанных с применением препарата, не отмечено. **Заключение.** Современные достижения клинической онкологии позволили обеспечить эффективное лечение распространенной аденокарциномы пищевода с использованием трастузумаба при гиперэкспрессии белка HER2. Представленный клинический случай демонстрирует не только возможность контроля метастатического процесса с помощью таргетной терапии, но и сохранение высокого уровня качества жизни.

Ключевые слова: аденокарцинома пищевода, таргетная терапия, трастузумаб, экспрессия HER2.

CLINICAL CASE OF A SUCCESSFUL TREATMENT OF STAGE IV ESOPHAGAL ADENOCARCINOMA

A.V. Sergeeva¹, V.Yu. Vasiliev¹, S.V. Batov²

Republican Clinical Cancer Hospital named after S.G. Primushko, Izhevsk, Russia¹

3, Truda St., 426009, Izhevsk, Russia. E-mail: any6018@mail.ru¹

Izhevsk State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia, Izhevsk, Russia²

281, Kommunarov St., 426034, Izhevsk, Russia²

Abstract

Background. Esophageal adenocarcinoma is often diagnosed at an advanced stage. The overall five-year survival rate of metastatic esophageal adenocarcinoma is less than 15 %. The main treatment strategy is drug therapy. The search for new drugs is still ongoing. Therefore, the assessment of the effectiveness of currently existing options is of great significance. **Description of the clinical case.** A 45-year-old patient with advanced esophageal cancer with omental, mediastinal and subclavian lymph node metastases received 4 cycles of CF chemotherapy and 3 cycles of DCF + Trastuzumab chemotherapy. After 25 cycles of maintenance therapy

with Trastuzumab, stable disease was observed. There were no significant adverse events associated with the use of Trastuzumab. Currently, the patient has no any symptoms of disease. **Conclusion.** Trastuzumab for the treatment of HER2- overexpressing esophageal cancer was shown to be very effective. The presented clinical case demonstrates not only the feasibility of controlling metastatic disease using targeted therapy, but also maintaining a high level of quality of life.

Key words: esophageal adenocarcinoma, targeted therapy, trastuzumab, HER2 expression.

Введение

Несмотря на достижения в хирургическом, химиолучевом и лекарственном лечении, рак пищевода (РП) считается одним из самых агрессивных новообразований желудочно-кишечного тракта. В 2020 г. в мире выявлено около 604 000 новых случаев РП (7-е место по заболеваемости) и 544 000 смертей (6-е место по общей смертности). Около 70 % случаев РП встречается у мужчин. Географические показатели заболеваемости существенно различаются в зависимости от наиболее распространенных гистологических подтипов (плоскоклеточный рак и аденокарцинома), т.к. они имеют разную этиологию [1].

Аденокарцинома пищевода составляет примерно две трети случаев среди рака пищевода в странах с высоким уровнем дохода [1]. С каждым годом отмечается рост заболеваемости аденокарциномой пищевода на 6 %, рост смертности – на 5,4 % [2]. Данные показатели можно объяснить ключевыми факторами риска: гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ), ожирением, курением табака и снижением инфицированности *Helicobacter pylori*. Эрадикация *H. Pylori* обуславливает снижение объема и кислотности желудочного сока. Ожирение за счет увеличения внутрибрюшной висцеральной жировой ткани приводит к повышению внутрибрюшного давления. Курение табака – к расслаблению нижнего пищеводного сфинктера. Все эти механизмы способствуют развитию гастроэзофагеального рефлюкса [3]. Исходом длительно протекающей ГЭРБ является пищевод Баррета, который, в свою очередь, представляет собой следующую ступень перед дисплазией, *cancer in situ* слизистой оболочки пищевода и впоследствии развитие инвазивного рака [4].

Симптомы на ранней стадии аденокарциномы пищевода неспецифичны, часто болезнь протекает под маской ГЭРБ. Диагностика начинается, когда появляется дисфагия. Этот симптом связан с увеличением размера опухоли и глубиной инвазии. Пятилетняя выживаемость при распространенном процессе составляет менее 15 % [5].

Аденокарциномы пищевода и пищеводно-желудочного перехода, располагающиеся до 1 см выше и до 2 см ниже от Z-линии (II тип по Зиверту), стадируются как рак пищевода, но лечение проводится по алгоритмам, соответствующим раку желудка. При выборе режима лекарственной терапии при метастатическом процессе необходимо оценить общее состояние больного, статус HER2

в опухолевых клетках, экспрессию PD-L1. При экспрессии HER2 в состав I линии лечения должен быть включен трастузумаб [6].

Исследование ToGA – рандомизированное контролируемое исследование III фазы, в котором участники были разделены на две группы: первой группе было проведено 6 трехнедельных циклов химиотерапии по схеме капецитабин или фторурацил с цисплатином и трастузумабом, а второй – только химиотерапия. Первичная конечная точка (медиана общей выживаемости) была выше при назначении трастузумаба – 13,8 мес в сравнении с 11,1 мес в группе пациентов, получивших химиотерапию ($p=0,046$). Трастузумаб в сочетании с химиотерапией стал новым стандартом лечения пациентов с HER2-положительным прогрессирующим или метастатическим раком пищевода и желудка [7].

Клинический случай

Пациент М., 45 лет, в мае 2019 г. впервые ощутил дискомфорт за грудиной во время приема пищи. При ФГДС по месту жительства (17.06.19) выявлена опухоль пищевода от средней до нижней трети пищевода, протяженностью до 10 см в виде бугристых образований, размерами от 0,5 до 1,5 см. Гистологическое исследование (18.06.19): аденокарцинома. Пациент направлен на консультацию в Республиканский клинический онкологический диспансер им. С.Г. Примушко. Консультация гистологического препарата (2.08.19): с учетом анамнеза и эндоскопической картины наиболее вероятна аденокарцинома пищевода (GI-II). По данным КТ органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза (15.07.19): рак пищевода с распространением на кардиальный отдел желудка с метастазами в лимфоузлы подключичных областей, средостения, малой сальниковой сумки, двухсторонний плеввропневмофиброз. В малой сальниковой сумке выявлены множественные лимфоузлы, размерами до 16×23 мм, для оценки динамики по критериям RECIST 1.1 в качестве таргетного очага выбран один лимфоузел (рис. 1); также определены нетаргетные очаги: утолщение стенок половины грудного отдела пищевода до 21 мм на протяжении до 8 см от подбронхиального сегмента до кардиального отдела желудка с распространением на последний, с инфильтрацией окружающей клетчатки, в средостении и подключичных областях – множественные лимфоузлы, размерами до 14×20 мм и 13×20 мм. На междисциплинарном консилиуме

