

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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

Том 21, № 3' 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.
Подписной индекс по каталогу
ООО «Урал-пресс округ» – 46827.

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 30.06.2022 г.

Формат 60x84^{1/8}.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.

Гарнитура Times New Roman Cyr

Печ. л. 22,75; усл. печ. л. 21,22; уч.-изд. л. 22,15.

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, № 3 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)

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

Л.Д. Жуйкова, д.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. Коломица, 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)

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
Subscription index according to the catalog of OOO Ural-Press Okrug is 46827

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: 30.06.2022
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, № 3 2022

Editor-in-Chief :

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

Associate Editors:

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

Executive Editors:

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

Editorial Board:

L.A. Ashrafyan, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)
L.M. Bershtein, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)
E.V. Denisov, PhD (Tomsk, Russia)
L.D. Zhuikova, MD, PhD, DSc (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)

СОДЕРЖАНИЕ

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мерабишвили В.М. Учет больных с посмертно установленным диагнозом злокачественное новообразование (популяционное исследование на уровне федерального округа)	5
---	---

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кнеев А.Ю., Школьник М.И., Богомолов О.А., Жаринов Г.М. Плотность простат-специфического антигена как прогностический фактор у больных раком предстательной железы, перенесших комбинированное гормонотерапевтическое лечение (на англ.)	12
Кит О.И., Франциянц Е.М., Кательническая О.В. Риск венозных тромбоэмболических осложнений у больных злокачественными новообразованиями поджелудочной железы	24
Цырлина Е.В., Порошина Т.Е., Васильев Д.А., Зиновьев Г.В., Гафтон Г.И., Берштейн Л.М. Повреждение ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с меланомой	33

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Козлов В.А., Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П., Селедцов В.И. Противоопухолевые свойства ядерных эритроидных клеток	42
Жидкова Е.М., Григорьева Д.Д., Лылова Е.С., Максимова В.П., Сагитова Г.Р., Хайриева Г.И., Трапезникова Е.С., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г., Лесовая Е.А. Скрининг эффективности и антипролиферативного действия потенциальных ингибиторов DDIT4 на моделях рака молочной железы	50
Лапкина Е.З., Палкина Н.В., Аверчук А.С., Есимбекова А.Р., Рукша Т.Г. Оценка противоопухолевых, токсических эффектов и характера экспрессии генов-мишеней miR-204-5p при применении ее имитатора на модели меланомы B-16 <i>in vivo</i>	61
Багирова Н.С., Горемыкина Е.А., Слукин П.В., Хохлова О.Е., Фурсова Н.К., Петухова И.Н., Григорьевская З.В. Кандидемия у онкологических больных: фенотипические и молекулярно-генетические характеристики резистентности к противогрибковым лекарственным средствам, гены факторов патогенности <i>Candida spp.</i>	70

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

Сафин И.Р., Родионова А.Ю., Рукавишников Д.В., Хасанов Р.Ш. Реконструкция послеоперационного дефекта углеродным наноструктурным имплантатом с интрамедуллярным остеосинтезом после резекции длинных трубчатых костей по поводу первичных и метастатических опухолей	81
--	----

ОБЗОРЫ

Шаньгина О.В., Максимович Д.М., Заридзе Д.Г. Описательная, аналитическая и молекулярная эпидемиология рака поджелудочной железы	90
Рябова А.И., Новиков В.А., Чойнзонов Е.Л., Спирина Л.В., Юнусова Н.В., Пономарева А.А., Тамкович С.Н., Грибова О.В. Роль жидкостной биопсии в диагностике прогрессирования глиобластомы (на англ.)	104
Водолажский Д.И., Нехаева Т.Л., Балдуева И.А. Циркулирующие опухолевые клетки в онкологии	117
Коваленко Н.В., Жаворонкова В.В., Постолов М.П., Суворов В.А. Синдром наследственного диффузного рака желудка: медико-генетическое консультирование, стратегия ведения членов семей, профилактическая гастрэктомия, наблюдение носителей мутаций <i>CDH1</i> и <i>CTNNA1</i>	126
Тараканова В.О., Крахмаль Н.В., Паталяк С.В., Тарасов М.Н., Бабышкина Н.Н., Вторушин С.В. Белки ROR1 и BMI-1 как потенциальные факторы прогноза эффективности гормонотерапии при люминальном раке молочной железы (на англ.)	135

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Кит О.И., Туркин И.Н., Харагезов Д.А., Лазутин Ю.Н., Лейман И.А., Чубарян А.В., Мирзоян Э.А. Последовательная бронхопластическая верхняя лобэктомия – хирургический компонент мультимодального лечения синхронного двухстороннего первично-множественного немелкоклеточного рака легкого	143
Пикин О.В., Телегина Л.В., Капланская И.Б., Кутенева Н.В., Бармин В.В., Семикина Д.В. Первичная MALT-лимфома трахеи (клиническое наблюдение)	151
Родионов Е.О., Столярова В.А., Миллер С.В., Подолько Д.В., Тузиков С.А., Безгодова Н.В., Мох А.А., Маркович В.А., Миллер Д.С. Нейроэндокринная опухоль тонкой кишки и карциноидный синдром: трудности диагностики (клиническое наблюдение)	160
Рябченко Е.В. Медуллярный рак щитовидной железы в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом после перенесенного COVID-19	168

ЮБИЛЕИ. ХРОНИКА. ИНФОРМАЦИЯ

В.И. Чернов избран членом-корреспондентом Российской академии наук	174
Академик Л.А. Ашрафян (к 70-летию со дня рождения)	175
Член-корреспондент РАН, профессор Г.Ц. Дамбаев (к 80-летию со дня рождения)	177

НЕКРОЛОГ

Памяти профессора Виктора Константиновича Косёнка	179
--	-----

CONTENTS

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Merabishvili V.M. The records of patients with postmortem diagnosis of cancer (Population study at the federal district level)	5
---	---

CLINICAL STUDIES

Kneev A.Y., Shkol'nik M.I., Bogomolov O.A., Zharinov G.M. Prostate specific antigen density as a prognostic factor in patients with prostate cancer treated with combined hormonal radiation therapy	12
Kit O.I., Frantsiyants E.M., Katelnitskaya O.V. Risk of venous thromboembolism in patients with pancreatic cancer ...	24
Tsyrlina E.V., Poroshina T.E., Vasiliev D.A., Zinoviev G.V., Gafton G.I., Berstein L.M. DNA damage in peripheral blood mononuclear cells in patients with melanoma	33

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

Kozlov V.A., Seledtsova G.V., Dorzhieva A.B., Ivanova I.P., Seledtsov V.I. Antitumor properties of nuclear erythroid cells	42
Zhidkova E.M., Grigoreva D.D., Lylova E.S., Maksimova V.P., Sagitova G.R., Khayrieva G.I., Trapeznikova E.S., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Lesovaya E.A. <i>In vitro</i> screening of effectiveness and antiproliferative effects of potential DDIT4 inhibitors for breast cancer cell lines	50
Lapkina E.Z., Palkina N.V., Averchuk A.S., Esimbekova A.R., Ruksha T.G. Antitumor, toxicity and target gene expression evaluation of MiR-204-5p mimic application on melanoma b16-bearing mice	61
Bagirova N.S., Goremykina E.A., Slukin P.V., Khokhlova O.E., Fursova N.K., Petukhova I.N., Grigorievskaya Z.V. Candidemia in cancer patients: phenotypical and molecular-genetic characteristics of antifungal drug resistance, pathogenic factor genes of <i>Candida spp.</i>	70

PRACTICE OF ONCOLOGY

Safin I.R., Rodionova A.Yu., Rukavishnikov D.V., Khasanov R.Sh. Reconstruction of postoperative defects using carbon nanostructured implants with intramedullary osteosynthesis after extremity long bone resection for primary and metastatic tumors	81
--	----

REVIEWS

Shangina O.V., Maximovich D.M., Zaridze D.G. Descriptive, analytical and molecular epidemiology of pancreatic cancer	90
Ryabova A.I., Novikov V.A., Choyzonov E.L., Spirina L.V., Yunusova N.V., Ponomareva A.A., Tamkovich S.N., Gribova O.V. The role of liquid biopsy in the diagnosis of glioblastoma progression	104
Vodolazhsky D.I., Nekhaeva T.L., Baldueva I.A. Circulating tumor cells in oncology	117
Kovalenko N.V., Zhavoronkova V.V., Postolov M.P., Suvorov V.A. Hereditary diffuse gastric cancer syndrome: medical genetic consulting, treatment strategy for family members, prophylactic total gastrectomy, and endoscopic surveillance in <i>CDH1</i> - and <i>CTNNA1</i> -mutation carriers	126
Tarakanova V.O., Krakhmal N.V., Patalyak S.V., Tarasov M.N., Babyshkina N.N., Vtorushin S.V. <i>ROR1</i> and <i>BMI-1</i> proteins as potential predictors of the effectiveness of hormone therapy in luminal breast cancer	135

CASE REPORTS

Kit O.I., Turkin I.N., Kharagezov D.A., Lazutin Yu.N., Leiman I.A., Chubaryan A.V., Mirzoyan E.A. Sequential bronchoplastic upper lobectomy as a surgical component of multimodal treatment for synchronous bilateral multiple primary non-small cell lung cancer	143
Pikin O.V., Telegina L.V., Kaplanskaya I.B., Kuteneva N.V., Barmin V.V., Semikina D.V. Primary malt-tracheal lymphoma: case report	151
Rodionov E.O., Stolyarova V.A., Miller S.V., Podolko D.V., Tuzikov S.A., Bezgodova N.V., Mokh A.A., Markovich V.A. <i>Miller D.S.</i> Neuroendocrine tumor of the small bowel and carcinoid syndrome: difficulties in diagnosis: a case report	160
Ryabchenko E.V. Medullary thyroid cancer in combination with autoimmune thyroiditis after Covid-19	168

CHRONICLE. INFORMATION. ANNIVERSARIES

Prof. V.I. Chernov was elected a Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences	174
Prof. L.A. Ashrafyan, Academician of the Russian Academy of Sciences, (on the occasion of his 70th birthday)	175
Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor G.Ts. Dambaev (on the occasion of his 80th birthday)	177

OBITUARY

In memory of Professor Viktor Konstantinovich Kosenok	179
---	-----

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-5-11
УДК: 616-006.04:312.2

Для цитирования: Мерабишвили В.М. Учет больных с посмертно установленным диагнозом злокачественное новообразование (популяционное исследование на уровне федерального округа). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 5–11. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-5-11

For citation: Merabishvili V.M. The records of patients with postmortem diagnosis of cancer (population study at the federal district level). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 5–11. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-5-11

УЧЕТ БОЛЬНЫХ С ПОСМЕРТНО УСТАНОВЛЕННЫМ ДИАГНОЗОМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЕ НОВООБРАЗОВАНИЕ (ПОПУЛЯЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА УРОВНЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА)

В.М. Мерабишвили

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68. E-mail: mvm@niioncologii.ru.

Аннотация

Цель исследования – на основе материалов вновь созданной базы данных популяционного ракового регистра (БД ПРР) на уровне федерального округа определить реальное состояние онкологической службы России по выявлению больных с посмертно установленным диагнозом ЗНО. **Материал и методы.** Данные официальной отчетности онкослужбы (ф. № 7) и база данных (БД) ПРР СЗФО РФ объемом более 1 млн 350 тыс. случаев ЗНО. Используются стандартные методы онкологической статистики, рекомендованные Международной ассоциацией раковых регистров. **Результаты.** Проблема качества учета первичных больных ЗНО включает три основных компонента: активное выявление, в т.ч. с использованием скрининговых программ и диспансеризации населения; предоставление гражданам оптимальных условий для свободного обращения в медицинские учреждения, в т.ч. онкологические; совершенствование патологоанатомической службы для выявления случаев ЗНО у умерших пациентов. Удельный вес больных, учтенных посмертно, на административных территориях, по официальным данным, может быть в разы меньше реальной величины, исчисленной на основе БД ПРР. Вместе с тем следует отметить, что за 2 периода (1997–1999 и 2017–2019 гг.) по базе данных СЗФО РФ удельный вес посмертно учтенных снизился с 15,72 до 8,16 %, а в Санкт-Петербурге – с 24,46 до 9,76 %, что свидетельствует о большой работе, проведенной по повышению качества первичной диагностики и учета больных с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного образования. Ранговое распределение административных территорий России позволило выявить значительное расхождение в удельных весах больных ЗНО, выявленных посмертно, а следовательно, и состоянии патологоанатомической службы. За период с 2017 по 2019 г. в СЗФО РФ недоучтено при жизни 2 973 больных ЗНО бронха и легкого (С34) – 15,17 %, 1 708 больных раком ободочной кишки – 10,32 %, 1 640 больных раком желудка – 12,17 %, около 20 % больных раком поджелудочной железы и 29,43 % больных раком печени. **Заключение.** Проведенное исследование на основе БД ПРР федерального округа впервые в России позволило выявить реальное состояние онкологической помощи больным с посмертно установленным диагнозом ЗНО, определить величину расхождения данных государственной отчетности (ф. № 7) и БД ПРР, исчислить величины недоучета больных ЗНО при жизни по разным локализациям опухолей, отметить улучшение однолетней и пятилетней наблюдаемой выживаемости с учетом ПУ больных. В последние годы показатель однолетней летальности при условии учета ПУ больных те- рует 5,6 года, пятилетней – 4,4 года. С 2000 г. за счет улучшения учета больных с впервые в жизни установленным диагнозом ЗНО однолетняя и пятилетняя наблюдаемая выживаемость больных с ПУ возросла соответственно на 18,5 % и 20,7 %.

Ключевые слова: ЗНО, посмертно учтенные больные, БД, ПРР, Россия, СЗФО РФ, Россия, административные территории, пол, возраст.

THE RECORDS OF PATIENTS WITH POSTMORTEM DIAGNOSIS OF CANCER (POPULATION STUDY AT THE FEDERAL DISTRICT LEVEL)

V.M. Merabishvili

N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia
68, Leningradskaya St., 197758, St. Petersburg, Russia. E-mail: mvm@nioncologii.ru

Abstract

Purpose: to determine the real state of cancer care in Russia for the identification of patients with postmortem diagnosis of cancer using the population-based cancer registry. **Material and Methods.** Data from the official reports of the cancer service (f. No. 7) and the database of the population-based cancer registry of the Northwestern Federal District of the Russian Federation with a volume of more than 1,350,000 cases of cancer were presented. Standard methods of cancer statistics were used. **Results.** The problem of the quality of registration of primary patients with cancer includes three main components: active cancer detection, including screening programs and medical survey; providing citizens with optimal conditions for free access to medical institutions, including cancer centers; improving the pathoanatomical service to detect cancer in deceased patients. The proportion of patients registered postmortemly, according to official data, may be several times less than the real value. At the same time, it should be noted that for 2 periods (1997–1999 and 2017–2019), according to the database of the Northwestern Federal District of the Russian Federation, the proportion of postmortemly registered patients decreased from 15.72 to 8.16 %, and in St. Petersburg from 24.46 to 9.76 %. During the period from 2017 to 2019, 2973 patients with bronchial and lung cancer (C34) – 15.17 %, 1708 patients with colon cancer – 10.32 %, 1640 patients with stomach cancer – 12.17 %, about 20 % of patients with pancreatic cancer and 29.43 % of patients with liver cancer were unaccounted for in the Northwestern Federal District of the Russian Federation. **Conclusion.** Thus, for the first time in Russia, our study made it possible to identify the real state of cancer care for patients with post-mortem diagnosis of cancer, to determine the magnitude of the discrepancy between state reporting data and database of population-based cancer registry, to note the improvement in one-year and five-year observed survivals. In recent years, the one-year mortality rate, subject to posthumously registered patients, loses 5.6 years, five-year – 4.4 years. It is important to note that since 2000, due to improved registration of patients with a first-time diagnosis of malignant tumors, the one-year and five-year survivals of patients with posthumously registered increased by 18.5 % and 20.7 %, respectively.

Key words: malignant tumors, posthumously registered patients, database, population cancer registry, Russia, Northwestern Federal District of the Russian Federation, Russia, administrative territories, gender, age.

Учет больных со злокачественным новообразованием (ЗНО) – большая проблема, состоящая из трех составляющих:

- активное выявление, в т.ч. проведение скрининговых программ и диспансеризация населения;
- предоставление оптимальных условий для свободного обращения граждан в медицинские учреждения, в т.ч. онкологические;
- развитие системы патологоанатомической службы для выявления случаев ЗНО у умерших пациентов (посмертно учтенных с диагнозом ЗНО, в т.ч. на вскрытии).

По официальным данным (ф. № 7), в 2020 г. в России было зарегистрировано 32 692 больных ЗНО, учтенных посмертно, что составляет 6,93 % от всех больных с впервые в жизни установленным диагнозом, в т.ч. на вскрытии 6,88 % [1]. В СЗФО РФ эти цифры составили соответственно 4 110, 8,8 % и 8,7 %, по Санкт-Петербургу – 2 051, 11,1 % и 11,1 %.

Важно обратить внимание на то, что между онкологической и патологоанатомической службами всегда было разногласие в оценке показателя посмертно учтенных (ПУ) больных ЗНО. Чем меньше величина ПУ, тем эффективнее работа, осуществляемая онкологами, и наоборот. В России имеются территории с нулевой величиной посмертно зарегистрированных больных – это Чеченская Республика; в Дагестане этот показатель равен 0,2 %. Здесь можно сделать вывод фактически об отсутствии патологоанатомической службы, нет вскрытий умерших для уточнения причины смерти, близкое к этому состояние службы в Северной Осетии и в Кабардино-Балкарии, где показатель ПУ – 1,3 % [1]. Существует ли онкологическая служба в Калмыкии, где процент ПУ составляет 25,0 %, – тоже вопрос. Для понимания оптимального уровня показателя рассмотрим эти проблемы подробнее.

После создания нами первого в России ПРР в Санкт-Петербурге (1993) при сдаче годового отчета

Таблица 1/Table 1

Сравнительные данные уровней заболеваемости и смертности населения России и СЗФО РФ в 2020 г. [2]

Comparative data of morbidity and mortality rate for the population of Russia and the Northwestern Federal District of the Russian Federation in 2020 [2]

Территории/Territories	Грубый показатель/ “Crude” rate	Стандартизованный показатель (мировой стандарт)/ Standardized rate (W.S.R.)
Заболеваемость/Morbidity		
Россия/Russia	379,65 ± 0,31 ‰/0000	216,58 ± 0,31 ‰/0000
СЗФО РФ/NWFD RF	417,19 ± 1,01 ‰/0000	226,54 ± 1,01 ‰/0000
Смертность/Mortality		
Россия/Russia	199,00 ± 0,21 ‰/0000	104,65 ± 0,21 ‰/0000
СЗФО РФ/NWFD RF	227,88 ± 0,68 ‰/0000	112,92 ± 0,68 ‰/0000

нам в вину ставился высокий удельный вес больных, учтенных посмертно (около 10 %). Собрав по договоренности с главным патологоанатомическим учреждением, мы выяснили, что реальные величины удельного веса больных ЗНО ПУ существенно выше, что говорит о высоком качестве работы патологоанатомов.

Необходимо отметить, что в настоящее время уровень заболеваемости и смертности населения от ЗНО в России и СЗФО РФ не имеют существенных различий, что позволяет нам расчеты, проведенные по БД ПРР СЗФО РФ, распространить на всю Российскую Федерацию (табл. 1.) [2]. В феврале 2019 г. нами была сформирована БД ПРР по всему СЗФО РФ с объемом 1 млн 350 тыс. наблюдений, где были объединены все 10 административных территорий округа.

Территории

В период 2017–2019 гг. в СЗФО РФ удельный вес посмертно учтенных больных составил 8,16 %, это средняя величина из 10 административных территорий СЗФО РФ. В различных субъектах СЗФО РФ имеются существенные различия в работе патологоанатомических служб. Наихудшее положение с патологоанатомической службой в СЗФО РФ в Вологодской области, где этот показатель составил 1,1 %, слабое звено – Республика Коми – 3,44 %, от 5 до 10 % на остальных территориях. Выскакивающее значение – 16,02 % – выявлено в Ленинградской области. Вероятно, здесь можно говорить уже о возможных трудностях работы онкологической службы, когда врачебные свидетельства о смерти больного в ПРР поступили, а выписки из стационаров о его лечении в ПРР не переведены. На разных территориях СЗФО РФ, как и по России в целом, работа патологоанатомической службы может существенно различаться.

Например, чтобы не увеличивать число больных ЗНО, выявленных посмертно, нужно обратиться к «опыту» Дагестана, Чечни и Ингушетии,

где практически нет вскрытий умерших, а следовательно, нет и больных с диагнозом, установленным посмертно.

Ранговое распределение административных территорий России (табл. 2) выявляет значительное расхождение в удельных весах больных ЗНО, выявленных посмертно (данные государственной отчетности ф. № 7 за 2020 г.) [1]. Рассмотрим подробнее различие величины удельных весов ПУ по административным территориям.

Каждый 4-й больной ЗНО в Калмыкии выявлен посмертно (25,0 %), в Еврейской АО – каждый 5-й (19,3 %). Более 10,0 % больных ЗНО выявлено посмертно на 18 административных территориях, в т. ч. в Санкт-Петербурге (10,1 %), при среднероссийском показателе – 6,9 %. Менее 3,0 % посмертно больных ЗНО учтено в Северо-Кавказском федеральном округе и на 22 административных территориях, менее 1,0 % – в Забайкальском крае, Ингушетии и Дагестане. В Чеченской Республике диагноз ЗНО посмертно не поставили ни одному больному. Вероятно, учитывая религиозную составляющую, там не проводят вскрытие умерших и не проводится работа по уточнению причин смерти умерших.

Мы наблюдаем существенное улучшение первичного учета больных ЗНО не только по удельному весу посмертно учтенных, но и по величине индекса достоверности учета (отношение числа умерших от ЗНО к числу первично учтенных больных), который с 2000 по 2018 г. снизился на уровне 13 %.

Локализации

Особое внимание нами уделено исследованию по определению удельного веса больных, учтенных посмертно, по отдельным локализациям ЗНО. Для этого отобраны из БД ПРР СЗФО РФ посмертно учтенные больные за период 2017–2019 гг. Всего первично и посмертно учтенных больных было 208 643 человека, из них первично учтенных – 191 615 человек, посмертно учтенных – 17 028 (8,16 %).

Таблица 2/Table 2

Ранговое распределение территорий

Rank distribution of territories

Респ. Калмыкия/Republic of Kalmykia	25,00	*****	
Еврейская АО/Jewish Autonomous Region	19,30	Липецкая область/Lipetsk region	2,90
г. Севастополь/Sevastopol	14,00	Сахалинская область/ Sakhalin region	2,90
Владимирская область/Vladimir region	13,80	Респ. Бурятия/Republic of Buryatia	2,70
Магаданская область/Magadan region	13,80	Белгородская область/ Belgorod region	2,60
Тульская область/Tula region	13,40	Респ. Карачаево-Черкесия/ Republic of Karachay-Cherkessia	2,60
Свердловская область/ Sverdlovsk region	13,40	Респ. Башкортостан/Republic of Bashkortostan	2,10
Псковская область/Pskov region	12,80	Воронежская область/Voronezh region	2,00
Челябинская область/ Chelyabinsk region	12,80	Самарская область/Samara region	2,00
Кемеровская область/Kemerovo region	12,70	Пензенская область/Penza region	1,80
Респ. Марий Эл/Republic of Mari El	11,20	Смоленская область/ Smolensk region	1,70
Иркутская область/Irkutsk region	11,20	Ханты-Мансийский а.о./Khanty-Mansiysk a.d.	1,60
г. Санкт-Петербург/St. Petersburg	11,10	Респ. Адыгея/Republic of Adygea	1,40
Респ. Удмуртия/Republic of Udmurtia	10,60	Вологодская область/Vologda region	1,30
Респ. Хакасия/Republic of Khakassia	10,60	Респ. Кабардино-Балкария/ Republic of Kabardino-Balkaria	1,30
Респ. Крым/Republic of Crimea	10,50	Респ. Северная Осетия/ Republic of North Ossetia	1,30
Приморский край/ Primorskiy region	10,50	Кировская область/Kirov region	1,10
Респ. Карелия/Republic of Karelia	10,20	Респ. Тыва/Republic Tyva	1,00
Саратовская область/Saratov region	10,20	Ненецкий а.о./Nenets a.d.	0,90
Новгородская область/ Novgorod region	10,10	Забайкальский край/ Trans – Baikal Territory	0,70
*****		Респ. Ингушетия/Republic of Ingushetia	0,50
Россия/Russia	6,90	Респ. Дагестан/Republic of Dagestan	0,20
Московская область/ Moscow region	6,90	Респ. Чечня/Republic of Chechnya	0,00

Таблица 3/Table 3

Ранговое распределение удельных весов ЗНО, выявлены посмертно в СЗФО РФ за период с 2017–2019 гг. БД ПРР СЗФО РФ

Rank distribution of specific weights of malignant tumors identified posthumously in the NWFD of Russia for the period from 2017–2019. DB PCR NWFD of Russia

Локализация/Localization	МКБ-10/ICD-10	ОП/M+F	М/M	Ж/F
ЗНО других и неточно обозначенны. локализаций/ Malignant tumors of other and inaccurately designated localizations	C76	43,88	43,88	42,78
Лейкоз неуточненного клеточного типа/ Leukemia of unspecified cellular type	C95	41,47	32,00	49,57
ЗНО других и неточно обозн. органов пищеварения/ Malignant tumors of other and inaccurately designated digestive organs	C26	39,22	38,66	39,57
Другие и неуточненные ЗНО лимфоидной и кроветворной ткани/ Other and unspecified malignant tumors of lymphoid and hematopoietic tissue	C96	37,17	28,30	45,00
Мозговые оболочки/Meninges	C70	30,77	25,86	34,72
Печень/Liver	C22	29,43	28,48	30,54
ЗНО матки неуточненной локализации/ Malignant tumors of the uterus of unspecified localization	C55	–	–	29,47
Мезотелиома/Mesothelioma	C45	22,80	20,48	24,55
ЗНО без уточнения локализации/Malignant tumors without specifying the localization	C80	22,45	20,44	24,25
Надпочечник/The adrenal gland	C74	21,66	25,96	17,70
ЗНО других и неуточненных органов мужских половых органов/ Malignant tumors of other and unspecified about male genitalia	C63	–	21,21	–
Желчный пузырь/Gallbladder	C23	21,64	20,49	21,89
ЗНО спинного мозга, черепных нервов и др. отделов ЦНС/ Spinal cord, cranial nerve and other departments of the Central Nervous System	C72	21,10	18,46	25,00
ЗНО других и неуточненных женских половых органов/ Malignant tumors of other and unspecified female genitalia	C57	–	–	16,28

БД ПРР позволяет рассмотреть подробно, по каким локализациям ЗНО больше всего учтено больных ЗНО посмертно и по каким выявлена максимальная величина ПУ больных. Из 17 028 ПУ больных ЗНО за период 2017–2019 гг. в СЗФО РФ – 2 973 больных учтено посмертно с диагнозом ЗНО бронха и легкого (С34), 1 708 – с ЗНО ободочной кишки (С18), 1 640 – рака желудка (С16), 1 448 – поджелудочной железы (С25), 736 – молочной железы (С50), 517 – мозга С71), 509 – прямой кишки (С20).

Значительные доли ПУ пришлось на следующие локализации:

- С76 – другие неточно обозначенные локализации – 43,88 %;
- С95 – лейкоз неуточненный – 41,47 %;
- С26 – другие органы пищеварения – 39,22 %;
- С96 – другие лимфатические и кроветворные ткани 37,17 %;
- С70 – мозговых оболочек – 30,77 %;
- С22 – печени – 29,43 %;
- С74 – надпочечника – 21,66 %;
- С25 – поджелудочной железы – 19,55 %.

Важно обратить внимание, что по большинству ЗНО удельный вес ПУ среди женского населения больше, чем среди мужского (табл. 3). К указанному следует добавить локализации ЗНО сугубо мужского и женского типа. Посмертно учтено 21,21 % мужчин с диагнозом – ЗНО другие и неточно обозначенные мужские половые органы С63. Среди женского населения ПУ – 29,47 % больных со ЗНО матки неуточненной локализации (С55) и

16,28 % по рубрике (С57) – другие и неуточненные локализации женских половых органов.

Возраст

Максимальный удельный вес посмертно учтенных больных ЗНО выявлен нами по БД ПРР СЗФО РФ в возрастной группе умерших в возрасте 80 лет и старше, в первом периоде (1997–1999) посмертно учтенные составили более 35 %, во втором (2017–2019) – уже около 20 % (19,89). Наименьший прирост ПУ среди детей (I период – 4,38 %, II – 0,77 %) и подростков (I период – 4,76 %, II – 1,01 %) (рис. 1).

Мы уже отмечали, что несколько территорий СЗФО РФ имеют низкий уровень деятельности патологоанатомической службы, связанный и с тем, что службы не обеспечены необходимым уровнем и количеством специалистов, поэтому рассмотрим закономерности выявленных удельных весов больных ЗНО, учтенных посмертно, на материалах ПРР Санкт-Петербурга (рис. 1). Если за период 2017–2019 гг. удельный вес посмертно учтенных больных ЗНО для лиц, погибших в возрасте от 0 до 60 лет, колебался от 0 до 4 %, то в последующих возрастных группах его величина существенно возрастала и составляла у 60-летних практически 7 %, у 70-летних – 11 %, а у лиц в возрасте 80 лет и старше – уже около 24 %, т. е. практически каждый 4-й больной ЗНО был учтен посмертно. В первом периоде наблюдения (1997–1999) эти показатели были значительно выше (рис. 1).

Санкт-Петербург/ St. Petersburg C00-96	0–14	15–17	18–19	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80+	Все
1997–1999	5,71	9,21	8,57	13,04	13,17	14,38	18,01	22,13	27,65	42,01	24,46
2017–2019	0,47	0,00	4,17	1,08	2,29	2,79	4,04	6,90	10,63	23,79	9,76

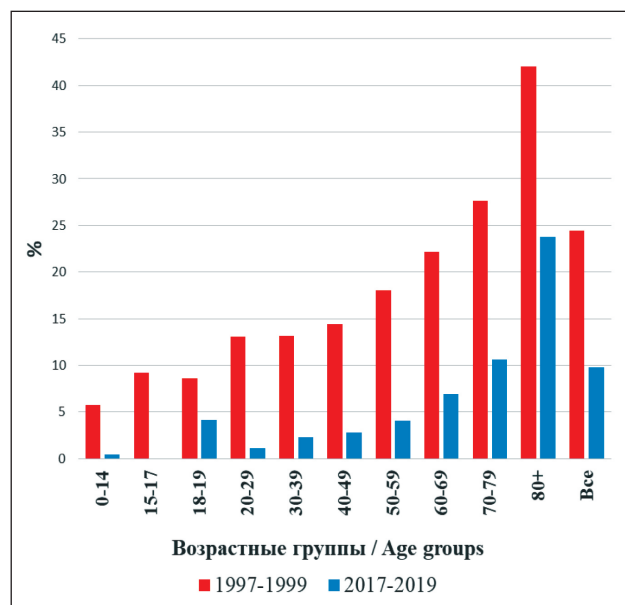


Рис. 1. Процент посмертно выявленных больных ЗНО по возрастным группам в Санкт-Петербурге (оба пола). БД ПРР СЗФО РФ

Fig. 1. Percentage of posthumously diagnosed patients with malignant tumors by age group in St. Petersburg (both sexes). DB PCR of the NWFD of the Russian Federation

Таблица 4/Table 4

**Наблюдаемая выживаемость больных ЗНО СЗФО РФ без учета ПУ больных (оба пола).
БД ПРР СЗФО РФ**

The observed survival rate of patients with malignant neoplasms of the Northwestern Federal District of the Russian Federation without posthumously registered patients (both sexes). DB PCR of the NWFD of the Russian Federation

C00-96. БД ПРР СЗФО. Оба пола/C00-96. DB PCR in the NWFD. M+F					
Год установки диагноза/ Year of diagnosis		2000–2004	2005–2009	2010–2014	2015–2018
Абсолютное число заболевших/ Absolute number		202303	230117	252782	245259
Медиана/Median		1,9 года/1.9 years	2,5 года/2.5 years	3,6 года/3.6 years	2,5 года/2.5 years
Период наблюдения/ Observation period	1	59,1	63,4	68,1	68,4
	2	48,7	53,1	58,3	
	3	43,2	47,5	52,5	
	4	39,5	43,6	48,0	
	5	36,7	40,6	44,1	

Таблица 5/Table 5

**Наблюдаемая выживаемость больных ЗНО СЗФО РФ с учетом ПУ больных (оба пола). БД ПРР
СЗФО РФ**

The observed survival rate of patients with malignant neoplasms of the Northwestern Federal District of the Russian Federation with posthumously registered patients (both sexes). DB PCR of the NWFD of the Russian Federation

C00-96. БД ПРР СЗФО. Оба пола с ПУ/C00-96DB PCR in the NWFD. M+F with posthumously registered					
Год установки диагноза/ Year of diagnosis		2000–2004	2005–2009	2010–2014	2015–2018
Абсолютное число заболевших/ Absolute number		226261	253017	280674	266048
Медиана/Median		1,3 года/1.3 years	1,8 года/1.8 years	2,5 год/2.5 years	2,1 года/2.1 years
Период наблюдения/ Observation period	1	53,0	57,8	61,3	62,8
	2	43,7	48,5	52,5	
	3	38,7	43,3	47,2	
	4	35,4	39,8	43,2	
	5	32,9	37,1	39,7	

Выживаемость

Расчет показателей наблюдаемой кумулятивной выживаемости – главный критерий оценки деятельности онкологической службы. Сейчас эти расчеты в России ведутся только по БД ПРР СЗФО РФ и шести территориям, работающим по нашим программам. Итоги этой работы мы периодически публикуем в книгах и журнальных статьях [3–13]

В соответствии с международными стандартами расчет показателей выживаемости осуществляется без учета посмертно зарегистрированных больных. Мы впервые в России представляем данные динамики однолетней и пятилетней кумулятивной выживаемости больных ЗНО по четырем когортам в СЗФО, в динамике за период с 2000 по 2018 г. с учетом и без учета посмертно зарегистрированных больных ЗНО. При этом показатель однолетней выживаемости больных ЗНО без ПУ возрос с 59,1 до 68,4 %, или на 15,74 %, а с ПУ больными – с 53,0 до 62,8 %, или на 18,49 %. Хотя сама величина уровня однолетней выживаемости с ПУ заметно меньше (на 8,19 %), прирост показателя выживаемости

с ПУ больше (18,49 %) за счет существенного улучшения первичной регистрации больных ЗНО. По сравнению с исходными данными однолетняя выживаемость с ПУ ниже чем без ПУ, на 8,2 %, пятилетняя – на 10 %. Из табл. 4 также видно влияние удельного веса ПУ на величину медианы выживаемости в целом, возросшую с 1,9 до 2,5 лет, но с учетом ПУ ее величина возросла только до 2,1 года, т. е. ниже, чем без учета ПУ, на 16 %.

Показатели однолетней наблюдаемой выживаемости с 2000–2004 по 2015–2018 гг. возросли с 59,1 до 68,4 %, или на 15,7 %, пятилетней к 2010–2014 гг. – с 36,7 до 44,1 %, или на 21,2 %. С учетом посмертно выявленных больных этот рост оказался больше (для однолетней выживаемости – на 18,5 %, до пятилетней – на 20,7 %) за счет снижения удельного веса больных, выявленных посмертно.

Таким образом, проведенное исследование выявило существенное (почти в 2 раза) улучшение первичной регистрации ЗНО в СЗФО и Санкт-Петербурге, показало огромный разброс в удельных весах больных, учтенных посмертно, – от 0 в Чечен-

ской Республике до 25 % в Республике Калмыкия при среднероссийском показателе – 6,9 %.

За период с 2017 по 2019 г. в СЗФО РФ недоучтено при жизни 2 973 больных ЗНО бронха и легкого – 15,17 %, 1 708 больных раком ободочной кишки – 10,32 %, 1 640 больных раком желудка – 12,17 %, около 20 % больных раком поджелудочной железы и 29,43 % больных раком печени.

Что касается закономерностей недоучета больных ЗНО при жизни, минимальное число ПУ зарегистрировано в возрастной группе от 0 до 60 лет,

максимальный показатель ПУ (23,79 %) выявлен в возрастной группе 80 лет и старше.

Нами установлена ассоциативная связь показателя ПУ с величиной одно- и пятилетней выживаемости. В последние годы показатель однолетней летальности при условии учета ПУ больных теряет 8,2 %, пятилетней – 10,0 %. Важно отметить, что с 2000 г. за счет улучшения учета больных с впервые в жизни установленным диагнозом ЗНО однолетняя и пятилетняя наблюдаемая выживаемость больных с ПУ возросла соответственно на 18,5 % и 20,7 %.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году*. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М. 2021. 239 с. [*The state of cancer care in Russia in 2020*. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2021. 239 p. (in Russian)].
2. *Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность)*. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2021. 252 с. [*Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality)*. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2021. 252 p. (in Russian)].
3. *Мерабишвили В.М.* Выживаемость онкологических больных. Вып. 2. Ч. 1. СПб., 2011. 330 с. [*Merabishvili V.M.* Survival of cancer patients. Issue. 2. Part 1. St. Petersburg, 2011. 330 p. (in Russian)].
4. *Мерабишвили В.М.* Выживаемость онкологических больных. Вып. 2. Ч. 2. СПб., 2011. 408 с. [*Merabishvili V.M.* Survival of cancer patients. Issue. 2. Part 2. St. Petersburg, 2011. 408 p. (in Russian)].
5. *Berrino F., Capocaccia R., Coleman M.P., Esteve J., Gatta G., Hakulinen T., Micheli M., Sant M., Verdecchia V.* Survival of cancer patients in Europe: the EURO-CARE-2 study (IARC Scientific Publications № 151). Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1999.
6. *Sant M., Aareleid T., Berrino F., Bielska Lasota M., Carli P.M., Faivre J., Grosclaude P., Hédelin G., Matsuda T., Möller H., Möller T., Verdecchia A., Capocaccia R., Gatta G., Micheli A., Santaquilani M., Roazzi P., Lisi D.; EURO-CARE Working Group.* EURO-CARE-3: survival of cancer patients diagnosed 1990-94--results and commentary. *Ann Oncol.* 2003; 14(5): 61–118. doi: 10.1093/annonc/mdg754.
7. *Berrino F., Sant M., Verdecchia V., Capocaccia R., Hakulinen T., Esteve J.* Survival of cancer patients in Europe: the EURO-CARE Study (IARC Scientific Publications № 132). Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1995.
8. *Cancer Incidence in Five Continents*. Volume XI. IARC CancerBase № 14. Ed. by Bray F., Colombet M., Mery L., Piñeros M., Znaor A., Zanetti R., Ferlay J. Lyon, 2018.
9. *Capocaccia R., Gavin A., Hakulinen T., Lutz J.M., Sant M.* Survival of cancer patients in Europe, 1995-2002. The EURO-CARE-4 study. *Eur J Cancer* 2009; 45.
10. *De Angelis R., Sant M., Coleman M.P., Francisci S., Baili P., Pierannunzio D., Trama A., Visser O., Brenner H., Ardanaz E., Bielska-Lasota M., Engholm G., Nennecke A., Siesling S., Berrino F., Capocaccia R.; EURO-CARE-5 Working Group.* Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO-CARE--5 a population-based study. *Lancet Oncol.* 2014; 15(1): 23–34. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70546-1.
11. *Gatta G., Botta L., Rossi S., Aareleid T., Bielska-Lasota M., Clavel J., Dimitrova N., Jakab Z., Kaatsch P., Lacour B., Mallone S., Marcos-Gragera R., Minicozzi P., Sánchez-Pérez M.J., Sant M., Santaquilani M., Stiller C., Tavilla A., Trama A., Visser O., Peris-Bonet R.; EURO-CARE Working Group.* Childhood cancer survival in Europe 1999-2007: results of EURO-CARE-5--a population-based study. *Lancet Oncol.* 2014; 15(1): 35–47. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70548-5.
12. *Gusenkov L., V. Merabishvili, V. Lashin, Lasarevich O.* Cancer incidence in Russian Federation, Karelia. *Cancer incidence in Five Continents*. Ed. by F. Bray, M. Colombet, L. Mery, M. Pineros, A. Znaor, R. Zanetti, J. Ferlay. IARC Sci. Publ. № 166. Lyon, France, 2021. P. 886–7, 1013–410.
13. *Vazhenin A., Domozhirova A., Aksenova I., Novikova T., Gusenkova L., Merabishvili V., Tsvetkova T.L.* Cancer incidence in Russian Federation, Chelyabinsk. *Cancer incidence in Five Continents*. Ed. by Bray F., Colombet M., Mery L., Pineros M., Znaor A., Zanetti R., Ferlay J. IARC Sci. Publ. № 166, Lyon, France, 2021. P. 884–5, 1013–410.

Поступила/Received 25.04.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 15.06.2022

Принята к публикации/Accepted 22.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Мерабишвили Вахтанг Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, председатель научно-методического Совета по развитию информационных систем онкологической службы Северо-Западного федерального округа России, руководитель ПРП СЗФО РФ, заведующий научной лабораторией онкологической статистики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: mvm@niioncologii.ru. ORCID: 0000-0002-1521-455X.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHOR

Vakhtang M. Merabishvili, MD, Professor, Head of Laboratory of Cancer Statistics, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia, Saint-Petersburg, Russia; Chairman of the Scientific and Methodological Council for the Development of Information Systems of the Cancer Service of the North-Western Federal District of Russia (St. Petersburg, Russia). E-mail: mvm@niioncologii.ru. ORCID: 0000-0002-1521-455X.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The author declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-12-23
УДК: 616.65-006.6-059-037:[615.357+615.849]

Для цитирования: Кнеев А.Ю., Школьник М.И., Богомолов О.А., Жаринов Г.М. Плотность простат-специфического антигена как прогностический фактор у больных раком предстательной железы, перенесших комбинированное гормонолучевое лечение. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 12–23. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-12-23
For citation: Kneev A. Y., Shkol'nik M. I., Bogomolov O. A., Zharinov G. M. Prostate specific antigen density as a prognostic factor in patients with prostate cancer treated with combined hormonal radiation therapy. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 12–23. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-12-23

PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN DENSITY AS A PROGNOSTIC FACTOR IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER TREATED WITH COMBINED HORMONAL RADIATION THERAPY

A.Y. Kneev, M.I. Shkol'nik, O.A. Bogomolov, G.M. Zharinov

A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of the Russia, Saint-Petersburg, Pesochny village, Russia
70, Leningradskaya St., 197758, Pesochny village, Saint-Petersburg, Russia.
E-mail: alexmedspb@gmail.com

Abstract

Purpose. To evaluate prostate specific antigen density (PSAD) as a predictor of overall (OS) and cancer-specific survival (CSS) in patients with prostate cancer (PC) who have undergone combined hormonal-radiation therapy. **Material and Methods.** In order to assess the prognostic significance of PSAD we retrospectively analyzed outcomes of 714 PCa patients who received combined hormonal-radiation therapy at the A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, Ministry of Healthcare of Russia, between January 1996 and December 2016. Since the prognosis and management differ according to the extent of tumor involvement, patients were categorized into localized (n=272), locally advanced (n=231) and metastatic (n=211) PC groups. We equentially applied ROC-analysis, Kaplan-Meier product limit estimator and Cox proportional hazards model to assess the prognostic relevance and establish threshold values of PSAD that had a significant impact on survival rates. **Results.** In the localized PC group, PSAD threshold values of 0.34 ng/mL/cc and 0.36 ng/mL/cc were associated with a decrease in OS and CSS, respectively. Patients with "low" PSAD had significantly better OS and CSS survival rates in both uni- and multivariate analyses. In locally advanced PC group, PSAD threshold values were 0.28 ng/mL/cc and 0.63 ng/mL/cc for OS and CSS, respectively. However, exceeding the specified values, in the locally advanced PC group, was not accompanied by a statistically significant decrease in survival rates. Finally, in the metastatic PC group, established PSAD threshold values were 2.25 ng/mL/cc and 2.30 ng/mL/cc for OS and CSS, respectively. According to the results of univariate analysis, patients with "low" PSA tend to demonstrate statistically significant better OS and CSS rates. The results of multivariate analysis, however, failed to prove PSAD as an independent prognostic factor within the metastatic PC cohort. **Conclusion.** PSA density is a reliable tool for assessing survival rates in patients with localized PC who have undergone combined hormonal-radiation therapy.