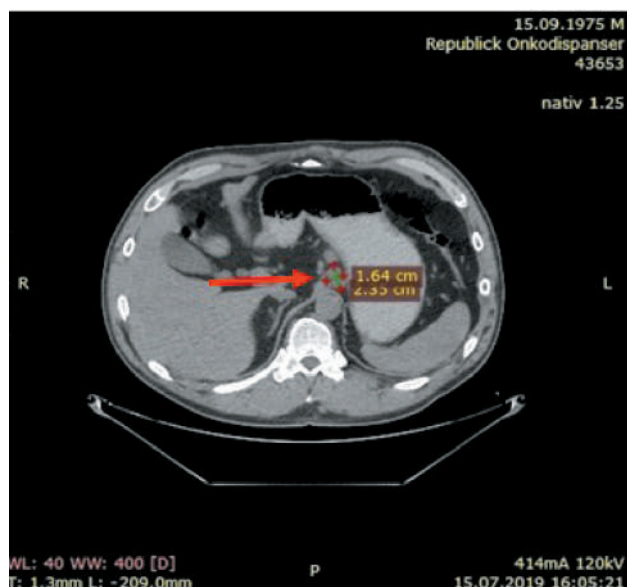


Рис. 1. КТ органов брюшной полости (15.07.19). Стрелкой обозначен таргетный очаг – лимфоузел малой сальниковой сумки до лекарственного лечения

Fig. 1. CT image of the abdominal organs (15.07.19). The arrow indicates the target focus – the lymph node of the small omental bursa before chemotherapy

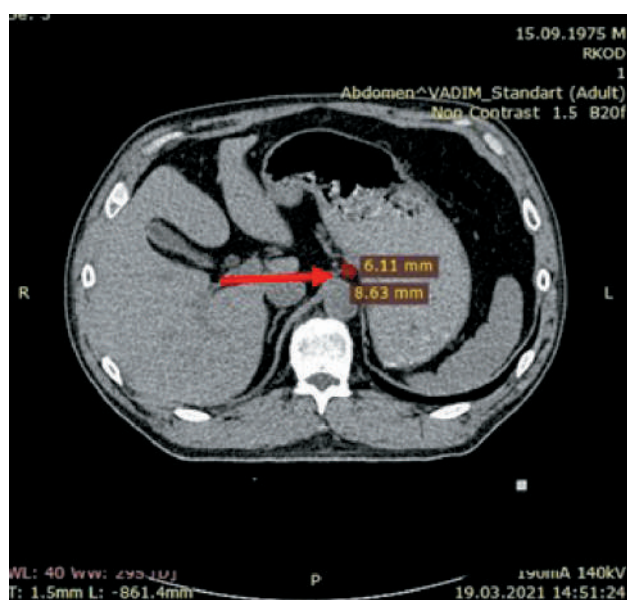


Рис. 2. КТ органов брюшной полости (19.03.21). Стрелкой обозначен таргетный очаг – лимфоузел малой сальниковой сумки во время поддерживающей терапии Трастузумабом (через 1,5 года от начала лечения)

Fig. 2. CT image of the abdominal organs dated 19.03.21. The arrow indicates the target focus – the lymph node of the small omental bursa during maintenance therapy with Trastuzumab (1.5 years after starting treatment)

рекомендована паллиативная химиотерапия (ХТ) с оценкой эффекта после 3 циклов.

При госпитализации на 1-й цикл ХТ предъявлял жалобы на неинтенсивные боли за грудиной при приеме твердой пищи, отрыжку воздухом после приема пищи. Состояние по шкале ECOG – 0. С

30.07.19 по 24.09.19 проведено 3 цикла паллиативной химиотерапии I линии по схеме CF (Цисплатин – 75 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день + 5-фторурацил – 1000 мг/м²/сут в виде 24-часовой внутривенной инфузии в 1–5-й дни, цикл 28 дней). Дисфагия прекратилась после 1-го цикла химиотерапии. КТ органов грудной клетки и брюшной полости (24.09.19): уменьшение размеров таргетного очага на 25 % (12×17 мм) – стабилизация по критериям RECIST 1.1. ФГС (27.09.19): инфильтративный рак нижней трети пищевода с переходом на кардиальный жом. Междисциплинарный консилиум (27.09.19): рекомендовано продолжение ХТ до прогрессирования. Проведен еще 1 цикл ХТ по схеме CF. 15.11.2019 выполнено иммуногистохимическое исследование – аденокарцинома с позитивным статусом HER2 (3+++). На консилиуме врачей отделения противоопухолевой лекарственной терапии принято решение с учетом HER2 позитивного статуса продолжить первую линию паллиативной химиотерапии по схеме DCF + трастузумаб (Доцетаксел – 75 мг/м² внутривенно в 1-й день, цисплатин – 75 мг/м² внутривенно в 1-й день, фторурацил – 750 мг/м²/сут внутривенная инфузия в 1–5-й дни, трастузумаб – 8 мг/кг (нагрузочная доза), далее 6 мг/кг внутривенно в 1-й день). Проведено 3 цикла лекарственной терапии по данной схеме. При КТ органов грудной клетки и брюшной полости (25.12.19): уменьшение размеров таргетного очага на 17 % (10×16 мм). Размеры нетаргетных очагов также уменьшились. 29.01.20 проведен консилиум врачей в отделении, на котором спланирована поддерживающая терапия трастузумабом до прогрессирования или непереносимой токсичности. Проведено 25 циклов поддерживающей терапии. По данным КТ органов грудной клетки и брюшной полости (19.03.21): стабилизация процесса, размеры таргетного очага уменьшились на 20 % за время проведения поддерживающей терапии до 8×13 мм (рис. 2), стабилизация процесса по критериям RECIST 1.1. ФГДС-контроль (26.05.21): с 39,0 до 41,0 см по левой боковой стенке пищевода слизистая инфильтрирована, бугристая, регрессия опухоли.

На момент написания статьи пациент не имеет симптомов болезни, ведет активный образ жизни. Значимых нежелательных явлений, связанных с применением препарата, не отмечено.

Заключение

Поиск оптимального алгоритма лечения аденокарциномы пищевода продолжается. Высокая экспрессия HER2 – это убедительный предиктор ответа на лечение Трастузумабом. У пациентов с высокой экспрессией HER2 в опухолевых клетках, которые получили химиотерапию в комбинации с трастузумабом, общая выживаемость составляет 16 мес, против 10 мес у пациентов, получавших

терапию в том же объеме, но минимальная экспрессия HER2 в опухолевых клетках (HR – 0,65) [7]. В настоящее время пациенты с распространенной

аденокарциномой пищевода имеют возможность получать эффективное лечение, что демонстрирует представленный клинический случай.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.
2. Hur C., Miller M., Kong C.Y., Dowling E.C., Nattenger K.J., Dunn M., Feuer E.J. Trends in esophageal adenocarcinoma incidence and mortality. *Cancer.* 2013; 119(6): 1149–58. doi: 10.1002/cncr.27834.
3. Coleman H.G., Xie S.H., Lagergren J. The Epidemiology of Esophageal Adenocarcinoma. *Gastroenterology.* 2018; 154(2): 390–405. doi: 10.1053/j.gastro.2017.07.046.
4. Grady W.M., Yu M. Molecular Evolution of Metaplasia to Adenocarcinoma in the Esophagus. *Dig Dis Sci.* 2018; 63(8): 2059–69. doi: 10.1007/s10620-018-5090-8.
5. di Pietro M., Canto M.I., Fitzgerald R.C. Endoscopic Management of Early Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus: Screening, Diagnosis, and Therapy. *Gastroenterology.* 2018; 154(2): 421–36. doi: 10.1053/j.gastro.2017.07.041.
6. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Esophageal and Esophagogastric Junction Cancers. 2021.
7. Ter Veer E., van den Ende T., Creemers A., de Waal L., van Oijen M.G.H., van Laarhoven H.W.M. Continuation of trastuzumab beyond progression in HER2-positive advanced esophagogastric cancer: a meta-analysis. *Acta Oncol.* 2018; 57(12): 1599–1604. doi: 10.1080/0284186X.2018.1503421.

Поступила/Received 03.06.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 20.08.2021

Принята к публикации/Accepted 10.09.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сергеева Анна Владимировна, врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 1, БУЗ УР «Республиканский клинический онкологический диспансер им. С.Г. Примушко» Минздрава Удмуртской Республики (г. Ижевск, Россия). E-mail: any6018@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3840-2091.

Васильев Владимир Юрьевич, врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 1, БУЗ УР «Республиканский клинический онкологический диспансер им. С.Г. Примушко» Минздрава Удмуртской Республики (г. Ижевск, Россия).

Батов Сергей Викторович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (г. Ижевск, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Сергеева Анна Владимировна: анализ научной работы, написание черновика рукописи.

Васильев Владимир Юрьевич: ведение пациента, сбор анамнестической информации, разработка тактики лечения, написание черновика рукописи.

Батов Сергей Викторович: 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

Anna V. Sergeeva, MD, Oncologist, Department of Anticancer Drug Therapy № 1, Republican Clinical Cancer Hospital named after S.G. Primushko (Izhevsk, Russia). E-mail: any6018@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3840-2091.

Vladimir Yu. Vasiliev, MD, Oncologist, Department of Anticancer Drug Therapy № 1, Republican Clinical Cancer Hospital named after S.G. Primushko (Izhevsk, Russia).

Sergey V. Batov, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Oncology, Izhevsk State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia (Izhevsk, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Anna V. Sergeeva: data analysis, drafting of the manuscript.

Vladimir Yu. Vasiliev: study conception, drafting of the manuscript.

Sergey V. Batov: critical revision with the introduction of a valuable intellectual content.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Федоркевич И.В., Нестерович Т.Н., Ганусевич О.Н., Иванов С.А., Ачинович С.Л., Лось Д.М. Лечение рака кожи на фоне послеожоговых рубцов (клинический случай). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 160–166. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-160-166

For citation: Fedorkevich I.V., Nesterovich T.N., Ganusevich O.N., Ivanov S.A., Achinovich S.L., Los D.M. Treatment of skin cancer arising within a burn scar (case report). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 160–166. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-160-166

ЛЕЧЕНИЕ РАКА КОЖИ НА ФОНЕ ПОСЛЕОЖОГОВЫХ РУБЦОВ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

И.В. Федоркевич¹, Т.Н. Нестерович², О.Н. Ганусевич¹, С.А. Иванов²,
С.Л. Ачинович¹, Д.М. Лось¹

Учреждение «Гомельский областной клинический онкологический диспансер», г. Гомель, Беларусь¹
Беларусь, 246012, г. Гомель, ул. Медицинская, 2¹

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Беларусь²

Беларусь, 246000, г. Гомель, ул. Ланге, 5. E-mail: nesterovichtanya10@gmail.com²

Аннотация

Актуальность. Послеожоговые рубцовые изменения кожи в 1–2 % случаев могут явиться причиной рака кожи, который характеризуется более агрессивным течением и худшим прогнозом, чем рак, возникший на неизменной коже. В 88 % таких случаев развивается плоскоклеточный рак, частота метастазирования которого превышает 27 %. Данная группа пациентов представляет трудности при лечении, учитывая редкость данной патологии и отсутствие четких рекомендаций. Основным методом является хирургическое вмешательство. Однако при хирургическом лечении могут возникнуть проблемы с определением достаточного отступа от видимого края опухоли с достижением интраоперационной чистоты краев резекции, а возможности закрытия послеоперационного дефекта бывают ограничены из-за ригидности окружающих тканей и микроциркуляторных нарушений. **Описание клинического случая.** Представлены результаты лечения плоскоклеточного рака кожи спины, возникшего на фоне обширных послеожоговых рубцов. Пациенту проведен курс радикальной конформной дистанционной лучевой терапии в режиме традиционного фракционирования в разовой дозе 2 Гр до СОД 68 Гр за 34 фракции, после чего произошло увеличение язвенного дефекта за счет деструкции инфильтративного компонента опухоли. Это потребовало проведения оперативного лечения: выполнено радикальное электрохирургическое удаление опухоли с пластическим замещением дефекта свободным TRAM-лоскутом в варианте MS-0 (прямая мышца живота используется целиком для лоскута). Микрососудистые анастомозы наложены между глубокими нижними эпигастральными и торакодорзальными сосудами справа. Послеоперационный период протекал без осложнений. Срок наблюдения за пациентом составил 7 мес. Данных за рецидив и прогрессирование при контрольном осмотре не получено. **Заключение.** Персонифицированный подход позволяет добиться успеха в лечении рака кожи на фоне послеожоговых рубцов. Для закрытия послеоперационного дефекта у таких пациентов может потребоваться хирургическое вмешательство с использованием сложных лоскутов и применением в частных случаях микрохирургической техники.