Key words: prostate cancer, prostate-specific antigen density, combined hormonal-radiation therapy, survival rate, treatment outcomes

ПЛОТНОСТЬ ПРОСТАТ-СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПЕРЕНЕСШИХ КОМБИНИРОВАННОЕ ГОРМОНОЛУЧЕВОЕ ЛЕЧЕНИЕ

А.Ю. Кнеев, М.И. Школьник, О.А. Богомолов, Г.М. Жаринов

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 70.
E-mail: alexmedspb@gmail.com

Аннотация

Целью исследования явилась оценка значимости плотности простат-специфического антигена (пПСА) в качестве предиктора общей (ОВ) и опухоль-специфической выживаемости (ОСВ) у больных раком предстательной железы (РПЖ), перенесших комбинированное гормонолучевое лечение. **Материал и методы.** С целью оценки прогностической значимости пПСА проведен ретроспективный анализ результатов лечения 714 пациентов с РПЖ, получавших комбинированную гормонолучевую терапию в ФГБУ «РНЦРХТ им. акад. А.М. Гранова» Минздрава РФ в период с января 1996 по декабрь 2016 г. В зависимости от распространенности опухолевого процесса пациенты были разделены на группы локализованного (n=272), местнораспространенного (n=231) и метастатического РПЖ (n=211). Для оценки прогностической значимости и установления пороговых значений признака пПСА, достоверно влиявших на показатели выживаемости, нами были последовательно применены методы ROC-анализа, множительных оценок Каплана–Мейера и модель пропорциональных рисков Кокса. **Результаты.** Значения признака пПСА у больных локализованным РПЖ, превышение которых сопровождалось снижением показателей ОВ и ОСВ, составили 0,34 нг/мл/см³ и 0,36 нг/мл/см³ соответственно. Больные с «низкой» пПСА демонстрировали достоверно лучшие показатели ОВ и ОСВ по результатам как однофакторного, так и многофакторного анализа. Пороговые значения признака пПСА у больных местнораспространенным РПЖ составили 0,28 нг/мл/см³ и 0,63 нг/мл/см³ для ОВ и ОСВ соответственно. Превышение указанных значений в группе больных местнораспространенным РПЖ, однако, не сопровождалось статистически достоверным снижением показателей выживаемости. У больных метастатическим РПЖ пороговые значения признака пПСА составили 2,25 нг/мл/см³ и 2,30 нг/мл/см³ для ОВ и ОСВ соответственно. По результатам однофакторного анализа больные генерализованным РПЖ с «низкой» пПСА демонстрировали статистически значимо лучшие результаты ОВ и ОСВ. По результатам многофакторного анализа, однако, выявленные тенденции не подтвердились. **Выводы.** Плотность ПСА является надежным инструментом оценки показателей выживаемости больных локализованным РПЖ, перенесших комбинированное гормонолучевое лечение.

Ключевые слова: рак предстательной железы, плотность простат-специфического антигена, комбинированная гормонолучевая терапия, исходы лечения.

Introduction

Over the decades urological society has witnessed prostate cancer (PC) evolution from an uncommon disease to one of the most prevalent cancers among men; from a clinically significant tumor at presentation to an asymptomatic, routinely, often accidentally diagnosed cancer; from one of the most lethal medical conditions to an illness than may span an entire life of a patient, often resulting in death of latter from a completely different cause [1]. Notwithstanding the remarkable progress in detection and care, PC remains a relevant public health issue. Currently, it is the second most prevalent malignant tumor among male population in Russia, and most prevalent in men over 60 years old [2]. Up to 40 % of them, at the moment of presentation, harbor locally advanced or metastatic forms of the disease [3].

PC risk stratification traditionally is being held on a combination of serum prostate-specific antigen (PSA) level, findings on digital rectal examination (DRE) and Gleason score assigned by the results of initial biopsy [4] – a set of criteria originally proposed by D’Amico et al. [5]. In some cases, these may also be supplemented by the imaging (radionuclide bone scan, computed tomography (CT) of the abdomen and pelvis, magnetic resonance imaging [MRI]) and molecular (genomic) studies [6]. Despite the extensive appreciation of the aforementioned risk group stratification, important shortcomings of utilizing such an approach exist. One should keep in mind that the initial evaluation may significantly under or overestimate the extent and/or aggressiveness of disease. Factors that need to be considered when relying on clinical staging include volatility in DRE findings interpretation,

variability in Gleason score assigning, and sampling errors in the prostate biopsy that may result in omission of areas with higher malignant potential. Inaccuracies in the initial evaluation may lead to the inappropriate control over biologically aggressive tumors as well as selection of treatment modalities with inferior therapeutic potential, which may ultimately have an adverse effect upon patient outcome. Thus, the area of scientific investigation should focus on determining factors that might facilitate identification of patients potentially harboring clinically significant disease.

PSA density (PSAD) is a derivate measure of serum PSA that initially has found application in the field of determining indications for prostate biopsy. Several studies have proven high discriminative power of PSAD for PC detection [7, 8]. A number of scientific investigation reports have confirmed PSAD as a relevant predictor of radiation therapy (RT) outcomes [9, 10]. However, other studies have shown somewhat less PSAD prediction ability [11, 12]. Therefore, it remains to be understood whether PSAD represents an important parameter related to overall (OS) & cancer-specific survival (CSS) among PC patients treated with external beam radiation therapy (EBRT). In an attempt to gain insight into current issues we have conducted our own study, by evaluating the performance of PSAD to predict EBRT outcomes.

Purpose. To evaluate prostate specific antigen density (PSAD) as a predictor of overall (OS) and cancer-specific survival (CSS) in patients with prostate cancer (PC) who have undergone combined hormonal-radiation therapy.

Objectives

The primary study objective was to evaluate PSAD as a predictor of OS and CSS in patients with localized PC who underwent combined hormonal-radiation therapy. The secondary study objective was to assess PSAD OS and CSS predicting ability among patients with locally advanced and metastatic PC who underwent combined hormonal-radiation therapy.

Material and Methods

After obtaining Institutional Review Board approval, all patients undergoing combined hormonal-radiation therapy for PC at A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, Ministry of Healthcare of Russia were identified and evaluated for study feasibility from prospectively recorded and maintained PC database [13]. Inclusion criteria were as follows: histologically verified PC, proper T staging according to the TNM classification, 5th-7th edition. Further staging was performed with bone scan and pelvic MRI in all men with serum PSA concentration >10 ng/ml. Patients who were treated with therapeutic agents that could interfere with baseline PSA concentration, or did not receive androgen deprivation therapy (ADT) were excluded from the study. All patients with missing data regarding baseline

serum PSA concentration as well as prostate volume measurements required for PSAD calculation were also excluded from the study.

All clinical and pathological data was collected retrospectively and analyzed prospectively. PSAD was calculated by dividing baseline serum PSA values by transrectal ultrasound (TRUS) determined prostate volumes using the truncated cone formula: $0.52 \times (L \times W \times H) \text{ cm}^3$, where the length (L), width (W) at the greatest diameter, and the height (H) at greatest height. Prostate volume estimation on the basis of TRUS data was associated with the availability of these findings among all patients included into the study. In addition, recent investigations have proven that prostate volume measured by TRUS does perfectly correspond to the actual weight of a surgical specimen [14]. Ever since the prognosis and management differ according to the extent of tumor involvement, patients were categorized into localized (cT1–2N0M0, n=272), locally advanced (T3–4N0M0, T1–4N1M0, n=231) and metastatic PC (T1–4N0–1M1, n=211) groups.

External beam radiation therapy

EBRT was carried out by bremsstrahlung radiation on linear electron accelerators with a boundary radiation energy from 6 to 18 MeV. Patients with localized PC received the total EBRT dose of minimum 72–73 Gy in the standard fractionation mode by delivering 3 Gy daily to a local field, which included the prostate gland, periprostatic tissue, and seminal vesicles. Patients suffering from locally advanced PC received EBRT in two steps: the first step included irradiation of the whole pelvis field, which comprised the prostate gland, periprostatic tissue, seminal vesicles, and locoregional pelvic lymph nodes, using a four field technique. The whole pelvis was treated to a dose of 50–52 Gy delivered in 25–26 fractions. This was followed by a CT-guided cone down to a local field, as described above. Total EBRT dose in patients with metastatic skeletal bone lesions were determined at the discretion of each physicist. The most frequently used dosage was 20 Gy by 2 Gy daily to the site of bone lesion. Thereafter patients received regional and local radiation therapy according to the regimens mentioned previously.

Androgen deprivation therapy

ADT was performed using gonadotropin releasing hormone agonists and/or anti-androgen drugs. In order to achieve castration testosterone level a portion of patients underwent bilateral orchiectomy.

Statistical analysis

Normally distributed continuous variables are presented as means with their respective standard deviation. To compare the means of two normally distributed continuous variables an independent samples t-test was applied. Non-normally distributed continuous variables are given as medians with associated ranges, and differences between groups

assessed using the Mann Whitney U-test. Categorical variables data are given as proportions, and differences between subsets are examined using Pearson's chi-squared or Fisher's exact test, as applicable. In order to assess PSAD overall performance in survival predicting, receiver operating characteristic (ROC) curves were plotted and the area under the curve (AUC) calculated. According to threshold values established by the results of ROC-analysis, patients were distributed into "low" and "high" PSAD groups.

The follow-up duration was calculated as the period between the date of diagnosis and the date of death or last contact. Patients were censored at the last information before 5th November 2021. OS was determined as the length of time from EBRT to death due to any cause, regardless of recurrence. CSS was defined as duration from the date of EBRT to the death due to PC progression other than other cases. OS and CSS curves were plotted by the Kaplan–Meier product limit estimator and were compared between subgroups using the log-rank test.

In univariate analyses, the following prognostic factors were evaluated for their potential associations with OS and CSS outcomes: age at the moment of diagnosis, baseline serum PSA concentration, PSAD, PSA doubling time (PSADT), Gleason score, total EBRT dose. Cox proportional hazards model was applied to evaluate associations between several potential prognostic factors and time-to-event outcomes. Multivariate models were created using variables that showed significant association ($p < 0.05$) with outcomes of interest on univariate analysis. All tests were two-tailed, and considered statistically significant at $p < 0.05$. The statistical software Medcalc version 19.1.3 (MedCalc Software Ltd, Acaciaaan 22, 8400 Ostend, Belgium) was used for all statistical analyses.

Results

Out of a total 5500 patients who underwent EBRT at the A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, between January 1996 and December 2016, 714 patients were eligible for this study. The median follow-up time for patients with localized PC was 139.0 (range 90.0 to 171.0) months, for patients with locally advanced PC – 114.0 (range 73.0 to 148.0) months and 45 (range 24.2 to 98.7) months for patients with metastatic PC. Median age at diagnosis for localized PC was 67.4 (range 61.5 to 71.6) years, for locally advanced PC – 65.3 (range 60.2 to 71.0) years, while mean age for men with metastatic PC was 63.5 ± 7.6 years. A baseline median PSA (ng/mL) concentration was 16.8 (range 10.2 to 27.0), 18.3 (range 10.0 to 36.9) and 54.4 (range 25.1 to 150.0) for patients with localized, locally advanced and metastatic PC, respectively. The median PSADT for patients with localized, locally advanced and metastatic PC were as follows: 36.6

(range 11.3 to 43.8), 28.9 (7.4 to 43.3) and 3.16 (range 1.3 to 9.8) months. Finally, PSAD values, according to the tumor process extent distributed as follows: 0.45 (range 0.26 to 0.83) for localized PC, 0.53 (range 0.25 to 1.08) for locally advanced disease and 1.52 (range 0.61 to 3.79) ng/mL/cc for metastatic PC. Gleason score was available among 509 patients. Within the localized PC group 98 (36.0 %) patients exhibited < 7 Gleason score, 67 (24.6 %) patients had a Gleason score equal to 7, while 31 (11.3 %) men had a Gleason score > 7 . Within the locally advanced PC group 49 (21.2 %) patients had Gleason score of < 7 , 63 (27.2 %) patients had Gleason score 7, and 60 (25.9 %) patients had low differentiated tumors represented as Gleason score 8-10. Lastly, among group diagnosed with metastatic PC – highly differentiated tumors (Gleason score < 7) were identified in 22 (10.4 %) patients, moderately differentiated (Gleason score 7) in 43 (20.3 %) patients, whereas 76 (36.0 %) of men had tumors, corresponding to a Gleason score > 7 . The results of univariate analysis of variables in relation to OS and CSS are summarized in Table 1 and 2, respectively.

Localized PC

The results of univariate analysis of variables related to OS (table 1) suggest that investigated groups were comparable in terms of age and radiation dose exposure ($p > 0.05$). Alive patients had significantly lower baseline PSA concentration ($p = 0.02$) and PSAD ($p = 0.04$). Well-differentiated tumors were more likely to be observed within a group of alive patients ($p = 0.0009$). PSADT did not differ statistically between two groups ($p > 0.05$). Univariate analysis of main variables affecting CSS (table 2) has revealed that the group of alive patients had a greater probability of having lower PSA ($p = 0.0001$) and PSAD ($p < 0.0001$) values, and a longer PSADT ($p = 0.002$). Patients, who have died as the result of PC progression had a better chance of being diagnosed with PC at younger age ($p = 0.006$) as well as a harboring more aggressive subtype of the disease ($p = 0.0056$). No difference in terms of total EBRT dose was observed within CSS groups.

Locally advanced PC

According to the analysis of variables affecting OS (table 1), one can notice that groups differ significantly in terms of age at the moments of diagnosis ($p = 0.003$) and Gleason score. Well-differentiated tumors were observed more often within censored patients' group ($p < 0.0001$). At the same time, regardless of group affiliation, differences in baseline PSA, PSAD, PSADT levels and the amount of total radiation dose received remained statistically insignificant ($p > 0.05$). CSS (table 2), on the other hand, has demonstrated correlation with the baseline serum PSA concentration and tumor aggressiveness. Alive patients were more likely to exhibit lower PSA values ($p = 0.02$) as well as

Table 1/Таблица 1

Variables associated with overall survival
Общая выживаемость с учетом основных характеристик

Variable/ Признак	Localized PC/ Локализованный РПЖ			Locally advanced PC/ Местнораспространен- ный РПЖ			Metastatic PC/ Метастатический РПЖ		
	Censored/ Цензури- рованный	Death/ Смерть	P	Censored/ Цензури- рованный	Death/ Смерть	P	Censored/ Цензури- рованный	Death/ Смерть	P
Age (years), Median (IQR)/ Возраст (лет), Медиана (IQR) ^a	66.9 (60.9–70.0)	67.5 (62.1–72.7)	>0.05	63.8 (57.2–69.8)	67.0 (61.8–71.4)	0.003	60.59 ± 5.72	64.03 ± 7.83	0.044 ^a
PSA (ng/mL), Median (IQR)/ ПСА (нг/мл), Медиана (IQR)	14.0 (8.9–25.9)	18.5 (11.3–30.0)	0.02	17.6 (9.2–32.6)	20.4 (10.5–39.6)	>0.05	47.0 (12.0–85.0)	55.0 (27.0–157.5)	0.01
PSAD (ng/mL/cc), Median (IQR)/ пПСА (нг/мл/см ³), Медиана (IQR)	0.39 (0.22–0.78)	0.51 (0.29–0.86)	0.04	0.56 (0.29–1.28)	0.50 (0.22–0.95)	>0.05	1.17 (0.31–2.0)	1.64 (0.67–4.7)	0.01
PSADT (months), Median (IQR)/ ВУПСА (мес), Медиана (IQR)	38.2 (11.5–60.8)	36.1 (11.1–40.0)	>0.05	29.6 (10.4–50.1)	25.4 (5.4–40.0)	>0.05	15.8 (4.4–28.3)	2.7 (1.6–6.8)	0.0005
Gleason score/ Индекс Глисона	<0.0001			<0.0001			<0.0001		
<7	57 (46.7 %)	41 (27.3 %)	0.0009	30 (31.2 %)	19 (14.07 %)	0.0017	9 (2.0 %)	13 (7.2 %)	0.0013
7	36 (29.5 %)	31 (20.6 %)	>0.05	34 (35.4 %)	29 (21.48 %)	0.0194	10 (32.2 %)	33 (18.3 %)	>0.05
>7	11 (9.0 %)	20 (13.3 %)	>0.05	22 (22.9 %)	38 (28.14 %)	>0.05	8 (25.8 %)	68 (37.7 %)	>0.05
Unknown/ Неизвестно	18 (14.7 %)	58 (38.6 %)	<0.0001	10 (10.4 %)	49 (36.29 %)	<0.0001	4 (12.9 %)	66 (36.6 %)	0.0012
Local irradiation total dose, Gy Median (IQR) Локальное облучение, Гр Медиана (IQR)	73.0 (71.0–75.0)	72.0 (72.0–74.0)	>0.05*	73.0 (71.0–75.0)	73.0 (71.0–73.5)	>0.05	73.0 (72.0–74.0)	72.0 (71.0–73.0)	>0.05
Regional irradiation total dose, Gy Median (IQR) Регионарное облучение, Гр Медиана (IQR)	N/A	N/A	N/A	50.0 (49.5–51.0)	49.7 (49.2–52.0)	>0.05	51.0 (49.0–53.0)	53.0 (51.5–54.0)	>0.05

Note: ^a – Mean & standard deviation for metastatic PC; IQR – interquartile range.

Примечание: ^a – Среднее арифметическое и стандартное отклонение для группы метастатического РПЖ; IQR – межквартильный размах.

tumors with lower Gleason score ($p=0.0001$). Whilst age, PSAD and PSADT did not differ significantly between study groups ($p>0.05$). In addition, no difference was noted between two groups in terms of local and regional total dose irradiation.

Metastatic PC

Variables, statistically significantly associated with OS (table 1) in a group of metastatic PC included the following: age at diagnosis onset, baseline PSA and PSAD level, PSADT and Gleason score. Deceased patients used to have higher PSA ($p=0.01$) & PSAD ($p=0.01$) values and shorter PSADT ($p=0.0005$), while censored patients were more likely to be diagnosed with PC at younger age ($p=0.04$) and possess well-

differentiated tumors ($p=0.0013$). Similarly, while reviewing association between main tumor burden properties and CSS (table 2) outcomes we found that patients who have died as the result of PC progression have had statistically significantly higher PSA ($p=0.01$) and PSAD ($p=0.01$) values, lower PSADT ($p=0.0005$) and were less likely to have well differentiated tumors ($p=0.006$). No difference in EBRT dose was observed between groups, regardless of outcome.

PSAD prognostic value

We further applied ROC-analysis to determine the threshold of PSAD, which, if exceeded, would be accompanied with a decrease in survival probability. The results are presented in Table 3. Subsequently,

Table 2/Таблица 2

Variables associated with cancer-specific survival

Опухоль-специфическая выживаемость с учетом основных характеристик

Variable/ Признак	Localized PC/ Локализованный РПЖ			Locally advanced PC/ Местнораспространенный РПЖ			Metastatic PC/ Метастатический РПЖ		
	Censored/ Цензури- рованный	Death/ Смерть	P	Censored/ Цензури- рованный	Death/ Смерть	P	Censored/ Цензури- рованный	Death/ Смерть	P
Age (years), Median (IQR) ^a / Возраст (лет), Медиана (IQR) ^a	67.7 (62.1–27.0)	64.0 (59.1–68.8)	0.006	66.7 (60.8–71.3)	63.7 (59.6–68.8)	>0.05	63.7 ± 7.1	63.4 ± 7.8	>0.05 ^a
PSA (ng/mL), Median (IQR)/ ПСА (нг/мл), Медиана (IQR)	15.0 (9.6–26.0)	22.4 (16.0–36.7)	0.0001	17.6 (9.5 – 31.8)	29.7 (11.6– 48.9)	0.0261	41.1 (18.3–86.1)	58.8 (30.0–167.6)	0.0104
PSAD (ng/mL/cc), Median (IQR) пПСА (нг/мл/см ³), Медиана (IQR)	0.42 (0.22–0.76)	0.66 (0.43–1.27)	<0.0001	0.51 (0.25 – 0.93)	0.63 (0.24–1.2)	>0.05	1.06 (0.39–2.15)	1.72 (0.70–5.79)	0.0062
PSADT (months), Median (IQR)/ ВУПСА (мес), Медиана (IQR)	36.6 (12.6–47.9)	7.5 (1.3–36.6)	0.002	29.2 (8.1 – 53.3)	28.6 (7.1 – 36.6)	>0.05	15.4 (3.5–35.6)	2.1 (1.0–5.2)	<0.0001
Gleason score/ Индекс Глисона			0.0163			0.0001			<0.0001
<7	93 (41.5 %)	5 (10.4 %)	<0.0001	41 (24.5 %)	8 (12.5 %)	0.0489	13 (24.0 %)	9 (5.7 %)	0.0004
7	54 (24.1 %)	13 (27.0 %)	>0.05	55 (32.9 %)	8 (12.5 %)	0.0016	16 (29.6 %)	27 (17.1 %)	0.051
>7	20 (8.9 %)	11 (22.9 %)	0.0056	37 (22.1 %)	23 (35.9 %)	0.0329	17 (31.4 %)	59 (37.5 %)	>0.05
Unknown/ Неизвестно	57 (25.4 %)	19 (39.5 %)	0.0485	34 (20.3 %)	25 (39.0 %)	0.0036	8 (14.8 %)	62 (39.4 %)	0.0007
Local irradiation total dose, Gy Median (IQR)/ Локальное облучение, Гр Медиана (IQR)	73.0 (71.0–75.0)	72.0 (72.0–74.0)	>0.05	73.0 73.0–73.0	72.0 71.0–73.0	>0.05	73.0 72.0–74.0	72.0 71.0–73.0	>0.05
Regional irradiation total dose, Gy Median (IQR) ^a / Регионарное облучение, Гр Медиана (IQR) ^a	N/A	N/A	N/A	50.5 49.7–51.0	50.5 49.7–51.0	>0.05	52.3 ± 2.2	52.3 ± 2.2	>0.05 ^a

Note: ^a – Mean & standard deviation for metastatic PC; IQR – interquartile range.

Примечание: ^a – Среднее арифметическое и стандартное отклонение для группы метастатического РПЖ; IQR – межквартильный размах.

according to the established PSAD threshold values, patients were subdivided into “high” and “low” PSAD subgroups.

In the localized PC group, univariate analyses indicated that patients exhibiting “low” PSAD values have had significantly better OS (p log-rank=0.0003) and CSS (p log-rank<0.0001) rates (Fig. 1 and 2). The results of multivariate analysis identified baseline PSA concentration, high PSAD and Gleason score 8-10 as independent factors associated with poor OS and CSS outcomes (table 4). Within the locally advanced PC group, univariate analyses failed to confirm PSAD prognostic relevance (p log-rank>0.05) regardless of the outcome (Fig. 3 and 4). Finally in metastatic PC group, patients with higher PSAD had

significantly worse OS (p log-rank=0.02) and CSS (p log-rank=0.0005) rates (Fig. 5 and 6). On the basis of Cox proportional hazard model, however, PSADT has proven to be the only independent prognostic factor, associated with survival outcomes in metastatic PC group (table 4).

Discussion

Whereas PSA appears to be a central component of PC risk stratification algorithms – its baseline concentration is by no means being universally reflective of true tumor burden, as PSA values are prone to significant fluctuations [15, 16]. Moreover, since it is produced by both benign and malignant prostatic epithelial cells, serum PSA levels may

Table 3/Таблица 3

The ROC-curve characteristics
Характеристики ROC-кривой

Survival/ Выживаемость	Area under the curve (AUC)/ Площадь под кривой (AUC)	Standart Error/ Стандартная ошибка	p	Optimal criteria/ Оптимальный критерий	95 % CI/ 95 % ДИ
Localized PC/Локализованный РПЖ					
Overall survival/ Общая выживаемость	0.648	0.033	<0.0001	0.34	0.24–0.53
Cancer-specific survival/ Опухоль-специфическая выживаемость	0.703	0.036	<0.0001	0.36	0.23–0.43
Locally advanced PC/Местнораспространенный РПЖ					
Overall survival/ Общая выживаемость	0.543	0.038	0.266	0.28	0.09–0.62
Cancer-specific survival/ Опухоль-специфическая выживаемость	0.549	0.043	0.238	0.63	0.21–1.74
Metastatic PC/Метастатический РПЖ					
Overall survival/ Общая выживаемость	0.627	0.052	0.017	2.25	0.44–11.23
Cancer-specific survival/ Опухоль-специфическая выживаемость	0.625	0.042	0.0032	2.30	0.90–11.23

Table 4/Таблица 4

Cox proportional-hazards regression analysis results
Результаты анализа пропорциональных рисков Кокса

Variable/Признак	b	SE	Wald Statistics/ Тест Вальда	p	Exp (b)	Exp (b) 95 % CI/ 95 % ДИ для Exp (b)
Localized PC, overall survival/Локализованный РПЖ, общая выживаемость						
Baseline PSA concentration/ Исходная концентрация ПСА	0.050	0.014	11.28	0.0008	1.0516	1.02–1.08
“high” PSA density/ «высокая» плотность ПСА	0.724	0.219	10.91	0.0128	2.064	1.43–2.96
Gleason score ≥ 8/ Индекс Глисона ≥ 8	1.263	0.413	9.32	0.0023	3.536	1.57–7.95
Localized PC, cancer-specific survival/Локализованный РПЖ, опухоль-специфическая выживаемость						
“high” PSA density/ «высокая» плотность ПСА	1.456	0.356	16.67	<0.0001	4.290	2.13–8.63
Gleason score ≥ 8/ Индекс Глисона ≥ 8	2.035	0.818	6.17	0.013	7.652	1.53–38.09
Metastatic PC, overall survival/Метастатический РПЖ, общая выживаемость						
PSADT/ ВУПСА	–0.053	0.017	9.003	0.0027	0.947	0.91–0.98
Metastatic PC, cancer-specific survival/Метастатический РПЖ, опухоль-специфическая выживаемость						
PSADT/ ВУПСА	–0.093	0.0285	10.62	0.0011	0.911	0.86–0.96

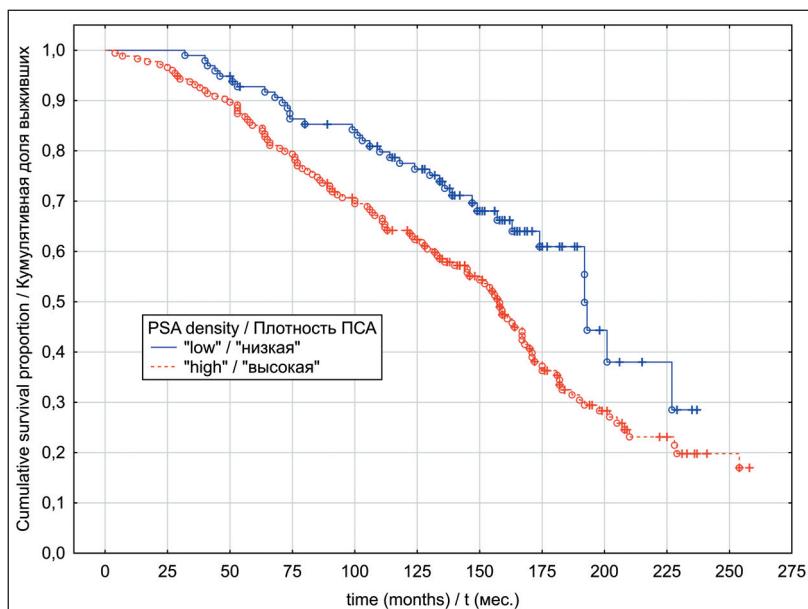


Fig. 1. Localized prostate cancer overall survival in relation to PSA density
Рис. 1. Общая выживаемость с учетом показателя пПСА, локализованный РПЖ

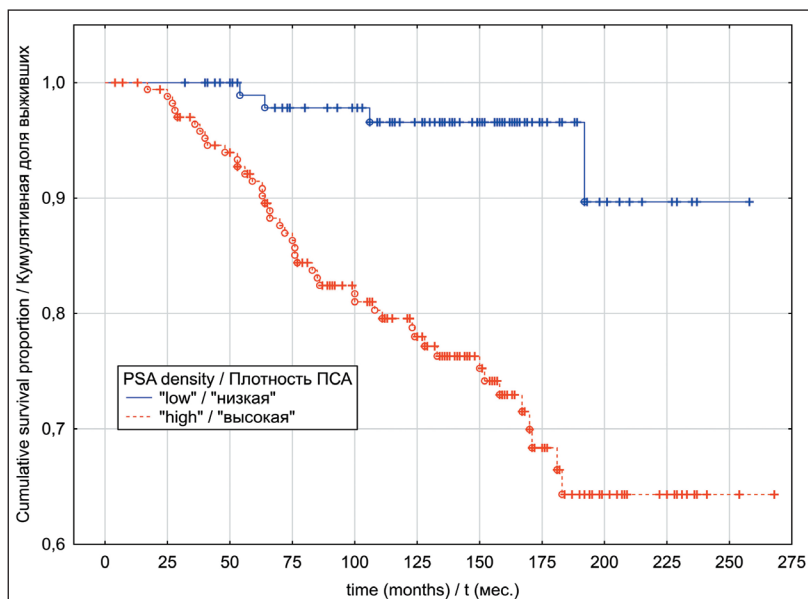


Fig. 2. Localized prostate cancer cancer-specific survival in relation to PSA density
Рис. 2. Опухоль-специфическая выживаемость с учетом показателя пПСА, локализованный РПЖ

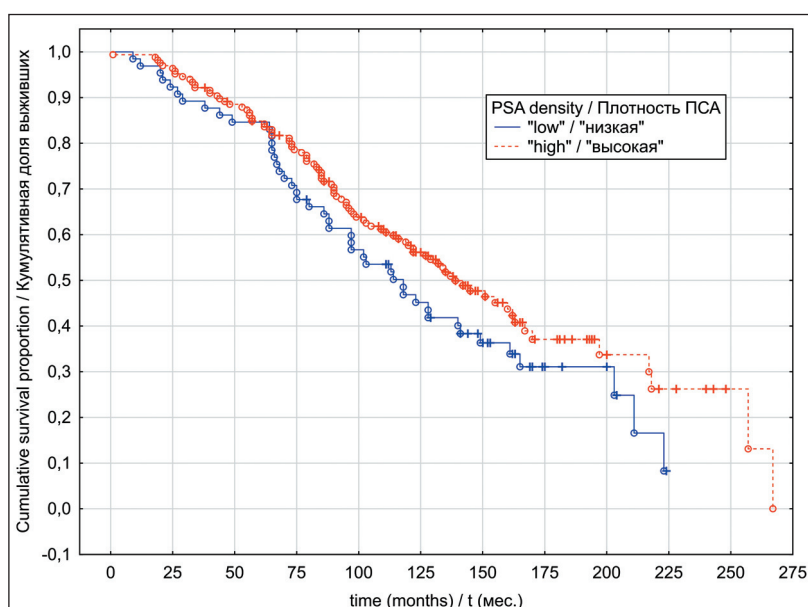


Fig. 3. Locally advanced prostate cancer overall survival in relation to PSA density
Рис. 3. Общая выживаемость с учетом показателя пПСА, местнораспространенный РПЖ

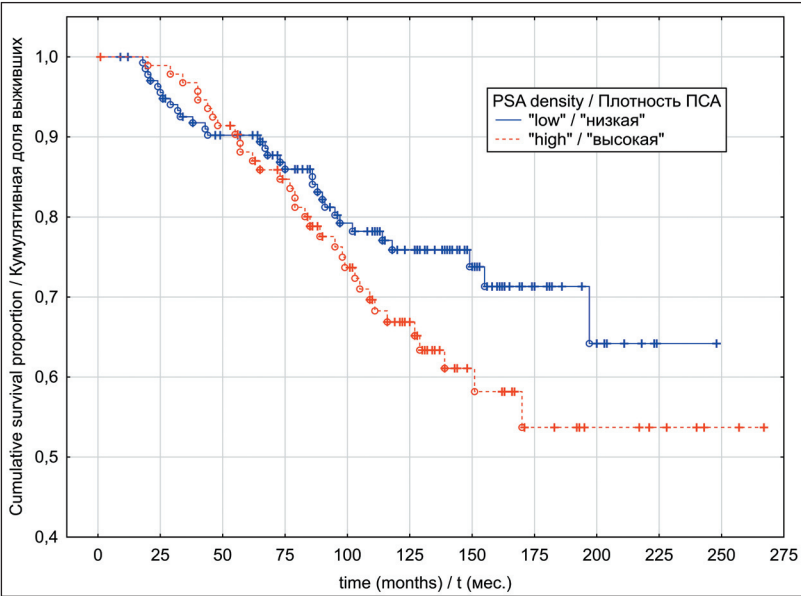


Fig. 4. Locally advanced prostate cancer cancer-specific survival in relation to PSA density
Рис. 4. Опухоль-специфическая выживаемость с учетом показателя пПСА, местнораспространенный РПЖ

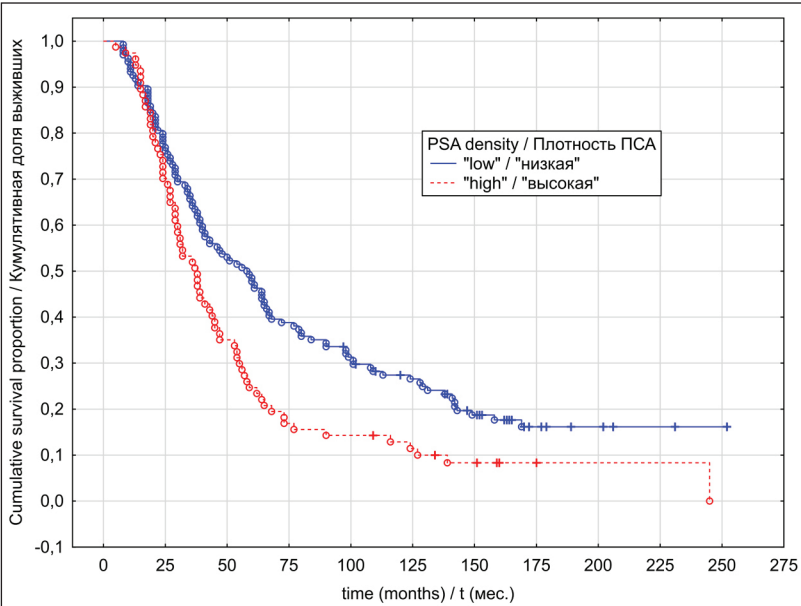


Fig. 5. Metastatic prostate cancer overall survival in relation to PSA density
Рис. 5. Общая выживаемость с учетом показателя пПСА, метастатический РПЖ

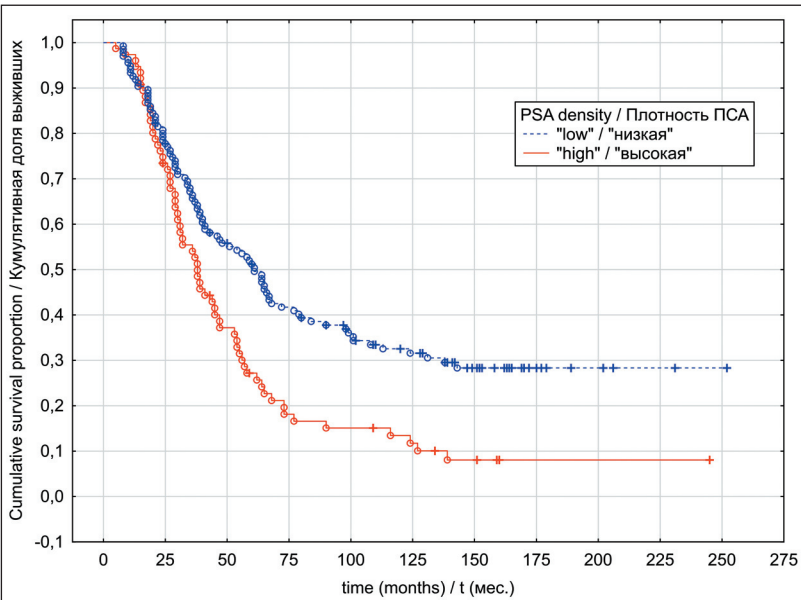


Fig. 6. Metastatic prostate cancer cancer-specific survival in relation to PSA density
Рис. 6. Опухоль-специфическая выживаемость с учетом показателя пПСА, метастатический РПЖ

overlap considerably in men with benign prostatic hyperplasia (BPH) and those with PC. As an example, one report retrospectively examined preoperative serum PSA in 187 men with a histologic diagnosis of BPH on a transurethral resection of the prostate specimen and 198 men with organ-confined PC as determined by step-section analysis of a radical prostatectomy specimen [17]. The median serum PSA concentrations were 3.9 (range 0.2 to 55) and 5.9 ng/mL (range 0.4 to 58), respectively. Although this difference was statistically significant, the distribution of serum PSA values in both groups overlapped considerably. These findings led scientists to search for more accurate tools of PC prediction. PSA density, on this matter, has clearly illustrated its high predictive ability for PC detection [7]. Furthermore, it has also been shown that PSAD correlates with risk of tumor unfavorable pathological features (upstaging/upgrading, extraprostatic extension and seminal vesicles invasion) detection and biochemical recurrence (BR) following prostatectomy [18, 19]. With the above evidence, it would be logical to assume that PSAD may be a useful predictor of PC survival outcomes, regardless of treatment modality.

The main objective of this study was to investigate the potential impact of PSAD on combined hormonal-radiation therapy outcomes within localized PC patients. Our results indicate significant difference in terms of median PSAD values between alive and deceased patient cohorts in either OS and CSS. However, to represent a useful clinical tool, there must be a PSA density threshold, which, if exceeded, would be associated with an increased probability of an event. In our study, we have determined a PSAD cutoff at 0.34 ng/mL/cc for OS and 0.36 ng/mL/cc for CSS with the best balance between sensitivity and specificity in identifying adverse outcomes that derived from coordination points of the ROC-curve. Our findings indicate in favor of the fact that lower PSAD values were associated with better OS and CSS rates. To our knowledge, to date there are no documented reports aimed to address PSAD significance as a predictor of OS and CSS within PC patients treated with combined hormonal radiation therapy. Existing studies in lieu are focused mainly on evaluation of recurrence-free survival. For instance, Aref et al. demonstrated that, whereas PSAD values > 0.3 ng/mL/cc were accompanied by a statistically significant increase in BR risk in men with PC treated with EBRT, it didn't appear as an independent prognostic factor of BR [20]. Study reports by Matzkin et al., evaluating outcomes of brachytherapy alone or combined with EBRT within localized PC patients, indicated that men exhibiting PSAD values > 0.15 ng/mL/cc had a statistically significant higher risk of BR [10]. Although the suggested PSAD cutoff was lower as compared to our findings, it's worth noting that the majority of the study cohort (83.6%) belonged to the low-risk progression group with the total Gleason score of ≤ 6 .

In contrast, Ingenito et al. [11] reported that in a series of 175 PC patients, only Gleason score was found to exert an independent influence on the biochemical failure (BF) risk following EBRT, while PSAD diagnostic significance has not been confirmed. An important drawback of this study, however, is the heterogeneous nature of the study group, which, aside from localized PC included patients with locally advanced types of the disease. Furthermore, BF was defined as PSA rise of >1 above the nadir, which does not correspond with contemporary guidelines [21]. D'Amico et al. also reported that PC volume and the volume fraction of the gland involved by carcinoma significantly added to the PSA in predicting postradiation PSA failure, while PSAD failed to add considerably in postradiation BF risk estimation [12]. At the same time, similarly to the above-mentioned publication, the main research limitations include the heterogeneous structure of the studied cohort, as well as a comparatively short follow-up period, with a median follow-up of 14 months.

While the results of our study revealed PSAD as an independent prognostic factor of long-term survival among patients suffering from localized PC, it failed to prove sufficient discriminative ability within locally advanced PC group. Surprisingly though, on the basis of univariate analysis PSAD has demonstrated prognostic significance within the metastatic PC group. Since median PSA level in metastatic PC cohort was 54.4 ng/mL (range 40.9 to 67.8) which was significantly higher ($p < 0.001$) than the median PSA of localized PC group 16.8 ng/mL (range 10.2 to 27.0) one possible explanation to these findings, in our opinion, might be attributed to the role of PSA as a confounding factor in the PSAD predicting ability, which, subsequently was proven by the results of multivariate analysis, where PSAD failed to confirm as an independent prognostic factor. These findings again highlight the fact that the PSAD is, apart from being PC specific, in all essence strongly related to prostate volume. In case of tumor spread into surrounding tissues, lymph nodes or distant locations, the proportion of "malignant" PSA, secreted by the bulk of tumor begins to surpass the proportion of PSA secreted by benign prostatic tissue, diminishing, as the result, PSAD forecasting ability.

Several limitations in the present study are worthy of mention. Firstly, selection bias and missing variables are possible due to its retrospective nature. Secondly the single center nature may be the source of limited external validity in addition to a limited number of patients with localized PC. Prospective studies in other populations and larger cohorts are warranted to substantiate and validate our results in the future.

In conclusion, few PC prognosis models include PSAD. According to our analysis there is a substantial value in PSAD in predicting OS and CSS in patients with localized PC treated with combined hormonal-radiation therapy. These findings may have clear implications in the field of selecting appropriate patients for combined hormonal-radiation treatment.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Albertsen P.C.* Prostate cancer screening and treatment: where have we come from and where are we going? *BJU Int.* 2020; 126(2): 218–224. doi: 10.1111/bju.15153.
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., Starinsky V.V., Shahzadova A.O.* Cancer incidence in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Moscow, 2020. 252 p. (in Russian)].
3. *Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О.* Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году. М., 2021. 239 с. [*Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shahzadova A.O.* The status of cancer care for the population of Russia in 2020. Moscow, 2021. 239 p. (in Russian)].
4. *NCCN.* Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines). Prostate Cancer [Internet]. URL: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf (Accessed on November 09, 2021)
5. *D'Amico A.V., Whittington R., Malkowicz S.B., Schultz D., Blank K., Broderick G.A., Tomaszewski J.E., Renshaw A.A., Kaplan I., Beard C.J., Wein A.* Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA.* 1998; 280(11): 969–74. doi: 10.1001/jama.280.11.969.
6. *Bekelman J.E., Rumble R.B., Chen R.C., Pisansky T.M., Finelli A., Feifer A., Nguyen P.L., Loblaw D.A., Tagawa S.T., Gillissen S., Morgan T.M., Liu G., Vapiwala N., Haluschak J.J., Stephenson A., Touijer K., Kungel T., Freedland S.J.* Clinically Localized Prostate Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Endorsement of an American Urological Association/American Society for Radiation Oncology/Society of Urologic Oncology Guideline. *J Clin Oncol.* 2018; 36(32): 3251–3258. doi: 10.1200/JCO.18.00606.
7. *Verma A., St Onge J., Dhillon K., Chorneyko A.* PSA density improves prediction of prostate cancer. *Can J Urol.* 2014; 21(3): 7312–21.
8. *Попов С.В., Гусейнов Р.Г., Скрябин О.Н., Орлов И.Н., Мартюев А.Г.* Прогностическое значение простатспецифического антигена при определении показаний к первичной биопсии предстательной железы. *Урология.* 2018; (3): 92–97. [*Popov S.V., Guseinov R.G., Skryabin O.N., Orlov I.N., Martov A.G.* Prognostic significance of prostate-specific antigen in defining indications for initial prostate biopsy. *Urology.* 2018; (3): 92–97. (in Russian)].
9. *Kundu S.D., Roehl K.A., Yu X., Antenor J.A., Suarez B.K., Catalona W.J.* Prostate specific antigen density correlates with features of prostate cancer aggressiveness. *J Urol.* 2007; 177(2): 505–9. doi: 10.1016/j.juro.2006.09.039.
10. *Matzkin H., Chen J., Agai R., Ziv-Baran T., Mahjeesh N.J.* Long-term biochemical progression-free survival following brachytherapy for prostate cancer: Further insight into the role of short-term androgen deprivation and intermediate risk group subclassification. *PLoS One.* 2019; 14(4): e0215582. doi: 10.1371/journal.pone.0215582.
11. *Ingenito A.C., Ennis R.D., Hsu I.C., Begg M.D., Benson M.C., Schiff P.B.* Re-examining the role of prostate-specific antigen density in predicting outcome for clinically localized prostate cancer. *Urology.* 1997; 50(1): 73–8. doi: 10.1016/S0090-4295(97)00202-1.
12. *D'Amico A.V., Propert K.J.* Prostate cancer volume adds significantly to prostate-specific antigen in the prediction of early biochemical failure after external beam radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1996; 35(2): 273–9. doi: 10.1016/0360-3016(95)02389-5.
13. *Жаринов Г.М.* База данных больных раком предстательной железы. База данных РФ № 2016620331. Заявл. 14.03.2016. Опубл. 20.04.2016. [*Zharinov G.M.* Prostate cancer patient database. The data base of Russian Federation No 2016620331. 20.04.2016. (in Russian)].
14. *Martins T., Mussi T.C., Baroni R.H.* Prostate volume measurement by multiparametric magnetic resonance and transrectal ultrasound: comparison with surgical specimen weight. *Einstein (Sao Paulo).* 2020 Jan 31; 18: eAO4662. doi: 10.31744/einstein_journal/2020AO4662.
15. *Kim J.S., Ryu J.G., Kim J.W., Hwang E.C., Jung S.I., Kang T.W., Kwon D., Park K.* Prostate-Specific Antigen fluctuation: what does it mean in diagnosis of prostate cancer? *Int Braz J Urol.* 2015; 41(2): 258–64. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2015.02.11.
16. *Понкратов С.В., Хейфец В.Х., Каган О.Ф.* Диагностическая ценность простатспецифического антигена с учетом возраста пациентов. *Урологические ведомости.* 2016; (3): 30–39. [*Ponkratov S.V., Khefets V.K., Kagan O.F.* Diagnostic value of prostate-specific antigen according to AGE patients. *Urologicheskie vedomosti.* 2016; 6(3): 30-39. (in Russian)].
17. *Sershorn P.D., Barry M.J., Oesterling J.E.* Serum prostate-specific antigen discriminates weakly between men with benign prostatic hyperplasia and patients with organ-confined prostate cancer. *Eur Urol.* 1994; 25(4): 281–7. doi: 10.1159/000475302.
18. *Koie T., Mitsuzuka K., Yoneyama T., Narita S., Kawamura S., Kaiho Y., Tsuchiya N., Tochigi T., Habuchi T., Arai Y., Ohya C., Yoneyama T., Tobisawa Y.* Prostate-specific antigen density predicts extracapsular extension and increased risk of biochemical recurrence in patients with high-risk prostate cancer who underwent radical prostatectomy. *Int J Clin Oncol.* 2015; 20(1): 176–81. doi: 10.1007/s10147-014-0696-0.
19. *Danacioglu Y.O., Keser F., Efiloglu O., Culpun M., Polat S., Atis R.G., Yildirim A.* The efficiency of prostate-specific antigen density measurement using three different methods on the prediction of biochemical recurrence. *Aging Male.* 2021; 24(1): 15–23. doi: 10.1080/13685538.2021.1924667.
20. *Arefi L., Eapen L., Agboola O., Cross P.* Is prostate specific antigen density an important prognostic indicator for patients with prostate cancer treated with external beam therapy? *Br J Radiol.* 1998; 71(848): 868–71. doi: 10.1259/bjr.71.848.9828800.
21. *Roach M. 3rd, Hanks G., Thames H. Jr., Schellhammer P., Shipley W.U., Sokol G.H., Sandler H.* Defining biochemical failure following radiotherapy with or without hormonal therapy in men with clinically localized prostate cancer: recommendations of the RTOG-ASTRO Phoenix Consensus Conference. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006; 65(4): 965–74. doi: 10.1016/j.ijrobp.2006.04.029.

Поступила/Received 31.01.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 18.04.2022

Принята к публикации/Accepted 04.05.2022

ABOUT THE AUTHORS

Aleksei Y. Kneev, MD, Postgraduate, Department of Radiology, Surgery and Oncology, A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of the Russia (Saint-Petersburg, Pesochny village, Russia). ORCID: 0000-0002-5899-8905.

Michail I. Shkol'nik, MD, Professor, Chief Researcher, Department of Radiology, Surgery and Oncology, A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of the Russia (Saint-Petersburg, Pesochny village, Russia). ORCID: 0000-0003-0589-7999.

Oleg A. Bogomolov, MD, PhD, Research Fellow, Department of Surgery for Urological and Gynecological Cancer, A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of the Russia (Saint-Petersburg, Pesochny village, Russia). ORCID: 0000-0002-5860-9076.

Gennady M. Zharinov, MD, Professor, Chief Researcher, Department of Radiology, Surgery and Oncology, A.M. Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of the Russia (Saint-Petersburg, Pesochny village, Russia). ORCID: 0000-0002-6034-2040.

AUTHOR CONTRIBUTION

Aleksei Y. Kneev: study conception and design, manuscript writing, overview of the previously published works on a topic.

Michail I. Shkol'nik: manuscript review, study analysis, critical revision of manuscript for important intellectual content.

Oleg A. Bogomolov: study analysis, manuscript review, statistical analysis.

Gennady M. Zharinov: data collection, manuscript review, study analysis, critical revision of manuscript for important intellectual content.

Funding*This study required no funding***Conflict of interests***The authors declare that they have no conflict of interest.***СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**

Кнеев Алексей Юрьевич, аспирант кафедры радиологии, хирургии и онкологии, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия). E-mail: alexmedspb@gmail.com. SPIN-код: 8015-1529. ORCID: 0000-0002-5899-8905.

Школьник Михаил Иосифович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия). SPIN-код: 4743-9236. ORCID: 0000-0003-0589-7999.

Богомолов Олег Алексеевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения оперативного лечения онкоурологических и онкогинекологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия). SPIN-код: 6554-4775. ORCID: 0000-0002-5860-9076.

Жаринов Геннадий Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия). SPIN-код: 6010-9551. ORCID: 0000-0002-6034-2040.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кнеев Алексей Юрьевич: разработка концепции научной работы, написание текста статьи, обзор публикаций по теме.

Школьник Михаил Иосифович: рецензирование, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Богомолов Олег Алексеевич: анализ научной работы, рецензирование, статистическая обработка.

Жаринов Геннадий Михайлович: сбор материала исследования, анализ научной работы, рецензирование, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование*Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.***Конфликт интересов***Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Для цитирования: Кит О.И., Франциянц Е.М., Кательницкая О.В. Риск венозных тромбозмболических осложнений у больных злокачественными новообразованиями поджелудочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 24–32. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-24-32

For citation: Kit O.I., Frantsiyants E.M., Katelnitskaya O.V. Risk of venous thromboembolism in patients with pancreatic cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 24–32. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-24-32

РИСК ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

О.И. Кит, Е.М. Франциянц, О.В. Кательницкая

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России,
г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63. E-mail: katelnickaya@yandex.ru

Аннотация

Венозные тромбозмболические осложнения (ВТЭО) часто диагностируются у пациентов со злокачественными опухолями поджелудочной железы на этапе диагностики и лечения, увеличивая частоту осложнений на хирургическом и химиотерапевтическом этапах лечения основного заболевания, а также смертность. **Цель исследования** – изучить взаимосвязь клинических характеристик и нарушений показателей гемостаза у больных со злокачественными опухолями поджелудочной железы и их роль в прогнозировании ВТЭО. **Материал и методы.** В исследование включены 246 пациентов со злокачественными новообразованиями (ЗНО) поджелудочной железы. У 91,9 % больных диагностирована протоковая аденокарцинома поджелудочной железы. Наиболее часто опухоль локализовалась в головке поджелудочной железы (68,3 %). Исходно у 45,9 % пациентов установлена IV стадия заболевания (T1–4N0–2M1). Желтуха как клиническая манифестация опухоли поджелудочной железы наблюдалась у 31,7 % больных. Небольшая часть (17,5 %) пациентов получали химиотерапевтическое лечение. Хирургическое лечение проведено у 28 % больных. За период наблюдения, равный 12 мес, частота ВТЭО составила 15,4 %. Ретроспективно сравнили клинические характеристики и показатели гемостаза на этапе диагностики ЗНО поджелудочной железы у больных с ВТЭО и без ВТЭО, выявленных за период наблюдения. **Результаты.** Риск развития ВТЭО у больных ЗНО поджелудочной железы выше при большем размере опухоли и наличии отдаленных метастазов. Исходный высокий уровень D-димеров у больного ЗНО поджелудочной железы увеличивает вероятность развития ВТЭО в первые 12 мес от установки диагноза. Повышенный исходный уровень D-димеров повышал риск возникновения ВТЭО в 1,86 раза. Многофакторный анализ показал, что наиболее значимым фактором риска ВТЭО является размер опухоли. **Выводы.** У больных ЗНО поджелудочной железы прогностическую значимость в отношении ВТЭО имеют размер опухоли, IV стадия заболевания, повышение уровня D-димера. Исследование показателей гемостаза на этапе диагностики ЗНО поджелудочной железы (D-димер) может помочь выявить пациентов с высоким риском ВТЭО, которым целесообразна антикоагулянтная профилактика.

Ключевые слова: злокачественные опухоли поджелудочной железы, венозные тромбозмболические осложнения, D-димер.

RISK OF VENOUS THROMBOEMBOLISM IN PATIENTS WITH PANCREATIC CANCER

O.I. Kit, E.M. Frantsiyants, O.V. Katelnitskaya

National Medical Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russia,
Rostov-on-Don, Russia
63, 14-th Liniya, 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: katelnickaya@yandex.ru

Abstract

Venous thromboembolism (VTE) is often diagnosed in patients with pancreatic cancer, resulting in increased morbidity and mortality. **Objective:** to study the relationship between clinical characteristics and hemostatic disorders in patients with pancreatic cancer and determine their role in predicting VTE. **Material and Methods.** The study included 246 patients with pancreatic cancer. Pancreatic ductal adenocarcinoma was diagnosed in 91.9 % of patients. In most patients (68.3 %), the tumor was localized in the head of the pancreas; 45.9 % of patients had stage IV disease at diagnosis (T1–4N0–2M1); 31.7 % of patients manifested jaundice at diagnosis. A small proportion of patients (17.5 %) received chemotherapy, and 28 % of patients underwent surgery. Within the 12-month follow-up period, the frequency of VTE was 15.4 %. Clinical characteristics and hemostasis parameters were retrospectively compared in patients with VTE and without VTE diagnosed during the follow-up period. **Results.** The risk of developing VTE in cancer patients was higher with a larger tumor size and the presence of distant metastases. The initial high level of D-dimers increased the risk of VTE during the first 12 months of diagnosis. In a multivariate analysis, the elevated level of D-dimers was a significant risk factor for VTE. **Conclusions.** The tumor size, advanced tumor stage (stage IV), and elevated levels of D-dimer in patients with pancreatic cancer are of prognostic significance for VTE. The study of hemostasis parameters (D-dimer) can help identify patients at risk of developing VTE, who are advised to take anticoagulant therapy with low hemorrhagic risk.

Key words: malignant pancreatic tumors, venous thromboembolism, D-dimer.

Введение

В настоящее время к наиболее тромбогенным злокачественным новообразованиям относят рак поджелудочной железы. Частота венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений (ВТЭО) при данном типе опухолей достигает 12,4 % [1]. В исследовании, включающем 202 пациента, страдающих раком поджелудочной железы, показано, что частота ВТЭО достигает 10,8 %, а риск тромбоза увеличивается в 58 раз по сравнению с общей популяцией с поправкой на возраст и пол [2]. ВТЭО регистрируются как на этапе диагностики, так и в период лечения злокачественного новообразования (ЗНО). Необходимо отметить, что ВТЭО являются лидирующей причиной летальности онкологических больных.

Высокую частоту ВТЭО при раке поджелудочной железы определяет множество факторов риска, которые можно разделить на внутренние и внешние. К первым из них относятся активация тромбоцитов и высвобождение некоторых прокоагулянтных факторов раковыми клетками поджелудочной железы, в т. ч. тканевого фактора и тромбина, которые могут вызывать гиперкоагуляционное состояние. Внешние факторы связаны с методами лечения, включающими химиотерапию, лучевую терапию и хирургическое вмешательство, а также с коморбидностью больного [3].

В корейском исследовании, включающем 121 пациента с резектабельным раком поджелудочной железы, частота тромбозов и легочных артерий (ТЭЛА) в 1-й мес после операции составила 5,8 %, а в течение года – 13,2 %. При этом в 83,3 % случаев ВТЭО сопровождал рецидив опухоли в отдаленном периоде. Следовательно, ВТЭО у данной категории пациентов влияют не только на общую, но и на безрецидивную выживаемость [4].

В 2008 г. была предложена модель Khorana для оценки риска ВТЭО с использованием клиниче-

ских (локализация опухоли и индекс массы тела) и лабораторных (уровень гемоглобина, количество тромбоцитов и лейкоцитов) показателей для прогнозирования ВТЭО у онкологических больных, получающих химиотерапию на амбулаторном этапе [5]. Позже в метаанализе, включающем 2386 онкологических больных, было показано, что только у четверти пациентов высокой группы риска развились симптомные ВТЭО в течение 6 мес, остальные эпизоды ВТЭО регистрировались у больных среднего и низкого риска [6]. Это указывает на необходимость более детального изучения системы гемостаза у больных ЗНО и использования дополнительных маркеров тромбообразования в оценке риска ВТЭО. Некоторые исследователи предлагают включение показателей системы гемостаза (растворимый Р-селектин и D-димер) для более точной оценки прогноза ВТЭО [1].

D. Faillie et al. показали, что уровень D-димера и микровезикул тканевого фактора при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы (ПАПЖ) связан не с хроническим панкреатитом, а с онкологическим заболеванием и его стадией [7]. Следовательно, необходимы дальнейшие исследования, посвященные взаимосвязи ЗНО поджелудочной железы и ВТЭО. Оценка нарушений в системе гемостаза целесообразна для прогнозирования ВТЭО и своевременного назначения тромбопрофилактики. Мы провели ретроспективное исследование, чтобы в первую очередь определить частоту ВТЭО и одновременно выявить значимость факторов риска ВТЭО у пациентов с ЗНО поджелудочной железы.

Цель исследования – изучить взаимосвязь клинических характеристик и нарушений показателей гемостаза у больных со злокачественными опухолями поджелудочной железы и их роль в прогнозировании ВТЭО.

Таблица 1/ Table 1

Стадирование больных со ЗНО поджелудочной железы по классификации TNM

Staging in patients with pancreatic cancer according to the TNM classification

Стадия процесса/ Stage of the tumor	Первичный очаг/ Primary tumor	Региональные лимфоузлы/ Regional lymph nodes	Отдаленные метастазы/ Distant metastases	Количество больных/ Number of patients
IA	T1	N0	M0	1 (0,4 %)
IB	T2	N0	M0	8 (3,3 %)
IIA	T3	N0	M0	38 (15,4 %)
IIB	T2	N1	M0	6 (2,4 %)
	T3	N1	M0	48 (19,5 %)
III	T4	N любое	M0	32 (13 %)
IV	T любое	N любое	M1	113 (45,9 %)

Материал и методы

В период с 2016 по 2019 г. в исследование было включено 246 пациентов с ЗНО поджелудочной железы (табл. 1). Во всех случаях диагноз подтвержден морфологическим исследованием (биопсия образования поджелудочной железы или метастаза печени). Стадия заболевания оценена с помощью спиральной компьютерной (СКТ) и/или магнитно-резонансной томографии (МРТ). Средний возраст больных составил 62 ± 10 лет. Значимых различий по гендерному признаку не выявлено (мужчины – 55,3 %, женщины – 44,7 %, $p=1$). В 68,3 % случаев опухоль располагалась в головке поджелудочной железы. Средний размер опухоли – $52 \pm 20,5$ мм. На момент обращения IV стадия (ТлюбаяNлюбаяM1) заболевания установлена в 45,9 %. Наиболее частым гистологическим типом опухоли была протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (91,9 %), из них умереннодифференцированная аденокарцинома – у 107 (43,5 %), низкодифференцированная – у 43 (17,5 %), высокодифференцированная – у 10 (4,1 %) больных, в остальных случаях степень дифференцировки не определена. Манифестация опухоли с желтухи наблюдалась в 31,7 % случаев. Химиотерапевтическое лечение (гемцитабин, гемцитабин и капецитабин) получали 43 (17,5 %) пациента. Неоадьювантная терапия не проводилась. Хирургический этап лечения выполнен у 28 % больных: радикальная операция – у 18,3 %, паллиативная – у 9,3 %. Гастропанкреатодуоденальная резекция – у 27 (11 %) больных, корпорокаудальная резекция поджелудочной железы – у 18 (7,3 %), обходные анастомозы – у 23 (9,3 %) пациентов. Диагностическая лапаротомия произведена в 2 (0,8 %) случаях. Исходные лабораторные показатели представлены в табл. 2.

Период наблюдения начинался от момента включения (установки диагноза) с последующим наблюдением каждые 3 мес в отношении возникновения ВТЭО. Период наблюдения закончился после 12-месячного периода, смерти или потери больного из наблюдения. Все симптоматические ВТЭО были подтверждены с помощью ультразвукового триплексного сканирования (УЗТС) и СКТ с кон-

трастированием. Случайно обнаруженные ВТЭО (например, тромбоэмболия легочной артерии или висцеральный тромбоз), диагностированные при УЗИ, СКТ или МРТ, также учитывались.

На этапе установки диагноза ЗНО у пациентов забирали образцы венозной крови, полученные из кубитальной вены, в 3,2 % цитратные вакуумные пробирки. Все образцы были обработаны в течение 2 ч. Образцы цельной крови центрифугировали 1 раз при 2500 g в течение 15 мин при комнатной температуре. Из каждой пробирки отбирали бедную тромбоцитами плазму и затем центрифугировали 2-й раз при 2500 g в течение 15 мин при комнатной температуре, чтобы получить плазму, обедненную тромбоцитами. На коагулометре исследовали уровень фибриногена, РФМК, Д-димера и антитромбина (Diagnostica Stago). Также оценивали АЧТВ, МНО и ТВ. Дополнительно проводили исследование показателей общего анализа крови (ОАК), биохимических показателей крови (билирубин с фракциями, щелочная фосфатаза (ЩФ), аспартатаминотрансфераза (АсТ), аланинаминотрансфераза (АлТ), гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП), креатинин), онкомаркеров (СА 19–9, раковый эмбриональный антиген (РЭА), альфа-фетопроtein (АФП)).

Проверка данных на нормальность распределения выполнена с помощью теста Шапиро–Уилка. В качестве описательных статистик для количественных показателей посчитаны средние $\pm$ средние квадратические отклонения; медиана и квартили; минимальные и максимальные значения в выборке. Сравнение количественных показателей в группах проводилось с помощью теста Манна–Уитни, частот – с помощью точного теста Фишера. Различия признавались статистически значимыми на уровне $p < 0,05$. Отношения шансов и отношения рисков для качественных показателей рассчитывались по таблицам сопряженности. Статистическая значимость оценивалась методом точного теста Фишера. Отношения шансов и отношения рисков для количественных показателей и их статистическая значимость рассчитывались путем построения логистической регрессии. Анализировалась статистическая значимость коэффициентов регрессии

Таблица 2/Table 2

Лабораторные показатели у больных со ЗНО поджелудочной железы на этапе установки диагноза
Laboratory indices in patients with pancreatic cancer at diagnosis

Показатель/ Parameters	Норма/ Normal levels	Медиана/ Median values	Квартили/ Quartiles	Мин, значение/ Min, values	Макс, значение/ Max, values	p (тест Шапиро–Уилка)/ p (Shapiro–Wilk test)
СА 19–9	до 39 ед/мл/ <39 U/ml	139	[44,9; 415]	0,6	18835	<0,001
РЭА/CEA	до 5,2 нг/мл/ <5,2 ng/ml	5,06	[2; 9,76]	1,02	69,2	<0,001
АФП/AFP	до 5,8 МЕ/мл/ <5,8 IU/ml	2,31	[1,67; 3,69]	0,85	110	<0,0001
МНО/INR	близко к 1/ close to 1	1,13	[1,02; 1,33]	0,85	6,49	<0,001
Фибриноген/ Fibrinogen	2–4 г/л/ 2–4 g/l	4,63	[3,75; 5,44]	1,66	10,4	0,020
РФМК/SFMC	до 4 мг/100мл/ <4mg/100ml	6	[0; 11]	0	28	0,001
Антитромбин/ Antithrombin	70–130 %	115	[92; 124]	53	139	0,069
D-димер/ D-dimer	до 0,5 нг/мл/ <0,5 ng/ml	0,84	[0,31; 1,77]	0,27	3,97	0,001
Общий билирубин / Total bilirubin	3,4–21 мкмоль/л 3,4–21 μmol/l	36,8	[15,8; 182]	3,6	635	<0,001
ГГТП/GGT	7–55 Ед/л/ 7–55 U/l	208	[89; 806]	11	1919	0,001
ЩФ/AP	30–130 Ед/л/ 30–130 U/l	287	[130; 625]	40,3	1950	<0,001
ЛДГ/LDH	до 248 Ед/л/ <248 U/l	279	[174; 357]	100	1575	0,002
АлТ/ALT	до 40 Ед/л/ <40 U/l	96	[33,9; 171]	6,67	1357	<0,001
АсТ/AST	до 40 Ед/л/<40 U/l	61	[35; 122]	10	732	<0,001

для показателей, по которым была выявлена статистическая значимость при проведении сравнения групп. При многофакторном анализе оценивалась модель с включением всех рассматриваемых факторов. При однофакторном анализе регрессия строилась на одном рассматриваемом факторе. Расчеты выполнялись в R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Результаты

На этапе установки диагноза ЗНО поджелудочной железы определяется изменением показателей гемостаза, отмечено повышение маркеров тромбоцитоза – уровня фибриногена, РФМК и D-димера. Исходно выявлены высокие уровни онкомаркеров СА 19–9, РЭА и АФП (табл. 3). В исследуемой группе больных диагностировано повышение печеночных ферментов, как экскреторных – ЩФ, так и индикаторных – ГГТП, АсТ, АлТ, ЛДГ. Также выявлено повышение общего билирубина в 5 раз выше нормы. Однако нарушений секреторной функции печени (синтез антикоагулянтов) в среднем не отмечено – не определялось снижение

уровня антитромбина и повышение показателя МНО (табл. 2).

С целью определения взаимосвязи исходных клинических характеристик больных с ЗНО поджелудочной железы, лабораторных показателей и маркеров тромбоза больные разделены на две группы – без ВТЭО и с наличием ВТЭО за период наблюдения (табл. 3). На основании ретроспективного анализа: на риск развития ВТЭО не влияли пол и возраст пациента, гистологический тип и степень дифференцировки опухоли. Не выявлено значимых различий между группами ($p>0,05$).

Статистически значимо более высокая частота ВТЭО отмечена у пациентов с опухолями тела и хвоста поджелудочной железы, что обусловлено тем, что при опухолях данной локализации менее выражена симптоматика, и зачастую они диагностируются при более распространенном процессе. При ЗНО головки поджелудочной железы при меньшем размере опухоли чаще возникает обструкция желчевыводящих путей, что приводит к развитию желтухи и относительно более раннему обращению больного за помощью. Локализация

Таблица 3/Table 3

Характеристики больных со ЗНО поджелудочной железы

Characteristics of patients with pancreatic cancer

Параметр/Parameter	Нет ВТЭО (n=207)/ Without VTE (n=207)	ВТЭО (n=39)/ With VTE (n=39)	P
Возраст/Age	62 [56; 67,5]	65 [56; 70]	0,4
Пол/Gender			
Мужчины/Males	114 (55 %)	22 (56 %)	1,000
Женщины/Females	93 (44 %)	17 (44 %)	
Стадия/Stage			
I	8 (3,9 %)	1 (3 %)	1,000
IIA	35 (16,9 %)	3 (8 %)	0,488
IIB	49 (23,7 %)	5 (13 %)	0,097
III	28 (13,5 %)	4 (10 %)	0,878
IV	87 (42 %)	26 (67 %)	0,019
Локализация опухоли/Tumor location			
Головка/Head	149 (72 %)	19 (48,8 %)	0,001
Тело/Body	33 (16 %)	10 (25,6 %)	0,009
Хвост/Tail	25 (12 %)	10 (25,6 %)	0,078
Размер опухоли/Tumor size	43 [34; 57,5]	61 [42; 75]	<0,001
Гистология/Histology			
Протоковая аденокарцинома/Ductal adenocarcinoma	190 (91,7 %)	36 (92 %)	0,776
Ацинарноклеточная карцинома/Acinar cell carcinoma	1 (0,5 %)	—	
Недифференцированный рак/Undifferentiated cancer	3 (1,5 %)	—	
Нейроэндокринная опухоль/Neuroendocrine tumor	7 (3,4 %)	1 (3 %)	
Другое/Others	6 (2,9 %)	2 (5 %)	
СА 19–9	148 [67; 388]	115 [9,48; 1637]	0,663
РЭА/CEA	3,6 [1,95; 7,3]	7,95 [2; 16,8]	0,198
АФП/AFP	2,09 [1,67; 3,69]	3,02 [1,03; 3,82]	1,000
Общий билирубин/Total bilirubin	39,9 [16; 204]	28,3 [15,8; 144]	0,271
Фибриноген/Fibrinogen	4,8 [3,78; 5,44]	4,11 [3,63; 5,44]	0,366
РФМК/SFMC	5,55 [0; 11]	6,7 [0; 10]	0,856
D-димер/D-dimer	0,36 [0,3; 0,77]	1,12 [0,94; 2,11]	0,047
Антитромбин/Antithrombin	115 [101; 124]	109 [57; 130]	0,377
Гемоглобин/Hemoglobin	130 [120; 143]	131 [115; 153]	0,765
Тромбоциты/Platelets	237 [192; 308]	206 [176; 289]	0,277

Таблица 4/Table 4

Оценка риска ВТЭО у больных со ЗНО поджелудочной железы

Assessment of VTE risks in patients with pancreatic cancer

Модели/Models	Однофакторный анализ/ Univariate analysis		Многофакторный анализ/ Multivariate analysis	
	OR [95 % CI]	p	OR [95 % CI]	p
Модель 1/Model 1				
Антитромбин/Antithrombin	0,97 [0,93; 1,01]	0,21	0,98 [0,92; 1,04]	0,51
D-димер/D-dimer	1,42 [1,32; 3,77]	0,03	1,86 [1,15; 8,12]	0,04
Фибриноген/Fibrinogen	0,84 [0,51; 1,32]	0,49	0,76 [0,28; 1,83]	0,53
Модель 2/Model 2				
Стадия IV/Stage IV	2,41 [1,17; 4,98]	0,017	1,87 [0,65; 5,40]	0,251
Локализация опухоли/ Tumor location				
Головка/Head	0,30 [0,15; 0,62]	0,001	0,32 [0,06; 1,81]	0,196
Тело/Body	2,85 [1,33; 6,07]	0,007	0,88 [0,22; 3,50]	0,863
Хвост/Tail	2,31 [1,01; 5,30]	0,049	0,82 [0,15; 4,60]	0,816
Размер опухоли/Tumor size	1,04 [1,02; 1,06]	<0,001	1,03 [1,01; 1,05]	0,018

первичной опухоли в теле и хвосте поджелудочной железы более чем в 2 раза увеличивает риск развития ВТЭО.

Обнаружено, что размер опухоли поджелудочной железы также влияет на прогноз ВТЭО. Статистически значимо большая частота ВТЭО отмечена при IV стадии заболевания, риск возникновения ВТЭО при наличии отдаленных метастазов в 2,4 раза выше (табл. 4). По результатам исследования выявлено, что повышение печеночных ферментов, уровня билирубина, онкомаркеров, показателей ОАК не влияет на риск развития ВТЭО у больных ЗНО поджелудочной железы. Не было значимых различий между группами ($p > 0,05$). В отношении прогноза ВТЭО из показателей гемостаза наиболее значимым был исходный высокий уровень D-димера.

С целью оценки совместного влияния факторов риска на развитие ВТЭО проведен многофакторный анализ (табл. 4) путем построения логистической регрессии. Модель 1, основанная на факторах гемостаза, была статистически незначима ($p = 0,517$). Модель 2, построенная на основании факторов локализации и размеров опухоли, показала статистическую значимость ($p < 0,001$). Значение AUC составило 76,13 %, чувствительность – 78 %, специфичность – 59 % (рис. 1). В результате больший размер опухоли увеличивает вероятность развития ВТЭО. При этом увеличение размера опухоли на 1 мм ассоциировано с повышенным риском развития ВТЭО в среднем на 3 % ($OR = 1,03$, 95 % CI: 1,01–1,05, $p = 0,018$).

Обсуждение

Рак-ассоциированный тромбоз является сложной клинической проблемой, особенно при раке поджелудочной железы. Тромбоз и фибринолиз являются противоположными сторонами функции гемостаза. Фибриноген играет важную роль в обоих процессах. Исследования взаимосвязи между опухолевыми клетками и прокоагулянтами и фибринолитическими факторами убедительно свидетельствуют о том, что местное образование тромбина и плазмина может играть важную роль в развитии опухоли. Учитывая, что одной из мишеней для обеих этих сериновых протеаз является фибриноген, логическое продолжение этой гипотезы заключается в том, что местное отложение и растворение фибрина могут быть ключевыми детерминантами роста и/или распространения опухоли. Множество ключевых факторов изучаются для объяснения такой высокой частоты тромбозов, включая тканевой фактор, муцины, микро-везикулы, внеклеточные ловушки нейтрофилов, лейкоциты и тромбоциты [8]. Однако изменения системы гемостаза, способствующие развитию тромбоза, частота ВТЭО и методы профилактики последних недостаточно изучены.

S.Y. Yoon et al. оценивали заболеваемость ВТЭО

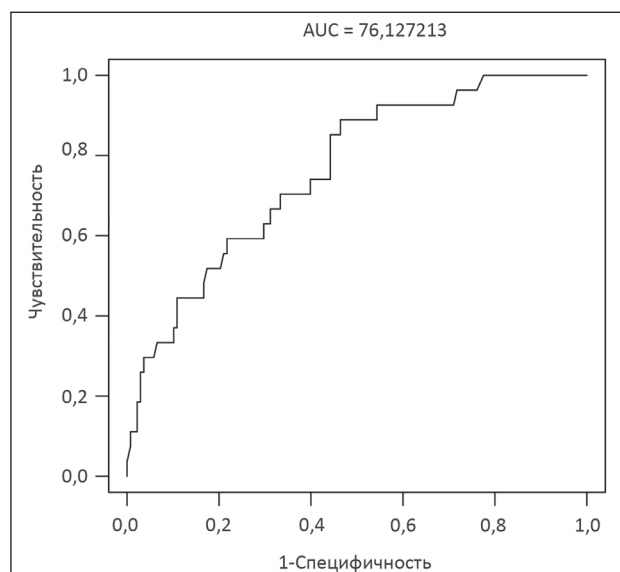


Рис. 1. ROC-анализ.

Оценка чувствительности и специфичности модели 2

Fig. 1. ROC-analysis.

Assessment of sensitivity and specificity of the model 2

у 505 больных с гистологически подтвержденным раком поджелудочной железы. Обнаружено, что частота ВТЭО при данном типе ЗНО достигла 18,6 %. Среднее время от момента установки диагноза рака поджелудочной железы до возникновения ВТЭО составило 3,9 мес. ВТЭО развились у 6,9 % больных с местнораспространенной ПАПЖ и у 13,5 % – с отдаленными метастазами. В 13,3 % случаев венозный тромбоз диагностирован на фоне химиотерапии. При наличии отдаленных метастазов ($OR = 2,079$; 95 % CI 1,112–3,887; $p = 0,022$), рецидиве заболевания ($OR = 5,014$; 95 % CI 1,711–14,698; $p = 0,003$) и химиотерапии ($OR = 2,031$; 95 % CI 1,036–3,981; $p = 0,039$) отмечается достоверно более высокая частота ВТЭО. Также отмечены геморрагические осложнения на фоне антикоагулянтной терапии, которые составили 4,2 % [4]. В нашем исследовании выявлена схожая частота ВТЭО за 12-месячный период наблюдения, которая составила 15,4 %. Аналогично данным S.Y. Yoon et al. нами показано, что при наличии отдаленных метастазов у больных с ЗНО поджелудочной железы увеличивается частота ВТЭО.

В исследовании H.K. Chew et al. [9] за 2-летний период наблюдения частота ВТЭО у пациентов с локализованной, местнораспространенной и отдаленной ПАПЖ составила 3,2 %, 3,0 % и 5,4 % соответственно. Согласно нашим результатам, отмечена более высокая частота ВТЭО в целом: при локализованной стадии ЗНО – 8,9 %, местнораспространенной – 12,5 %, при наличии отдаленных метастазов – 23 %. По данным M. Mandalà et al. [10], частота ВТЭО при нерезектабельной ПАПЖ достигла 26,0 %. При этом пациенты с ВТЭО более часто не отвечали на химиотерапию ($OR = 2,98$; 95 % ДИ 1,42–6,27; $p = 0,004$). Авторы предположи-

ли, что у пациентов с ВТЭО может быть биологически более агрессивное заболевание. Согласно нашим результатам, при запущенных стадиях ЗНО поджелудочной железы выявлена высокая частота ВТЭО, достигающая 23 %.

В другом исследовании 41 пациент с ПАПЖ (98 %) проспективно наблюдался в среднем 6 мес. В течение этого периода 38 (93 %) пациентов получали химиотерапию, 3 (7,3 %) – лучевую терапию, 9 (22 %) больных подвергались операции. ВТЭО возникли у 22 % пациентов. Уровни РФМК, D-димеров и СА 19–9 были значительно выше у пациентов с ВТЭО. Риск ВТЭО у пациентов с ПАПЖ и уровнем D-димера $\geq 2,16$ мкг/мл выше в 5,8 раза. Кумулятивная вероятность развития ВТЭО через 6 мес у пациентов с повышенным уровнем D-димера составила 56,3 %, у больных с более низким уровнем – 15,6 %. Совокупная вероятность развития ВТЭО у пациентов с СА 19–9 выше ≥ 2153 Ед/мл по сравнению с пациентами с более низкими уровнями маркеров при многомерном анализе была выше в 7,2 раза. Совокупная вероятность развития ВТЭО через 6 мес у пациентов с повышенными уровнями СА 19–9 составила 78,6 %, у больных с более низкими уровнями этого маркера – 12,5 % [7]. D. Faille et al. показано, что высокие уровни СА 19–9 значимо связаны с развитием ВТЭО у больных с ПАПЖ. При этом отмечено, что эффективность СА 19–9 в прогнозировании ВТЭО была даже выше, чем у D-димеров. На риск развития ВТЭО влияло также наличие отдаленных метастазов. В нашем наблюдении мы не получили значимого влияния исходно высокого уровня СА 19–9 на прогнозирование ВТЭО при ЗНО поджелудочной железы.

D-димеры являются надежными биомаркерами гиперкоагуляционного состояния, так как они являются продуктами распада фибрина, отражая как активацию коагуляции, так и фибринолиз. Доказано, что высокие уровни D-димера связаны с низкой общей выживаемостью и повышенным риском смертности у онкологических больных [11]. У пациентов с ЗНО поджелудочной железы уровни D-димера в плазме были повышены при более распространенной стадии опухоли, метастазировании и низкой степени дифференцировки опухоли и были связаны с неоперабельностью опухоли и снижением общей выживаемости [12]. По данным нашего исследования, исходно высокий уровень D-димеров является прогностически важным в отношении развития ВТЭО у больных с опухолями поджелудочной железы.

На основании исследования F.J. Woei et al. можно предположить, что состояние гиперкоагуляции, наблюдаемое у пациентов с ПАПЖ, связано с особенностями опухоли и скоростью распространения заболевания, так как уровни СА 19–9 в плазме коррелировали со стадией ЗНО, снижением выживаемости и частотой ВТЭО [13]. При ПАПЖ нередко возникает тромбоз системы воротной вены (воротная, верхняя брыжеечная и селезеночная вены), который снижает выживаемость больных. Наиболее низкая выживаемость отмечена при тромбозе воротной вены, которая составляет 3,6 мес [14]. В наше исследование также вошли больные с висцеральным венозным тромбозом, но частота данного осложнения была низкой (2,4 %). Следовательно, не представляется возможным оценить влияние висцерального тромбоза на выживаемость больных.

Гиперфибриногенемия отмечена у больных раком поджелудочной железы, с обструкцией желчных путей. По результатам патологоанатомического анализа уровень фибриногена у больных с местнораспространенными опухолями был значительно выше, чем при локализованных формах. При метастазах в регионарные лимфоузлы уровень фибриногена был выше, чем без их поражения ($p < 0,05$) [15]. В нашей работе исходный уровень фибриногена не показал себя значимым фактором прогноза ВТЭО. Возможно, это связано с тем, что повышенный уровень фибриногена является не только маркером тромбообразования, но и маркером воспаления. Следовательно, повышение фибриногена будет наблюдаться как реакция на биопсию опухоли или метастаза, билиарную и панкреатическую гипертензию, малоинвазивные дренирующие чрескожные вмешательства.

Заключение

Проведенное исследование показывает, что частота ВТЭО значительна у пациентов с ЗНО поджелудочной железы, особенно у пациентов с распространенной стадией рака. Наиболее значимыми факторами риска ВТЭО у данной категории больных являются размер опухоли, локализация первичного очага в теле и хвосте, наличие отдаленных метастазов. К основным лабораторным факторам, прогнозирующим ВТЭО, относится исходный уровень D-димера. Следовательно, при наличии вышеперечисленных факторов необходимо рассмотреть вопрос об антикоагулянтной профилактике.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. van Es N., Franke V.F., Middeldorp S., Wilmink J.W., Büller H.R. The Khorana score for the prediction of venous thromboembolism in patients with pancreatic cancer. *Thromb Res.* 2017; 150: 30–2. doi: 10.1016/j.thromres.2016.12.013.
2. Blom J.W., Osanto S., Rosendaal F.R. High risk of venous thrombosis in patients with pancreatic cancer: a cohort study of 202 patients. *Eur J Cancer.* 2006; 42(3): 410–4. doi: 10.1016/j.ejca.2005.09.013.

3. Larsen A.C., Brøndum Frøkjær J., Wishwanath Iyer V., Vincents Fisker R., Sall M., Yilmaz M.K., Kuno Møller B., Kristensen S.R., Thorlacius-Ussing O. Venous thrombosis in pancreaticobiliary tract cancer: outcome and prognostic factors. *J Thromb Haemost.* 2015; 13(4): 555–62. doi: 10.1111/jth.12843.
4. Yoon S.Y., Lee M.Y., Yun J., Yoon J., Kim H.J., Kim K.H., Kim S.H., Lee S.C., Bae S.B., Kim C.K., Lee N., Lee N.S., Lee K.T., Park S.K., Hong D.S., Won J.H. The incidence of venous thromboembolism is not

lowin Korean patients with advanced pancreatic cancer [corrected]. *Blood Res.* 2018; 53(3): 227–32. doi: 10.5045/br.2018.53.3.227.

5. Khorana A.A., Kuderer N.M., Culakova E., Lyman G.H., Francis C.W. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood.* 2008; 111(10): 4902–7. doi: 10.1182/blood-2007-10-116327.

6. Mulder F.I., Candeloro M., Kamphuisen P.W., Di Nisio M., Bos-suyt P.M., Guman N., Smit K., Büller H.R., van Es N.; CAT-prediction col-laborators. The Khorana score for prediction of venous thromboembolism in cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Haematologica.* 2019; 104(6): 1277–87. doi: 10.3324/haematol.2018.209114.

7. Faille D., Bourrienne M.C., de Raucourt E., de Chaisemartin L., Granger V., Lacroix R., Panicot-Dubois L., Hammel P., Lévy P., Ruzniewski P., Ajzenberg N., Rebours V. Biomarkers for the risk of thrombosis in pancreatic adenocarcinoma are related to cancer process. *Oncotarget.* 2018; 9(41): 26453–65. doi: 10.18632/oncotarget.25458.

8. Hisada Y., Geddings J.E., Ay C., Mackman N. Venous thrombosis and cancer: from mouse models to clinical trials. *J Thromb Haemost.* 2015; 13(8): 1372–82. doi: 10.1111/jth.13009.

9. Chew H.K., Wun T., Harvey D., Zhou H., White R.H. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. *Arch Intern Med.* 2006; 166(4): 458–64. doi: 10.1001/archinte.166.4.458.

10. Mandalà M., Reni M., Cascinu S., Barni S., Floriani I., Cereda S., Berardi R., Mosconi S., Torri V., Labianca R. Venous thromboembolism

predicts poor prognosis in irresectable pancreatic cancer patients. *Ann Oncol.* 2007; 18(10): 1660–5. doi: 10.1093/annonc/mdm284.