Ключевые слова: рак кожи, плоскоклеточный рак, послеожоговые рубцы, лучевая терапия, оперативное лечение, TRAM-лоскут, микрохирургическая техника.

TREATMENT OF SKIN CANCER ARISING WITHIN A BURN SCAR (CASE REPORT)

I.V. Fedorkevich¹, T.N. Nesterovich², O.N. Ganusevich¹, S.A. Ivanov²
S.L. Achinovich¹, D.M. Los¹

Gomel Regional Clinical Cancer Hospital, Gomel, Belarus¹

2, Meditsinskaya St., 246012, Gomel, Belarus¹

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus²

5, Lange St., 24600, Gomel, Belarus. E-mail: nesterovichtanya10@gmail.com²

Abstract

Background. In 1–2 % of cases, burn scars can cause more aggressive skin cancer that has a worse prognosis than conventional skin cancer. Most burn scar carcinomas are the squamous cell type (88 %) with the frequency of metastasis of 27 %. Due to the rarity of this malignancy and absence of guidance, treatment of scar carcinoma continues to be controversial. Surgical excision remains a standard mode of treatment for squamous cell carcinoma of the skin. Surgery is associated with problems to define a required limit to achieve clear margins; and subsequent grafting of the postoperative defect is limited due to the rigidity of the surrounding tissue and microcirculatory defects. **Case description.** We present a case report of squamous cell carcinoma of the skin originating from burn scars. The patient received a radical course of conformal external beam therapy with a total dose of 68 Gy in 2 Gy single doses (34 fractions) resulting in an increase in the ulcer due to the destruction of the infiltrative component of the tumor. Radical electrosurgical excision of the tumor with a free TRAM-flap reconstruction in the MS-0 version (using the full width of the rectus abdominis muscle) was performed. Microvascular anastomoses were made between the deep lower epigastric and thoracodorsal vessels on the right. There were no postoperative complications. No evidence of recurrence and tumor progression was found with a follow-up for 7 months. **Conclusion.** A personified approach to the treatment of burn scar carcinoma demonstrated good treatment outcomes. Surgical reconstruction of the postoperative defect in these patients may require the use of composite flaps and, in specific cases, microsurgical techniques.

Key words: skin cancer, squamous cell carcinoma, burn scars, radiation therapy, surgical treatment, TRAM-flap, microsurgical techniques.

Введение

Послеожоговые рубцовые изменения кожи в 1–2 % случаев могут явиться причиной рака кожи, который характеризуется более агрессивным течением и худшим прогнозом, чем рак, возникший на неизменной коже. В 88 % таких случаев развивается плоскоклеточный рак [1–5]. Данная патология встречается чаще у мужчин, опухоль локализуется на коже нижних конечностей – 53,3 %, верхних конечностей – 18,7 %, туловища – 12,4 %, лица и затылка – 5,8 % [1]. Патогенез злокачественной трансформации клеток эпидермиса после ожога до конца не ясен. Считается, что в рубцовых тканях нарушается функция иммунных клеток кожи. В результате опухолевые клетки не распознаются иммунной системой, и поэтому такой рак протекает более агрессивно, в частности, частота метастазирования превышает 27 % [1, 4]. Одной из особенностей послеожоговых рубцов является частое развитие рубцовых контрактур, которые травмируются и изъязвляются, что значительно ухудшает качество жизни пациентов [6]. Хроническое воспаление со временем может стимулировать пролиферацию клеток и увеличивать число спонтанных мутаций. Токсины, выделяющиеся

некротической тканью, могут вызывать прямые мутагенные эффекты в клетках, способствующие малигнизации [1]. Кроме того, хроническое изъязвление, по нашему мнению, ведет к более поздней диагностике возникшего рака, поскольку становится со временем привычным для пациента. При планировании лечения учитываются распространенность процесса, локализация опухоли, риск локального рецидива и метастазирования, возраст пациента, его общее состояние, а также функциональные и косметические результаты лечения [5]. В целом, лечение данной категории пациентов представляет трудности, основным методом является хирургическое вмешательство, при котором часто встречаются проблемы с закрытием послеоперационного дефекта [4]. Учитывая редкость данной патологии и отсутствие четких рекомендаций, может быть актуален наш опыт лечения пациента с раком кожи на фоне послеожоговых рубцов.

Клинический случай

Пациент, 1950 г.р., обратился 26.05.20 с жалобами на не заживающую в течение 3 лет язву на коже спины. В анамнезе обширный ожог кожи спины, полученный в детском возрасте. При осмо-

тре: на коже спины (межлопаточная, частично лопаточные и поясничная области) имеется зона с послеожоговыми ригидными рубцами и трофическими изменениями в виде гиперпигментации, сухости, шелушения и атрофии. Область поражения неправильной формы, близкой к овалу, 35 см в высоту и 38 см в ширину, с переходом на боковые поверхности туловища. В центре – язвенный дефект 5×7,5 см с подрытыми краями, бугристым дном, частично покрытым фибрином, глубиной до 1,5 см и зоной инфильтрации по периферии до 7,5×10,5 см (рис. 1). Паховые и подмышечные лимфоузлы не увеличены. Биопсия опухоли кожи спины, гистологическое заключение – плоскоклеточный рак с ороговением G2.

При обследовании общеклинические анализы без отклонения от нормы. По инструментальным данным, включавшим УЗИ регионарных лимфоузлов и органов брюшной полости, рентгенографию органов грудной клетки, КТ органов брюшной полости, малого таза и грудной клетки, регионарных и отдаленных метастазов не выявлено. Выставлен диагноз: рак кожи спины на фоне послеожогового рубца T3N0M0G2 III стадия.

Размер и агрессивный характер опухоли, фон, на котором она развилась (рубцовые изменения большой площади с нарушенной трофикой в них и в подлежащих мягких тканях), привели к отсутствию достаточного местного пластического материала для замещения послеоперационного дефекта. Было решено провести лучевую терапию. С 22.06.20 по 07.08.20 проведен курс радикальной конформной дистанционной лучевой терапии на линейном ускорителе электронов Elekta Synergy в режиме традиционного фракционирования в разо-

вой дозе 2 Гр до СОД 68 Гр за 34 фракции. После лучевой терапии язвенный дефект увеличился до 8×12 см (рис. 2). Решено выполнить оперативное вмешательство.