11. Ay C., Dunkler D., Pirker R., Thaler J., Quehenberger P., Wagner O., Zielinski C., Pabinger I. High D-dimer levels are associated with poor prognosis in cancer patients. *Haematologica.* 2012; 97(8): 1158–64. doi: 10.3324/haematol.2011.054718.

12. Durczynski A., Kumor A., Hogendorf P., Szymanski D., Grzelak P., Strzelczyk J. Preoperative high level of D-dimers predicts unresectability of pancreatic head cancer. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(36): 13167–71. doi: 10.3748/wjg.v20.i36.13167.

13. Woei-A-Jin F.J., Tesselaar M.E., Garcia Rodriguez P., Romijn F.P., Bertina R.M., Osanto S. Tissue factor-bearing microparticles and CA19.9: two players in pancreatic cancer-associated thrombosis? *Br J Cancer.* 2016; 115(3): 332–8. doi: 10.1038/bjc.2016.170.

14. Mier-Hicks A., Raj M., Do R.K., Yu K.H., Lowery M.A., Varghese A., O'Reilly E.M. Incidence, Management, and Implications of Visceral Thrombosis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clin Colorectal Cancer.* 2018; 17(2): 121–8. doi: 10.1016/j.clcc.2018.01.008.

15. Wang H.Y., Xiu D.R., Li Z.F., Wang G. Coagulation function in patients with pancreatic carcinoma. *Chin Med J (Engl).* 2009; 122(6): 697–700.

Поступила/Received 14.05.2020

Одобрена после рецензирования/Revised 22.06.2020

Принята к публикации/Accepted 14.07.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

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

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9427-9928. Researcher ID: Y-1491-2018. Author ID (Scopus): 55890047700. ORCID: 0000-0002-5191-1758.

Кательницкая Оксана Васильевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения общей онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: katelnickaya@yandex.ru. SPIN-код: 6459-0334. Researcher ID: G-9110-2019. Author ID (Scopus): 57215595950. ORCID: 0000-0002-7777-9943.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кит Олег Иванович: разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Франциянц Елена Михайловна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Кательницкая Оксана Васильевна: выполнение практической части научной работы, статистическая обработка данных, составление черновика рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oleg I. Kit, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, General Director of the National Medical Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID: U-2241-2017. Author ID (Scopus): 55994103100. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Elena M. Frantsyants, DSc, Professor, Deputy General Director for Science, National Medical Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID: Y-1491-2018. Author ID (Scopus): 55890047700. ORCID: 0000-0002-5191-1758.

Oksana V. Katelnitskaya, MD, PhD, Senior Researcher of the Department of General Oncology, National Medical Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: katelnickaya@yandex.ru. Researcher ID: G-9110-2019. Author ID (Scopus): 57215595950. ORCID: 0000-0002-7777-9943.

AUTHOR CONTRIBUTION

Oleg I. Kit: study conception, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Elena M. Frantsyants: study supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Oksana V. Katelnitskaya: statistical data processing, drafting of the manuscript.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Цырлина Е.В., Порошина Т.Е., Васильев Д.А., Зиновьев Г.В., Гафтон Г.И., Берштейн Л.М. Повреждение ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с меланомой. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 33–41. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-33-41

For citation: Tsyrlina E.V., Poroshina T.E., Vasiliev D.A., Zinoviev G.V., Gafton G.I., Berstein L.M. DNA damage in peripheral blood mononuclear cells in patients with melanoma. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 33–41. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-33-41

ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕЛАНОМОЙ

Е.В. Цырлина, Т.Е. Порошина, Д.А. Васильев, Г.В. Зиновьев, Г.И. Гафтон, Л.М. Берштейн

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: evg.tsyrlina@gmail.com

Аннотация

Введение. Заболеваемость злокачественной меланомой и ее уровень смертности в последние десятилетия неуклонно растут, что делает актуальным разработку дополнительных маркеров диагностики этой патологии. **Цель исследования** – оценить, сопровождается ли развитие меланомы до проведения какого-либо лечения изменениями на уровне организма и, в частности, повреждением ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов. **Материал и методы.** У 93 пациентов, поступивших в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» для оперативного лечения меланомы кожи, и 118 здоровых лиц в качестве группы сравнения методом «комет» была исследована степень повреждения ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови. В группу пациентов было включено 26 мужчин и 67 женщин с опухолями T1c-2a-b-3a-b-4a-bN0-1,M0-1 стадии. В процессе анализа все больные были разделены в зависимости от сроков обследования на две группы: 1-я группа – 45 пациентов (13 мужчин и 32 женщины), обследованных до каких-либо лечебных вмешательств; 2-я группа – 48 пациентов (13 мужчин и 35 женщин), предварительно получивших нерадикальное лечение в виде биопсии меланомы. **Результаты.** Показано, что степень повреждения ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови, выявленная методом «комет», у пациентов с меланомой достоверно выше, чем в группе сравнения. Причем это повышение было близким по величине как у пациентов с первичной опухолью до начала каких-либо лечебных воздействий, так и у тех, кому предварительно была сделана попытка нерадикального удаления новообразования. Выявлена определенная зависимость степени повреждения ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови от морфологической характеристики опухоли: так, при расчете корреляций по Спирмену все показатели, определяющие повреждение ДНК, хотя и слабо, но положительно коррелировали с толщиной меланомы по индексу Бреслоу, а процент ДНК в комете и момент хвоста кометы коррелировали и со стадией заболевания. **Заключение.** Развитие меланомы кожи сопровождается повышением степени повреждения ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови. Степень повреждения ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови отражает изменения, происходящие в организме пациента под влиянием опухолевого процесса, что, возможно, позволит использовать этот показатель как дополнительный критерий диагностики и агрессивности меланомы.

Ключевые слова: меланома, повреждение ДНК, мононуклеарные клетки периферической крови, метод «комет».

DNA DAMAGE IN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS IN PATIENTS WITH MELANOMA

E.V. Tsyrlina, T.E. Poroshina, D.A. Vasiliev, G.V. Zinoviev, G.I. Gafton, L.M. Berstein

N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia
68, Leningradskaya St., 197758, St. Petersburg, Russia. E-mail: evg.tsyrlina@gmail.com

Abstract

Introduction. The incidence and mortality of malignant melanoma have increased steadily over the last decades; therefore, the development of novel diagnostic markers for malignant melanoma is of great importance. **The purpose of the study** was to assess whether the development of melanoma before any treatment is accompanied by the body changes and, in particular, DNA damage in the mononuclear cells of the peripheral blood of patients. **Material and Methods.** In 93 patients (26 men and 67 women) admitted to the N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology for surgical treatment of stage T1c-2a-b-3a-b-4a-bN0-1 cutaneous malignant melanoma, and in 118 healthy people as a comparison group, the level of damage to DNA in peripheral blood mononuclear cells was studied using the "comet" method. All patients were divided into two groups: group 1 included 45 patients (13 men and 32 women) who were examined before a decision on treatment was made and group 2 consisted of 48 patients (13 men and 35 women) who previously underwent excision biopsy for melanoma. **Results.** The level of DNA damage in peripheral blood mononuclear cells, assessed by the comet assay, was found to be significantly higher in patients with melanoma than in the comparison group. Moreover, the increase in the level of DNA damage was similar both in patients with a primary tumor before starting any treatment and in those who previously underwent excision biopsy for melanoma. The relationship between the level of DNA damage in peripheral blood mononuclear cells and the morphological characteristics of the tumor cells was revealed. The Spearman correlation analysis showed that all parameters that determined DNA damage positively correlated with the thickness of melanoma according to the Breslow's depth, and the percentage of DNA in the comet and the comet tail moment correlated with the stage of the disease. **Conclusion.** The development of cutaneous melanoma is accompanied by an increase in the level of DNA damage in peripheral blood mononuclear cells. The level of DNA damage in peripheral blood mononuclear cells reflects the changes that occur in the patient's body under the influence of the tumor process, which may allow using this indicator as an additional criterion for the diagnosis and aggressiveness of melanoma.

Key words: melanoma, DNA damage, mononuclear cells, comet method.

Введение

Учитывая, что заболеваемость злокачественной меланомой и ее уровень смертности в последние десятилетия неуклонно растут [1], актуальными являются разработка дополнительных критериев оценки изменений, происходящих в организме больного, которые в последующем можно было бы связать с агрессивностью опухолевого процесса и эффективностью лечения. Среди параметров, связанных с развитием злокачественных опухолей и заслуживающих внимания, есть основания выделить такой показатель, как степень повреждения ДНК [2, 3]. Повреждение ДНК, возникающее в клетках организма, приводит к развитию геномной нестабильности и является во многих случаях первым шагом в процессах канцерогенеза, развития основных неинфекционных заболеваний, ускоренного старения и смерти [4–6]. Ведущая роль в развитии генотоксического эффекта принадлежит накапливающимся в клетках активным формам кислорода и азота, которые вызывают повреждение ДНК и эпигеномные изменения, приво-

дящие в совокупности к возникновению мутаций и геномной нестабильности [7, 8]. В результате в злокачественных опухолях накапливается большое количество клеток с поврежденной ДНК [9], которые могут служить «маркером» течения, прогноза и чувствительности злокачественных новообразований к терапии [10].

Одним из распространенных методов оценки степени повреждения ДНК в клетке является метод «комет», который позволяет оценить повреждение ДНК даже в единичных клетках [11–13]. Теория, лежащая в основе этого метода, заключается в том, что обработка щелочью поврежденной ДНК вызывает разрывы ее цепей. Если ДНК в клетке сохраняет свою структуру, она сильно свернута и при растворении ядерной мембраны не перемещается, как правило, через такую подложку, как агароза. Поврежденная фрагментированная ДНК может легче мигрировать, перемещаясь к положительно заряженному аноду, образуя структуру, напоминающую хвост кометы [14]. Из-за частого сочетания повышенного уровня повреждения ДНК

и снижения способности к ее репарации опухолевые клетки накапливают от сотен до тысяч геномных aberrаций [15, 16], что может быть использовано в качестве маркера злокачественной опухоли [17, 18]. Исследование повреждения ДНК методом «комет» в клетках рака молочной железы показало, что самая высокая степень повреждения выявлена в наиболее агрессивном, трижды негативном раке, а самая низкая – в люминальном типе опухоли, который характеризуется благоприятным течением и высокой чувствительностью к лечению [19]. В клетках рака шейки матки уровень повреждения ДНК, оцененный по проценту «комет», был значимо выше, чем в контроле, и, что важно, он коррелировал с прогрессированием опухолевого процесса [20].

Важным при этом является тот факт, что такие параметры, как высокий уровень окислительного и репликативного стресса, потеря или подавление контрольных точек клеточного цикла, вызванных повреждением ДНК, способствуют созданию среды, богатой источниками повреждения ДНК [21, 22], и это повреждение возникает не только в опухоли, но и в других клетках организма и, в частности, в мононуклеарных клетках периферической крови (МКПК). Показано, что повреждение ДНК в МКПК у пациентов с немелкоклеточным раком легких, определенное по величине «хвоста кометы», выше, чем у здоровых людей [23]. Аналогичные данные получены в отношении пациентов с опухолью мочевого пузыря, причем авторы предположили, что определение «комет» может представлять собой в данном случае прогностический маркер, указывающий на возможность плохой выживаемости [24, 25].

Связь степени повреждения ДНК, оцененной методом «комет», выявлена не только с заболеваемостью злокачественными опухолями и агрессивностью их течения, но и с общей смертностью. В работе S. Bonassi et al. у 2 403 здоровых индивидуумов в период между 1996 и 2016 гг. определены такие параметры «комет» МКПК, как длина хвоста кометы, момент хвоста и % ДНК в хвосте кометы. К концу исследования зафиксирована гибель 308 человек из группы обследованных. Наиболее частой причиной смерти были злокачественные опухоли ($n=108$) и сердечно-сосудистая патология ($n=77$). По полученным данным, в группе людей, впоследствии умерших, и у тех, у кого были выявлены злокачественные опухоли, уже исходные средние значения параметров «комет» оказались выше. Причем если основные показатели повреждения ДНК имели только тенденцию к повышению, то уровень ДНК в хвосте кометы был статистически достоверно выше как у умерших (18,0 против 9,0 %, $p<0,001$), так и у заболевших раком (17,7 против 12,4 %, $p<0,019$). При использовании статистического анализа Kaplan–Meier показано, что риск смерти выше для обследованных, отнесенных к среднему и верхнему тертилю повреждения

ДНК [26]. Изменения в структуре ДНК, которые возникают в МКПК, могут как отражать общий генотоксический фон организма, так и быть следствием влияния собственно опухоли. Известно, что опухоль может оказывать повреждающее действие на различные системы организма. Вероятно, чем более агрессивным является этот процесс, тем более выраженным может быть это повреждение.

Одним из примеров возможного влияния опухоли на организм является кахексия, которая рассматривается как мультифакторный синдром, включающий изменения в различных метаболических системах и тканях. Влияние опухоли на организм осуществляется за счет таких вырабатываемых опухолью соединений, как воспалительные цитокины (фактор некроза опухоли- α и интерлейкин-6), белки острой фазы и маркеры деградации скелетных мышц [27]. Необходимо также упомянуть роль гормонов в этом процессе [28] и, в частности, повышение уровня глюкагона и глюкокортикоидов [29].

Повреждение ДНК в тканях организма при развитии злокачественной опухоли может происходить и при участии микроРНК (миРНК). миРНК, класс малых регуляторных РНК, снижают способность к репарации ДНК и повышают ее чувствительность к повреждающим агентам [30, 31]. В частности, такие миРНК (miRs), как miR-18b и miR-21, имеют отношение к развитию и прогрессии злокачественной меланомы [32]. Можно предполагать, что в этом процессе определенная роль принадлежит и экзосомам, которые являются продуктами различных типов клеток организма, включая и опухолевые, и обнаруживаются во всех жидких фазах – в крови, слюне, моче и молоке [33]. Экзосомы участвуют в передаче информации от клетки к клетке как между нормальными клетками, так и опухолевыми и оказывают влияние на пролиферацию клеток, иммунный ответ, на ангиогенез, развитие метастазов и чувствительность опухоли к лекарственной терапии [34, 35].

В предшествующем исследовании, проведенном в лаборатории [36], было показано, что повреждение ДНК МКПК, выявленное методом «комет» у пациентов с метастатической меланомой кожи, может рассматриваться как признак агрессивности опухолевого процесса и его чувствительности к иммунотерапии ниволумабом. С целью поиска дополнительных критериев оценки прогноза течения первичной меланомы кожи в настоящем исследовании проведено сопоставление степени повреждения ДНК в мононуклеарах периферической крови с клиническими и морфологическими параметрами опухоли.

Цель исследования – оценить, сопровождается ли развитие меланомы до проведения какого-либо лечения изменениями на уровне организма и, в частности, повреждением ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов.

Материал и методы

В исследование включены 93 пациента, поступившие в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России для оперативного лечения меланомы кожи, и 118 здоровых лиц в качестве группы сравнения (табл. 1). Все пациенты и обследованные в группе сравнения подписывали информированное согласие на определение у них степени повреждения ДНК в МНПК методом «комет». Исследование было одобрено комитетом по этике ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Учитывая, что у части больных до проведения оперативного лечения в НИИ онкологии была произведена биопсия меланомы, все пациенты были разделены на две группы: 1-я группа включала первичных пациентов, обследованных до каких-либо лечебных воздействий, ко 2-й группе отнесены больные, которым предварительно была произведена биопсия новообразования. В последующем у 45 пациентов получены данные о ремиссии, у 48 больных такие сведения отсутствовали. В качестве группы сравнения обследовано 118 человек, которые были разделены по возрасту – до 35 лет и после 37 лет.

У всех лиц, включенных в исследование, определяли содержание ДНК-комет в мононуклеарных клетках периферической крови. Для получения фракции мононуклеарных клеток кровь, взятую в пробирки с ЭДТА, наслаивали на градиент плотности фиколла/верографина (1,077 г/мл), затем пробирки центрифугировали 30 мин при скорости 1200 об/мин; после центрифугирования клетки отмывали три раза физиологическим раствором

с 0,001М фосфатным буфером. Для исследования повреждения ДНК использовали протокол метода, описанный V.J. McKelvey-Martin et al. [37]. Этот метод основан на лизисе клеток в щелочной среде с последующим электрофорезом в слое агарозы в постоянном электрическом поле и окрашиванием препаратов флуоресцентным красителем (в нашем исследовании – DAPI). Согласно этому методу, мононуклеарные клетки разрушаются в щелочной среде и поврежденная ядерная ДНК под влиянием электрического тока выходит из клетки, создавая электрофоретический след фрагментов ДНК в виде «кометы». Хвост «кометы» содержит поврежденную ДНК. Длина следа фрагментов (хвоста кометы) и доля ДНК в хвосте связаны со степенью повреждения ДНК клетки. Форма и размеры клеток оценивались визуально в процессе микроскопии и затем измерялись по программе CASPS (Comet Score, TriTek Corp. USA). «Кометой», на основании наших предварительных расчетов, считается клетка, в хвосте которой содержится >4,5 % ДНК. В индивидуальных клетках определялись следующие показатели: длина хвоста «кометы», % ДНК в хвосте, момент хвоста «кометы» (произведение длины хвоста «кометы» на долю ДНК в нем) и процент «комет». Описанный метод доступен в исполнении, чувствителен к оценке и в связи с этим может быть широко адаптирован к исследованию различных патологических процессов [38, 39].

Статистический анализ производился с помощью пакета программ Statistica 12. При оценке показателей с помощью описательной статистики было выявлено отклонение от нормального рас-

Таблица 1/Table 1

Характеристика пациентов и здоровых людей (группа сравнения), включенных в исследование Characteristics of patients and healthy people (comparison group)

Группа/Group	Пол/ Sex	Число обследованных/ Number of exam- ined	Возраст/ Age	Стадия опухоли/ Tumor stage	Длительность ремиссии, мес/ Remission duration, months
1	Муж/Men	13	64,0 (50,0; 72,0)	T1c-2a-b-3a-b-4a-bN0-1,M0-1	10,5 (8,0; 12,0) n=20
	Жен/ Women	32	59,5 (46,0; 68,0)		
2	Муж/Men	13	60,0 (49,0; 67,0)	Tx-1a-2a-b-3a-b-4a-bN0-1,M0-1	12,0 (8,0; 12,0) n=25
	Жен/ Women	35	53,0 (45,0; 64,0)		
Контроль молодой/ The control of the young group	Муж/Men	13	26,0 (25,0; 28,0)		
	Женщ/ Women	34	25,0 (23,0; 30,0)		
Контроль пожилой/ The control of the elderly group	Муж/Men	22	56,0 (45,0; 74,0)		
	Жен/ Women	49	59,0 (48,0; 64,0)		

Примечание: группа 1 – пациенты до начала лечения; группа 2 – пациенты, прооперированные предварительно нерадикально.

Note: group 1 – patients before starting treatment; group 2 – patients who previously underwent excision biopsy.

пределения. В связи с этим данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха, а достоверность различий определяли непараметрическими методами: Манна–Уитни и Спирмена.

Результаты

Показано, что больные с первичной меланомой до оперативного лечения и те, кто был предварительно прооперирован нерадикально, по сравнению с группой контроля имели более высокий уровень повреждения ДНК, определенный методом комет в МКПК (табл. 2). При обсчете данных по Манну–Уитни различие всех параметров, характеризующих повреждение ДНК: длина хвоста кометы, момент хвоста, процент ДНК в хвосте и процента комет – было статистически достоверным как для первичных пациентов до начала лечения, так и для тех, кто до обращения в Институт онкологии был прооперирован нерадикально (табл. 2). При этом эти две группы больных по обследованным параметрам не различались между собой.

Также проведен анализ степени повреждения ДНК в МКПК в зависимости от локализации опухоли, при котором значимых различий не выявлено. Единственное наблюдение, которое можно было отметить, это тенденция к связи между локализацией опухоли и процентом комет, который при расположении меланомы на туловище составил 22,0 (16,00; 27,00), при локализации на нижней конечности – 19,0 (8,00; 28,00), а на верхней

конечности – 11,5 (5,00; 28,00). Представленное наблюдение согласуется с данными литературы, в которых показано, что локализация первичной меланомы на туловище характеризуется худшим прогнозом [40].

Важно отметить, что выявлена определенная зависимость степени повреждения ДНК в МКПК от морфологической характеристики опухоли. Так, при расчете корреляций по Спирмену все показатели, определяющие повреждение ДНК, хотя и слабо, но положительно коррелировали с толщиной меланомы по индексу Бреслоу, а процент ДНК в комете и момент хвоста кометы коррелировали и со стадией заболевания (табл. 3).

Накопление повреждений ДНК и возникновение возрастных заболеваний связывают с процессом старения [41]. В данном исследовании связь между возрастом и степенью повреждения ДНК в МКПК была проанализирована у здоровых людей. В «молодой» и «пожилой» группах были сопоставлены % ДНК и % комет. В молодом возрасте % ДНК в комете составил 2,9 (0,01; 11,80) и % комет – 7,4 (0,01; 26,01). У лиц пожилого возраста % ДНК был равен 3,2 (0,01; 20,10), % комет – 10,0 (0,00; 51,00). На основании этих результатов можно говорить о том, что с возрастом увеличивается количество клеток, в которых имеет место повреждение ДНК. Однако связь с возрастом не была достоверной.

Таким образом, можно считать, что развитие опухолевого процесса оказывает более выра-

Таблица 2/Table 2

Параметры, характеризующие степень повреждения ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с меланомой в зависимости от сроков обследования и в группе сравнения (контроль)

Parameters characterizing the level of DNA damage in peripheral blood mononuclear cells in patients with melanoma and in the comparison group (control)

Параметры/Parameters	Группа 1/ Group 1 (n=45)	Группа 2/ Group 2 (n=48)	Контроль/ Control (n=71)	U (p)
Возраст (лет)/ Age (years)*	61,0 (48,0; 68,0)	52,5 (45,0; 65,0)	59,0 (48,0; 68,0)	a) 891,0* b) 1535,0* c) 1452,0*
Длина хвоста (пиксели)/ Tail length (pixels)*	13,4 (7,32; 21,36)	13,0 (7,53; 21,75)	6,1 (1,27; 12,69)	a) 1001,0* b) 937,0** c) 916,5**
% ДНК/ % DNA*	7,0 (2,33; 9,89)	6,5 (3,49; 10,50)	2,4 (0,40; 4,81)	a) 1045,0* b) 776,0** c) 741,0**
Момент хвоста (усл. ед.)/ Tail moment (arb. units)*	5,5 (1,64; 7,90)	4,6 (2,18; 8,28)	2,1 (0,17; 4,87)	a) 1056,0* b) 915,5** c) 924,5**
% Комет/ % of Comets*	21,0 (8,00; 28,00)	22,5 (11,50; 29,00)	9,0 (2,00; 15,00)	a) 948,5* b) 800,5** c) 694,0**

Примечание: группа 1 – пациенты до начала лечения; группа 2 – пациенты прооперированные предварительно нерадикально; * – $p > 0,1$; ** – $p < 0,0001$; а) – сравнение группа 1/группа 2; б) – сравнение группа 1/контроль; в) – сравнение группа 2/контроль; U – критерий Манна–Уитни.

Note: group 1 – patients before starting treatment; group – 2 patients who previously underwent excision biopsy; * – $p > 0,1$; ** – $p < 0,0001$; а) – comparison group 1/group 2; б) – comparison group 1/control; в) comparison group 2/control; U – Mann–Whitney test.

Таблица 3/Table 3

Коэффициент корреляции по Спирмену, характеризующий сопоставление данных повреждения ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови и морфологических параметров меланомы
Spearman correlation coefficient characterizing the comparison of DNA damage data in peripheral blood mononuclear cells and morphological parameters of melanoma

Показатели комет/ Comet indicators	Коэффициент корреляции по Спирмену, U/Spearman correlation coefficient, U			
	Уровень инвазии меланомы по Кларку/ Clarke's level of melanoma invasion	Толщина опухоли по Бреслоу/ Tumor thickness according to Breslow	Диаметр опухоли/ Tumor diameter	Стадия/ Stage
Длина хвоста (пиксели)/ Tail length (pixels)	0,04	0,35 *	0,13	0,16
% ДНК/ % DNA	0,05	0,38 *	0,12	0,21*
Момент хвоста (усл.ед.)/ Tail moment (arb. units)	0,06	0,38*	0,13	0,21*
% Комет/ % of Comets	-0,02	0,30*	0,15	0,15

Примечание: * – $p < 0,05$.

Note: * – $p < 0.05$.

Таблица 4/Table 4

Связь степени повреждения ДНК и длительности ремиссии
The relationship between the level of DNA damage and the duration of remission

Параметры/Parameters	Длительность ремиссии/Remission duration		P
	≤10 мес/≤10 month 8,0 (5,00; 9,00)	>10 мес/>10 month 12,00 (12,00; 15,00)	
Число наблюдений/Number of observations	22	23	
Возраст (годы)/Age (years)	57,6 (46,0–66,0)	71,5 (65,0–74,0)	0,9
Длина хвоста/Tail length	12,9 (7,39–23,20)	10,4 (7,57–20,23)	0,7
% ДНК/ % DNA	7,4 (3,56–12,28)	5,7 (3,20–10,04)	0,7
Момент хвоста (усл. Ед)/Tail moment (arb. units)	5,4 (2,40–11,47)	4,2 (2,34–8,19)	0,6
% Комет/ % of Comets	22,5 (9,00–29,00)	18,0 (11,00–29,00)	0,9

женное повреждающее действие на ДНК в различных клетках организма, включая МКПК, чем гормонально-метаболические нарушения, возникающие в процессе старения и не сопровождающиеся развитием злокачественной опухоли.

Проведено сопоставление параметров, характеризующих повреждение ДНК, и длительности ремиссии. У пациентов, оперированных повторно и имевших длительность ремиссии меньше 10 мес, все показатели, характеризующие повреждение ДНК, были несколько выше, чем у тех, кто имел ремиссию больше 10 мес, но различия не достигали достоверного уровня (табл 4). Следует отметить, что эти группы различались по возрасту. Медиана возраста пациентов с ремиссией менее 10 мес составила 57,6 (46,00; 66,00) года, при ремиссии больше 10 мес – 71,5 (65,00; 74,00) года (табл. 4).

Обсуждение

Основной результат, полученный в исследовании, показал, что метод «комет» позволяет выявить степень повреждения ДНК в клетках пациентов со злокачественной опухолью, в данном случае меланомой. Это подтверждают данные исследований, выполненных при других новообразованиях,

показавшие, что благодаря чувствительности и экономической эффективности метод «комет» может служить маркером генотоксичности, оксидативного стресса и других метаболических сдвигов, связанных с развитием опухоли и ее изменением под влиянием лечения [2, 13]. Несомненным резервом является в этой области способность ДНК к репарации, что обоснованно связывают с будущими перспективами индивидуальной профилактики или лечения опухолевого процесса [42].

Описана связь степени повреждения ДНК с эффективностью проводимого лечения меланомы. Степень повреждения ДНК и как следствие этого количество мутаций в опухоли коррелировали с ответом на блокаду иммунных точек у пациентов с метастатической меланомой, получавших CTLA-4-блокирующие антитела ипилиумаб или тремелиумаб [43]. В исследовании, выполненном в нашей лаборатории, установлено, что чувствительность меланомы к ниволумабу, препарату, который блокирует рецептор программируемой смерти (PD-1), была выше, если степень повреждения ДНК в МКПК была выражена меньше [36].

Учитывая, что эффективность таргетных препаратов сильно варьирует, в т.ч. и у больных с

меланомой, важен поиск дополнительных клинических критериев, позволяющих прогнозировать эффективность терапии. В то же время стоит учитывать, что при использовании теста комет для оценки эффективности противоопухолевой терапии величина степени повреждения ДНК МКПК может являться отражением как изменений, происходящих в опухоли под влиянием проводимого лечения, так и быть результатом собственно токсического действия лекарственных препаратов на моноклеточные клетки периферической крови.

Изменения в ДНК в МКПК у пациентов со злокачественной опухолью являются либо следствием общих генотоксических воздействий, происходящих в организме онкологического пациента, либо,

что представляется также вероятным, влиянием опухоли. Подтверждением последней точки зрения может служить выявленная в данном исследовании положительная корреляция степени повреждения ДНК и глубины инвазии меланомы по Бреслоу.

Заключение

Развитие меланомы кожи сопровождается повышением степени повреждения ДНК в моноклеточных клетках периферической крови. Все параметры, характеризующие степень повреждения ДНК в моноклеточных клетках периферической крови, положительно коррелируют с глубиной инвазии меланомы по Бреслоу.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Leiter U., Keim U., Garbe C. Epidemiology of Skin Cancer: Update 2019. *Adv Exp Med Biol.* 2020; 1268: 123–39. doi: 10.1007/978-3-030-46227-7_6.
2. Pilié P.G., Tang C., Mills G.B., Yap T.A. State-of-the-art strategies for targeting the DNA damage response in cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019; 16(2): 81–104. doi: 10.1038/s41571-018-0114-z.
3. Kuchařová M., Hronek M., Rybáková K., Zadák Z., Štětina R., Josková V., Patková A. Comet assay and its use for evaluating oxidative DNA damage in some pathological states. *Physiol Res.* 2019; 68(1): 1–15. doi: 10.33549/physiolres.933901.
4. Burrell R.A., McClelland S.E., Endesfelder D., Groth P., Weller M.C., Shaikh N., Domingo E., Kanu N., Dewhurst S.M., Gronroos E., Chew S.K., Rowan A.J., Schenk A., Sheffer M., Howell M., Kschischo M., Behrens A., Helleday T., Bartek J., Tomlinson I.P., Swanton C. Replication stress links structural and numerical cancer chromosomal instability. *Nature.* 2013; 494(7438): 492–6.
5. Wilhelm T., Olziersky A.M., Harry D., De Sousa F., Vassal H., Eskat A., Meraldi P. Mild replication stress causes chromosome mis-segregation via premature centriole disengagement. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 3585. doi: 10.1038/s41467-019-11584-0.
6. Lugović L., Situm M., Kos L. Malignant melanoma—future prospects. *Acta Dermatovenereol Croat.* 2005; 13(1): 36–43.
7. Valavanidis A., Vlachogianni T., Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009; 27(2): 120–39. doi: 10.1080/10590500902885684.
8. Khosla L., Gong S., Weiss J.P., Birder L.A. Oxidative Stress Biomarkers in Age-Related Lower Urinary Tract Disorders: A Systematic Review. *Int Neurourol J.* 2022; 26(1): 3–19. doi: 10.5213/inj.2142188.094.
9. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011; 144(5): 646–74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
10. Pearl L.H., Schierz A.C., Ward S.E., Al-Lazikani B., Pearl F.M. Therapeutic opportunities within the DNA damage response. *Nat Rev Cancer.* 2015; 15(3): 166–80. doi: 10.1038/nrc3891.
11. Milić M., Frustaci A., Del Bufalo A., Sánchez-Alarcón J., Valencia-Quintana R., Russo P., Bonassi S. DNA damage in non-communicable diseases: A clinical and epidemiological perspective. *Mutat Res.* 2015; 776: 118–27. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2014.11.009.
12. Möller P., Stopper H., Collins A.R. Measurement of DNA damage with the comet assay in high-prevalence diseases: current status and future directions. *Mutagenesis.* 2020; 35(1): 5–18. doi: 10.1093/mutage/gez018.
13. Azqueta A., Ladeira C., Giovannelli L., Boutet-Robinet E., Bonassi S., Neri M., Gajski G., Duthie S., Del Bo' C., Riso P., Koppen G., Basaran N., Collins A., Möller P. Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2020; 783. doi: 10.1016/j.mrrev.2019.108288.
14. Sykora P., Witt K.L., Revanna P., Smith-Roe S.L., Dismukes J., Lloyd D.G., Engelward B.P., Sobol R.W. Next generation high throughput DNA damage detection platform for genotoxic compound screening. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 2771. doi: 10.1038/s41598-018-20995-w.
15. Lawrence M.S., Stojanov P., Mermel C.H., Robinson J.T., Garraway L.A., Golub T.R., Meyerson M., Gabriel S.B., Lander E.S., Getz G. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature.* 2014; 505(7484): 495–501.
16. Mouw K.W., Goldberg M.S., Konstantinopoulos P.A., D'Andrea A.D. DNA Damage and Repair Biomarkers of Immunotherapy Response. *Cancer Discov.* 2017; 7(7): 675–93. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0226.
17. Perkhof L., Gout J., Roger E., Kude de Almeida F., Baptista Simões C., Wiesmüller L., Seufferlein T., Kleger A. DNA damage repair as a target in pancreatic cancer: state-of-the-art and future perspectives. *Gut.* 2021; 70(3): 606–17. doi: 10.1136/gutjnl-2019-319984.
18. Duijff P.H.G., Nanayakkara D., Nones K., Srihari S., Kalimutho M., Khanna K.K. Mechanisms of Genomic Instability in Breast Cancer. *Trends Mol Med.* 2019; 25(7): 595–611. doi: 10.1016/j.molmed.2019.04.004.
19. Galardi F., Oakman C., Truglia M.C., Cappadona S., Biggeri A., Grisotto L., Giovannelli L., Bessi S., Giannini A., Biganzoli L., Santarpia L., Di Leo A. Inter- and intra-tumoral heterogeneity in DNA damage evaluated by comet assay in early breast cancer patients. *Breast.* 2012; 21(3): 336–42. doi: 10.1016/j.breast.2012.02.007.
20. Cortés-Gutiérrez E.I., Hernández-Garza F., García-Pérez J.O., Dávila-Rodríguez M.I., Aguado-Barrera M.E., Cerda-Flores R.M. Evaluation of DNA single and double strand breaks in women with cervical neoplasia based on alkaline and neutral comet assay techniques. *J Biomed Biotechnol.* 2012. doi: 10.1155/2012/385245.
21. Burrell R.A., McClelland S.E., Endesfelder D., Groth P., Weller M.C., Shaikh N., Domingo E., Kanu N., Dewhurst S.M., Gronroos E., Chew S.K., Rowan A.J., Schenk A., Sheffer M., Howell M., Kschischo M., Behrens A., Helleday T., Bartek J., Tomlinson I.P., Swanton C. Replication stress links structural and numerical cancer chromosomal instability. *Nature.* 2013; 494(7438): 492–6.
22. Wilhelm T., Said M., Naim V. DNA Replication Stress and Chromosomal Instability: Dangerous Liaisons. *Genes (Basel).* 2020; 11(6): 642. doi: 10.3390/genes11060642.
23. Fikrova P., Stetina R., Hrnčiarik M., Hrnčiariková D., Hronek M., Zadák Z. DNA crosslinks, DNA damage and repair in peripheral blood lymphocytes of non-small cell lung cancer patients treated with platinum derivatives. *Oncol Rep.* 2014; 31(1): 391–6. doi: 10.3892/or.2013.2805.
24. Allione A., Pardini B., Viberti C., Odera M., Allasia M., Gontero P., Vineis P., Sacerdote C., Matullo G. The prognostic value of basal DNA damage level in peripheral blood lymphocytes of patients affected by bladder cancer. *Urol Oncol.* 2018; 36(5). doi: 10.1016/j.urolonc.2018.01.006.
25. Sestakova Z., Kalavská K., Smolkova B., Miskovska V., Rejlekova K., Sycova-Mila Z., Palacka P., Obertova J., Holickova A., Hurbanova L., Jurkovicova D., Roska J., Goffa E., Svetlovskaya D., Chovanec M., Mardiac J., Mego M., Chovanec M. DNA damage measured in blood cells predicts overall and progression-free survival in germ cell tumour patients. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2020. doi: 10.1016/j.mrgentox.2020.503200.
26. Bonassi S., Ceppi M., Möller P., Azqueta A., Milić M., Neri M., Brunborg G., Godschalk R., Koppen G., Langie S.A.S., Teixeira J.P., Bruzone M., Da Silva J., Benedetti D., Cavallo D., Ursini C.L., Giovannelli L., Moretti S., Riso P., Del Bo' C., Russo P., Dobrzyńska M., Goroshinskaya I.A., Surikova E.I., Staruchova M., Barančokova M., Volkovova K., Kažimirova A., Smolkova B., Laffon B., Valdiglesias V., Pastor S., Marcos R., Hernández A., Gajski G., Spremo-Potparević B., Živković L., Boutet-Robinet E., Perdriy H., Leblailly P., Perez C.L., Basaran N., Nemeth Z., Safar A., Dusinska M., Collins A.; hCOMET project. DNA damage in circulating leukocytes measured with the comet assay may predict the risk of death. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 16793. doi: 10.1038/s41598-021-95976-7.
27. Loumaye A., Thissen J.P. Biomarkers of cancer cachexia. *Clin Biochem.* 2017; 50(18): 1281–8. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2017.07.011.
28. Chesnokova V., Melmed S. Peptide Hormone Regulation of DNA Damage Responses. *Endocr Rev.* 2020; 41(4): 519–37. doi: 10.1210/edrv/bnaa009.

29. Argilés J.M., Busquets S., Stemmler B., López-Soriano F.J. Cancer cachexia: understanding the molecular basis. *Nat Rev Cancer*. 2014; 14(11): 754–62. doi: 10.1038/nrc3829.
30. Wan G., Mathur R., Hu X., Zhang X., Lu X. miRNA response to DNA damage. *Trends Biochem Sci*. 2011; 36(9): 478–84. doi: 10.1016/j.tibs.2011.06.002.
31. Visser H., Thomas A.D. MicroRNAs, damage levels, and DNA damage response control. *Trends Genet*. 2021; 37(11): 963–5. doi: 10.1016/j.tig.2021.06.018.
32. Yang C., Xia Z., Zhu L., Li Y., Zheng Z., Liang J., Wu L. MicroRNA-139-5p modulates the growth and metastasis of malignant melanoma cells via the PI3K/AKT signaling pathway by binding to IGF1R. *Cell Cycle*. 2019; 18(24): 3513–24. doi: 10.1080/15384101.2019.1690881.
33. Chung I.M., Rajakumar G., Venkidasamy B., Subramanian U., Thiruvengadam M. Exosomes: Current use and future applications. *Clin Chim Acta*. 2020; 500: 226–32. doi: 10.1016/j.cca.2019.10.022.
34. Gowda R., Robertson B.M., Iyer S., Barry J., Dinavahi S.S., Robertson G.P. The role of exosomes in metastasis and progression of melanoma. *Cancer Treat Rev*. 2020; 85. doi: 10.1016/j.ctrv.2020.101975.
35. Khan A.Q., Akhtar S., Prabhu K.S., Zarif L., Khan R., Alam M., Buddenkotte J., Ahmad A., Steinhoff M., Uddin S. Exosomes: Emerging Diagnostic and Therapeutic Targets in Cutaneous Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(23): 9264. doi: 10.3390/ijms21239264.
36. Цырлина Е.В., Порошина Т.Е., Оганесян А.П., Проценко С.А., Берштейн Л.М. Повреждение ДНК мононуклеарных клеток периферической крови, выявленное методом «комет», как возможный показатель чувствительности меланомы к иммунотерапии ниволумабом. *Сибирский онкологический журнал*. 2021; 20(2): 37–45. [Tsyrlina E.V., Poroshina T.E., Oganesyanyan A.P., Protsenko S.A., Bershtein L.M. Peripheral blood mononuclear dna damage identified by the «comet» method, as a possible indicator of sensitivity of melanoma to immunotherapy with nivolumab. *Siberian Journal of Oncology*. 2021; 20(2): 37–45. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-2-37-45.
37. McKelvey-Martin V.J., Green M.H., Schmezer P., Pool-Zobel B.L., De Mèo M.P., Collins A. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review. *Mutat Res*. 1993; 288(1): 47–63. doi: 10.1016/0027-5107(93)90207-v.
38. Milic M., Frustaci A., Del Bufalo A., Sánchez-Alarcón J., Valencia-Quintana R., Russo P., Bonassi S. DNA damage in non-communicable diseases: A clinical and epidemiological perspective. *Mutat Res*. 2015; 776: 118–27. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2014.11.009.
39. Møller P. Measurement of oxidatively damaged DNA in mammalian cells using the comet assay: Reflections on validity, reliability and variability. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2022; 873. doi: 10.1016/j.mrgentox.2021.503423.
40. Voinea S., Blidaru A., Panaitescu E., Sandru A. Impact of gender and primary tumor location on outcome of patients with cutaneous melanoma. *J Med Life*. 2016; 9(4): 444–8.
41. Shimizu I., Yoshida Y., Suda M., Minamino T. DNA damage response and metabolic disease. *Cell Metab*. 2014; 20(6): 967–77. doi: 10.1016/j.cmet.2014.10.008.
42. Vodička P., Vodenkova S., Opatova A., Vodikova L. DNA damage and repair measured by comet assay in cancer patients. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2019; 843: 95–110. doi: 10.1016/j.mrgentox.2019.05.009.
43. Snyder A., Makarov V., Merghoub T., Yuan J., Zaretsky J.M., Desrichard A., Walsh L.A., Postow M.A., Wong P., Ho T.S., Hollmann 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.

Поступила/Received 03.03.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 27.05.2022

Принята к публикации/Accepted 10.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Цырлина Евгения Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия). E-mail: evg.tsyrlina@gmail.com. SPIN-код: 8007-8528. Author ID (Scopus): 7005258238. ORCID: 0000-0002-0882-6697.

Порошина Татьяна Евгеньевна, кандидат биологических наук, биолог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 8939-3404. Author ID (Scopus): 6603943288. ORCID: 0000-0001-5558-5366.

Васильев Дмитрий Алексеевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 2250-4475. Researcher ID (WOS): G-4698-2019. Author ID (Scopus): 6602117724. ORCID: 0000-0002-4215-2948.

Зиновьев Григорий Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий хирургическим отделением опухолей костей, мягких тканей и кожи, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 3883-1380. Author ID (Scopus): 57215858104. ORCID: 0000-0003-1639-2443.

Гафтон Георгий Иванович, доктор медицинских наук, заведующий научным отделением, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 6795-2956. Researcher ID (WOS): O-7616-2015. ORCID: 0000-0003-3172-2201.

Берштейн Лев Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 2265-6757. Researcher ID (WOS): O-5714-2015. Author ID (Scopus): 7006060881. ORCID: 0000-0002-5112-3372.

ВКЛАД АВТОРОВ

Цырлина Евгения Владимировна: обработка и анализ полученных данных, составление драфта рукописи.

Порошина Татьяна Евгеньевна: выполнение метода «комет», анализ результатов лабораторных исследований.

Васильев Дмитрий Алексеевич: обработка и анализ полученных данных.

Зиновьев Григорий Владимирович: ведение пациентов, обсуждение полученных результатов.

Гафтон Георгий Иванович: обсуждение полученных результатов, редактирование рукописи.

Берштейн Лев Михайлович: существенный вклад в разработку концепции, редактирование последовательных вариантов рукописи и окончательное утверждение ее направленной в редакцию версии.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Evgenia V. Tsyrlina, MD, PhD, Leading Researcher, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). E-mail: evg.tsyrlina@gmail.com. Author ID (Scopus): 7005258238. ORCID: 0000-0002-0882-6697.

Tatyana E. Poroshina, PhD, Biologist, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 6603943288. ORCID: 0000-0001-5558-5366.

Dmitry A. Vasiliev, MD, PhD, Senior Researcher, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): G-4698-2019. Author ID (Scopus): 6602117724. ORCID: 0000-0002-4215-2948.

Grigory V. Zinoviev, MD, PhD, Head of Surgical Department of Bone, Soft Tissue and Skin Tumors, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 57215858104. ORCID: 0000-0003-1639-2443.

Georgy I. Gafton, MD, DSc, Head of Scientific Department, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): O-7616-2015. ORCID: 0000-0003-3172-2201.

Lev M. Bershtein, MD, DSc, Professor, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): O-5714-2015. Author ID (Scopus): 7006060881. ORCID: 0000-0002-5112-3372.

AUTHOR CONTRIBUTION

Evgenia V. Tsyrlina: data processing and analysis, drafting of the manuscript.

Tatyana E. Poroshina: implementation of the “comet” method, analysis of the results of laboratory studies.

Dmitry A. Vasiliev: data processing and analysis.

Grigory V. Zinoviev: management of patients, discussion of the results.

Georgy I. Gafton: discussion of the obtained results, editing of the manuscript.

Lev M. Bershtein: significant contribution to the development of the concept, editing of successive versions of the manuscript and the final approval of its version.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-42-49
УДК: 616.155.14:616-006:612.017

Для цитирования: Козлов В.А., Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П., Селедцов В.И. Противоопухолевые свойства ядерных эритроидных клеток. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 42–49. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-42-49

For citation: Kozlov V.A., Seledtsova G.V., Dorzhieva A.B., Ivanova I.P., Seledtsov V.I. Antitumor properties of nuclear erythroid cells. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 42–49. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-42-49

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА ЯДЕРНЫХ ЭРИТРОИДНЫХ КЛЕТОК

В.А. Козлов¹, Г.В. Селедцова¹, А.Б. Доржиева¹, И.П. Иванова¹,
В.И. Селедцов²

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия¹

Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14. E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru¹

ФГБНУ «Центральная клиническая больница РАН», г. Москва, Россия²

Россия, 117593, г. Москва, Литовский бульвар, 1А²

Аннотация

Целью исследования явилось изучение супрессорной и/или цитотоксической активности ядерных эритроидных клеток (ЯЭК) в отношении опухолевых клеток различного происхождения. **Материал и методы.** В работе использованы мыши линии С57Bl/6, клетки опухолевых линий Р815, L1210, В16 и L929. «Фенилгидразиновые» ЯЭК получали от мышей с индуцированной гемолитической анемией. «Эритропоэтиновые» ЯЭК выделяли из «фенилгидразиновой селезенки» и далее культивировали в присутствии эритропоэтина. Еще одним источником ЯЭК были селезенки новорожденных мышей, клетки фетальной печени человека и мыши и клетки костного мозга мыши, прокультивированные с эритропоэтином. Цитостатический эффект ЯЭК или их супернатантов регистрировали по снижению пролиферации линий Р815, L1210, В16, LLC, L929. **Результаты.** Обнаружено наличие выраженной прямой противоопухолевой активности как у ЯЭК, так и у продуктов их культивирования в отношении клеток различных опухолевых линий. Супрессорный эффект неспецифичен. **Заключение.** Учитывая цитостатическую активность ЯЭК, их существенное численное преобладание во время развития эмбриона над всеми другими ростками кроветворения, можно предположить возможность участия эритробластов в процессе создания противоопухолевой защиты плода в этот период жизни.

Ключевые слова: ядерные эритроидные клетки, эритробласты, противоопухолевая активность.

ANTITUMOR PROPERTIES OF NUCLEAR ERYTHROID CELLS

V.A. Kozlov¹, G.V. Seledtsova¹, A.B. Dorzhieva¹, I.P. Ivanova¹, V.I. Seledtsov²

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia¹
14, Yadrintsevskaya St., 630099, Novosibirsk, Russia.

E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru¹

Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia²
1A, Litovsky Blvd., 117593, Moscow, Russia²

Abstract

Purpose. To study suppressor and/or cytotoxic activity of the nuclear erythroid cells (NEC) against tumor cells of various origins. **Material and Methods.** C57Bl/6 mice and P815, L1210, B16 and L929 tumor cells were used. "Phenylhydrazine" NECs were obtained from mice with induced hemolytic anemia. "Erythropoietin" NECs were isolated from the "phenylhydrazine spleen" and further cultured in the presence of erythropoietin. Another source of NEC was neonatal mouse spleen, human and mouse fetal liver cells, and mouse bone marrow cells cultured with erythropoietin. The cytostatic effect of NEC or their supernatants was recorded by reducing proliferation of P815, L1210, B16, LLC, L929 lines. **Results.** The presence of pronounced direct antitumor activity was found in both NEC and their culturing products in relation to cells of various tumor lines. The suppressor effect was not specific. **Conclusion.** We know about the significant numerical predominance of NEC during the embryo development over all other hematopoietic cells and their high suppressive potential. Therefore, it can be assumed that erythroblasts are involved in process of creating antitumor protection of a fetus during this period of life.

Key words: nuclear erythroid cells, erythroblasts, antitumor activity.

Введение

В процессе эмбриогенеза эритробласты (ядерные эритроидные клетки, ЯЭК) являются наиболее массовым клеточным продуктом размножения полипотентных стволовых кроветворных клеток, которые впервые появляются в желточном мешке эмбриона и затем мигрируют в печень эмбриона, которая и становится основным гемопоэтическим органом на протяжении всего периода внутриутробного развития [1]. В эмбриональной печени на ранних этапах развития обнаруживаются только В-лимфоциты при полном отсутствии Т-лимфоцитов до момента созревания тимуса [2].

В многочисленных исследованиях было показано, что эритробласты обладают способностью подавлять функции Т- и В-клеточного звена иммунитета [3, 4]. Иммуносупрессивной активностью обладали эритробласты, выделенные из эмбриональной печени человека и мышей, клеток селезенки новорожденных животных и селезенки мышей, подвергнутых воздействию гипоксии или гемолитического яда – фенилгидразина [5]. При этом наибольшим супрессивным эффектом обладали ЯЭК из эмбриональной печени, по сравнению с клетками из других источников [4]. Что касается механизмов иммуносупрессивного действия ЯЭК, было выяснено, что эти клетки, по всей вероятности, продуцируют целый ряд цитокинов, таких как IL-4, IL-10, IFN- γ , TNF- α , TGF- β , из которых три последних могут иметь отношение к подавлению активности В-клеток [6]. Получены данные о том, что эритробласты обладают способностью повреждать мембраны клеток селезенки мышей при их совместном культивировании. Повреждение целостности мембран клеток оценивали по уровню выхода из клеток ЗН-уридина [5]. Результаты этих исследований позволили предположить, что эритробласты могут обладать и цитотоксической активностью в отношении других клеточных элементов, включая опухолевые клетки.

Во взрослом организме костный мозг является местом с наиболее высокой пролиферативной активностью клеток, поэтому логично пред-

положить, что основные механизмы контроля пролиферативных процессов сосредоточены и реализуются именно здесь. Популяционный состав костного мозга представлен незрелыми клетками всех ростков кроветворения, однако доля клеток, относящихся к эритроидному ряду, значительно превышает все остальные ростки и достигает 30 %. Мы полагаем, что именно ЯЭК задействованы в реализации программ, обеспечивающих стабильность популяционного состава костного мозга путем ограничения размножения как нормальных клеток, вовлеченных в гемопоэз, так и возникающих из них опухолевых клеток.

Целью исследования явилось изучение возможной супрессорной и/или цитотоксической активности ЯЭК в отношении опухолевых клеток различного происхождения.

Материал и методы

Животные

Мыши C57Bl/6 (B6) получены из питомника НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томский НИМЦ.

Линии опухолевых клеток

Клетки P815 (мастоцитомы), L1210 (лимфома), B16 (меланома), L929 (трансформированная соединительная ткань) сохраняли пассированием *in vitro* в среде RPMI 1640, содержащей 10 % фетальной сыворотки коров (FCS), L-глутамин и антибиотики.

Культуральные среды и реагенты

Среда RPMI 1640, HEPES, L-глутамин, гентамицин (Sigma-Aldrich, США), рекомбинантный эритропоэтин (ЭПО) (Cilag, Швейцария), Кон А (Pharmacia Biotechnology, Швеция), [H-3]-тимидин (НПО «Изотоп», С-Петербург). Клетки костного мозга, селезенки и фетальной печени получали посредством мягкого выдавливания клеток из ткани стромы органа. Полученные клеточные суспензии отстаивали 7 мин для удаления крупных недиссоциированных конгломератов. Выделенные из тканей органов клетки культивировали в RPMI 1640 в присутствии 10мМ HEPES, 2мМ L-глутамина, меркаптоэтанола, 30 мкг/мл гентамицина и 10 % FCS.

Источники и методы получения ядросодержащих эритроидных клеток

«Фенилгидразиновые» ЭК. Гемолитический яд фенилгидразин вводили мышам внутривенно в дозе 1,2 мг/мышь 3 раза с интервалами в 12 и 20 ч для индукции гемолитической анемии. Через 48 ч после последней инъекции у мышей забирали селезенки и использовали их в качестве источника ЯЭК. ЯЭК, присутствующие в спленоцитах, отделяли от эритроцитов центрифугированием при 400 g в градиенте перколлы (плотность 1,076) в течение 30 мин. Из полученной суспензии методом «пэннинга» получали популяцию эритроидных бластных клеток, для чего суспензию клеток, предварительно обработанных анти-CD3+ антителами, помещали в пластиковую культуральную чашку с предварительно адсорбированными на ней кроличьими АТ к Ig-G мыши. Процедуру «пэннинга» проводили согласно методу, описанному ранее [7]. В результате этой процедуры макрофаги прикрепились к пластиковой поверхности чашки за счет неспецифического связывания, Т- и В-лимфоциты – за счет Ig-рецепторного взаимодействия с сорбированными на пластиковой поверхности чашки иммуноглобулинами кролика. Чистоту удаления Т- и В-лимфоцитов контролировали иммунофлюоресцентным анализом. После пэннинга не прикрепившиеся к пластику клетки отмывали и обрабатывали 15 мМ лейцин-метиловым эфиром в течение 30 мин. Полученная в результате обработки клеточная популяция на 95 % состояла из ЯЭК. Выделенные из «фенилгидразиновой селезенки» ЭК культивировали далее в присутствии 2–5 Ед/мл эритропоэтина (ЭПО) (или без него в контроле) в бессывороточной среде Искова, содержащей 0,5% бычьего сывороточного альбумина, 4мМ L-глутамина, 5×10^{-5} меркаптоэтанол, 30 мкг/мл гентамицина. Полученная в результате такого культивирования клеточная популяция на 97 % состояла из разной степени зрелости бластных эритроидных клеток.

«Новорожденные» ЯЭК. В наших экспериментах источником клеток были селезенки новорожденных мышей. ЯЭК выделяли методом «пэннинга», полученная популяция на 95 % была представлена ЯЭК, подавляющее большинство клеток имело базофильную цитоплазму.

ЯЭК, выделенные из костного мозга мышей, фетальной печени человека или мыши. Клетки фетальной печени человека получали из органа при процедуре аборта (срок гестации 10–12 нед). Клетки фетальной печени мышей получали из печени плодов мыши на стадии 15–17 дней беременности. Клетки костного мозга мышей получали из эпифизов бедренных костей взрослых животных. Полученные из костного мозга клетки в концентрации 5 млн/мл культивировали с 2 ед/мл эритропоэтина в течение 3 сут, далее клетки отмывали от стимулятора и использовали в экспериментах.

Получение культуральных супернатантов. ЯЭК, полученные из различных источников, в концентрации 4×10^6 /мл культивировали в бессывороточной среде Искова, с добавлением 4мМ L-глутамина в течение 24 ч. По окончании культивирования супернатанты отделяли от клеток центрифугированием и использовали в различных концентрациях в экспериментах.

Оценка противоопухолевой активности ЯЭК и полученных из них супернатантов. Клетки опухолевых линий P815, L1210, B16, LLC, L929 в соотношении 1:15 и 1:30 (1×10^5 кл/лунка опухолей культивировали в присутствии различных концентраций ЯЭК – 15×10^5 и 30×10^5 клеток/лунка или без них в контроле) или в присутствии 30–50 % супернатанта ЯЭК в течение 72 ч, далее оценивали пролиферацию опухолевых клеток по включению в клетки 3Н-тимидина или колориметрически с помощью МТТ-теста. Пролиферативную активность отображали в имп/мин, при использовании радиоактивного метода, или единицах оптической плотности, при использовании МТТ-теста. В этом случае опухолевые клетки культивировали с ЯЭК в течение 72 ч. По окончании культивирования планшеты центрифугировали 5 мин при $1000 \times g$, 4°C , затем удаляли надосадок и в каждую лунку добавляли 50 мкл МТТ-реагента (набор МТТ-assay kit (cell proliferation), Abcam). После культивирования в течение 3 ч в условиях CO_2 -инкубатора к пробам добавлялся растворитель МТТ. Через 15 мин пребывания планшета на орбитальном шейкере степень окрашивания лунок регистрировалась с помощью планшетного ридера при длине волны 590 нм. Интенсивность окрашивания была пропорциональна количеству клеток в лунках.

Процент супрессорной активности вычисляли следующим образом:

$$\% \text{цитотоксичности} = \frac{100 \times (\text{контроль} - \text{опыт})}{\text{контроль}}.$$

Полученные результаты были проанализированы и графически представлены с помощью программы GraphPadPrizm8. Для оценки достоверности различий использовали тест one-way и two-way ANOVA программы GraphPadPrizm8. Достоверность различий экспериментальных данных представлена на рисунках. Данные на графиках представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки.

Все исследования проводились согласно протоколу гуманности, отраженному в директивах Европейского сообщества и Хельсинкской декларации, согласно «Правилам проведения работ с экспериментальными животными».

Результаты

В работе исследованы противоопухолевые свойства ядерных эритроидных клеток, полученных из различных источников: из клеток селезенки новорожденных мышей, из клеток фетальной печени

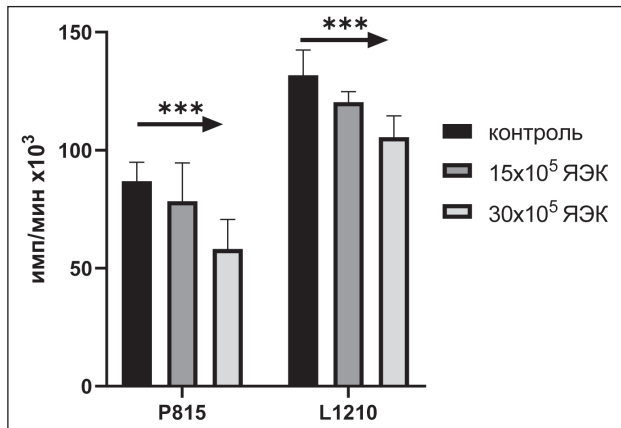


Рис. 1. Влияние различных концентраций ЯЭК, полученных из клеток селезенки новорожденных мышей, на пролиферацию клеток опухолевых линий P815 и L1210. Концентрация опухолевых клеток 1×10^5 кл/лунка (n=8).

Примечания: * – различия статистически значимы ($p < 0,01$); *** – различия статистически значимы ($p < 0,001$)

Fig. 1. The effect of different concentrations of NEC obtained from newborn mouse spleen cells on the proliferation of P815 and L1210 tumor cell lines. Concentration of tumor cells 1×10^5 cells/well (n=8).

Note: * – significant differences ($p < 0.01$), *** – significant differences ($p < 0.001$)

мыши и человека, из клеток костного мозга мышей и из селезенки анемичных мышей. Селезенка новорожденных мышей является основным источником кроветворения. Выделенную из селезенки методом «пеннинга» популяцию ЯЭК в концентрации 15×10^5 кл/лунка и 30×10^5 клеток помещали в лунки 96-луночного культурального планшета и совместно с клетками лейкозных опухолевых линий P815 и L1210 в концентрации 1×10^5 кл/лунка культивировали в течение 72 ч. Показано дозо-зависимое увеличение цитостатической активности ЯЭК в отношении двух лейкозных линий как P815 ($>30\%$), так и L1210 ($>20\%$) (рис. 1). Во время внутриутробного развития печень является основным источником кроветворения, в ее клеточном составе преобладают клетки эритроидного ростка кроветворения, составляя до 80 % ее клеточного состава. Далее в эксперименте были использованы клетки фетальной печени мышей 15–20 дней гестации (рис. 2A) или клетки печени плода человека (рис. 2B) 10–12 нед гестации, полученные после прерывания беременности по медицинским показаниям. Клетки фетальной печени мышей были добавлены к опухолевым клеткам линии меланомы B16, карциномы LLC и соединительноночной опухолевой линии L929 в концентрации 15×10^5 кл/лунка и 30×10^5 клеток в лунку планшета. Показано дозо-зависимое, значимое снижение пролиферации 3 опухолевых линий, наиболее выраженное при концентрации добавленных клеток в 30×10^5 через 24 ч совместного культивирования (рис. 2A). Аналогично показан дозо-зависимый, неспецифический супрессорный эффект клеток

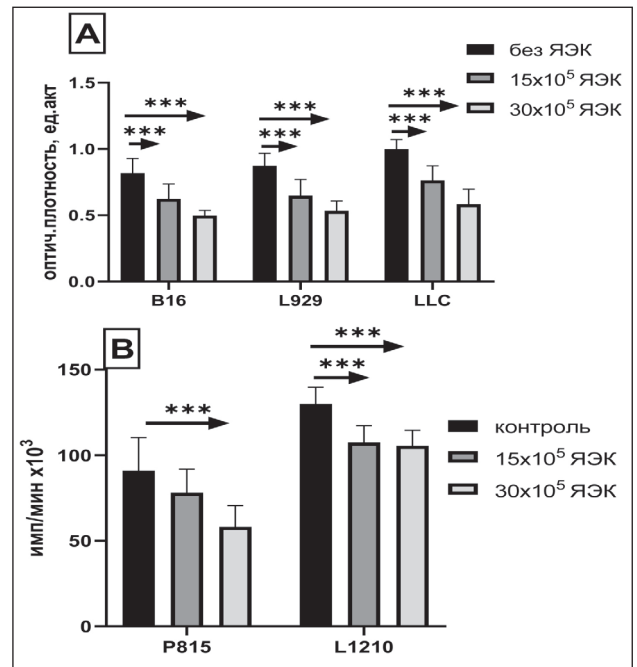


Рис. 2. Влияние различных концентраций ЯЭК, полученных из клеток фетальной печени мыши (A) или человека (B), на пролиферацию клеток опухолевых линий B16, L929 и LLC, P815 и L1210. Концентрация опухолевых клеток 1×10^5 кл/лунка (n=8).

Примечания: * – различия статистически значимы ($p < 0,01$); *** – различия статистически значимы ($p < 0,001$)

Fig. 2. The effect of various concentrations of NEC obtained from mouse (A) or human (B) fetal liver cells on the proliferation of tumor cell lines B16, L929 and LLC, P815 and L1210. Concentration of tumor cells 1×10^5 cells/well (n=8).

Note: * – significant differences ($p < 0.01$), *** – significant differences ($p < 0.001$)

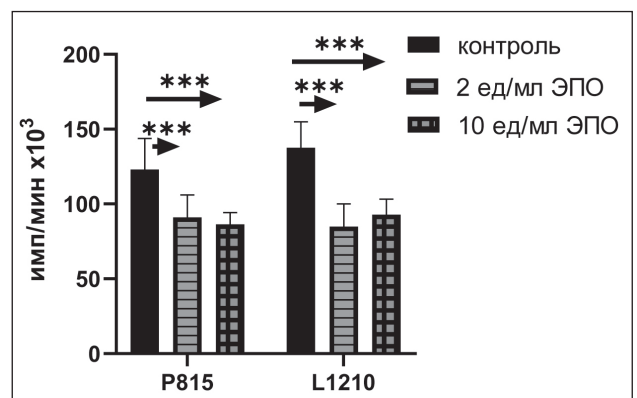


Рис. 3. Пролиферация клеток опухолевых линий P815 и L1210 в присутствии клеток костного мозга мышей, активированных в течение 48 ч различными концентрациями эритропоэтина (n=8).

Примечания: * – различия статистически значимы ($p < 0,01$); *** – различия статистически значимы ($p < 0,001$)

Fig. 3. Proliferation of P815 and L1210 tumor cell lines in the presence of mouse bone marrow cells activated for 48 h with various concentrations of erythropoietin (n=8).

Note: * – significant differences ($p < 0.01$), *** – significant differences ($p < 0.001$)

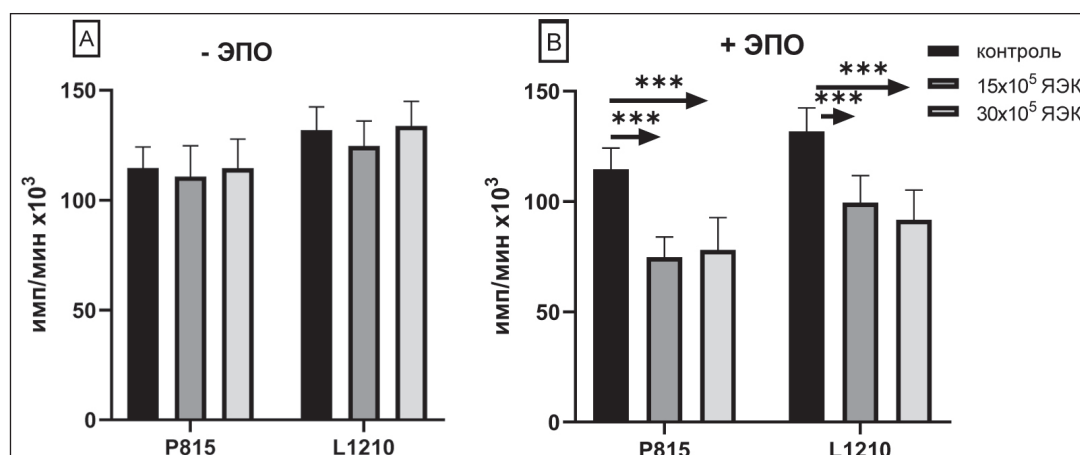


Рис. 4. Влияние различных концентраций ЯЭК, полученных из селезенок мышей с гемолитической анемией (А) и после культивирования с 2,5 ед/мл ЭПО (В), на пролиферацию клеток опухолевых линий P815 и L1210 (n=8).

Примечания: * – различия статистически значимы (p<0,01);

*** – различия статистически значимы (p<0,001)

Fig. 4. Effect of different concentrations of NEC obtained from the spleens of mice with hemolytic anemia (A) and after cultivation with 2.5 U/ml EPO (B) on the proliferation of P815 and L1210 tumor cell lines (n=8).

Note: * – significant differences (p<0.01), *** – significant differences (p<0.001)

фетальной печени человека на пролиферацию P815 и L1210 (рис. 2В). Клетки костного мозга взрослого организма содержат до 30 % клеток эритроидного ряда различной зрелости. Культивирование их с эритропоэтином (ЭПО) увеличивает концентрацию ЯЭК среди этих клеток в несколько раз. В серии экспериментов была оценена супрессорная способность клеток костного мозга, прокультивированных с ЭПО в течение 3 сут. Культивирование клеток костного мозга мышей с 2 ед/мл ЭПО более чем в 2 раза повышало супрессорную противоопухолевую активность клеток костного мозга (рис. 3). Для подтверждения участия клеток эритроидного ряда в супрессии пролиферации клеток различных опухолевых линий была получена популяция незрелых эритроидных клеток в модели индуцированной гемолитической анемии. Выделенные из селезенки мышей C57BL/6 методом позитивной селекции ЯЭК использовали в эксперименте по влиянию на пролиферацию опухолевых клеток *in vitro*. Мы не обнаружили супрессорного эффекта ЯЭК, полученных из селезенки мышей с гемолитической анемией (рис. 4), однако 48 ч культивирования этих ЯЭК с 2 ед/мл эритропоэтина (ЭПО) восстанавливало их супрессорную активность (рис. 4). Таким образом, мы подтвердили наличие выраженной прямой противоопухолевой активности у незрелых клеток эритроидного ряда как в отношении клеток лейкозных линий, так и в отношении клеток солидных опухолей. Супрессорный эффект был неспецифичен, поскольку регистрировался в отношении клеточных линий разного гаплотипа и не был рестриктивен по HLA. Неспецифичность супрессорного действия ЯЭК позволила предположить наличие гуморальной составляющей противоопухолевого эффекта ЯЭК. Показана дозо-зависимая супрессорная ак-

тивность как супернатанта, полученного от чистой культуры ядерных эритроидных клеток, так и от супернатанта, полученного от 24 ч культивирования клеток фетальной печени мыши (табл. 1, 2). Таким образом, в наших экспериментах показана прямая неспецифическая супрессорная противоопухолевая активность ЯЭК, полученных из различных источников. Эта супрессия опосредована растворимыми продуктами самих клеток.

Обсуждение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, прежде всего, о том, что ЯЭК, полученные из эмбриональной печени мышей и человека, из селезенки новорожденных мышей и животных, обработанных фенилгидразином, оказывают прямой цитостатический эффект на опухолевые клетки различного происхождения. При этом следует особо подчеркнуть, что цитостатические эффекты эритробластов различного тканевого происхождения регистрировались при полном отсутствии клеток-профессиональных убийц опухолевых клеток, таких как НК клетки, макрофаги, цитотоксические CD8⁺ лимфоциты [8]. Говоря о возможных механизмах эффекта ЯЭК, прежде всего, можно было бы думать об участии в процессе цитокинов, продуцируемых этими клетками, таких как эритроидный дифференцировочный регулятор (Erdr1) [9, 10], ИЛ-10, TGF-β и IFN-α [3, 9]. Эти цитокины обладают противоопухолевым эффектом, тормозя рост опухолевых клеток при определенных условиях и на определенной стадии развития опухоли. При иных ситуациях, иных условиях и TGF-β, и TNF-α могут способствовать выживанию опухолевых клеток и их активному росту, супрессируя противоопухолевые Т-клеточные реакции [3, 11]. Показано, что

Таблица 1/Table 1

Влияние эритроидного супернатанта, полученного от ЯЭК анемичных мышей, на пролиферацию опухолевых линий P815 и L1210, выраженное в % супрессорной активности (n=8)
Effect of erythroid supernatant obtained from NEC of anemic mice on the proliferation of P815 and L1210 tumor lines, expressed as % suppressor activity (n=8)

Супернатант/ Supernatant, %	7,5	15	30
P815	5,0 ± 2,7	40,0 ± 4,3**	47,0 ± 2,1**
L1210	4,0 ± 3,5	18,0 ± 1,6	27,0 ± 1,8*

Примечания: * – различия статистически значимы (p<0,01); ** – различия статистически значимы (p<0,001).

Note: * – significant differences (p<0.01), ** – significant differences (p<0.001).

Таблица 2/Table 2

Влияние эритроидного супернатанта, полученного от 24 ч культивирования клеток фетальной печени мышей, на пролиферацию опухолевых линий B16, L929 и LLC, выраженное в % супрессорной активности (n=8)

Effect of erythroid supernatant obtained from 24-hour cultivation of mouse fetal liver cells on the proliferation of B16, L929 and LLC tumor lines, expressed as % suppressor activity (n=8)

Супернатант/ Supernatant, %	30	50
B16	21,0 ± 2,4	41,0 ± 1,5**
L929	11,0 ± 3,5	33,0 ± 1,8*
LLC	12,0 ± 2,6	31,0 ± 2,1**

Примечание: * – различия статистически значимы (p<0,01), ** – различия статистически значимы (p<0,005).

Note: * – significant differences (p<0.01), ** – significant differences (p<0.005).

эритроидные клетки экспрессируют молекулы не классического HLA-G класса I. Имеются данные об ингибирующем влиянии этих HLA-G молекул на активность NK клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов, а также на пролиферацию Т-клеток [12–14]. Можно предположить, что в наших экспериментах эти же молекулы оказывают цитостатический эффект и на опухолевые клетки. Нельзя исключить, что это еще один возможный механизм цитостатического действия ЯЭК. Данные литературы свидетельствуют о том, что эритроидные клетки экспрессируют фермент аргиназу-2 с последующим снижением в окружении содержания аргинина, что негативно сказывается на активности иммунокомпетентных клеток [15, 16]. Учитывая данные о том, что опухолевые клетки используют для внутриклеточных целей внеклеточный аргинин, можно думать, что аргинин также необходим для жизнедеятельности опухолевых клеток, и при недостаточном поступлении его в опухолевые клетки пролиферативная активность последних снижается. Об этом эффекте аргинина свидетельствуют данные о значительном подавлении роста опухоли в условиях его сниженного содержания в среде, окружающей опухолевые клетки. Более того, подход, основанный на увеличении уровня метаболизма аргинина, успешно используется в противоопухолевой терапии [17, 18].

С уровнем экспрессии аргиназы-2 на ЯЭК, возможно, связаны наши данные об отсутствии цитостатического эффекта у ЯЭК, полученных от взрослых мышей, обработанных фенлигидазином.

Было показано, что CD71+TER119+ эритробласты от взрослых анемичных мышей не обладают иммуносупрессорной активностью на фоне резко сниженной экспрессии аргиназы-2 в клетках [15]. Можно думать, что обработка эритропоэтином эритробластов стимулирует экспрессию аргиназы-2, реверсируя у них способность оказывать цитостатический эффект на рост опухолевых клеток.

Нельзя исключить возможное участие в цитостатическом эффекте ЯЭК в отношении опухолевых клеток белка p15E – продукта гена *enp*, контролирующего синтез оболочечных белков вируса. По крайней мере, было показано, что обработка эритроидных клеток антителами против белка p15E отменяла их способность подавлять пролиферацию лимфоцитов [19].

Можно согласиться с мнением S. Elahi о возможной иммуносупрессивной роли эритробластов в начальный период онтогенеза, которая заключается в подавлении возможной чрезмерной реакции иммунной системы воспалительного характера на поступление в организм множества микроорганизмов через кишечник [20]. Данные, полученные J. Michaelsson et al., свидетельствуют об активности у эмбрионов CD4+CD25^{high} Treg, которые также несут ответственность за подавление активности Т-клеток эффекторов у эмбрионов [21]. Исходя из этого, можно предположить, что во время эмбрионального периода развития формируется содружество 2 популяций клеток с иммуносупрессивной активностью – ЯЭК и Treg клеток. Можно предположить, что такой жесткий контроль за

активностью Т-клеток-эффекторов необходим для предотвращения малейшей возможной активности этих клеток против собственных антигенов с целью оптимального развития тканей и органов с их оригинальными антигенными характеристиками. Следовательно, супрессорная активность эритроидных клеток и Трег подавляет возможное развитие у эмбрионов аутоиммунной патологии. С другой стороны, чтобы не формировались опухолевые процессы на фоне подавленной активности Т-клеток эффекторов, у эритробластов формируется способность противостоять развитию опухолевого процесса. Если принять во внимание тот факт, что во время эмбрионального развития

крайне редко регистрируется развитие опухолевого процесса, и, учитывая цитостатическую активность ЯЭК и их существенное численное преобладание во время развития эмбриона над всеми потенциальными убийцами опухолевых клеток (НК, цитотоксические Т-лимфоциты, макрофаги и др.), следует признать возможность участия эритробластов в процессе противоопухолевого иммунитета в течение эмбрионального развития организма. В принципе, у эмбриона, как и во взрослом организме, складывается ситуация, когда при нормальном функционировании иммунной системы не отмечается развитие аутоиммунной патологии и опухолевого процесса.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Gao X., Xu C., Asada N., Frenette P.S. The hematopoietic stem cell niche: from embryo to adult. *Development*. 2018; 145(2). doi: 10.1242/dev.139691.
2. Osmond D.G. The ontogeny and organization of the lymphoid system. *J Invest Dermatol*. 1985; 85(1): 2–9. doi: 10.1111/1523-1747.ep12275397.
3. Grzywa T.M., Justyniarska M., Nowis D., Golab J. Tumor Immune Evasion Induced by Dysregulation of Erythroid Progenitor Cells Development. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(4): 870. doi: 10.3390/cancers13040870.
4. Цырлова И.Г., Чеглякова В.В., Козлов В.А. Иммунодепрессивный эффект популяций клеток с различной эритропоэтической активностью у зародышей и новорожденных. *Онтогенез* 1985; 16(2): 143–51. [Tsyrova I.G., Cheglyakova V.V., Kozlov V.A. Immunosuppressive effect of cell populations with different erythropoietic activity in embryos and newborns. *Ontogenesis* 1985; 16 (2): 143–151. (in Russian)].
5. Grzywa T.M., Nowis D., Golab J. The role of CD71+ erythroid cells in the regulation of the immune response. *Pharmacol Ther*. 2021; 228: 107927. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.107927.
6. Sennikov S.V., Krysov S.V., Unjelevskaya T.V., Silkov A.N., Kozlov V.A. Production of cytokines by immature erythroid cells derived from human embryonic liver. *Eur Cytokine Net*. 2001; 12(2): 274–9.
7. Samarin D.M., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I., Taraban V.Ya., Kozlov V.A. Suppressive Effect of Immature Erythroid Cells on the B-Cell Proliferation. *Bull Exp Biol Med*. 1997; 123: 57.
8. Seledtsov V.I., Seledtsova G.V., Samarin D.M., Senyukov V.V., Poveschenko O.V., Felde M.A., Kozlov V.A. Erythroid cells in suppressing leukemia cell growth. *Leuk Lymphoma*. 2005; 46(9): 1353–6. doi: 10.1080/10428190500160207.
9. Lee J., Jung M.K., Park H.J., Kim K.E., Cho D. Erd1 Suppresses Murine Melanoma Growth via Regulation of Apoptosis. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(1): 107. doi: 10.3390/ijms17010107.
10. Jung M.K., Park Y., Song S.B., Cheon S.Y., Park S., Houh Y., Ha S., Kim H.J., Park J.M., Kim T.S., Lee W.J., Cho B.J., Bang S.I., Park H., Cho D. Erythroid differentiation regulator 1, an interleukin 18-regulated gene, acts as a metastasis suppressor in melanoma. *J Invest Dermatol*. 2011; 131(10): 2096–104. doi: 10.1038/jid.2011.170.
11. Mercogliano M.F., Bruni S., Mauro F., Elizalde P.V., Schillaci R. Harnessing Tumor Necrosis Factor Alpha to Achieve Effective Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(3): 564. doi: 10.3390/cancers13030564.
12. Marchal-Bras-Goncalves R., Rouas-Freiss N., Connan F., Choppin J., Dausset J., Carosella E.D., Kirszenbaum M., Guillet J. A soluble HLA-G protein that inhibits natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Transplant Proc*. 2001; 33(3): 2355–9. doi: 10.1016/s0041-1345(01)02020-6.
13. Riteau B., Rouas-Freiss N., Menier C., Paul P., Dausset J., Carosella E.D. HLA-G2, -G3, and -G4 isoforms expressed on nonmature cell surface glycoproteins inhibit NK and antigen-specific CTL cytotoxicity. *J Immunol*. 2001; 166(8): 5018–26. doi: 10.4049/jimmunol.166.8.5018.
14. Lila N., Rouas-Freiss N., Dausset J., Carpentier A., Carosella E.D. Soluble HLA-G protein secreted by allo-specific CD4+ T cells suppresses the allo-proliferative response: a CD4+ T cell regulatory mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(21): 12150–5. doi: 10.1073/pnas.201407398.
15. Grzywa T.M., Sosnowska A., Rydzynska Z., Lazniewski M., Plewczynski D., Klicka K., Malecka-Gieldowska M., Rodziejewicz-Lurzynska A., Ciepiela O., Justyniarska M., Pomper P., Grzybowski M.M., Blaszczyk R., Węgrzynowicz M., Tomaszewska A., Basak G., Golab J., Nowis D. Potent but transient immunosuppression of T-cells is a general feature of CD71+ erythroid cells. *Commun Biol*. 2021; 4(1): 1384. doi: 10.1038/s42003-021-02914-4.
16. Elahi S., Vega-López M.A., Herman-Miguel V., Ramírez-Estudillo C., Mancilla-Ramírez J., Motyka B., West L., Oyegbami O. CD71+ Erythroid Cells in Human Neonates Exhibit Immunosuppressive Properties and Compromise Immune Response Against Systemic Infection in Neonatal Mice. *Front Immunol*. 2020; 11: 597433. doi: 10.3389/fimmu.2020.597433.
17. Fultang L., Vardon A., De Santo C., Mussai F. Molecular basis and current strategies of therapeutic arginine depletion for cancer. *Int J Cancer*. 2016; 139(3): 501–9. doi: 10.1002/ijc.30051.
18. Zou S., Wang X., Liu P., Ke C., Xu S. Arginine metabolism and deprivation in cancer therapy. *Biomed Pharmacother*. 2019 Oct;118:109210. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109210.
19. Chernukhin I.V., Khaldoyanidi S.K., Gaidul K.V. Endogenous retroviral envelope peptide expression in involved in a regulation of lymphocyte and hematopoietic precursor activity. *Biomed Pharmacother*. 1995; 49(2): 145–51. doi: 10.1016/0753-3322(96)82608-4.
20. Elahi S. New insight into an old concept: role of immature erythroid cells in immune pathogenesis of neonatal infection. *Front Immunol*. 2014; 5: 376. doi: 10.3389/fimmu.2014.00376.
21. Michaëlsson J., Mold J.E., McCune J.M., Nixon D.F. Regulation of T cell responses in the developing human fetus. *J Immunol*. 2006; 176(10): 5741–8. doi: 10.4049/jimmunol.176.10.5741.

Поступила/Received 23.12.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 06.04.2022

Принята к публикации/Accepted 27.04.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Козлов Владимир Александрович, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). Researcher ID (WOS): K-2634-2014. Scopus ID: 7402207410. ORCID: 0000-0002-1756-1782.

Селедцова Галина Викторовна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru. SPIN-код: 1086-8579. Researcher ID (WOS) - B1085-2014. 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.

Селедцов Виктор Иванович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Центральная клиническая больница РАН» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 469-9230. ORCID 0000-0002-4746-8853.

ВКЛАД АВТОРОВ

Козлов Владимир Александрович: разработка научной идеи, общая концепция написания статьи.

Селедцова Галина Викторовна: написание статьи

Доржиева Аяна Бояровна: экспериментальная часть работы и статистическая обработка материала.

Иванова Ирина Петровна: экспериментальная часть работы и статистическая обработка материала.

Селедцов Виктор Иванович: написание раздела «введение», обсуждение результатов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках ГЗ 2021-2023 по теме 0415-2021-0003. Результаты исследования обсуждены на заседании локального этического комитета НИИФКИ (Протокол № 137 от 24.12.2021), препятствий для публикации результатов исследований нет.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Vladimir A. Kozlov, Member of the Russian Academy of Sciences, Principle Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID: K-2634-2014. Scopus ID: 7402207410. ORCID: 0000-0002-1756-1782.

Galina V. Seledtsova, MD, DSc, Chief Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru. Researcher ID: B1085-2014. ORCID: 0000-0001-8072-6255.

Ayana B. Dorzhieva, Post-graduate, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7109-4687.

Irina P. Ivanova, MD, PhD, Senior Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID: D-9386-2014. ORCID: 0000-0003-1435-2616.

Viktor I. Seledtsov, MD, DSc, Chief Researcher, Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia). ORCID 0000-0002-4746-8853.

AUTHOR CONTRIBUTION

Vladimir A. Kozlov: study conception and design.

Galina V. Seledtsova: writing of the manuscript.

Ayana B. Dorzhieva: experimental studies, statistical analysis of results

Irina P. Ivanova: experimental studies and statistical analysis of results.

Viktor I. Seledtsov: final approval of the manuscript.

Funding

The study was carried out within the framework of the project № 0415- for 2021-2023.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Жидкова Е.М., Григорьева Д.Д., Лылова Е.С., Максимова В.П., Сагитова Г.Р., Хайриева Г.И., Трапезникова Е.С., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г., Лесовая Е.А. Скрининг эффективности и антипролиферативного действия потенциальных ингибиторов DDIT4 на моделях рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 50–60. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-50-60

For citation: Zhidkova E.M., Grigoreva D.D., Lylova E.S., Maksimova V.P., Sagitova G.R., Khayrieva G.I., Trapeznikova E.S., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Lesovaya E.A. In vitro screening of effectiveness and anti-proliferative effects of potential DDIT4 inhibitors for breast cancer cell lines. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 50–60. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-50-60

СКРИНИНГ ЭФФЕКТИВНОСТИ И АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ DDIT4 НА МОДЕЛЯХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.М. Жидкова¹, Д.Д. Григорьева¹, Е.С. Лылова¹, В.П. Максимова¹,
Г.Р. Сагитова², Г.И. Хайриева², Е.С. Трапезникова², К.И. Кирсанов^{1,3},
М.Г. Якубовская¹, Е.А. Лесовая^{1,4}

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: zhidkova_em@mail.ru¹

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, Россия²

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2, Россия²

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия³

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6³

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»

Минздрава России, г. Рязань, Россия⁴

Россия, 390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, 9⁴

Аннотация

Цель исследования – скрининг отобранных нами ранее ингибиторов DDIT4 по способности подавлять базальную и глюкокортикоид-индуцированную экспрессию данного гена в клетках рака молочной железы (РМЖ), а также оценка антипролиферативных и цитотоксических эффектов исследуемых комбинаций препаратов. **Материал и методы.** В исследовании использованы клетки РМЖ люминального, HER2-положительного и тройного негативного подтипов. Методами количественной ПЦР и Вестерн-блоттинга было оценено влияние препаратов (рапамицина, вортманнина, LY-294002, апигенина, ресвератрола, куркумина, CGP-60474 и эметина) на базальный и индуцированный глюкокортикоидами уровень экспрессии гена *DDIT4* и его белкового продукта. **Результаты.** Наиболее эффективными ингибиторами DDIT4 оказались рвотное средство эметин, ингибитор протеинкиназы C CGP-60474 и модуляторы сигнального пути PI3K/Akt/mTOR рапамицин, вортманнин и LY-294002. В отношении клеточных линий РМЖ были продемонстрированы цитотоксические эффекты и антипролиферативная активность комбинаций глюкокортикоида дексаметазона с противорвотным соединением эметином, ингибитором протеинкиназы C CGP-60474, а также фитонутриентами ресвератролом и куркумином. **Заключение.** Выявлены новые ингибиторы как базального, так и глюкокортикоид-индуцированного уровня белка и мРНК гена *DDIT4* в клеточных моделях РМЖ *in vitro*. По итогам работы эметин и CGP-60474 являются наиболее перспективными препаратами для дальнейших исследований.

Ключевые слова: глюкокортикоиды, глюкокортикоидный рецептор, рак молочной железы, DDIT4, комбинированная химиотерапия, экспрессия генов.