23.09.20 проведено радикальное электрохирургическое удаление опухоли кожи спины. В положении на животе, отступя от видимого края опухоли по 2 см, иссечен кожно-фасциальный лоскут с язвой. Проведен интраоперационный гистологический контроль краев резекции и дна раны – опухолевого роста не обнаружено. Размер послеоперационного дефекта составил 19×16 см. Пациент повернут на спину. Мобилизован верхний TRAM-лоскут сложной формы в виде креста с заостренными лучами на правой прямой мышце живота и глубоких нижних эпигастральных сосудах (рис. 3, 4). Выполнен разрез в правой подмышечной области, в которой выделены торакодорзальные сосуды. Свободный TRAM-лоскут перемещен в подмышечную область, где сформированы микрососудистые анастомозы между глубокими нижними эпигастральными и торакодорзальными сосудами. Донорская рана послойно ушита без натяжения краев и использования синтетических материалов. Произведен поворот пациента. TRAM-лоскут в подкожном тоннеле был перемещен на спину в зону дефекта. Лучи сложены с образованием площадки округлой формы по размерам дефекта. Капиллярный ответ 2–3 сек. Рана ушита узловыми швами с оставлением дренажей (рис. 5). Послеоперационный период протекал без осложнений. При гистологическом исследовании операционного препарата: плоскоклеточный ороговевающий рак с признаками патоморфоза II степени по Г.А. Лавниковой. Края



Рис. 1. Вид опухоли кожи спины до начала лечения
Fig. 1. Back skin tumor before treatment

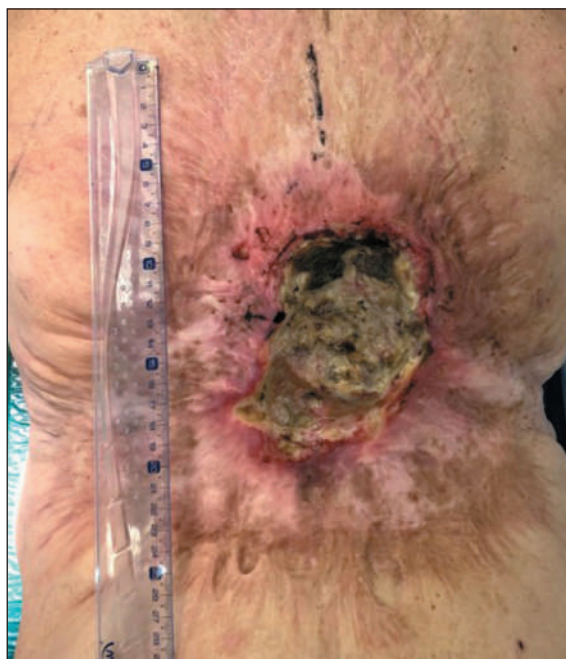


Рис. 2. Вид опухоли кожи спины после лучевой терапии
Fig. 2. Back skin tumor after radiation therapy



Рис. 3. Формирование лоскута в донорской зоне
Fig. 3. Making of a flap in the donor area



Рис. 4. TRAM-лоскут с зоной вхождения глубоких нижних эпигастральных сосудов
Fig. 4. The TRAM-flap with the zone of entry of the deep lower epigastric vessels

резекции без опухолевого роста. При контрольном осмотре в мае 2021 г. данных за прогрессирование опухолевого процесса не выявлено (рис. 6).

Обсуждение

Из-за агрессивности рака кожи на фоне послеожоговых рубцов требуется персонифицированный подход к составлению плана лечения таких пациентов. Очень важно достижение локального контроля, так как отмечено, что в случаях рецидива течение заболевания еще более агрессивное.

Плоскоклеточный рак кожи обладает относительно высокой чувствительностью к лучевому лечению, поэтому лучевая терапия может применяться как самостоятельный метод лечения [4]. В нашем случае произошло увеличение зоны изъязвления после проведения лучевой терапии за счет разрушения инфильтративного компонента опухоли.

В настоящее время методики реконструктивно-пластической хирургии активно внедряются в онкологическую практику, объединяя принципы радикального онкологического хирургического лече-

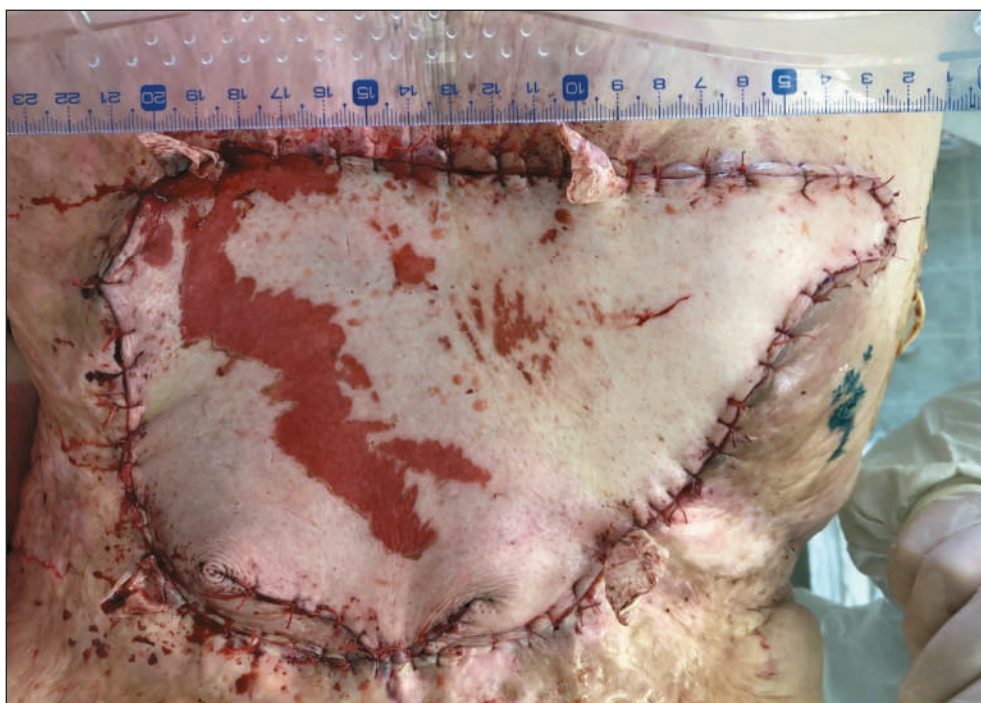


Рис. 5. Послеоперационная рана спины после пластического замещения дефекта TRAM-лоскутом
Fig. 5. Postoperative back wound after plastic replacement of the defect with the TRAM-flap