IN VITRO SCREENING OF EFFECTIVENESS AND ANTIPROLIFERATIVE EFFECTS OF POTENTIAL DDIT4 INHIBITORS FOR BREAST CANCER CELL LINES

E.M. Zhidkova¹, D.D. Grigoreva¹, E.S. Lylova¹, V.P. Maksimova¹,
G.R. Sagitova², G.I. Khayrieva², E.S. Trapeznikova², K.I. Kirsanov^{1,3},
M.G. Yakubovskaya¹, E.A. Lesovaya^{1,4}

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia¹

24, Kashirskoye Shosse, 115522, Moscow, Russia. E-mail: zhidkova_em@mail.ru¹

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia²

8-2, Trubetskaya St., 119991, Moscow, Russia²

RUDN University, Moscow, Russia³

6, Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia³

I.P. Pavlov Ryazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russia, Ryazan, Russia⁴

9, Vysokovoltnaya St., Ryazan, 390026, Russia⁴

Abstract

Objective: screening of previously selected DDIT4 inhibitors by their ability to suppress basal and glucocorticoid-induced expression of this gene in breast cancer (BC) cells, as well as evaluation of antiproliferative and cytotoxic effects of the studied drug combinations the antiproliferative and proapoptotic effects of studied drug combinations. **Material and Methods.** Breast cancer cells of the luminal, HER2-positive and triple negative subtypes were used. The effects of drugs (rapamycin, wortmannin, LY-294002, apigenin, resveratrol, curcumin, CGP-60474, and emetine) on the basal and glucocorticoid-induced levels of expression of the *DDIT4* gene and its protein product were evaluated by qPCR and Western blotting assays. **Results.** Emetine, rapamycin, wortmannin, LY-294002 and CGP-60474 demonstrated DDIT4-inhibition activity. Glucocorticoid dexamethasone showed cytotoxic effects and antiproliferative activity in combination with emetine, CGP-60474 (C protein kinase inhibitor), resveratrol and curcumin. **Conclusion.** Novel inhibitors of *DDIT4* in breast cancer model cells in vitro were found. Emetine and CGP-60474 are the most promising drugs for further research.

Key words: glucocorticoid, glucocorticoid receptor, breast cancer, *DDIT4*, combination therapy, gene expression

Введение

Глюкокортикоиды (ГК) применяют в клинической практике уже более 50 лет. Цитотоксическое действие ГК на клетки иммунной системы обуславливает их применение в лечении опухолей кроветворной системы [1, 2]. При терапии солидных опухолей, в частности рака молочной железы (РМЖ), ГК применяют в качестве адъюванта для расширения терапевтического интервала основного цитотоксического препарата и снижения побочных эффектов химиотерапии [1]. Однако при длительном применении ГК вызывают развитие серьезных побочных эффектов, в частности асептический остеонекроз, диабет, мышечную атрофию, метаболические осложнения и др. [3]. Кроме того, в зависимости от подтипа РМЖ, ГК могут значительно способствовать прогрессированию опухоли [2, 4].

За последнее десятилетие был предложен ряд подходов по расширению терапевтического интервала ГК благодаря одновременному снижению

их побочных эффектов. Одним из таких подходов является использование ГК в комбинации с препаратами, способными подавить экспрессию генов, отвечающих за развитие побочных эффектов ГК. В ряде исследований было показано, что при действии ГК в тканях, чувствительных к стероид-индуцированной атрофии, наблюдается повышение экспрессии *DDIT4* (*RTP801/Dig2/DDIT4*), консервативного индуцируемого стрессом ингибитора mTOR [5, 6].

В ряде исследований было установлено, что повышение уровня экспрессии *DDIT4* ассоциировано с более быстрым прогрессированием опухоли, что делает его интересным объектом исследований в качестве возможного прогностического маркера при ряде злокачественных новообразований (ЗНО) [7]. При этом роль *DDIT4* в прогрессировании и терапии РМЖ изучена недостаточно, а данные опубликованных исследований весьма противоречивы. Показано, что повышение экспрессии *DDIT4* после использования отдельных химиопрепаратов кор-

релирует со снижением жизнеспособности клеток РМЖ [8]. Более того, при HER2-положительном и тройном негативном (ТН) РМЖ пролиферация опухолевых клеток в условиях гипоксии возможна за счет гиперактивации сигнального пути mTOR при ингибировании DDIT4 [9]. Однако в других исследованиях была показана взаимосвязь повышения экспрессии DDIT4 с неблагоприятным прогнозом при ТН РМЖ [10]. По всей видимости, ингибирование DDIT4 приводит к неодинаковым последствиям при РМЖ различных подтипов.

Данная работа посвящена анализу действия ряда ингибиторов DDIT4 на клетки РМЖ разных подтипов с целью выявления соединений, проявляющих наибольшую эффективность как по подавлению экспрессии данного гена и его белкового продукта, так и по подавлению жизнеспособности опухолевых клеток.

Цель исследования – скрининг отобранных нами ранее ингибиторов DDIT4 по способности подавлять базальную и глюкокортикоид-индуцированную экспрессию данного гена в клетках рака молочной железы (РМЖ), а также оценка антипролиферативных и цитотоксических эффектов исследуемых комбинаций препаратов.

Выбор соединений

На основании биоинформатического скрининга, проведенного в сотрудничестве с лабораториями И.В. Будуновой (Northwestern University, Чикаго, США) и Дж.Т. Дадли (госпиталь Маунт-Синай, Нью-Йорк, США) с использованием аналитической системы «карты взаимодействия» (ConnectivityMap, CMap) из лекарственных препаратов различных классов, одобренных управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA), были определены 1 300 потенциальных ингибиторов DDIT4 [11, 12]. Для 5 из них была продемонстрирована успешность применения GC в комбинации с ингибиторами экспрессии DDIT4 с целью снижения их побочного действия при терапии ЗНО кроветворной системы. На моделях лейкозов и лимфом *in vitro* был показан синергизм противоопухолевого действия при комбинировании с GC для вортманнина, LY-294002 и AZD-8055. Данные соединения, а также противопаразитарное и рвотное средство эметин и ингибитор протеинкиназы C CGP-60474 подавляют базальную и GC-индуцированную экспрессию гена *DDIT4* в клеточных линиях CEM и Granta [11, 13].

Сравнив биоинформатические данные о потенциальной активности веществ в отношении клеток РМЖ, а также данные, полученные на линиях опухолей кроветворной системы [11, 13], мы отобрали для дальнейшего исследования *in vitro* 8 различных по структуре и физико-химическим свойствам соединений: растительные полифенолы куркумин, ресвератрол и апигенин, модуляторы сигнального

пути PI3K/Akt/mTOR LY-294002, рапамицин и вортманнин, а также рвотное средство эметин и ингибитор протеинкиназы C CGP-60474.

Соединения группы природных полифенолов (куркумин, ресвератрол и апигенин) обладают разнообразной биологической активностью. Они действуют как акцепторы свободных радикалов и антиоксиданты, проявляя антимуtagenное и противовоспалительное действие [14–20]. Изучаемые полифенолы обладают антиканцерогенным эффектом в отношении ЗНО, а также обладают антипролиферативным действием на опухолевые клетки [21–23]. Также показано, что ресвератрол обладает хроматин-модулирующим эффектом и способен активировать интерфероновый сигналинг в клетках, культивируемых *in vitro* [24]. Эметин, изохинолин растительного происхождения, обладает противопаразитарным действием, противовирусной активностью, а также противовоспалительным эффектом за счет ингибирования NF-kB [25]. Эметин усиливает чувствительность клеток рака яичника к цисплатину [26], индуцирует апоптоз, снижает пролиферацию и метастатическую активность клеток РМЖ [27]. Ингибитор протеинкиназы C CGP-60474 является двойным ингибитором циклинзависимых киназ cdk1/cdk2 и запускает обратимую остановку клеточного цикла в G1/S фазах [28]. Рапамицин, вортманнин и LY-294002, несмотря на большие структурные различия, имеют схожие биологические функции и входят в группу ингибиторов Akt/PI3K/mTOR. Было показано, что mTOR регулирует протеасомную деградацию DDIT4 и что ингибиторы mTOR и PI3K снижают период полужизни белка DDIT4 в кератиноцитах *in vitro* и в эпидермисе мышей *in vivo* [11].

Материал и методы

Клеточные линии аденокарциномы человека культивировали в стандартной среде DMEM (для MCF-7 и MDA-MB-231) или RPMI 1640 (для HCC-1954), содержащей 10 % эмбриональную сыворотку телят, 2 mM L-глутамин, пенициллин (50 ед/мл) и стрептомицин (50 ед/мл) (все – «ПанЭко», Россия) при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂.

В культуральную среду вносили потенциальные ингибиторы в концентрации 0,1 мкМ (апигенин, ресвератрол, куркумин), 10 нМ (рапамицин, вортманнин, LY-294002), 1 нМ (CGP-60474, эметин) или дексаметазон (100 нМ) и инкубировали 24 ч. В экспериментах по исследованию совместного действия препаратов и GC обработку дексаметазоном проводили после 4 ч инкубации с ингибиторами. Оптимальная схема обработки клеток была отработана нами ранее: с помощью МТТ-теста были подобраны минимальные нетоксичные концентрации веществ (IC80-90), в пилотном эксперименте с наиболее активным соединением рапамицином оптимальным временем предобработки клеток

Таблица 1/Table 1

Последовательности праймеров для qPCR
qPCR primers

Ген/Gene	Последовательность праймеров 5'-3'/Primer sequences 5'-3'	
	Прямой праймер/Forward primer	Обратный праймер/Reverse primer
<i>RPLP0</i>	ccttctccttgggctggtcatcca	cagacactggcaacattgcggacac
<i>DDIT4</i>	tagccttgggaccgctctcgt	caggtaagccgtgtcttctccg

РМЖ для регистрации ингибирования DDIT4 являлся 4-часовой интервал [29].

Антипролиферативное действие веществ определяли методом прямого подсчета клеток. Клетки рассаживали в 24-луночные планшеты (по 1 мл, 25 000 кл/мл) и обрабатывали, как описано выше. Подсчет клеток проводили на автоматическом счетчике клеток (BioRad, США) с исключением трипановым синим через 24 ч и 120 ч после введения первой дозы препаратов.

Вестерн-блоттинг. Клетки рассаживали по 1 мл, 1 млн кл/мл и обрабатывали, как описано выше. Клетки промывали PBS. Лизис клеток проводили в буфере RIPA с добавлением ингибитора протеиназ (Sigma-Aldrich). Лизат отделяли центрифугированием. Белки разделяли методом вертикального электрофореза в 10 % полиакриламидном геле в Tris-глициновом буфере с 1 % SDS. Перенос на поливинилденфторидную мембрану (поры 0,22 мкм) осуществляли мокрым способом. Для предотвращения неспецифической сорбции мембраны инкубировали в растворе 5 % обезжиренного молока в PBS, затем проводили гибридизацию с первичными антителами к DDIT4 (2516S, Cell Signaling Technology). Для нормализации получаемых данных проводили гибридизацию с антителами к глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе (GAPDH) (ab181602, Abcam). Далее проводили гибридизацию с вторичными антителами (ab97051, Abcam). Белки проявляли при помощи набора Clarity™ Western ECL Substrate (BioRad, США). Количественный анализ проводился с использованием денситометрии на приборе ImageQuant TL (General Electric, США).

Количественная ПЦР (qPCR). Тотальную РНК выделяли фенол-хлороформной экстракцией. Для удаления загрязнения геномной ДНК и исключения контаминаций при ПЦР проводили обработку полученных образцов РНК ДНКазой I (RQ1 RNase-Free DNase, Promega). Для получения кДНК проводили реакцию обратной транскрипции с использованием коммерческого набора («Синтол», Россия) по протоколу производителя. В реакцию Q-PCR брали 50 нг кДНК и по 500 нМ обратного и прямого праймеров (табл. 1). Амплификацию проводили в следующем режиме: 95 °С, 10 мин (95 °С, 15 с; 72 °С, 30 с, 60 °С, 30 с) – 45 циклов. Количество ПЦР-продуктов оценивали по флуоресценции красителя EVA GREEN («Синтол», Россия) и

нормализовали относительно ПЦР-продукта гена рибосомного белка *RPLP0*. Относительное изменение экспрессии мРНК вычисляли методом $\Delta\Delta Ct$, где $\Delta\Delta Ct$ определяли путем вычитания среднего значения ΔCt (цикл регистрации максимальной интенсивности флуоресценции) контроля из ΔCt для экспериментальных образцов.

Все эксперименты выполнены в 3–5 повторах. Средние значения и средние квадратичные отклонения рассчитывали с помощью пакета программ SPSS Statistics. Для определения статистической значимости выявленных различий использовали непараметрический критерий Манна–Уитни.

Результаты

Индукция DDIT4 дексаметазоном в клетках РМЖ различных молекулярных подтипов

Первым этапом данной работы являлось определение оптимальных условий обработки клеток РМЖ потенциальными ингибиторами экспрессии DDIT4. Основным параметром, принимаемым во внимание, была интенсивность индукции экспрессии гена *DDIT4* и его белкового продукта после обработки GC в используемых клеточных линиях. С помощью количественной ПЦР и Вестерн-блоттинга было показано, что дексаметазон (Dex) за 24 ч вызывал повышение экспрессии мРНК гена *DDIT4* и его белкового продукта в линиях РМЖ (рис. 1). Наиболее сильную индукцию гена наблюдали в линии люминального РМЖ MCF-7, что согласуется с полученными ранее данными о высокой чувствительности данной линии к действию GC [30]. В клетках линии HCC-1954 индукция экспрессии гена *DDIT4* была наименьшей, в то же время содержание белка после инкубации с Dex увеличилось в 2,2 раза.

Оценка влияния исследуемых соединений на базальную и GC-индуцированную экспрессию DDIT4

Подавление базальной экспрессии гена *DDIT4* на всех линиях РМЖ было показано для вортманнина (рис. 2). Эметин и рапамицин эффективно подавляли экспрессию гена в линиях люминального и ТН РМЖ, не вызывая при этом статистически значимой индукции в клетках HER2-положительного подтипа. Ни один из рассматриваемых ингибиторов не индуцировал экспрессию гена *DDIT4* в клетках РМЖ. Подавление GC-индуцированной

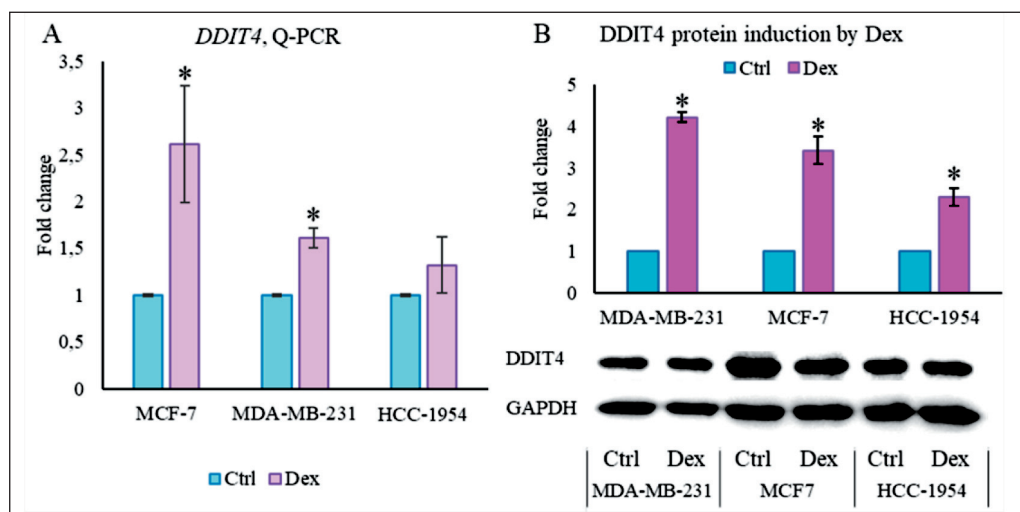


Рис. 1. GC-индуцированная экспрессия белка и гена *DDIT4* в клетках ПМЖ. Клетки культивировали в течение 24 ч в присутствии дексаметазона (100 нМ): А. Уровень экспрессии гена *DDIT4* определяли методом количественной ПЦР, сопряженной с обратной транскрипцией. Количество ПЦР-продуктов нормализовали по количеству ПЦР-продукта гена *RPLP0*; В. Уровень экспрессии белка *DDIT4* определяли методом иммуноблоттинга с использованием специфических антител. Результаты денситометрического анализа нормированы на экспрессию белка *GAPDH*. Данные представлены как $M \pm SD$ ($n=3-5$).

Примечание: * – отличия от отрицательного контроля статистически значимы ($p < 0,05$)

Fig. 1. Dex-induced *DDIT4* expression on mRNA and protein level in breast cancer cells. Cells were cultivated for 24 h with Dex or solvent. A. qPCR of *DDIT4* expression after Dex treatment results were normalized to the housekeeping gene *RPLP0*. B. Western blot analysis of *DDIT4* expression after Dex treatment. *GAPDH* served as loading control. Data are presented as $M \pm SD$ ($n=3-5$).

Note: * – a statistically significant difference from the control ($p < 0.05$)

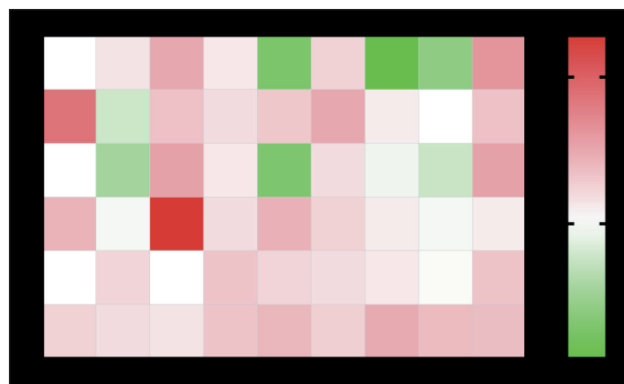


Рис. 2. Экспрессия гена *DDIT4* в клетках ПМЖ при обработке ингибиторами *DDIT4* и их комбинациями с GC. Клетки культивировали в течение 4 ч в присутствии растворителя или исследуемого ингибитора *DDIT4*, затем добавляли GC в концентрации 100 нМ или растворитель и инкубировали в течение 24 ч. Уровень экспрессии *DDIT4* определяли методом количественной ПЦР, сопряженной с обратной транскрипцией. Количество ПЦР-продуктов оценивали и нормализовали по количеству ПЦР-продукта гена *RPLP0*. Данные представлены в виде тепловой карты распределения значений $\log_2$ экспрессии гена. Для каждого соединения было получено 3–5 биологических повторов

Fig. 2. Effects of *DDIT4* inhibitors, GCs and their combined treatment on *DDIT4* expression in breast cancer cells. Cells were pre-treated with solvent or *DDIT4* inhibitors for 4 h, then were treated for 24 h with Dex or solvent. qPCR results were normalized to the housekeeping gene *RPLP0*. Data are presented as heat map of $\log_2$ FoldChange

экспрессии гена *DDIT4* было показано для ингибиторов PI3K/Akt/mTOR LY-294002 и вортманнина. Растительные полифенолы ресвератрол, апигенин и куркумин и рвотное средство эметин также обладали способностью ингибировать экспрессию *DDIT4*, индуцированную дексаметазоном.

Наиболее ярко выраженный эффект ингибирования базальной экспрессии белка *DDIT4* был показан для ингибитора протеинкиназы С CGP-60474: 3,42-кратное увеличение экспрессии *DDIT4* после инкубации клеток MCF-7 с дексаметазоном и снижение уровня белка и мРНК в 0,7 раза после инкубации клеток с CGP-60474 (рис. 3). Для клеточной линии MDA-MB-231 наблюдали аналогичные эффекты (рис. 3).

Антипролиферативные эффекты исследуемых веществ

Были оценены эффекты изучаемых соединений на пролиферативную активность модельных линий клеток как индивидуально, так и в сочетании с дексаметазоном. Число жизнеспособных клеток подсчитывали через 24 ч и через 120 ч после обработки. Ингибитор протеинкиназы CGP-60474 и рвотное средство эметин продемонстрировали наиболее высокую способность подавлять рост и жизнеспособность клеток ПМЖ. Так, при обработке эметин в течение 24 ч число жизнеспособных клеток линии MCF-7 и MDA-MB-231 составило 50–60 %, при обработке в течение 5 сут этот показатель падал на 15–20 % (рис. 4). Обработка клеток комбинацией эметина с дексаметазоном

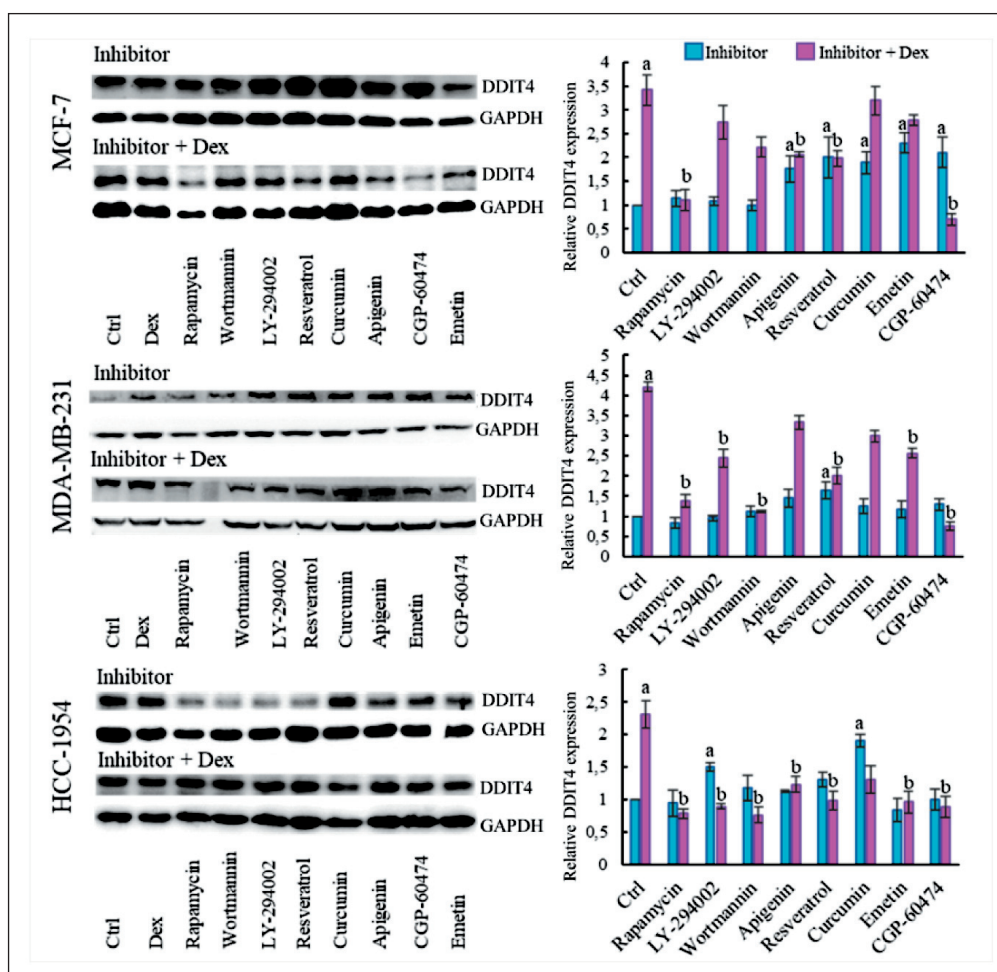


Рис. 3. Экспрессия белка DDIT4 в клетках РМЖ при обработке ингибиторами DDIT4. Клетки культивировали в течение 4 ч в присутствии растворителя или исследуемого ингибитора DDIT4, затем добавляли GC в концентрации 100 нМ или растворитель и инкубировали в течение 24 ч. Уровень экспрессии DDIT4 определяли методом иммуноблоттинга с использованием специфических антител. Относительное изменение количества белка оценивали денситометрически и нормализовали по экспрессии белка GAPDH. Данные представлены как $M \pm SD$ ($n=3$).

Примечание: а – отличия от контроля статистически значимы;

б – отличия от образцов клеток, обработанных Dex, статистически значимы ($p < 0,05$)

Fig. 3. Effects of DDIT4 inhibitors, GCs and their combined treatment on DDIT4 protein expression in breast cancer cells. Cells were pretreated with in the presence of solvent or DDIT4 inhibitor for 4 h, then were treated for another 24 h with Dex or solvent. GAPDH served as loading control. Data are presented as $M \pm SD$ ($n=3$).

Note: a – statistically significant difference from the control (Ctrl);

b – statistically significant difference from the samples treated with Dex ($p < 0.05$)

частично приводила к кооперации цитотоксических эффектов при 120-часовой инкубации линии MDA-MB-231. Цитотоксические эффекты CGP-60474 были менее выражены, однако для данного соединения в комбинации с GC наблюдали более четкую кооперацию в подавлении жизнеспособности клеток РМЖ (рис. 4). Более слабый цитотоксический эффект был продемонстрирован для препаратов класса ингибиторов PI3K/Akt/mTOR рапамицина, вортманнина и LY-294002, а также фитоалексина ресвератрола, причем преимущественно на 120 ч инкубации с данными соединениями индивидуально и в комбинации с дексаметазоном. Цитотоксический эффект остальных анализируемых потенциальных ингибиторов DDIT4 был менее выражен. В связи с этим эметин и CGP-60474

являются наиболее перспективными препаратами для дальнейших исследований.

Обсуждение

Стандартная химио- и радиотерапия РМЖ вызывает большое количество токсических побочных эффектов, для купирования которых разработаны отдельные схемы применения препаратов. GC являются частым компонентом таких схем; более того, собственный антипролиферативный эффект GC на клетки РМЖ может усиливать действие основного цитостатика [31, 32]. Однако следует принимать во внимание тот факт, что среди побочных эффектов применения GC в терапии ЗНО могут наблюдаться развитие резистентности [33, 34], остеопороза и мышечной дистрофии, усиление

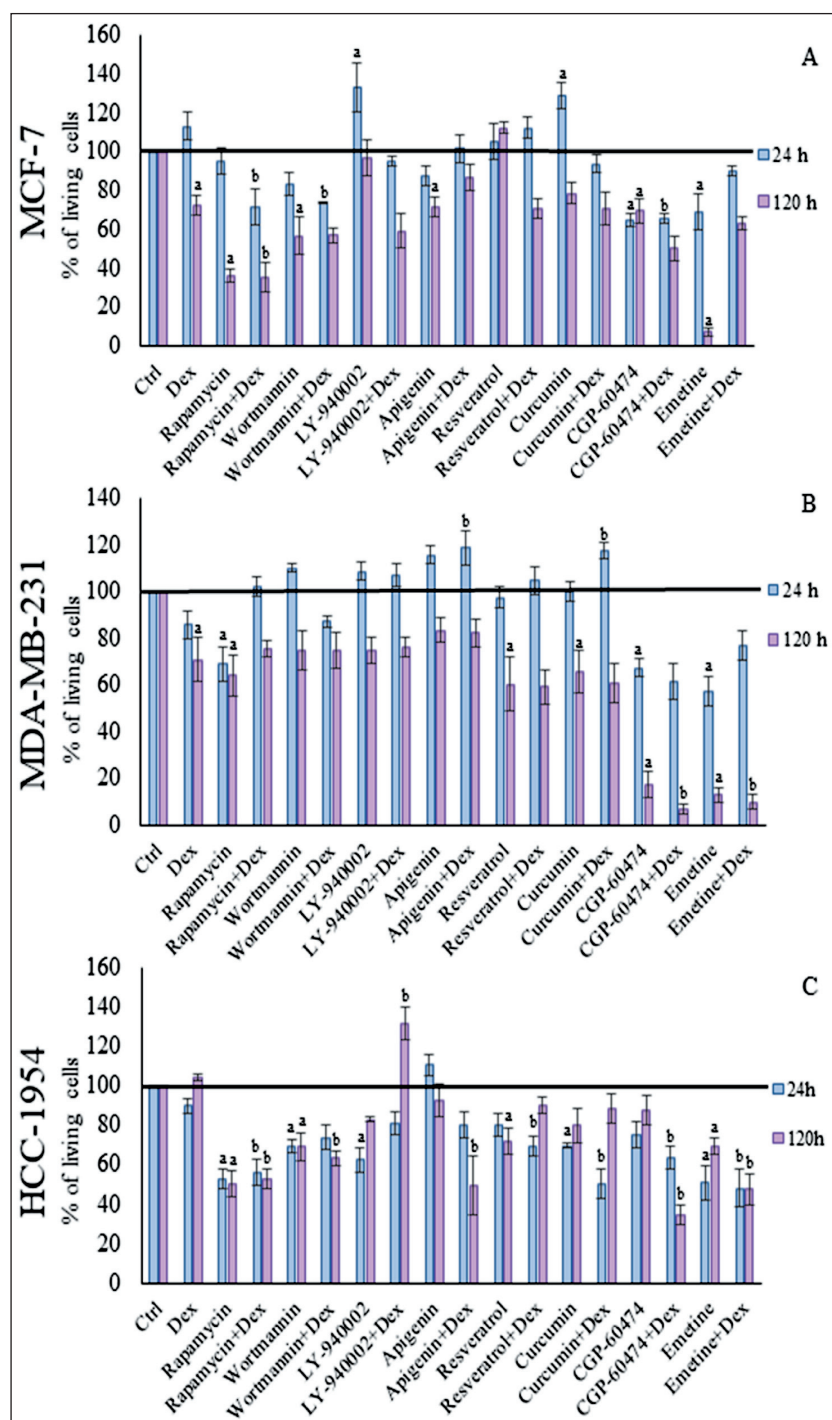


Рис. 4. Антипролиферативный эффект исследуемых ингибиторов DDIT4 индивидуально и в комбинации с дексаметазоном на клетки РМЖ:

А – число живых клеток линии MCF-7 после инкубации с исследуемыми веществами и их комбинациями; В – число живых клеток линии MDA-MB-231 после инкубации с исследуемыми веществами и их комбинациями; С – число живых клеток линии HCC-1954 после инкубации с исследуемыми веществами и их комбинациями. Клетки культивировали в присутствии растворителя, дексаметазона, исследуемых ингибиторов, а также их комбинаций. Подсчет клеток проводили через 24 ч и 120 ч. Количество живых клеток в экспериментальных образцах приведено в процентах от контроля, обработанного растворителем. Данные представлены как $M \pm SD$ ($n=5$). Примечание: а – отличия от контроля статистически значимы; б – отличия от образцов клеток, обработанных Dex, статистически значимы ($p < 0,05$)

Fig. 4. Antiproliferative effect of DDIT4 inhibitors individually and in combination with Dex on breast cancer cells. A – data for MCF-7 cells, B – data for MDA-MB-231, C – data for HCC-1954 line. Cells were treated with the solvent, Dex, inhibitors and their combination. Cells were counted 24 h and 120 h after the treatment. Data are presented as $M \pm SD$ ($n=5$).

Note: a – statistically significant difference from the control (Ctrl); b – statistically significant difference from the samples treated with Dex ($p < 0.05$)

метастазирования [35] и пр. Введение в протокол противоопухолевой терапии дополнительных соединений для ингибирования экспрессии GR-зависимых генов/белков, опосредующих развитие побочных эффектов, рассматривается как один из наиболее рациональных подходов для совершенствования GC-терапии. При этом перепрофилирование зарегистрированных и уже используемых в клинической практике препаратов с описанными свойствами является перспективной альтернативой долгосрочной и дорогостоящей разработке новых фармакологических препаратов [12]. Более того,

многие препараты растительного происхождения (флавоноиды, алкалоиды, фенолы, танины, гликозиды, лактоны и пр.) могут служить «мягкими» вспомогательными средствами при химиотерапии или при купировании ее побочных эффектов. Биоинформатический скрининг на основе принципа перепрофилирования препаратов оказался продуктивным подходом к подбору соединений, способных подавлять побочные эффекты GC.

В ходе работы нами были продемонстрированы цитотоксические эффекты эметина и CGP-60474 на клетки РМЖ различных подтипов, что

согласовывалось с литературными данными [27]. Наблюдаемая нами антипролиферативная активность ресвератрола и куркумина на клетках РМЖ также была описана в литературе [23]. Цитотоксический эффект комбинаций данных соединений с GC дексаметазоном был описан нами впервые. Также впервые было показано, что данные соединения ингибируют как базальный, так и GC-индуцированный уровень белка и мРНК *DDIT4* в клеточных моделях РМЖ.

Таким образом, в данном исследовании выявлен ряд ингибиторов *DDIT4*, способных *in vitro* подавлять экспрессию данного гена в клетках РМЖ люминального и ТН подтипов. Наиболее эффективными ингибиторами *DDIT4* были рвотное средство эметин, ингибитор протеинкиназы С CGP-60474 и модуляторы сигнального пути PI3K/Akt/mTOR рапамицин, вортманнин и LY-294002. Также определенную активность в данном направлении проявили природные полифенолы растительного происхождения: апигенин, куркумин и ресвератрол. Способность исследуемых соединений подавлять жизнеспособность клеток РМЖ была менее выражена, чем в отношении клеток лейкозов и лимфом [11, 13]. Однако наблюдаемое подавление пролиферации после инкубации с ин-

гибиторами *DDIT4* свидетельствует о перспективности исследования данных соединений в качестве адъювантных препаратов в комбинированной химиотерапии с использованием GC.

Заключение

Выявлен ряд ингибиторов *DDIT4*, способных *in vitro* подавлять экспрессию данного гена в клетках РМЖ люминального и ТН подтипов. Наиболее эффективными ингибиторами *DDIT4* были эметин, ингибитор протеинкиназы С CGP-60474 и модуляторы сигнального пути PI3K/Akt/mTOR рапамицин, вортманнин и LY-294002. Также определенную активность в данном направлении проявили природные полифенолы растительного происхождения: апигенин, куркумин и ресвератрол. Способность исследуемых соединений подавлять жизнеспособность клеток РМЖ была менее выражена, чем в отношении клеток лейкозов и лимфом. Однако наблюдаемое подавление пролиферации после инкубации с ингибиторами *DDIT4* свидетельствует о перспективности исследования данных соединений в качестве адъювантных препаратов в комбинированной химиотерапии с использованием GC и является пилотным исследованием для дальнейшего масштабирования на первичных культурах РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Vandewalle J., Luyckaert A., De Bosscher K., Libert C. Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids. Trends Endocrinol Metab. 2018; 29(1): 42–54. doi: 10.1016/j.tem.2017.10.010.
2. Kadmiel M., Cidlowski J.A. Glucocorticoid receptor signaling in health and disease. Trends Pharmacol Sci. 2013; 34(9): 518–30. doi: 10.1016/j.tips.2013.07.003.
3. Oray M., Abu Samra K., Ebrahimiadib N., Meese H., Foster C.S. Long-term side effects of glucocorticoids. Expert Opin Drug Saf. 2016; 15(4): 457–65. doi: 10.1517/14740338.2016.1140743.
4. Noureddine L.M., Trédan O., Hussein N., Badran B., Le Romancer M., Poulard C. Glucocorticoid Receptor: A Multifaceted Actor in Breast Cancer. Int J Mol Sci. 2021; 22(9): 4446. doi: 10.3390/ijms22094446.
5. Baida G., Bhalla P., Kirsanov K., Lesovaya E., Yakubovskaya M., Yuen K., Guo S., Lavker R.M., Readhead B., Dudley J.T., Budunova I. REDD1 functions at the crossroads between the therapeutic and adverse effects of topical glucocorticoids. EMBO Mol Med. 2015; 7(1): 42–58. doi: 10.15252/emmm.201404601.
6. Wang H., Kubica N., Ellisen L.W., Jefferson L.S., Kimball S.R. Dexamethasone represses signaling through the mammalian target of rapamycin in muscle cells by enhancing expression of REDD1. J Biol Chem. 2006; 281(51): 39128–34. doi: 10.1074/jbc.M610023200.
7. Pinto J.A., Roffo C., Ruez L.E., Prado A., Araujo J.M., Bravo L., Fajardo W., Morante Z.D., Aguilar A., Neciosup S.P., Mas L.A., Bretel D., Balko J.M., Gomez H.L. In silico evaluation of DNA Damage Inducible Transcript 4 gene (*DDIT4*) as prognostic biomarker in several malignancies. Sci Rep. 2017; 7(1): 1526. doi: 10.1038/s41598-017-01207-3.
8. Savukaitytė A., Gudaitytė G., Bartnykaitė A., Ugenskienė R., Juozaitytė E. siRNA Knockdown of REDD1 Facilitates Aspirin-Mediated Dephosphorylation of mTORC1 Target 4E-BP1 in MDA-MB-468 Human Breast Cancer Cell Line. Cancer Manag Res. 2021; 13: 1123–33. doi: 10.2147/CMAR.S264414.
9. Horak P., Crawford A.R., Vadyisirisack D.D., Nash Z.M., DeYoung M.P., Sgroi D., Ellisen L.W. Negative feedback control of HIF-1 through REDD1-regulated ROS suppresses tumorigenesis. Proc Natl Acad Sci USA. 2010; 107(10): 4675–80. doi: 10.1073/pnas.0907705107.
10. Koo J.S., Jung W. Alteration of REDD1-mediated mammalian target of rapamycin pathway and hypoxia-inducible factor-1α regulation in human breast cancer. Pathobiology. 2010; 77(6): 289–300. doi: 10.1159/000320936.
11. Lesovaya E., Agarwal S., Readhead B., Vinokour E., Baida G., Bhalla P., Kirsanov K., Yakubovskaya M., Platanius L.C., Dudley J.T., Budunova I. Rapamycin Modulates Glucocorticoid Receptor Function, Blocks Atrophogenic REDD1, and Protects Skin from Steroid Atrophy. J Invest Dermatol. 2018; 138(9): 1935–44. doi: 10.1016/j.jid.2018.02.045.
12. Савинкова А.В., Жидкова Е.М., Тилова Л.Р., Лаврова М.Д., Лылова Е.С., Кузин К.А., Портянникова А.Ю., Максимова В.П., Холодова А.В., Власова О.А., Фетисов Т.И., Кирсанов К.И., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г., Лесовая Е.А. Варианты и перспективы реперофилрования лекарственных препаратов для использования в терапии онкологических заболеваний. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(3): 77–87. [Savinkova A.V., Zhidkova E.M., Tilova L.R., Lavrova M.D., Lylova E.S., Kuzin K.A., Portyannikova A.Yu., Maximova V.P., Kholodova A.V., Vlasova O.A., Fetisov T.I., Kirsanov K.I., Belitskiy G.A., Yakubovskaya M.G., Lesovaya E.A. Variants and perspectives of drug repurposing for cancer treatment. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17(3): 77–87. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-3-77-87.
13. Лылова Е.С., Савинкова А.В., Жидкова Е.М., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г., Будунова И.В., Лесовая Е.А. Ингибирование экспрессии гена *REDD1* для снижения побочных эффектов глюкокортикоидов. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 73–81. [Lylova E.S., Savinkova A.V., Zhidkova E.M., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Budunova I.V., Lesovaya E.A. Inhibition of *REDD1* expression for the reduction of glucocorticoid-induced side effects. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 73–81. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-73-81.
14. Hostettler G.L., Ralston R.A., Schwartz S.J. Flavones: Food Sources, Bioavailability, Metabolism, and Bioactivity. Adv Nutr. 2017; 8(3): 423–35. doi: 10.3945/an.116.012948.
15. Montenegro-Landivar M.F., Tapia-Quiros P., Vecino X., Reig M., Valderrama C., Granados M., Cortina J.L., Saurina J. Polyphenols and their potential role to fight viral diseases: An overview. Sci Total Environ. 2021; 801: 149719. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.149719.
16. Yu C., Yang B., Najafi M. Targeting of cancer cell death mechanisms by curcumin: Implications to cancer therapy. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2021; 129(6): 397–415. doi: 10.1111/bcpt.13648.
17. Fu X., Li M., Tang C., Huang Z., Najafi M. Targeting of cancer cell death mechanisms by resveratrol: a review. Apoptosis. 2021; 26(11–12): 561–73. doi: 10.1007/s10495-021-01689-7.
18. Hazafa A., Iqbal M.O., Javaid U., Tareen M.B.K., Amna D., Ramzan A., Piracha S., Naeem M. Inhibitory effect of polyphenols (phenolic acids, lignans, and stilbenes) on cancer by regulating signal transduction pathways: a review. Clin Transl Oncol. 2022; 24(3): 432–45. doi: 10.1007/s12094-021-02709-3.

19. Nozhat Z., Heydarzadeh S., Memariani Z., Ahmadi A. Chemoprotective and chemosensitizing effects of apigenin on cancer therapy. *Cancer Cell Int.* 2021; 21(1): 574. doi: 10.1186/s12935-021-02282-3.
20. Javed Z., Sadia H., Iqbal M.J., Shamas S., Malik K., Ahmed R., Raza S., Butnariu M., Cruz-Martins N., Sharifi-Rad J. Apigenin role as cell-signaling pathways modulator: implications in cancer prevention and treatment. *Cancer Cell Int.* 2021; 21(1): 189. doi: 10.1186/s12935-021-01888-x.
21. Shukla S., Gupta S. Apigenin: a promising molecule for cancer prevention. *Pharm Res.* 2010; 27(6): 962–78. doi: 10.1007/s11095-010-0089-7.
22. Aggarwal B.B., Bhardwaj A., Aggarwal R.S., Seeram N.P., Shishodia S., Takada Y. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.* 2004; 24(5A): 2783–840.
23. Arena A., Romeo M.A., Benedetti R., Masuelli L., Bei R., Gilardini Montani M.S., Cirone M. New Insights into Curcumin- and Resveratrol-Mediated Anti-Cancer Effects. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021; 14(11): 1068. doi: 10.3390/ph14111068.
24. Власова О.А., Борунова А.А., Сафина А., Сметанина И.В., Лесовая Е.А., Белицкий Г.А., Заботина Т.Н., Гурова К., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г. Активация сигнального пути интерферона-альфа ресвератролом, генистеином и кверцетином. *Сибирский онкологический журнал.* 2019; 18(1): 50–5. [Vlasova O.A., Borunova A.A., Safina A., Smetanina I.V., Lesovaya E.A., Belitsky G.A., Zabolina T.N., Gurova K., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G. Activation of interferon- α signaling by resveratrol, genistein and quercetin. *Siberian Journal of Oncology.* 2019; 18(1): 50–5. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-50-55.
25. Miller S.C., Huang R., Sakamuru S., Shukla S.J., Attene-Ramos M.S., Shinn P., Van Leer D., Leister W., Austin C.P., Xia M. Identification of known drugs that act as inhibitors of NF-kappaB signaling and their mechanism of action. *Biochem Pharmacol.* 2010; 79(9): 1272–80. doi: 10.1016/j.bcp.2009.12.021.
26. Sun Q., Yogosawa S., Iizumi Y., Sakai T., Sowa Y. The alkaloid emetine sensitizes ovarian carcinoma cells to cisplatin through down-regulation of bcl-xL. *Int J Oncol.* 2015; 46(1): 389–94. doi: 10.3892/ijo.2014.2703.
27. Sun Q., Fu Q., Li S., Li J., Liu S., Wang Z., Su Z., Song J., Lu D. Emetine exhibits anticancer activity in breast cancer cells as an antagonist of Wnt/ β -catenin signaling. *Oncol Rep.* 2019; 42(5): 1735–44. doi: 10.3892/or.2019.7290.
28. Meyuhas O. Ribosomal Protein S6 Phosphorylation: Four Decades of Research. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2015; 320: 41–73. doi: 10.1016/bs.ircmb.2015.07.006.
29. Григорьева Д.Д., Жидкова Е.М., Лылова Е.С., Демина Д.В., Кирсанов К.И., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г., Лесовая Е.А. Ингибирование глюкокортикоидиндуцированной экспрессии *REDD1* рапамицином в клетках рака молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии.* 2022; 9(1): 42–7. [Grigorieva D.D., Zhidkova E.M., Lylova E.S., Demina D.V., Kirsanov K.I., Belitsky G.A., Yakubovskaya M.G., Lesovaya E.A. Inhibition of glucocorticoid-induced expression of *REDD1* by rapamycin in breast cancer cells. *Advances in Molecular Oncology.* 2022; 9(1): 42–7. (in Russian)].
30. Жидкова Е.М., Кузин К.А., Тилова Л.Р., Савинкова А.В., Борисова О.И., Лаврова М.Д., Максимова В.П., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г., Лесовая Е.А. Сравнительный анализ биологических эффектов селективного агониста глюкокортикоидного рецептора cpda на клеточные линии рака молочной железы различных молекулярных подтипов. *Сибирский онкологический журнал.* 2017; 16(6): 41–46. [Zhidkova E.M., Kuzin K.A., Tilova L.R., Savinkova A.V., Borisova O.I., Lavrova M.D., Maximova V.P., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Lesovaya E.A. Comparative analysis of biological effects of selective activator of the glucocorticoid receptor cpda on different subtypes of breast cancer cell lines. *Siberian Journal of Oncology.* 2017; 16(6): 41–46. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-6-41-46.
31. Kach J., Conzen S.D., Szmulewitz R.Z. Targeting the glucocorticoid receptor in breast and prostate cancers. *Sci Transl Med.* 2015; 7(305). doi: 10.1126/scitranslmed.aac7531.
32. Vilasco M., Communal L., Mourra N., Courtin A., Forgez P., Gompel A. Glucocorticoid receptor and breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2011; 130(1): 1–10. doi: 10.1007/s10549-011-1689-6.
33. Zhang C., Wenger T., Mattern J., Ilea S., Frey C., Gutwein P., Altevogt P., Bodenmüller W., Gassler N., Schnabel P.A., Dienemann H., Marmé A., Hohenfellner M., Haferkamp A., Pfizenmaier J., Gröne H.J., Kolb A., Büchler P., Büchler M., Friess H., Rittgen W., Edler L., Debatin K.M., Krammer P.H., Rutz H.P., Herr I. Clinical and mechanistic aspects of glucocorticoid-induced chemotherapy resistance in the majority of solid tumors. *Cancer Biol Ther.* 2007; 6(2): 278–87. doi: 10.4161/cbt.6.2.3652.
34. Mikosz C.A., Brickley D.R., Sharkey M.S., Moran T.W., Conzen S.D. Glucocorticoid receptor-mediated protection from apoptosis is associated with induction of the serine/threonine survival kinase gene, sgk-1. *J Biol Chem.* 2001; 276(20): 16649–54. doi: 10.1074/jbc.M010842200.
35. Obradović M.M.S., Hamelin B., Manevski N., Couto J.P., Sethi A., Coissieux M.M., Müntz S., Okamoto R., Kohler H., Schmidt A., Bentires-Alj M. Glucocorticoids promote breast cancer metastasis. *Nature.* 2019; 567(7749): 540–4. doi: 10.1038/s41586-019-1019-4.

Поступила/Received 05.03.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 03.06.2022

Принята к публикации/Accepted 15.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Жидкова Екатерина Михайловна, младший научный сотрудник лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: zhidkova_em@mail.ru. Author ID (Scopus): 57195322730. ORCID: 0000-0003-3318-9391.

Григорьева Диана Дмитриевна, младший научный сотрудник группы природных канцерогенов отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AGZ-9649-2022. ORCID: 0000-0003-2675-089X.

Лылова Евгения Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). Author ID (Scopus): 57202944330. ORCID: 0000-0001-6388-1624.

Максимова Варвара Павловна, младший научный сотрудник лаборатории канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). Author ID (Scopus): 57195322203. Researcher ID (WOS): S-7580-2019. ORCID: 0000-0003-0896-2952.

Сагитова Гузель Рафилевна, студентка факультета Международная школа «Медицина будущего», ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-3940-0661.

Хайриева Гузель Ирековна, студентка факультета «Институт клинической медицины», ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-5545-1157.

Трапезникова Екатерина Сергеевна, студентка факультета Международная школа «Медицина будущего», ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AAW-1193-2021. ORCID: 0000-0003-1274-4667.

Кирсанов Кирилл Игоревич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии

им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; ассистент кафедры общей врачебной практики, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7329-7263. Researcher ID (WOS): L-3062-2015. ORCID: 0000-0002-8599-6833.

Якубовская Марианна Геннадиевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): R-6984-2016. ORCID: 0000-0002-9710-8178.

Лесовая Екатерина Андреевна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник группы природных канцерогенов отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия); доцент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (г. Рязань, Россия). Researcher ID (WOS): J-7790-2015. ORCID: 0000-0002-1967-9637.

ВКЛАД АВТОРОВ

Жидкова Екатерина Михайловна: культуральная работа, исследование пролиферации, работа над иллюстрациями, подготовка текста публикации.

Григорьева Диана Дмитриевна: проведение вестерн-блот анализа.

Лылова Евгения Сергеевна: проведение ПЦР-анализа.

Максимова Варвара Павловна: работа над иллюстрациями.

Сагитова Гузель Рафилевна: статистическая обработка результатов и корреляционный анализ кинетики пролиферации.

Хайриева Гузель Ирековна: статистическая обработка результатов вестерн-блоттинга.

Трапезникова Екатерина Сергеевна: оценка кинетики пролиферации.

Кирсанов Кирилл Игоревич: статистическая обработка результатов и корреляционный анализ результатов ПЦР в реальном времени.

Якубовская Марианна Геннадиевна: анализ опубликованной литературы по теме исследования, подготовка текста публикации.

Лесовая Екатерина Андреевна: разработка дизайна и протоколов исследования, правка рукописи.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант РНФ 17-75-20124).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina M. Zhidkova, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). E-mail: zhidkova_em@mail.ru. Author ID (Scopus): 57195322730. ORCID: 0000-0003-3318-9391.

Diana D. Grigoreva, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AGZ-9649-2022. ORCID: 0000-0003-2675-089X.

Evgeniya S. Lylova, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57202944330. ORCID: 0000-0001-6388-1624.

Varvara P. Maksimova, Junior Researcher, Laboratory of Chemical Carcinogens, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57195322203. Researcher ID (WOS): S-7580-2019. ORCID: 0000-0003-0896-2952.

Guzel R. Sagitova, Student, International School "Medicine of the Future", I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-3940-0661.

Guzel I. Khayrieva, Student, Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5545-1157.

Ekaterina S. Trapeznikova, Student, International School "Medicine of the Future", I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAW-1193-2021. ORCID: 0000-0003-1274-4667.

Kirill I. Kirsanov, DSc, Head of Laboratory of Chemical Carcinogens, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia; Assistant of the Department of General Medical Practice, RUDN University (Moscow, Russia). E-mail: kirsanov85@yandex.ru. Researcher ID (WOS): L-3062-2015. ORCID: 0000-0002-8599-6833.

Marianna G. Yakubovskaya, MD, DSc, Head of Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): R-6984-2016. ORCID: 0000-0002-9710-8178.

Ekaterina A. Lesovaya, DSc, Senior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia); Associate Professor, Department of Oncology, I.P. Pavlov Ryazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Ryazan, Russia). Researcher ID (WOS): J-7790-2015. ORCID: 0000-0002-1967-9637.

AUTHOR CONTRIBUTION

Ekaterina M. Zhidkova: experiments' performance, manuscript preparation and editing.
Diana D. Grigoreva: experiments' performance, manuscript preparation and editing.
Evgeniya S. Lylova: experiments' performance, manuscript preparation and editing.
Varvara P. Maksimova: design of figures, manuscript preparation and editing.
Guzel R. Sagitova: design of figures, manuscript preparation and editing.
Guzel I. Khayrieva: design of figures, manuscript preparation and editing.
Ekaterina S. Trapeznikova: experiments' performance, manuscript preparation and editing.
Kirill I. Kirsanov: manuscript preparation and editing.
Marianna G. Yakubovskaya: manuscript preparation and editing.
Ekaterina A. Lesovaya: manuscript preparation and editing.

Funding

Russian Science Foundation grant 17-75-20124.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest

Для цитирования: Лапкина Е.З., Палкина Н.В., Аверчук А.С., Есимбекова А.Р., Рукша Т.Г. Оценка противоопухолевых, токсических эффектов и характера экспрессии генов-мишеней miR-204-5p при применении ее имитатора на модели меланомы B-16 *in vivo*. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 61–69. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-61-69

For citation: Lapkina E.Z., Palkina N.V., Averchuk A.S., Esimbekova A.R., Ruksha T.G. Antitumor, toxicity and target gene expression evaluation of miR-204-5p mimic application on melanoma B16-bearing mice. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 61–69. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-61-69

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ, ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ И ХАРАКТЕРА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ miR-204-5p ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЕЕ ИМИТАТОРА НА МОДЕЛИ МЕЛАНОМЫ B-16 IN VIVO

Е.З. Лапкина, Н.В. Палкина, А.С. Аверчук, А.Р. Есимбекова, Т.Г. Рукша

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Минздрава России, г. Красноярск, Россия
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1. E-mail: e.z.lapkina@mail.ru

Аннотация

Цель исследования – оценка влияния имитатора miR-204-5p на рост меланомы B-16 *in vivo* при внутрибрюшинном трехкратном его введении, определение изменения при этом экспрессии генов-мишеней miR-204-5p в опухоли и дистантных органах, а также выраженности токсических реакций. **Материал и методы.** Исследование проводили на мышах C57Bl/6 с подкожно перевитой меланомой B-16. Животным опытной группы внутрибрюшинно вводили имитатор микроРНК miR-204-5p (5нМоль) на 8, 10, 12-е сут после трансплантации опухолевых клеток. Согласно результатам биоинформатического анализа определяли уровень экспрессии генов-мишеней микроРНК *BCL2* и *SIRT1* методом ПЦР в реальном времени. Определяли токсический эффект воздействия имитатора по динамике массы тела и органов, объему опухолевого узла, изменению двигательной активности и внешнего вида животных в течение эксперимента. **Результаты.** Оценка внешних признаков и динамики двигательной активности животных, а также динамики их массы и массы органов при вскрытии свидетельствует об отсутствии токсического эффекта имитатора miR-204-5p. К 13–14-му дню эксперимента двигательная активность в контрольных группах животных статистически значимо снизилась по сравнению с группой животных, которым вводился имитатор miR-204-5p ($p=0,011$). Отмечено повышение экспрессии *BCL2* в легких и почках мышей и *SIRT1* – в легких мышей ($p<0,05$). Отмечалась тенденция к снижению массы опухолевого узла к 14-му дню эксперимента. **Заключение.** Модуляция уровня микроРНК miR-204-5p приводит к изменению экспрессии генов-мишеней – *SIRT1* и *BCL2* в легких животных, *BCL2* – в почках. Введение имитатора микроРНК не вызывает нарушений двигательной активности животных, изменения массы внутренних органов, что может свидетельствовать об отсутствии развития токсического эффекта. Дальнейшее исследование требуется для разяснения биодоступности модуляторов микроРНК в опухолевую ткань, а также влияния имитатора miR-204-5p на пролиферацию клеток меланомы *in vivo*.

Ключевые слова: меланома B-16, B16, miR-204-5p, микроРНК, гены мишени, биоинформатический анализ.

ANTITUMOR, TOXICITY AND TARGET GENE EXPRESSION EVALUATION OF miR-204-5p MIMIC APPLICATION ON MELANOMA B16-BEARING MICE

E.Z. Lapkina, N.V. Palkina, A.S. Averchuk, A.R. Esimbekova, T.G. Ruksha

V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia
1, Partizana Zheleznyak St., 660022, Krasnoyarsk, Russia. E-mail: e.z.lapkina@mail.ru

Abstract

Objective. To evaluate anti-tumor, toxic effect of miR-204-5p mimic application on melanoma B-16-bearing mice followed by miR-204-5p target gene expression estimation in melanoma tumor and distant organs. **Material and Methods.** C57Bl/6 melanoma B-16-bearing mice were used. The animals of the experimental group were intraperitoneally injected with a 5 nM miR-204-5p miRNA simulator (mimic) on the 8th, 10th, and 12th days after melanoma B-16 cell transplantation. Based on the results of bioinformatic analysis, miR-204-5p target genes *BCL2* and *SIRT1* expression levels were determined by quantitative real-time PCR. The toxic effect of miR-204-5p mimic was estimated by the evaluation of body weight, mass of the internal organs, and motor activity. **Results.** On the 13-14th days of the experiment, the motor activity of animals in the control groups decreased significantly compared to the group of animals treated by miR-204-5p. Target gene *BCL2* showed increased expression in the lungs and kidneys and *SIRT1* levels were increased in the lungs of miR-204-5p mimic treated animals ($p < 0.05$). Tumor mass tended to decrease in the animals treated by miR-204-5p mimic. **Conclusion.** Modulation of the level of miR-204-5p microRNA led to changes in the expression of *SIRT1* and *BCL2* in the lungs of animals, and changes in the expression of *BCL2* in the kidneys. MiR-204-5p mimic application did not have toxic effect on animals treated. Further studies are necessary to clarify miR-204-5p implication in melanoma cell proliferation regulation as well as its biodistribution in the tumor tissue.

Key words: melanoma B16, miR-204-5p, microRNA, target genes, bioinformatic analysis.

Введение

Меланома является злокачественным новообразованием кожи в результате неограниченной пролиферации меланоцитов. Актуальной задачей современной онкологии является поиск новых подходов в лечении данного заболевания, поскольку его диссеминированные формы трудно поддаются терапии [1, 2]. Одним из направлений при лечении меланомы кожи может быть воздействие на микроРНК. МикроРНК – малые некодирующие молекулы РНК длиной в среднем 22 нуклеотида [3]. Доказано, что микроРНК играют важную роль в регуляции эпигенетических изменений при развитии онкологических заболеваний, влияя на профиль экспрессии белков-регуляторов во время реализации биологических процессов. Таким образом, действуя как онкогены и гены-супрессоры опухолей, они могут либо способствовать, либо ингибировать развитие и формирование злокачественных новообразований [4]. Выявлено, что каждое заболевание демонстрирует уникальный профиль экспрессии микроРНК, который отличается от экспрессии в здоровой ткани. Такие дифференциальные микроРНК называются «сигнатурными» и являются диагностическими или прогностическими маркерами, которые могут быть применены для совершенствования традиционных методов диагностики заболеваний [5]. Установлена роль микроРНК в регуляции биологических процессов, таких как пролиферация, дифференцировка и апоптоз через посттранскрипционное изменение экспрессии генов. Механизм негативной регуляции микроРНК обеспечивается связыванием с 3' некодируемой областью целевой мРНК, что приводит к блокировке трансляции или деградации РНК [6]. Одна микроРНК может регулировать изменение уровня экспрессии нескольких сотен генов [7]. Для модуляции уровня экспрессии микроРНК в клетке возможно использование ее имитатора – синтетического аналога. Данный подход хорошо отражен

в современной литературе. В частности, показано, что повышенная экспрессия miR-30a ингибирует метастазирование *in vivo* за счет воздействия на ZEB2 и E-кадгерин [8]. Сверхэкспрессия miR-9 снижает рост опухоли, тогда как избыточная экспрессия гена *NRPI* усиливает прогрессию злокачественной меланомы [9]. Также при злокачественной меланоме обнаружена онкосупрессорная роль miR-18b и miR-33a посредством прямого воздействия на *HIF-1α* [10, 11]. В экспериментах *in vivo* установлено, что miR-21 регулирует метастазирование клеток меланомы B-16, способствуя пролиферации, выживанию и миграции/инвазии клеток [12].

Ранее нами было показано, что уровень микроРНК miR-204-5p в клетках меланомы уменьшается по сравнению с меланоцитарными невусами, а восстановление его уровня приводит к изменению пролиферативной активности опухолевых клеток [13].

На основе биоинформатического анализа было установлено 235 генов-мишеней miR-204-5p, участвующих в 32 биологических процессах. *SIRT1* регулирует процессы апоптоза, адгезию и межклеточное взаимодействие. Проведение нокада гена *SIRT1* микроРНК в клетках меланомы линии BRO приводило к изменению их пролиферативной активности [14]. *BCL2* кодирует регулятор апоптоза с антиапоптотическими функциями, повышенный уровень экспрессии *BCL2* является прогностическим маркером метастазирования меланомы кожи [15]. Впервые в настоящем исследовании проведена оценка токсического и противоопухолевого эффектов имитатора miR-204-5p на модели меланомы B-16 у мышей, а также исследовано его влияние на уровень экспрессии целевых генов *SIRT1* и *BCL2* в опухоли и внутренних органах животных.

Цель исследования – оценка влияния имитатора miR-204-5p на рост меланомы B-16 *in vivo* при внутрибрюшинном трехкратном его

введении, определение изменения при этом экспрессии генов-мишеней miR-204-5p в опухоли и дистантных органах, выраженности токсических реакций.

Материал и методы

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 3 от 22.04.2021). Манипуляции с животными осуществляли в соответствии с правилами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2008 ред.), а также в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных» и приказе Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 № 199 н. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Эксперимент выполнен на половозрелых мышах-самках линии C57Bl/6 в возрасте 7–8 нед со средней массой тела 16,5 г, полученных из Федерального государственного унитарного предприятия «Питомник лабораторных животных «РАППОЛОВО» национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» – «ПЛИЖ «Рапполово»). Животных содержали в клетках при естественном освещении с неограниченным доступом к корму и воде, температуру воздуха в помещении поддерживали на уровне 20–22 °С. Клетки меланомы В-16 были предоставлены Научно-исследовательским институтом фундаментальной и клинической иммунологии (г. Новосибирск). Опухоль перевивали по общепринятым методам мышам подкожно в боковую поверхность живота 10 % взвесью диссоциированных клеток в 1 мл раствора Хенкса без фенолового красного [16].

Все животные были разделены на 3 группы случайным образом. Животным контрольной группы (n=4) на 8, 10, 12-е сут после трансплантации опухолевых клеток внутрибрюшинно вводили раствор фосфатно-солевого буфера (VWR Radnor, USA) объемом 250 мкл. Количество животных в каждой группе определялось исходя из этических принципов организации исследований с использованием позвоночных животных, экономической доступности выбранного метода воздействия. В эксперименте применяли этический принцип 3Rs («replace», «reduce», «refine») для минимизации количества животных и получения статистически достоверных результатов [17, 18].

В группе отрицательного контроля (n=4) применялся негативный контроль имитатора (mirvana™mirnaMimic NegativeControl#1, Ambion, Carlsbad, USA). Вещество вводили внутрибрюшинно в дозировке 5 нМоль в 250 мкл буферного раствора трижды на 8, 10, 12-е сут после

трансплантации опухолевых клеток. Животным опытной группы (n=4) вводился синтетический аналог (имитатор) miR-204-5p (mirVana® miR-204-5p mimic, Ambion, Carlsbad, USA) в дозировке 5 нМоль трижды на 8, 10, 12-е сут после трансплантации клеток меланомы. В качестве растворителя использовали InvivoFectamine® 3.0 Reagent (Invitrogen, Carlsbad, USA). Инвивофектамин является трансфецирующим реагентом для создания катионных комплексов с имитаторами микроРНК. Использование трансфектанта обусловлено низкой эффективностью доставки нуклеиновых кислот в клетки-мишени и условий для их длительного функционирования [19]. Выбор метода доставки может иметь существенное влияние на модуляцию последующих молекулярных мишеней и, в конечном итоге, на терапевтические результаты. Оптимизированная доставка также предлагает другие практические преимущества, такие как уменьшение количества используемого имитатора. По данным литературы, тканевое распределение имитатора микроРНК при внутрибрюшинном введении сопоставимо по уровню с внутривенным [20]. Для взаимодействия с отрицательно заряженными компонентами мембраны клетки формируются липокомплексы нуклеиновых кислот в небольшом избытке катионного носителя. В нашем исследовании комплекс имитатор микроРНК-инвивофектамин для разовой дозы получали путем объединения 5 нМоль имитатора микроРНК с равным количеством буфера для образования комплекса инвивофектамина с последующим добавлением 12,5 мкл инвивофектамина. Полученную смесь перемешивали, затем инкубировали при 50 °С в течение 30 мин. Полученный объем комплекса инвивофектамина с действующим веществом довели раствором фосфатно-солевого буфера (VWR Radnor, USA) до 250 мкл.

Для оценки динамики роста опухоли, начиная с 7-х сут после трансплантации клеток меланомы, проводили ежедневные линейные замеры опухоли в двух взаимно перпендикулярных направлениях. Объем опухоли рассчитывали по формуле

$$V = (A \times (B)^2) / 2,$$

где А – больший, а В – меньший линейный размер узла.

Оценивалась масса тела мышей. Животных взвешивали каждые сутки в течение 14 дней после трансплантации клеток меланомы В-16. Анализ внешних признаков проводили ежедневно путем балльной оценки изменения окраса шерсти и волосяного покрова: 1 балл – шерстяной покров тусклый; 2 балла – яркий; изменения двигательной активности: 5 баллов – активное передвижение животного по клетке, выраженные избегательно-оборонительные реакции; 4 балла – медленные активные движения по клетке, избегательно-оборонительные реакции с попытками укусов; 3 балла – реакция на раздражение избегательная,

спонтанная двигательная активность угнетена, стимулированная сохранена, животное передвигается на несколько шагов только при подталкивании; 2 балла – реакция на тактильные раздражители угнетена, минимальная стимулированная двигательная активность животного; 1 балл – кома, отсутствие спонтанной и стимулированной двигательной активности; 0 баллов – животное пало.

Животных после эвтаназии визуально осматривали. При вскрытии животных проводили оценку внутренних органов: цвета, формы, консистенции. Определяли массу внутренних органов и опухолевого узла. Вывод из эксперимента осуществляли на 14-е сут путем декапитации под эфирным наркозом. После вскрытия фрагменты органов (легкие, печень, почки) и опухолевый узел консервировали в жидком азоте, используя фиксатор IntactRNA (Евроген, Москва, Россия).

Выделение РНК осуществляли в ламинарном боксе, соблюдая правила асептики и антисептики. Из образцов тканей с помощью набора DiaGen 3317.0050 (ДиаЭм, Москва, Россия), согласно протоколу производителя получали 100 мкл РНК. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора реактивов MMLVRTkit (Евроген, Москва, РФ). Другую часть органов фиксировали в 10 % забуференном формалине с последующей заливкой в парафин.

Для определения уровня экспрессии исследуемых генов *SIRT1* и *BCL2* был произведен анализ ПЦР в реальном времени на приборе StepOne™ Real-TimePCR-System (AppliedBiosystems, Singapore).

Нормализацию результатов осуществляли одновременно по двум эндогенным контролям – *ACTB* и *GABGH* (AppliedBiosystems, USA).

Определяли величину Ct, соответствующую количеству циклов, при которых кривая флуоресценции пересекала заданный уровень фона. Каждый эксперимент выполняли в двух технологических повторах с дальнейшим расчетом среднего значения. Относительные уровни экспрессии генов для исследуемых образцов рассчитывали по формуле: $2^{-\Delta CT}$, где $\Delta CT = CT$ исследуемого мар-

кера – CT эндогенного контроля. Общий относительный уровень экспрессии по двум эндогенным контролям рассчитывали как квадратный корень от произведения уровней экспрессии по каждому эндогенному контролю.

Статистическая обработка и анализ данных осуществляли с помощью пакета программного обеспечения Statistica 7 (StatSoft, Россия). При сравнении парных независимых выборок использовали непараметрический критерий U-тест Манна–Уитни. Межгрупповые сравнения проводили с помощью непараметрического дисперсионного анализа Краскела–Уолеса, при $p < 0,05$ результаты считали статистически значимыми.

Результаты

Для определения возможного токсического эффекта используемого имитатора miR-204-5p оценивались динамика массы тела, внешний вид и двигательная активность животных в течение эксперимента. Животные проявляли выраженные избежательно-оборонительные реакции и нормальную двигательную активность во всех исследуемых группах, имели яркие, незагрязненные покровы тела, а к 13–14-му дню двигательная активность в контрольных группах животных статистически значимо снизилась по сравнению с группой имитатора miR-204-5p ($p=0,011$) (рис. 1). Динамика массы тела животных в исследуемых группах за период эксперимента значимо не различалась и составляла 16–16,5 г.

При вскрытии животных в исследуемых группах не было отмечено дистрофических изменений внутренних органов (легких, печени, селезенки, почек, головного мозга), масса органов статистически не различалась (рис. 2.). При определении массы опухолевого узла на 14-е сут после трансплантации клеток меланомы отмечена тенденция к уменьшению массы опухолевого узла в группе животных, которым вводился имитатор miR-204-5p ($p=0,061$) (рис. 3).

Для определения генов-мишеней miR-204-5p использовали следующие базы данных: MiRDB 5.0



Рис. 1. Влияние имитатора miR-204-5p на динамику двигательной активности мышей C57Bl/6 с меланомой B-16 в течение 14 сут после трансплантации опухоли (PBS – контрольная группа)

Fig. 1. Effect of the miR-204-5p mimic on the changes in locomotor activity of C57Bl/6 mice with B-16 melanoma within 14 days after tumor transplantation (PBS – control group)

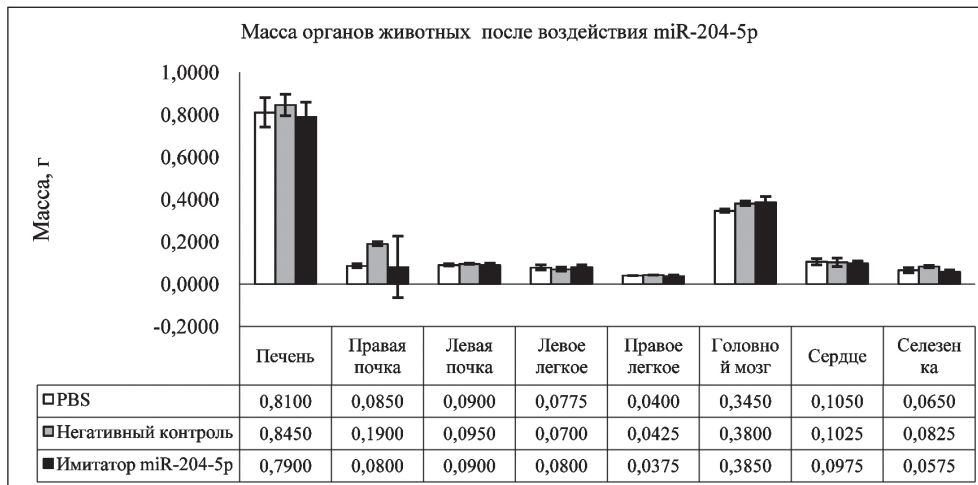


Рис. 2. Масса внутренних органов мышей C57Bl/6 с меланомой B-16 на 14-е сут после трансплантации опухоли (PBS – контрольная группа)

Fig. 2. Weight of internal organs of C57Bl/6 mice with B-16 melanoma on the 14th day after tumor transplantation (PBS – control group)

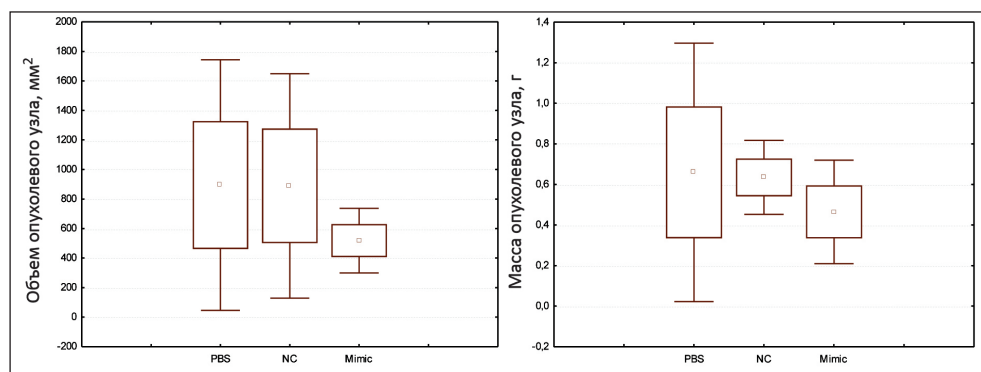


Рис. 3. Влияние имитатора miR-204-5p на объем и массу опухолевого узла у мышей C57Bl/6 с меланомой B-16 (14-е сут после трансплантации опухоли. PBS – контрольная группа, NC – негативный контроль; Mimic – имитатор miR-204-5p)
Fig. 3. Effect of the miR-204-5p mimic on the volume and mass of the tumor node in C57Bl/6 mice with B-16 melanoma (14-th day after tumor transplantation. PBS – control group, NC – negative control, Mimic – miR-204-5p mimic)

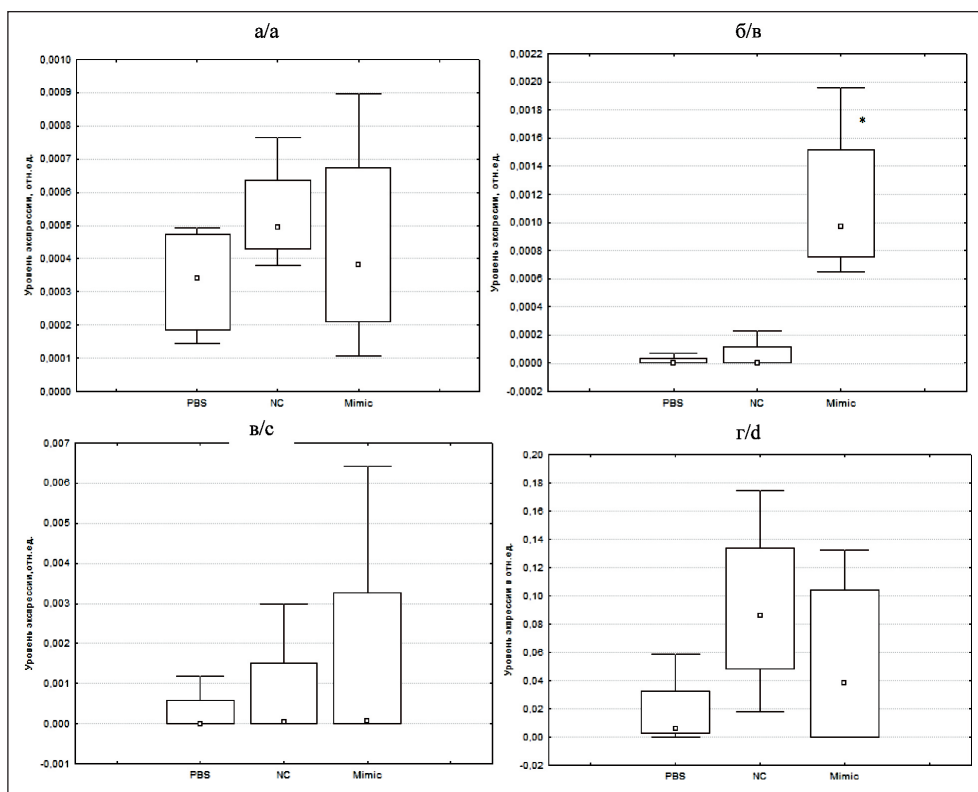


Рис. 4. Влияние имитатора miR-204-5p на относительный уровень экспрессии SIRT1 в опухолевом узле (а), легких (б), печени (в), почках (г) у мышей C57Bl/6 с меланомой B-16
Fig. 4. Effect of the miR-204-5p mimic on the relative level of SIRT1 expression in the tumor node (a), lungs (b), liver (c), kidneys (d) in C57Bl/6 mice with B-16 melanoma

(<http://mirdb.org/MIRDB>), TargetScan 7.1 (<http://www.targetscan.org>), miRWalk 2.0 (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de>). Для последующих исследований по оценке эффективности трансфекции miR-204-5p были выбраны гены-мишени, идентифицированные только с помощью трех баз.

МикроРНК miR-204-5p регулирует большое количество генов-мишеней, участвующих в жизнедеятельности клеток. Часть генов (*Foxc1*, *Myo10*, *Rhobtb3*, *Tmod3*) обеспечивает миграционную способность клеток, другие же гены регулируют процесс апоптоза (*Rnf122*, *Cdc73*, *Nr3c1*, *Bcl2*).

По результатам оценки экспрессии *SIRT1* и *BCL2* в опухолевом узле и органах (легкие, печень, почки) мышей через 24 ч после 3-й внутрибрюшинной инъекции установлено, что значительно ($p=0,017$) увеличивается уровень экспрессии *SIRT1* в легких мышей – в 59,8 раза в сравнении с базовым уровнем и в 19,6 раза в сравнении с негативным контролем – и составляет $113,62 \times 10^{-5}$ усл. ед (рис. 4). Показаны медиана (центр столбцов), интерквартильный размах (размер столбцов), минимум и максимум (вертикальные отрезки). PBS – базовый уровень экспрессии, NC – негативный контроль, Mimic – имитатор miR-204-5p, * – статистически значимые различия между имитатором miR-404-5p и базовым уровнем экспрессии ($p \leq 0,05$). Значимых различий по уровню экспрессии *SIRT1* в опухолевом узле, печени и почках мышей не выявлено.

По результатам оценки экспрессии *BCL2* в опухолевом узле и дистантных органах (легкие, печень, почки) мышей через 24 ч после 3-й внутрибрюшинной инъекции установлено, что статистически значимо ($p=0,043$) увеличивается уровень экспрессии

BCL2 в легких мышей – в 20,2 раза в сравнении с базовым уровнем – и составляет $1802,9 \cdot 10^{-5}$ усл. ед (рис. 5). В почках мышей увеличивается уровень экспрессии *BCL2* ($p=0,021$) в 16,8 раза и составляет $1333,4 \cdot 10^{-5}$ усл. ед. Значимых различий по уровню экспрессии *BCL2* в опухолевом узле и печени мышей не выявлено. Показаны медиана (центр столбцов), интерквартильный размах (размер столбцов), минимум и максимум (вертикальные отрезки). PBS – базовый уровень экспрессии, NC – негативный контроль, Mimic – имитатор miR-204-5p, * – значимые различия между имитатором miR-404-5p и базовым уровнем экспрессии ($p \leq 0,05$).

Обсуждение

В ранее проведенных исследованиях выявлена супрессорная роль miR-204-5p в развитии опухолей посредством посттранскрипционной репрессии целевых генов, регулирующих процессы канцерогенеза. Применение имитатора miR-204-5p снижает пролиферацию клеток рака щитовидной железы [21], плоскоклеточного рака полости рта [22]. Модуляция уровня исследуемой микроРНК приводит к уменьшению миграции и инвазии клеток глиомы посредством регуляции экспрессии белка семейства *RAS* *Rab22a* [23]. В экспериментах *in vitro* на клетках линии BRO и SK-MEL1 определена роль имитатора miR-204-5p в регуляции их пролиферативной активности и жизнеспособности [24]. Помимо этого, выявлено, что экспрессия miR-204-5p снижается при меланоме по сравнению с меланоцитарными невусами [25].

Существуют механизмы негативной и позитивной регуляции микроРНК путем воздействия

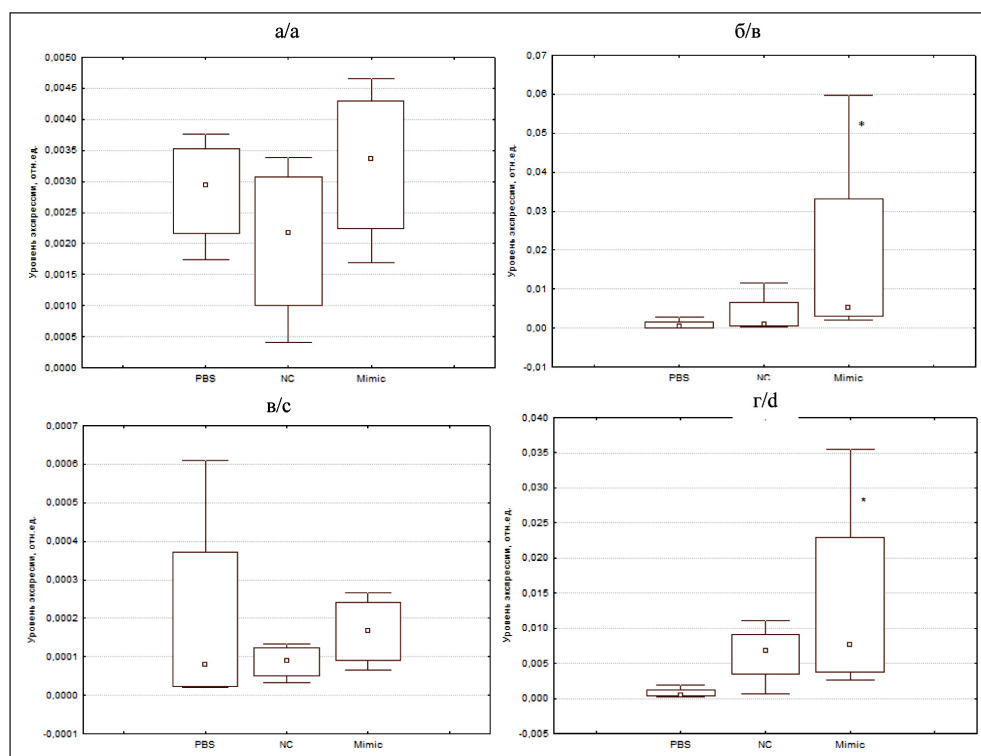


Рис. 5. Влияние имитатора miR-204-5p на относительный уровень экспрессии *BCL2* в опухолевом узле (а), легких (б), печени (в), почках (г) у мышей C57Bl/6 с меланомой B-16
Fig. 5. Effect of the miR-204-5p mimic on the relative level of *BCL2* expression in the tumor node (a), lungs (b), liver (c), kidneys (d) in C57Bl/6 mice with B-16 melanoma

на гены-мишени. МикроРНК способны подавлять экспрессию определенных генов, при этом сохраняя стабильность трансляционно репрессированных мРНК генов-мишеней [26]. Другой вариант функционирования микроРНК характеризуется индуцированным воздействием на ген-мишень через сайты в комплиментарных промоторных областях [27].

Оценка внешних признаков, динамики двигательной активности и массы мышц C57Bl/6 с меланомой В-16, а также измерение массы внутренних органов при вскрытии свидетельствуют об отсутствии выраженной токсичности имитатора miR-204-5p на организм животных. В проведенном исследовании отмечена тенденция к снижению массы опухолевых узлов под влиянием имитатора miR-204-5p, и представляет интерес дальнейшее исследование его влияния на развитие опухолевого процесса при увеличении дозы и длительности курса введения.

На фоне введения имитатора miR-204-5p мышам с меланомой В-16 нами зарегистрировано повышение уровня генов-мишеней данной микроРНК – *SIRT1* и *BCL2*: *BCL2* в легких и почках, *SIRT1* – в легких. В ранее проведенных исследованиях *in vitro* было установлено, что имитатор miR-204-5p вызывает снижение пролиферативной активности в клетках меланомы, при этом однократное внутривенное введение имитатора *in vivo* не показало противоопухолевого эффекта, и определялось только изменение уровня miR-204-5p в почках [28]. Таким образом, повышение кратности введения, изменение способа введения с внутривенного на внутрибрюшинный позволили увеличить

доступность модулятора микроРНК в ткани легких. Однако в ткани опухоли уровень генов-мишеней исследуемой микроРНК не изменялся, что может быть обусловлено особенностями кровотока опухоли. Показано, что кровоснабжение опухоли характеризуется измененной сосудистой сетью [29]. Для меланомы В-16 характерно развитие васкулогенной мимикрии – формирования васкулярных каналов, ограниченных базальной мембраной с отсутствием эндотелиальных клеток, что вносит вклад в формирование лекарственной устойчивости [30, 31]. Вместе с тем, стоит отметить, что эффекты модулятора miR-204-5p прослеживались в органах-мишенях меланомы, в частности в легких, где развиваются метастазы меланомы. Таким образом, можно предположить, что посредством модуляции уровня микроРНК можно целенаправленно воздействовать на процессы пролиферации клеток метастатических очагов меланомы кожи.