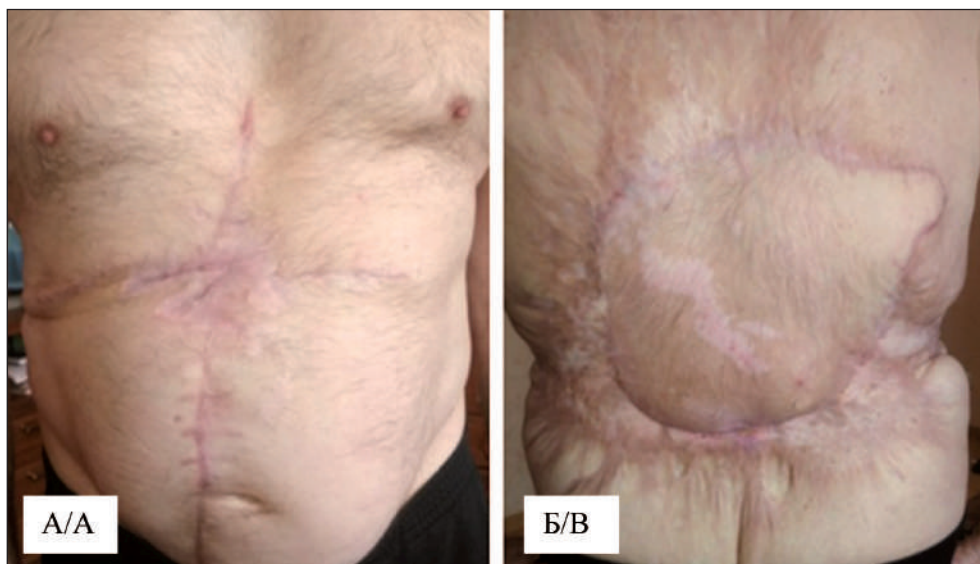


Рис. 6. Вид послеоперационного рубца в донорской зоне живота (А) и послеоперационной зоны спины (Б) через 7 мес после операции
Fig. 6. Type of postoperative scar in the donor abdominal area (A) and postoperative back area (B) 7 months after surgery

ния и пластической хирургии. Закрытие обширных раневых дефектов на спине является всегда непростой задачей, а особенно на фоне рубцов. Выбор варианта реконструкции определяется локализацией и размером дефекта, сопутствующей патологией, техническими возможностями хирурга [7].

В нашем случае из-за наличия обширных послеожоговых рубцов закрытие дефекта местными тканями не представлялось возможным из-за их отсутствия. Использование свободной пластики на данном фоне неэффективно из-за неблагоприятных условий фиксации и приживления лоскута. Наибо-

лее оптимальным решением в нашем случае была реконструкция с использованием TRAM-лоскута. Существуют следующие виды TRAM-лоскута: на одной /двух ножках; отсроченный лоскут («vascular delayed»); лоскут с «подкачкой» («turbocharge flap») (промежуточный между лоскутом «на ножке» и свободным; свободный лоскут [8]. Свободный TRAM-лоскут может выполняться в зависимости от сохраняемой порции прямой мышцы живота (MS – muscle-sparing) в следующих вариантах: MS-0 – прямая мышца не сохраняется, а используется целиком для лоскута; MS-1 – сохраняется ла-

теральная мышечная порция; MS-2 – сохраняется латеральная и медиальная мышечная порция [8]. В нашем случае использование свободного лоскута позволило закрыть большой раневой дефект на удалении от донорской зоны, а вариант MS-0 дал необходимый объем лоскута.

Заключение

Представленный клинический случай демонстрирует сложность лечения плоскоклеточного рака кожи, возникшего на фоне обширных после-

жоговых рубцов. После лучевой терапии в разовой дозе 2 Гр до СОД 68 Гр за 34 фракции произошло увеличение язвенного дефекта, потребовавшее оперативного лечения с использованием микро-сосудистой техники. Закрытие раневого дефекта выполнено с применением свободного TRAM-лоскута в варианте MS-0. Срок наблюдения – 7 мес, при контрольном осмотре данных за рецидив и прогрессирование не получено. Наблюдение за пациентом продолжается.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bazaliński D., Przybek-Mita J., Barańska B., Więch P. Marjolin's ulcer in chronic wounds - review of available literature. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2017; 21(3): 197–202. doi: 10.5114/wo.2017.70109.
2. Matsui Y., Makino T., Takemoto K., Kagoyama K., Shimizu T. Co-existence of basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma in a single burn scar region. *Burns Open*. 2020; 4: 64–6. doi: 10.1016/j.burnso.2020.03.001.
3. Kheiri B., Osman M., Al Hadidi S. From a burn scar to malignancy! Marjolin's ulcer, a disease of wound neglect. *Oxford Med Case Rep*. 2018; 8: 247–8. doi: 10.1093/omcr/omy044.
4. Abdi M.A., Yan M., Hanna T.P. Systematic Review of Modern Case Series of Squamous Cell Cancer Arising in a Chronic Ulcer (Marjolin's Ulcer) of the Skin. *JCO Glob Oncol*. 2020; 6: 809–18. doi: 10.1200/GO.20.00094.
5. Киреева Т.А., Гуменецкая Ю.В., Кудрявцев Д.В., Стародубцев А.Л., Курильчик А.А., Куприянова Е.И. Клинический случай лечения пациента с местнораспространенным плоскоклеточным раком кожи, возникшим на фоне обширного послеожогового рубца. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2019; 1: 51–5. [Kireeva T.A.,

Gumenetskaya Yu.V., Kudryavtsev D.V., Starodubtsev A.L., Kuril'chik A.A., Kupriyanova E.I. Case of treatment of a patient with locally advanced squamous cell carcinoma of the skin that arise against the background of an extensive post-burn scar. Bone and soft tissue sarcomas, tumors of the skin. 2019; 1: 51–5. (in Russian)].

6. Адмакин А.Л. Ожоговые рубцы: особенности развития, диагностики и коррекции консервативными методами. Клиническая медицина. 2018; 96(1): 20–4. [Admakina A.L. Scars: characteristics of the development, diagnostics and correction of conservative methods. *Clinical Medicine*. 2018; 96(1): 20–4. (in Russian)]. doi: 10.18821/0023-2149-2018-96-1-20-24.

7. Torresetti M., Gioacchini M., Scalise A., Di Benedetto G. Versatility of the O-Z flap for back reconstruction after giant basal cell carcinoma resection: A case report and review of the literature. *Int J Surg Case Rep*. 2019; 63: 23–6. doi: 10.1016/j.ijscr.2019.08.034.

8. Bostwick's plastic and reconstructive breast surgery / Eds. Glyn E. Jones, 4th ed. New York: Thieme, 2019. 1478 p.

Поступила/Received 10.06.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 29.11.2021

Принята к публикации/Accepted 20.12.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Федоркевич Игорь Владимирович, заведующий онкологическим отделением общей онкологии и реабилитации, «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» (г. Гомель, Беларусь). ORCID: 0000-0002-7695-8042.

Нестерович Татьяна Николаевна, ассистент кафедры онкологии, УО «Гомельский государственный медицинский университет» (г. Гомель, Беларусь). E-mail: nesterovichtanya10@gmail.com. SPIN-код: 4395-8069. ORCID: 0000-0001-5692-1042.

Ганусевич Ольга Николаевна, онколог-хирург онкологического отделения общей онкологии и реабилитации, «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» (г. Гомель, Беларусь). ORCID: 0000-0003-2202-2254.

Иванов Сергей Анатольевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии, УО «Гомельский государственный медицинский университет» (г. Гомель, Беларусь). ORCID: 0000-0002-9256-2910.

Ачинович Сергей Леонидович, кандидат медицинских наук, заведующий патологоанатомическим отделением, «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» (г. Гомель, Беларусь). ORCID: 0000-0002-0977-5481.

Лось Дмитрий Михайлович, главный врач, «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» (г. Гомель, Беларусь). ORCID: 0000-0002-4714-4592.

ВКЛАД АВТОРОВ

Федоркевич Игорь Владимирович: разработка концепции научной работы, сбор и обработка материала, редактирование текста.

Нестерович Татьяна Николаевна: сбор и обработка материала, написание текста, редактирование текста.

Ганусевич Ольга Николаевна: разработка концепции научной работы, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование текста.

Иванов Сергей Анатольевич: разработка концепции научной работы, сбор и обработка материала, редактирование текста.

Ачинович Сергей Леонидович: обработка материала, написание текста.

Лось Дмитрий Михайлович: сбор материала, редактирование текста.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность пациенту за согласие на публикацию материалов.

ABOUT THE AUTHORS

Igor V. Fedorkevich, MD, Head of Oncology Department, Gomel Regional Clinical Cancer Hospital (Gomel, Belarus). ORCID: 0000-0002-7695-8042.

Tatyana N. Nesterovich, MD, Assistant, Department of Oncology, Gomel State Medical University (Gomel, Belarus). E-mail: nest-erovichtanya10@gmail.com. ORCID: 0000-0001-5692-1042.

Olga N. Ganusevich, MD, Oncologist-Surgeon, Oncology Department, Gomel Regional Clinical Cancer Hospital (Gomel, Belarus). ORCID: 0000-0003-2202-2254.

Sergei A. Ivanov, MD, PhD, Department of Oncology, Gomel State Medical University, (Gomel, Belarus). ORCID: 0000-0002-9256-2910.

Sergei L. Achinovich, MD, PhD, Head of Pathoanatomical Department, Gomel Regional Cancer Hospital (Gomel, Belarus). ORCID: 0000-0002-0977-5481.

Dmitriy M. Los, MD, Chief Physician, Gomel Regional Clinical Cancer Hospital (Gomel, Belarus). ORCID: 0000-0002-4714-4592.

AUTHORS CONTRIBUTION

Igor V. Fedorkevich: study conception and design, data collection and interpretation, editing of the manuscript.

Tatyana N. Nesterovich: data collection and interpretation, writing of the manuscript, editing of the manuscript.

Olga N. Ganusevich: study conception and design, data collection and interpretation, writing of the manuscript, editing of the manuscript.

Sergei A. Ivanov: study conception and design, data collection and interpretation, editing of the manuscript.

Sergei L. Achinovich: data interpretation, writing of the manuscript.

Dmitriy M. Los: data collection, editing of the manuscript.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors are grateful to the patient for his consent to publish the materials.

К 60-ЛЕТИЮ ПРОФЕССОРА В.И.ЧЕРНОВА



Владимир Иванович Чернов родился 21 апреля 1962 г. в г. Томске, в семье служащих. В 1985 г. с отличием окончил лечебный факультет Томского медицинского института. В 1985 г. принят на должность врача-радиолога в НИИ кардиологии ТНЦ СО АМН СССР.

Вся профессиональная деятельность В.И. Чернова тесно связана с Томской академической наукой. После защиты кандидатской диссертации в 1990 г. он был избран по конкурсу на должность старшего научного сотрудника лаборатории радионуклидных методов исследования. В 1998 г. им была защищена докторская диссертация «Перфузионная сцинтиграфия миокарда в диагностике и прогностической оценке результатов лечения ишемической болезни сердца: клинико-экспериментальное исследование», после чего он работал на должности ведущего научного сотрудника в той же лаборатории. В 2003 г. Владимиру Ивановичу Чернову присвоено ученое звание профессора.

В 2006 г. В.И.Чернов был приглашен в НИИ онкологии СО РАМН (с 2016 г. – НИИ онкологии Томского НИМЦ) для организации отделения радионуклидной диагностики. В 2013 г. был избран на должность заместителя директора по научной работе и инновационной деятельности НИИ онкологии, а с 2016 г. является заместителем директора по научной и инновационной работе Томского НИМЦ.

Владимир Иванович Чернов ведет большую научно-организационную работу. Он является членом Ученого совета Томского НИМЦ; членом Ученого совета НИИ онкологии Томского НИМЦ; заместителем председателя диссертационного совета Д 002.279.02, членом диссертационного

совета Д 24.1.215.01 при Томском НИМЦ. С 2016 по 2019 г. являлся членом Президиума ВАК, входил в состав рабочей группы по рассмотрению научных предложений по мероприятиям 1.7 и 3.1 государственной программы Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности на 2013–2020 годы». Профессор В.И. Чернов является заместителем главного редактора «Сибирского онкологического журнала», членом редколлегии журнала «Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия», членом Президиума «Российского межрегионального общества сотрудников ядерной медицины» и председателем Томского отделения этой организации, членом «Европейской ассоциации ядерной медицины». Он активно ведет преподавательскую работу, участвуя в подготовке медицинских и научных кадров высшей квалификации, под его руководством защищены 4 докторских и 18 кандидатских диссертаций.

Профессор В.И. Чернов является признанным специалистом в области радиологии, его основные научные исследования связаны с созданием инновационных радиофармпрепаратов (РФП) и разработкой методологии радионуклидных исследований в онкологии. Результатом этих работ явилось внедрение в практическое здравоохранение ряда новых РФП, среди которых уникальный для мировой ядерной медицины 199-таллия хлорид, нашедший применение в кардиологии и онкологии. В.И. Чернов принимал активное участие в медицинских испытаниях нового поколения генераторов технеция, в результате которых организовано их безотходное производство. Разработанная в Томске технология производства технеция позво-

ляет в десятки тысяч раз уменьшить количество радиоактивных отходов по сравнению с используемой в мировой практике.

Исследования последних лет В.И. Чернов посвятил созданию оригинального РФП на основе гамма-оксида алюминия для выявления сторожевых лимфатических узлов. Разработанный и внедренный в клиническую практику препарат в 5 раз более активно накапливается в лимфатических узлах по сравнению с зарубежными аналогами, что облегчает интраоперационную визуализацию сторожевых лимфатических узлов. Под его руководством впервые в истории ядерной медицины разработан РФП « ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкоза», который позволяет оценивать метаболизм опухоли и визуализировать злокачественные новообразования на обычных гамма-камерах. Разработка меченной ^{99m}Tc производной глюкозы особенно актуальна для Российской Федерации из-за недостаточного количества ПЭТ-центров, которые сконцентрированы в крупных городах, и нехватки финансирования, выделяемого на медицинскую помощь.

Перспективными являются разработки В.И. Чернова, направленные на создание РФП на основе нового класса нацеливающих молекул неиммуноглобулиновой природы (скаффолдов). Клинические исследования показали перспективность их применения для визуализации опухолей с гиперэкспрессией трансмембранных тирозинкиназных рецепторов Her-2/neu, доказана потенциальная возможность создания на их основе РФП для таргетной радионуклидной терапии. Высоким научным и практическим потенциалом обладают исследо-

вания по разработке РФП « ^{99m}Tc -октреотид» для радионуклидной диагностики нейро-эндокринных опухолей и « ^{99m}Tc -maSSS-PEG2-RM26» для визуализации рака предстательной железы.

Исследования профессора В.И. Чернова и его сотрудников поддержаны грантами РФФИ, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», Программы международного сотрудничества российских вузов и научных организаций с учеными мирового уровня и ведущими зарубежными научно-образовательными центрами в сферах науки, образования и инноваций (ПП 220).

Профессор В.И. Чернов опубликовал более 400 печатных работ, из них 33 монографии и главы в монографиях, является редактором двухтомного «Национального руководства по радионуклидной диагностике». Он имеет 54 патента на изобретения, 5 лицензионных соглашений о предоставлении права использования патентов.

Профессор Владимир Иванович Чернов награжден премией Европейской академии для молодых ученых (1996), премией Томской области в сфере образования и науки (1998, 2002), почетной грамотой Министерства здравоохранения и социального развития РФ (2004), является победителем конкурса на соискание премии администрации Томской области «Профессор года» (2020).

*Сотрудники Научно-исследовательского института онкологии,
редколлегия «Сибирского онкологического журнала»
сердечно поздравляют Владимира Ивановича Чернова
с юбилеем и желают ему сохранить на долгие годы крепкое здоровье,
бодрость духа и увлеченность научными задачами.*

ляет в десятки тысяч раз уменьшить количество радиоактивных отходов по сравнению с используемой в мировой практике.

Исследования последних лет В.И. Чернов посвятил созданию оригинального РФП на основе гамма-оксида алюминия для выявления сторожевых лимфатических узлов. Разработанный и внедренный в клиническую практику препарат в 5 раз более активно накапливается в лимфатических узлах по сравнению с зарубежными аналогами, что облегчает интраоперационную визуализацию сторожевых лимфатических узлов. Под его руководством впервые в истории ядерной медицины разработан РФП « ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкоза», который позволяет оценивать метаболизм опухоли и визуализировать злокачественные новообразования на обычных гамма-камерах. Разработка меченной ^{99m}Tc производной глюкозы особенно актуальна для Российской Федерации из-за недостаточного количества ПЭТ-центров, которые сконцентрированы в крупных городах, и нехватки финансирования, выделяемого на медицинскую помощь.

Перспективными являются разработки В.И. Чернова, направленные на создание РФП на основе нового класса нацеливающих молекул неиммуноглобулиновой природы (скаффолдов). Клинические исследования показали перспективность их применения для визуализации опухолей с гиперэкспрессией трансмембранных тирозинкиназных рецепторов Her-2/neu, доказана потенциальная возможность создания на их основе РФП для таргетной радионуклидной терапии. Высоким научным и практическим потенциалом обладают исследо-

вания по разработке РФП « ^{99m}Tc -октреотид» для радионуклидной диагностики нейро-эндокринных опухолей и « ^{99m}Tc -maSSS-PEG2-RM26» для визуализации рака предстательной железы.

Исследования профессора В.И. Чернова и его сотрудников поддержаны грантами РФФИ, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», Программы международного сотрудничества российских вузов и научных организаций с учеными мирового уровня и ведущими зарубежными научно-образовательными центрами в сферах науки, образования и инноваций (ПП 220).

Профессор В.И. Чернов опубликовал более 400 печатных работ, из них 33 монографии и главы в монографиях, является редактором двухтомного «Национального руководства по радионуклидной диагностике». Он имеет 54 патента на изобретения, 5 лицензионных соглашений о предоставлении права использования патентов.

Профессор Владимир Иванович Чернов награжден премией Европейской академии для молодых ученых (1996), премией Томской области в сфере образования и науки (1998, 2002), почетной грамотой Министерства здравоохранения и социального развития РФ (2004), является победителем конкурса на соискание премии администрации Томской области «Профессор года» (2020).

*Сотрудники Научно-исследовательского института онкологии,
редколлегия «Сибирского онкологического журнала»
сердечно поздравляют Владимира Ивановича Чернова
с юбилеем и желают ему сохранить на долгие годы крепкое здоровье,
бодрость духа и увлеченность научными задачами.*