Заключение

Результаты исследования показали, что введение микроРНК miR-204-5p мышам C57Bl/6 с меланомой В-16 приводит к изменению уровня экспрессии генов-мишеней микроРНК – *SIRT1* и *BCL2* в легких животных, *BCL2* – в почках. Введение имитатора микроРНК не вызывает нарушений двигательной активности животных, изменения массы внутренних органов, что может свидетельствовать об отсутствии развития токсического эффекта. Представляет интерес дальнейшее исследование биодоступности модуляторов микроРНК, а также оценка влияния имитатора miR-204-5p на развитие меланомы В-16 у мышей при других режимах введения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Arozarena I., Wellbrock C. Phenotype plasticity as enabler of melanoma progression and therapy resistance. *NatRevCancer*. 2019; 19(7): 377–91. doi: 10.1038/s41568-019-0154-4.
2. Рукша Т.Г., Аксененко М.Б., Гырылова С.Н. Злокачественные новообразования кожи: анализ заболеваемости в Красноярском крае, проблемы профилактики и совершенствования ранней диагностики. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2010. 4: 4–9. [Ruksha T.G., Akseenenko M.B., Gyrylova S.N. Malignant skin neoplasms: analysis of the incidence rate in the Krasnoyarsk Territory, problems of prevention and improvement of early diagnostics. *Herald of Dermatology and Venerology*. 2010. 4: 4–9. (in Russian)].
3. Chen Z., Li Z., Soutto M., Wang W., Piazuelo M.B., Zhu S., Guo Y., Maturana M.J., Corvalan A.H., Chen X., Xu Z., El-Rifai W. Integrated analysis of mouse and human gastric neoplasm identifies conserved microRNA network in gastric carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2019; 156(4): 1127–39. doi: 10.1053/j.gastro.2018.11.052.
4. Fasoulakis Z., Daskalakis G., Diakosavvas M., Papapanagiotou I., Theodora M., Bouvazan A., Alatzidou D., Pagkalos A., Kontomanolis E.N. MicroRNAs Determining Carcinogenesis by Regulating Oncogenes and Tumor Suppressor Genes During Cell Cycle. *MicroRNA*. 2020; 9(2): 82–92. doi: 10.2174/2211536608666190919161849.
5. Lee T.J., Yuan X., Kerr K., Yoo J.Y., Kim D.H., Kaur B., Eltzschig H.K. Strategies to Modulate MicroRNA Functions for the Treatment of Cancer or Organ Injury. *Pharmacol Rev*. 2020; 72(3): 639–67. doi: 10.1124/pr.119.019026.
6. Noori J., Sharifi M., Haghighi Javanmard S. miR-30a Inhibits Melanoma Tumor Metastasis by Targeting the E-cadherin and Zinc Finger E-box Binding Homeobox 2. *Adv Biomed Res*. 2018; 7: 143. doi: 10.4103/abr.abr_146_18.
7. Xu D., Chen X., He Q., Luo C. MicroRNA-9 suppresses the growth, migration, and invasion of malignant melanoma cells via targeting NRPI. *Onco Targets Ther*. 2016; 9: 7047–57. doi: 10.2147/OTT.S107235.
8. Chen Y., Zhang Z., Luo C., Chen Z., Zhou J. MicroRNA-18b inhibits the growth of malignant melanoma via inhibition of HIF-1 α -mediated glycolysis. *Oncol Rep*. 2016; 36(1): 471–9. doi: 10.3892/or.2016.4824.
9. Zhou J., Xu D., Xie H., Tang J., Liu R., Li J., Wang S., Chen X., Su J., Zhou X., Xia K., He Q., Chen J., Xiong W., Cao P., Cao K. miR-33a functions as a tumor suppressor in melanoma by targeting HIF-1 α . *Cancer Biol Ther*. 2015; 16(6): 846–55. doi: 10.1080/15384047.2015.1030545.
10. Yang C.H., Yue J., Pfeffer S.R., Handorf C.R., Pfeffer L.M. MicroRNA miR-21 regulates the metastatic behavior of B16 melanoma cells. *J Biol Chem*. 2011; 286(45): 39172–8. doi: 10.1074/jbc.M111.285098.
11. Lai X., Wolkenhauer O., Vera J. Understanding microRNA-mediated gene regulatory networks through mathematical modelling. *Nucleic Acids Res*. 2016; 44(13): 6019–35. doi: 10.1093/nar/gkw550.
12. He L., He X., Lim L.P., de Stanchina E., Xuan Z., Liang Y., Xue W., Zender L., Magnus J., Ridzon D., Jackson A.L., Linsley P.S., Chen C., Lowe S.W., Cleary M.A., Hannon G.J. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature*. 2007; 447(7148): 1130–4. doi: 10.1038/nature05939.
13. Toda H., Kurozumi S., Kijima Y., Idichi T., Shinden Y., Yamada Y., Arai T., Maemura K., Fujii T., Horiguchi J., Natsugoe S., Seki N. Molecular pathogenesis of triple-negative breast cancer based on microRNA expression signatures: antitumor miR-204-5p targets AP1S3. *J Hum Genetics*. 2018; 63(12): 1197–210. doi: 10.1038/s10038-018-0510-3.
14. Дубовцева И.Ю., Аксененко М.Б., Рукша Т.Г. Роль сиртуина 1 в регуляции клеток меланомы. *Сибирский онкологический журнал*. 2019; 18(6): 82–9. [Dubovtseva I.Yu., Akseenenko M.V., Ruksha T.G. Role of sirtuin 1 in regulation of melanoma cell proliferation. *Siberian Journal of Oncology*. 2019; 18(6): 82–9. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-6-82-89.
15. Frenzel A., Grespi F., Chmielewski W., Villunger A. Bcl2 family protein sincarcinogenesis and the treatment of cancer. *Apoptosis*. 2009; 14: 584–96. doi: 10.1007/s10495-008-0300-z.

16. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К., Андропова Н.В., Гарин А.М. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М., 2012. С. 642–57. [Treshchalina E.M., Zhukova O.S., Gerasimova G.K., Andronova N.V., Garin A.M. Guidelines for the pre-clinical study of the antitumor activity of drugs. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1. M., 2012. P. 642–57. (in Russian)].
17. Dunn R. Brexit: A Boon or a Curse for Animals Used in Scientific Procedures? *Animals* (Basel). 2021; 11(6): 1547. doi: 10.3390/ani11061547.
18. Flecknell P. Replacement, reduction and refinement. *ALTEX*. 2002; 19(2): 73–8.
19. Мухеев А.А., Шмидель Е.В., Жестовская Е.С., Назаров Г.В., Маслов М.А. Катионные липосомы как средства доставки нуклеиновых кислот. Тонкие химические технологии. 2020. 15(1): 7–27. [Mikheev A.A., Shmendel E.V., Zhestovskaya E.S., Nazarov G.V., Maslov M.A. Cationic liposomes as delivery systems for nucleic acids. *Fine Chemical Technologies*. 2020. 15(1): 7–27. (in Russian)]. doi:10.32362/2410-6593-2020-15-1-7-27.
20. Schlosser K., Taha M., Stewart D.J. Systematic Assessment of Strategies for Lung-targeted Delivery of MicroRNA Mimics. *Theranostics*. 2018. 8(5): 1213–26. doi: 10.7150/thno.22912.
21. Liu L., Wang J., Li X., Ma J., Shi C., Zhu H., Xi Q., Zhang J., Zhao X., Gu M. MiR-204-5p suppresses cell proliferation by inhibiting IGFBP5 in papillary thyroid carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015; 457(4): 621–6. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.037.
22. Wang X., Li F., Zhou X. miR-204-5p regulates cell proliferation and metastasis through inhibiting CXCR4 expression in OSCC. *Biomed Pharmacother*. 2016; 82: 202–7. doi: 10.1016/j.biopha.2016.04.060.
23. Xia Z., Liu F., Zhang J., Liu L. Decreased Expression of MiRNA-204-5p Contributes to Glioma Progression and Promotes Glioma Cell Growth, Migration and Invasion. *PLoS One*. 2015; 10(7). doi: 10.1371/journal.pone.0132399.
24. Palkina N., Komina A., Aksenenko M., Moshev A., Savchenko A., Ruksha T. miR-204-5p and miR-3065-5p exert antitumor effects on melanoma cells. *Oncol Lett*. 2018; 15(6): 8269–80. doi: 10.3892/ol.2018.8443.
25. Палкина Н.В., Комина А.В., Аксененко М.Б., Белоногов Р.Н., Лаврентьев С.Н., Рукша Т.Г. Жизнеспособность клеток меланомы b16 *in vitro* и токсичность ингибитора miR-204-5p (Ina™) *in vivo* при модуляции экспрессии miR-204-5p у мышей. *Цитология*. 2018. 60(3): 180–7. [Palkina N.V., Komina A.V., Aksenenko M.B., Belonogov R.N., Lavrentev S.N., Ruksha T.G. Toxicity of miR-204-5p inhibition for melanoma b16 cells *in vitro* and mice *in vivo*. *Cell and Tissue Biology*. 2018. 60(3): 180–7. (in Russian)].
26. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004; 431(7006): 350–5. doi: 10.1038/nature02871.
27. Place R.F., Li L.C., Pookot D., Noonan E.J., Dahiya R. MicroRNA-373 induces expression of genes with complementary promoter sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(5): 1608–13. doi: 10.1073/pnas.0707594105.
28. White P.J., Anastasopoulos F., Poutou C.W., Boyd B.J. Overcoming biological barriers to *in vivo* efficacy of antisense oligonucleotides. *Expert Rev Mol Med*. 2009; 11. doi: 10.1017/S1462399409001021.
29. Vartanian A., Baryshnikova M., Burova O., Afanasyeva D., Misyurin V., Belyavsky A., Shprakh Z. Inhibitor of vasculogenic mimicry restores sensitivity of resistant melanoma cells to DNA-damaging agents. *Melanoma Res*. 2017; 27(1): 8–16. doi: 10.1097/CMR.0000000000000308.
30. Григорьева И.Н., Бурова О.С., Степанова Е.В., Харатишвили Т.К., Барышников А.Ю. Способность клеточных линий метастатической меланомы кожи к васкулогенной мимикрии. Российский биотерапевтический журнал. 2010. 9(4): 97–102. [Grigorieva I.N., Burova O.S., Stepanova E.V., Kharatishvili T.K., Baryshnikov A.Yu. Ability of metastatic cutaneous melanoma cell lines to vasculogenic mimicry. *Russian Journal of Biotherapy*. 2010. 9(4): 97–102. (in Russian)].
31. Courboulain A., Paulin R., Giguère N.J., Saksouk N., Perreault T., Meloche J., Paquet E.R., Biardel S., Provencher S., Côté J., Simard M.J., Bonnet S. Role for miR-204 in human pulmonary arterial hypertension. *J Exp Med*. 2011; 208(3): 535–48. doi: 10.1084/jem.20101812.

Поступила/Received 04.10.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 21.02.2022

Принята к публикации/Accepted 14.03.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Лапкина Екатерина Зиядхановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры фармации с курсом ПО, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). E-mail: e.z.lapkina@mail.ru. SPIN-код: 7656-8584. Researcher ID (WOS): AAM-8822-2020. ORCID: 0000-0002-7226-9565.

Палкина Надежда Владимировна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 7534-4443. Author ID (Scopus): 56126629300. Researcher ID (WOS): P-1585-2015. ORCID: 0000-0002-6801-3452.

Аверчук Антон Сергеевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 7276-8713. Author ID (Scopus): 57204197597. Researcher ID (WOS): I-1075-2018. ORCID: 0000-0002-1284-6711.

Есимбекова Александра Рашидовна, ассистент кафедры патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 4261-2987. ORCID: 0000-0001-6363-5941.

Рукша Татьяна Геннадьевна, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 5412-2148. Researcher ID (WOS): Q-5615-2017. Author ID (Scopus): 23009925600. ORCID: 0000-0001-8142-4283.

ВКЛАД АВТОРОВ

Лапкина Екатерина Зиядхановна: проведение экспериментальной работы, статистическая обработка результатов исследования, составление черновика рукописи.

Палкина Надежда Владимировна: проведение экспериментальной работы, статистическая обработка результатов исследования.

Аверчук Антон Сергеевич: проведение экспериментальной работы.

Есимбекова Александра Рашидовна: проведение экспериментальной работы, составление черновика рукописи.

Рукша Татьяна Геннадьевна: разработка концепции и анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (№ соглашения 19-15-00110).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina Z. Lapkina, PhD, Associate Professor, Department of Pharmacy, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). E-mail: e.z.lapkina@mail.ru. Researcher ID (WOS): AAM-8822-2020. ORCID: 0000-0002-7226-9565.

Nadezhda V. Palkina, MD, PhD, Assistant, Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). Author ID (Scopus): 56126629300. Researcher ID (WOS): P-1585-2015. ORCID: 0000-0002-6801-3452.

Anton S. Averchuk, PhD, Associate Professor, Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). AuthorID (Scopus): 57204197597. Researcher ID (WOS): I-1075-2018. ORCID: 0000-0002-1284-6711.

Alexandra R. Esimbekova, MD, Assistant, Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). ORCID: 0000-0001-6363-5941.

Tatiana G. Ruksha, MD, DSc, Head of the Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): Q-5615-2017. Author ID (Scopus): 23009925600. ORCID: 0000-0001-8142-4283.

AUTHOR CONTRIBUTION

Ekaterina Z. Lapkina: experimental part of the study, statistical analysis, drafting of the manuscript.

Nadezhda V. Palkina: experimental part of the study, statistical analysis, drafting of the manuscript.

Anton S. Averchuk: experimental part of the study

Alexandra R. Esimbekova: experimental part of the study, drafting of the manuscript.

Tatiana G. Ruksha: study conception, data analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

The study was supported by the Russian Science Foundation (Agreement № 19-15-00110).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Багирова Н.С., Горемыкина Е.А., Слукин П.В., Хохлова О.Е., Фурсова Н.К., Петухова И.Н., Григорьевская З.В. Кандидемия у онкологических больных: фенотипические и молекулярно-генетические характеристики резистентности к противогрибковым лекарственным средствам, гены факторов патогенности *Candida spp.* Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 70–80. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-70-80

For citation: Bagirova N.S., Goremykina E.A., Slukin P.V., Khokhlova O.E., Fursova N.K., Petukhova I.N., Grigorievskaya Z.V. Candidemia in cancer patients: phenotypical and molecular-genetic characteristics of antifungal drug resistance, pathogenic factor genes of *Candida spp.* Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 70–80. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-70-80

КАНДИДЕМИЯ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ: ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВАМ, ГЕНЫ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ *CANDIDA SPP.*

Н.С. Багирова¹, Е.А. Горемыкина^{2,3}, П.В. Слукин³, О.Е. Хохлова^{2,3},
Н.К. Фурсова^{2,3}, И.Н. Петухова¹, З.В. Григорьевская¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: nbagirova@mail.ru¹

Россия, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: nbagirova@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт», г. Пушкино, Россия²

Россия, 142290, г. Пушкино, пр. Науки, 3²

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

Роспотребнадзора, г. Серпухов, п. Оболенск, Россия³

Россия, 142279, г. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24³

Аннотация

Актуальность. Мировая тенденция стремительного увеличения уровня резистентности к противогрибковым препаратам, которая связана со многими факторами, диктует необходимость постоянного мониторинга таксономической структуры нозокомиальных возбудителей инвазивных грибковых инфекций и их чувствительности к антифунгальным лекарственным средствам с целью постоянной коррекции наиболее оптимальной тактики профилактики и лечения инвазивных грибковых инфекций. **Цель исследования** – определение чувствительности к антифунгальным препаратам основных возбудителей при кандидемии у онкологических больных, а также определение генов резистентности и факторов патогенности. **Материал и методы.** Проанализировано 82 штамма *Candida spp.*, выделенных из крови онкологических больных в течение 2015–21 гг. Определение минимальных ингибирующих концентраций флуконазола, вориконазола, позаконазола, анидулафунгина и микафунгина выполняли градиентным методом (Е-тест, BioMérieux, France). Для оценки значений МИК использовали критерии EUCAST и CLSI. Определены гены, ассоциированные с факторами патогенности и резистентности к противогрибковым лекарственным средствам. **Результаты.** По результатам нашего исследования (критерии EUCAST) в качестве эмпирической терапии инвазивного кандидоза (в т. ч. кандидемии) наименее эффективными препаратами являются триазолы, особенно флуконазол, к которому статистически значимо чаще штаммы *Candida spp.* резистентны по сравнению с вориконазолом (47,2 % против 23,2 %, $p < 0,01$) и позаконазолом (47,2 % против 30,4 %, $p < 0,05$). Наибольшая активность *in vitro* отмечается у препаратов группы эхинокандинов, причем анидулафунгин в 2 раза активнее микафунгина (4,1 % резистентных штаммов против 11,4 %), но статистически значимой разницы при этом не выявлено. Гены *ERG11* и *FKS1*, ассоциированные с резистентностью к противогрибковым препаратам, были выявлены у 28,6 % штаммов *Candida spp.*. Ген *ERG11* детектирован в 8,6 % случаев, причем только у штаммов *Candida albicans*. Ген *FKS1* определен у 20,0 % штаммов (85,7 % – *C. parapsilosis*, по 7,1 % – *C. tropicalis* и *C. glabrata*). Гены факторов патогенности определены у 78,6 % штаммов *C. albicans* и у 79,1 % изолятов *C. parapsilosis*. **Заключение.** Молекулярно-генетические методы выявления штаммов *Candida spp.*, несущих гены резистентности к антифунгальным препаратам, определение факторов патогенности –

это перспективные направления для поиска биомаркеров, облегчающих сложную задачу трактовки результатов микробиологического исследования по оценке способности штаммов *Candida spp.* к развитию инвазивных микозов.

Ключевые слова: *Candida spp.*, кандидемия, резистентность, флуконазол, вориконазол, позаконазол, анидулафунгин, микафунгин, ERG11, FKS1, факторы патогенности.

CANDIDEMIA IN CANCER PATIENTS: PHENOTYPICAL AND MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF ANTIFUNGAL DRUG RESISTANCE, PATHOGENIC FACTOR GENES OF *CANDIDA SPP.*

N.S. Bagirova¹, E.A. Goremykina^{2,3}, P.V. Slukin³, O.E. Khokhlova^{2,3},
N.K. Fursova^{2,3}, I.N. Petukhova¹, Z.V. Grigorievskaya¹

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia¹

23, Kashirskoe shosse, 115478, Moscow, Russia. E-mail: nbagirova@mail.ru¹

Pushchino State Institute of Natural Sciences²

3, Nauki Ave., 142290, Pushchino, Russia²

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Serpukhov, Russia³

24, Territory "Quarter A", 142279, Obolensk, Serpukhov, Russia³

Abstract

Relevance. The global trend of rapid increase in resistance to antifungal drugs due to multiple factors, dictates the need for continuous monitoring of taxonomic structure and susceptibility of nosocomial pathogens, causing invasive fungal infections, for permanent correction of the optimal prevention and treatment strategies.

Purpose: to determine antifungal susceptibility of the main yeast pathogens in candidemia in cancer patients, as well as to determine resistance genes and pathogenic factor genes. **Material and Methods.** Eighty-two strains of *Candida spp.* isolated from blood of cancer patients from 2015 to 2021 were analyzed. Minimum inhibitory concentrations of fluconazole, voriconazole, posaconazole, anidulafungin and micafungin were determined by a gradient method (E-test, BioMerieux, France). The EUCAST and CLSI criteria were used for MIC value assessment. The genes, associated with pathogenicity factors, and resistance to antifungal drugs were identified. **Results.** Our study results based on EUCAST 2020, v.10.0 criteria showed that triazoles, especially fluconazole, were the least effective drugs in empirical therapy for invasive candidiasis (including candidemia). Resistance of *Candida spp.* fluconazole was superior to that of voriconazole (47.2 % vs 23.2 %, respectively, $p < 0.01$) and posaconazole (47.2 % vs 30.4 %, respectively, $p < 0.05$). The highest *in vitro* activity was observed in echinocandins, and anidulafungin was 2 times more active than micafungin (4.1 % of resistant strains vs 11.4 %, respectively), with no statistically significant difference ($p > 0.05$). The ERG11 and FKS1 genes associated with resistance to antifungal drugs were detected in 28.6 % of *Candida spp.* strains. The ERG11 gene was detected in 8.6 % of cases, exclusively in *Candida albicans* strains. The FKS1 gene was identified in 20.0 % of strains (85.7 % of them were *C. parapsilosis*, 7.1 % each were *C. tropicalis* and *C. glabrata*). Pathogenic factor genes were identified in 78.6 % of *C. albicans* and in 79.1 % of *C. parapsilosis* strains. **Conclusion.** Molecular genetic methods for the detection of *Candida spp.* strains carrying resistance genes to antifungal drugs, and the determination of pathogenicity factors are promising trends in searching for biomarkers. They facilitate interpretation of results of microbiological study to assess the ability of *Candida spp.* strains to develop invasive mycoses.

Key words: *Candida spp.*, candidemia, resistance, fluconazole, voriconazole, posaconazole, anidulafungin, micafungin, ERG11, FKS1, pathogenic factors.

Введение

Кандидемия у онкологических больных – ситуация, требующая адекватной и своевременной терапии, которая предполагает раннюю диагностику вида возбудителя и определение чувствительности *Candida spp.* к антифунгальным препаратам (АФП), включая все доступные современные методы.

Кандидемия связана с высокой летальностью и ростом инвазивных грибковых инфекций (ИГИ) в основном у иммунокомпрометированных пациентов, в т. ч. онкологических больных [1–3]. Анализ международных данных в отношении ИГИ из отчетов по аутопсиям показывает, что, несмотря на все усилия по профилактике, диагностике и лечению,

ИГИ все еще имеют значительную распространенность и связаны с низким уровнем прижизненной диагностики [4].

Сравнительный анализ литературных данных по уровню резистентности *Candida spp.* к противогрибковым лекарственным средствам представляет определенные сложности, поскольку исследователи применяют различные критерии оценки минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Следует заметить, что с некоторых пор при разработке критериев оценки МИК антифунгальных препаратов учитывается вид *Candida*, чего не было в ранних рекомендациях CLSI и EUCAST. Кроме того, на результаты по изучению уровня резистентности АФП влияют и другие факторы: географические; популяции пациентов; принятая политика профилактики и терапии ИГИ; особенности и методы, применяемые для лечения основного заболевания. Несмотря на это, прослеживается мировая тенденция стремительного увеличения уровня резистентности к АФП, которая связана со многими факторами: активное, порой бесконтрольное и необоснованное применение АФП; внедрение в медицинскую практику новых методов лечения; активная миграция населения, связанная с туризмом, бизнесом, научной деятельностью [5].

Влияние профилактики/терапии ИГИ на формирование таксономической структуры возбудителей кандидемии, безусловно, имеет место, что, в свою очередь, отражается на уровне резистентности к АФП. Показано, что после терапии флуконазолом доля *C. albicans* в структуре возбудителей кандидемии снизилась, а *C. glabrata* увеличилась; после лечения эхинокандинами *C. albicans* в структуре возбудителей кандидемии также снизилась, а *C. glabrata* увеличилась. Интересно, что после воздействия АФП МИК значительно повысились для *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*, но не для видов с известной пониженной чувствительностью к флуконазолу (*C. glabrata*) [6, 7].

Основной механизм приобретения устойчивости *Candida spp.* к АФП – это мутации в гене, кодирующем мишень для действия антифунгального препарата [8]. Триазолы (флуконазол, вориконазол, позаконазол) активно применяют при ИГИ в течение многих лет. Мишень их действия – фермент биосинтеза эргостерола (стерол-14 α -деметилаза, *GYP51*) клеточной мембраны грибов. Резистентность *Candida spp.* к азолам связана с наличием обходного шунта, который заменяет *GYP51* (кодируемый генами *ERG*) и на который не воздействуют азолы. Наиболее распространенным считается ген *ERG11* [9, 10]. Эхинокандины (каспофунгин, микафунгин, анидулафунгин) действуют как неконкурентные ингибиторы ферментного комплекса β -(1,3)-D-глюкансинтазы, специфически воздействуя на субъединицу *FKS1*, которая катализирует выработку глюкана, основного компонента клеточной стенки *Candida spp.* Устойчивость к эхи-

нокандинам во многом определяется точечными мутациями в генах *FKS1* [11, 12].

Детекция генов, ответственных за резистентность к АФП, точечных мутаций в этих генах, – перспективное направление поиска некультуральных маркеров резистентности *Candida spp.* к АФП [13]. Однако показано, что не всегда точечные мутации в генах, ответственных за резистентность к АФП, приводят к устойчивости к ним. Выявлены так называемые «молчащие мутации», при которых *Candida spp.* не демонстрирует устойчивости к АФП [14]. Кроме того, резистентность к этим же противогрибковым препаратам может вызываться и другими механизмами: гиперэкспрессией ферментов, биопленкообразованием и др. [12, 15]. Тем не менее предполагается, что наиболее значительную роль в развитии противогрибковой устойчивости у изолятов при кандидемии играет способность *Candida spp.* существовать в биопленках, которые быстро образуются на синтетических материалах и на тканях человека [15].

Метаболизм *Candida spp.* представляет собой сложную систему, и многие ферменты способны участвовать в процессе развития ИГИ. *C. albicans* и некоторые другие виды являются частью микробиоты здорового человека. При определенных обстоятельствах, являющихся следствием целого комплекса факторов, колонизация *Candida spp.* может трансформироваться в ИГИ, клинические проявления которой зависят от состояния иммунитета человека и колонизированной ткани, от целого ряда факторов патогенности микроорганизма, действия которых при развитии патологического процесса взаимосвязаны. Различают несколько групп факторов патогенности. Способность прикрепляться к поверхностям тканей и неорганических материалов (например, катетеров) обеспечивают адгезины *Candida spp.* (гены группы *ALS*) при взаимодействии с рецепторным аппаратом слизистых оболочек организма хозяина, в данном случае «хозяином» рассматривается человек. Показано, что степень адгезии связана с патогенностью [16, 17] и зависит от вида *Candida*, например, в отличие от *C. albicans*, *C. tropicalis* считается низкоадгезивным видом, а *C. krusei* проявляет незначительную или нулевую адгезию. Последующий этап пénéтрации и инвазии *Candida spp.* обеспечивается их морфологическими изменениями, продукцией группы ферментов гидролаз (аспарагиновые протеазы, фосфолипазы, липазы), которые у разных видов кандид проявляются в разной степени. Продукция группы протеолитических ферментов – секреторных аспартил-протеаз (SAP) – способствует проникновению в ткани *Candida spp.* и их распространению. При антифунгальной терапии происходит замедление роста *Candida spp.*, но в то же время секреция кандидами аспаргат-протеиназ активизируется. В составе биопленок *Candida spp.* более активно секретируют аспаргат-протеиназы,

нежели планктонные формы, и это предполагает оценку биопленок как еще один фактор патогенности кандид [18–21]. Кандиды способны продуцировать гемолитические факторы, которые, как полагают, могут облегчать им доступ к железу. Инвазия *Candida spp.* в ткани происходит наряду с продукцией ферментов, благодаря морфологической трансформации дрожжевой формы в гифальную (группы генов *ALS*, *HWP*, *SAP*), что также является фактором патогенности, поскольку определяется только при активной ИГИ. Процесс морфологической трансформации сопровождается расширением спектра адгезинов у гифальных форм. Гифы обладают тигмотропизмом – движение, которое стимулируется чувствительным контактом, – и это усиливает процесс распространения *Candida spp.* Морфологическая трансформация также участвует в пенетрации возбудителя и обеспечивает ему защиту от иммунной системы хозяина. *Candida spp.* способны на фенотипические переключения (фенотипическая изменчивость), характерные для отдельных штаммов при изменении условий существования. Явление фенотипической пластичности ответственно за выключение одной группы генов и включение других групп, определяющих степень патогенности, активирующих процессы адгезии и пенетрации. Фенотипическое переключение способно комплексно воздействовать на активность многих потенциальных факторов вирулентности через генетический механизм, который позволяет *Candida spp.* приспосабливаться к изменениям среды обитания [22, 23].

Цель исследования – определение чувствительности к антифунгальным препаратам основных возбудителей при кандидемии у онкологических больных, а также определение генов резистентности и факторов патогенности.

Материал и методы

Всего за исследуемый период (январь 2015 г. – декабрь 2021 г.) исследовано 82 штамма *Candida spp.* (10 видов): *C. parapsilosis* – 50 штаммов, *C. albicans* – 17 штаммов, *C. glabrata* и *C. lusitaniae* – по 3 штамма каждый вид, *C. krusei*, *C. guilliermondii* и *C. tropicalis* – по 2 штамма каждый вид, *C. dubliniensis*, *C. utilis* и *C. inconspicua* – по одному штамму каждый вид. Посевы крови инкубировали в микробиологическом геманализаторе-инкубаторе *BD BACTEC FX 400* (Becton Dickinson, США) в течение 5 сут и в приборе *Bact/ALERT 3D* (BioMerieux, Франция) в течение 7 сут. Идентификация осуществлялась с использованием прибора *MALDI-TOF Microflex LT* (Biotyper, Bruker Daltonics, Германия).

Определение МИК флуконазола, вориконазола, позаконазола, анидулафунгина и микафунгина выполняли градиентным методом (Е-тест, BioMerieux, France) на чашках Петри диаметром 140 мм с готовой агаровой средой RPMI (BioMerieux, France).

Анализ чувствительности к АФП проводили для тех видов *Candida*, к которым разработаны критерии оценки МИК (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* и *C. tropicalis*). Для оценки полученных нами значений МИК использовали клинические пограничные значения (*clinical breakpoint, CBP*), рекомендованные EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Европейский комитет по тестированию антимикробной чувствительности, Version 10.0, valid from 2020-02-04) [доступно на <http://www.EUCAST.org>] и CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, M60-Ed2, 2020) [доступно на <https://www.clsi.org>].

В исследуемых штаммах были определены гены, ассоциированные с факторами патогенности и резистентности к АФП. Продукцию гемолизина детектировали по наличию зоны просветления вокруг колонии на плотной питательной среде Сабуро с добавлением 5 % стерильной бараньей крови. Выделение ДНК проводили комплектом реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (ИнтерЛабСервис, Москва, Россия) согласно инструкции производителя. ПЦР проводили с использованием реактивов Thermo Fisher Scientific (Уолтем, США): 10×Taq-буфера с аммонием сернокислым ((NH₄)₂SO₄); 25 mM раствора хлорида магния (MgCl₂); 10 mM раствора смеси дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (дНТФ); рекомбинантной Taq-полимеразы с концентрацией 5 ед/мкл на приборе «Терцик» (ДНК-Технология, Москва, Россия). Разделение ДНК ПЦР-продуктов осуществляли в электрофоретической камере Wide Mini-Sub Cell GT (Bio-RAD, США) в Трис-боратном буфере в 1,2 % агарозном геле при напряжении 50 В. Гены, ассоциированные с патогенностью и резистентностью, определяли методом ПЦР со специфичными праймерами (табл. 1).

При статистической обработке результатов исследования вычисляли одновыборочный t-критерий (Стьюдента). Статистически значимыми считали различия с вероятностью не менее 95 % (p<0,05). Статистические расчеты осуществляли с помощью специальной компьютерной программы, которая разработана группой медицинской кибернетики ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ.

Результаты

В нашем исследовании *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* и *C. tropicalis* составили 90,2 % от всех штаммов, выделенных при кандидемии (рис. 1). По данным исследования, в качестве эмпирической терапии инвазивного кандидоза (в т. ч. кандидемии) наименее эффективными препаратами являются триазолы, особенно флуконазол, к которому статистически значимо чаще штаммы *Candida spp.* резистентны по сравнению с вориконазолом (47,2 % против 23,2 %,

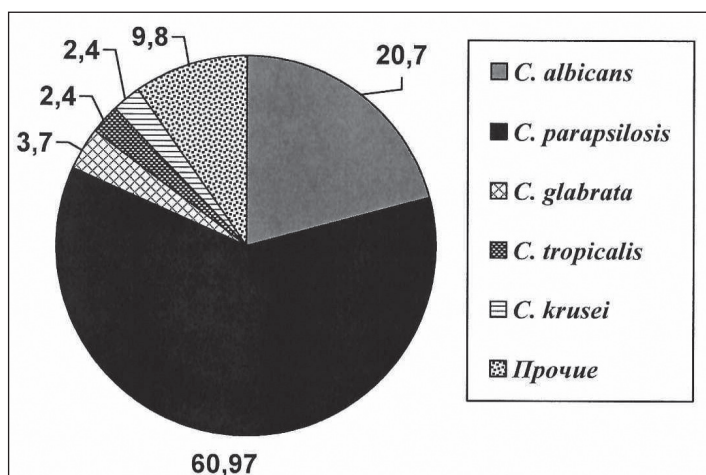


Рис. 1. Основные виды *Candida* spp. (%), выделенные из крови онкологических больных

Fig. 1. The main species of *Candida* spp. (%) isolated from the blood of cancer patients

Таблица 1/Table 1

Праймеры на гены патогенности и резистентности штаммов *Candida* spp.

Primers for pathogenicity and resistance genes of *Candida* spp.

Ген/ Gene	Праймеры/ Primers	Температура отжига, °C/ Annealing temperature, °C	Ссылка/ Reference
Гены резистентности/Resistance genes			
<i>ERG11</i>	5'- ttatgtttttattggattccttggtt -3' 5'- tctcatttcacccaataaagatc -3'	61	[24]
<i>FKS1</i>	5'-atgtcttacgataacaatc-3' 5'- ttagaatgcctttgtagtatag-3'	40	[25]
Гены патогенности/Pathogenicity genes			
<i>ALS1</i>	5'-gactagtgaaccaacaataaccaga-3' 5'-ccagaagaacagcaggtga-3'	50	[26]
<i>HWP1</i>	5'-atgactccagctggtt-3' 5'-tagatcaagaatgcagc-3'	45	[26]
<i>PLB1</i>	5'-atgatttgcatcattt-3' 5'-agtatctggagctctac-3'	50	[26]
<i>LIP1</i>	5'-acaattcactgggatcaagag-3' 5'-ataagtgcacgtgacgttactg-3'	55	[27]
<i>SAP4</i>	5'-gctcttgctattgctttatt-3' 5'-taggaaccgttattcttac-3'	49	[26]
<i>SAP9</i>	5'-atttactccacagtttatatcactgaaggt-3' 5'-ccaccagaaccacctcagtt-3'	59	[28]

Таблица 2/Table 2

Резистентность основных видов *Candida* к 5 противогрибковым препаратам (EUCAST V. 10, 2020)

Resistance of the main *Candida* species to 5 antifungal drugs (EUCAST V. 10, 2020)

<i>Candida</i> spp.	Всего штаммов/ Total strains	Флуконазол/ Fluconazole	Вориконазол/ Voriconazole	Позаконазол/ Posaconazole	Анидулафунгин/ Anidulafungin	Микафунгин/ Micafungin
Количество резистентных штаммов/ % резистентных штаммов Number of resistant strains/ % of resistant strains						
<i>C. albicans</i>	17	4/23,5	3/17,6	5/29,4	2/11,8	7/41,2
<i>C. parapsilosis</i>	50	28/56,0	12/24,0	15/30,0	0	0
<i>C. glabrata</i>	3	1	Нд/No data *	Нд/No data	1	1
<i>C. krusei</i>	2**	Нд/No data	Нд/No data	Нд/No data	0	Нд/No data
<i>C. tropicalis</i>	2	1	1	1	0	Нд/No data
Всего протестированных штаммов/ Total strains tested	74	72	69	69	74	70
Количество резистентных штаммов/ Number of resistant strains		34	16	21	3	8

Примечание: * – нет данных, так как отсутствуют критерии оценки минимальной ингибирующей концентрации; ** – у *C. krusei* природная резистентность к флуконазолу.

Note: * – no data, since there are no criteria for assessing the minimum inhibitory concentration; ** – *C. krusei* has natural resistance to fluconazole.

Таблица 3/Table 3

Сравнение данных резистентности штаммов к антифунгальным препаратам, оцененных по различным критериям – CLSI (M60-Ed2, 2020) и EUCAST (V. 10, 2020)
Comparison of data of resistance of strains to antifungal drugs assessed with CLSI (M60-Ed2, 2020) and EUCAST (V. 10, 2020) criteria

Антифунгальный препарат/ Antifungal drug	<i>Candida spp.</i>	CLSI		Наши данные (критерии CLSI)/ Our data (CLSI criteria)		EUCAST		Наши данные (критерии EUCAST)/ Our data (EUCAST criteria)	
		S	R	S	R	S	R	S	R
		МИК (мг/л)/ MIC (mg/l)		Количество/Number		МИК (мг/л)/ MIC (mg/l)		Количество/Number	
Флуконазол/ Fluconazole	<i>C. albicans</i>	≤2	≥8	9/52,9 %	4/23,5 %	≤2	>4	9/52,9 %	4/23,5 %
	<i>C. parapsilosis</i>	≤2	≥8	18/36,0 %	28/56,0 %	≤2	>4	18/36,0 %	28/56,0 %
	<i>C. glabrata</i>	нд/no data	≥64	нд/no data	1/33,3 %	≤0,001	>16	0	1/33,3 %
	<i>C. krusei</i>	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data
	<i>C. tropicalis</i>	≤2	≥8	0	1/50,0 %	≤2	>4	0	1/50,0 %
Вориконазол/ Voriconazole	<i>C. albicans</i>	≤0,12	≥1	13/76,5 %	3/17,6 %	≤0,06	>0,25	12/70,6 %	3/17,6 %
	<i>C. parapsilosis</i>	≤0,12	≥1	7/14,0 %	3/6,0 %	≤0,125	>0,25	35/70,0 %	12/24,0 %
	<i>C. glabrata</i>	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data
	<i>C. krusei</i>	≤0,5	≥2	2/100 %	0	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data
	<i>C. tropicalis</i>	≤0,12	≥1	1/50,0 %	1/50,0 %	≤0,125	>0,25	1/50,0 %	1/50,0 %
Анидулафунгин/ Anidulafungin	<i>C. albicans</i>	≤0,25	≥1	17/100 %	0	≤0,03	>0,03	15/88,2 %	2/11,8 %
	<i>C. parapsilosis</i>	≤2	≥8	50/100 %	0	≤4	>4	50/100 %	0
	<i>C. glabrata</i>	≤0,12	≥0,5	2/66,7 %	1/33,3 %	≤0,06	>0,06	2/66,7 %	1/33,3 %
	<i>C. krusei</i>	≤0,25	≥1	2/100 %	0	≤0,06	>0,06	2/100 %	0
	<i>C. tropicalis</i>	≤0,25	≥1	2/100 %	0	≤0,06	>0,06	2/100 %	0
Микафунгин/ Micafungin	<i>C. albicans</i>	≤0,25	≥1	16/94,1 %	0	≤0,016	>0,016	10/58,8 %	7/41,2 %
	<i>C. parapsilosis</i>	≤2	≥8	50/100 %	0	≤2	>2	50/100 %	0
	<i>C. glabrata</i>	≤0,06	≥0,25	2/66,7 %	1/33,3 %	≤0,03	>0,03	2/66,7 %	1/33,3 %
	<i>C. krusei</i>	≤0,25	≥1	2/100 %	0	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data
	<i>C. tropicalis</i>	≤0,25	≥1	2/100 %	0	нд/no data	нд/no data	нд/no data	нд/no data

Примечание: S – чувствительность; R – резистентность; нд – нет данных.

Note: S – susceptibility; R – resistance.

$p < 0,01$) и позаконазолом (47,2 % против 30,4 %, $p < 0,05$). Самая высокая активность *in vitro* отмечается у препаратов группы эхинокандинов, причем анидулафунгин в 2 раза активнее микафунгина (4,1 % резистентных штаммов против 11,4 %), но статистически значимой разницы при этом не выявлено (табл. 2).

Как уже было замечено ранее, оценка значения МИК АФП для определения категории «чувствительность/резистентность» зависит от применяемых критериев (CLSI или EUCAST). Мы сравнили полученные нами данные, оцененные по различным критериям (табл. 3). Результаты совпадали только в отношении флуконазола. В целом, к вориконазолу, анидулафунгину и микафунгину по критериям CLSI резистентность была значительно ниже по сравнению с оценкой значений МИК по критериям EUCAST (9,9 против 23,2 %, $p < 0,05$; 1,4 против 4,1 %; 1,4 против 11,4 %, $p < 0,02$ соответственно).

Несмотря на то, что при подозрении на ИГИ, как правило, сначала АФП назначают эмпирически, в дальнейшем терапия корректируется с учетом

результатов микробиологического исследования с данными по чувствительности возбудителя к АФП, поэтому крайне важно проводить длительный мониторинг по спектру возбудителей и их чувствительности к АФП в конкретном стационаре. В нашем исследовании наиболее часто из крови были выделены 2 вида кандид: *C. albicans* и *C. parapsilosis*, поэтому была проведена оценка МИК пяти АФП для этих видов (табл. 4). При этом резистентность штаммов *C. albicans* к флуконазолу статистически значимо более низкая в сравнении с *C. parapsilosis* ($p < 0,02$). Статистически значимых различий в доле резистентности к вориконазолу, позаконазолу и анидулафунгину у *C. albicans* и *C. parapsilosis* не выявлено. Кроме того, среди *C. parapsilosis* вообще не выявлено резистентных штаммов к анидулафунгину и микафунгину, тогда как среди *C. albicans* регистрировались штаммы, резистентные к анидулафунгину, и значительная доля штаммов, резистентных к микафунгину.

Таким образом, наиболее активным *in vitro* АФП в отношении *C. albicans* оказался анидулафунгин, а для *C. parapsilosis* – анидулафунгин и

Таблица 4/Table 4

Резистентность/чувствительность *C. albicans* и *C. parapsilosis* к противогрибковым препаратам при кандидемии (EUCAST, V. 10, 2020)

Resistance/ susceptibility of *C. albicans* and *C. parapsilosis* to antifungals in candidemia (EUCAST, V. 10, 2020)

Антифунгальный препарат/ Antifungal drug	<i>C. albicans</i> 17 штаммов/17 strains			<i>C. parapsilosis</i> 50 штаммов/50 strains		
	Кол-во чувствительных штаммов/ Number of susceptible strains	Кол-во штаммов с чувствительностью при увеличенной экспозиции/ Number of strains with susceptibility at increased exposure	Кол-во устойчивых штаммов/ Number of resistant strains	Кол-во чувствительных штаммов/ Number of susceptible strains	Кол-во штаммов с чувствительностью при увеличенной экспозиции/ Number of strains with susceptibility at increased exposure	Кол-во устойчивых штаммов/ Number of resistant strains
Флуконазол/ Fluconazole	9/52,9 %	4/23,5 %	4/23,5 %	18/36,0 %	4/8,0 %	28/56,0 %
Вориконазол/ Voriconazole	12/70,6 %	2/11,8 %	3/17,6 %	35/70,0 %	3/6,0 %	12/24,0 %
Позаконазол/ Posaconazole	12/70,6 %	0	5/29,4 %	35/70,0 %	0	15/30,0 %
Анидулафунгин/ Anidulafungin	15/88,2 %	0	2/11,8 %	50/100 %	0	0
Микафунгин/ Micafungin	10/58,8 %	0	7/41,2 %	50/100 %	0	0

Таблица 5/Table 5

Гены *ERG11* и *FKS1*, выявленные в штаммах *Candida spp.*, выделенных из крови онкологических больных
ERG11 and *FKS1* genes detected in of *Candida spp.* strains isolated from blood of cancer patients

<i>Candida spp.</i>	Всего штаммов/ Total strains	Количество генов/Number of genes	
		<i>ERG11</i>	<i>FKS1</i>
<i>C. albicans</i>	11	6	0
<i>C. parapsilosis</i>	46	0	12
<i>C. glabrata</i>	3	0	1
<i>C. krusei</i>	3	0	0
<i>C. tropicalis</i>	2	0	1
<i>C. lusitanae</i>	2	0	0
<i>C. guilliermondii</i>	2	0	0
<i>C. utilis</i>	1	0	0
ИТОГО/TOTAL	70	6	14

Таблица 6/Table 6

Гены факторов патогенности, выявленные в штаммах *Candida spp.*, выделенных из крови онкологических больных

Pathogenicity factor genes detected in *Candida spp.* strains, isolated from the blood of cancer patients

<i>Candida spp.</i>	Всего штаммов/ Total strains	Гены факторов патогенности/Pathogenicity factor genes						Гемолиз*
		<i>ALS1</i>	<i>HWP1</i>	<i>SAP9</i>	<i>SAP4</i>	<i>PLB1</i>	<i>LIP1</i>	
<i>C. albicans</i>	14	3	3	0	2	1	1	4
<i>C. parapsilosis</i>	43	11	12	0	0	0	0	25
<i>C. glabrata</i>	3	0	0	0	0	0	0	2
<i>C. krusei</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. tropicalis</i>	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>C. lusitanae</i>	3	0	0	0	0	0	0	3
<i>C. guilliermondii</i>	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>C. utilis</i>	1	1	0	0	0	0	0	0
Итого/Total	70	15	15	0	2	1	1	38

Примечание: * – фенотипический тест.

Note: * – phenotypic test.

микафунгин. Следует заметить, что вориконазол, несмотря на длительное применение в клинике, более чем в 70 % случаев активен *in vitro* против обоих наиболее распространенных видов *Candida*, которые составили 81,7 % (67/82) всех гемокультур при кандидемии. Уровень резистентности к позаконазолу сходен с профилем резистентности к вориконазолу.

В ходе нашей работы протестированы штаммы *Candida spp.* с целью определения генов, ответственных за резистентность к противогрибковым препаратам, методом ПЦР (табл. 5). В результате исследуемые гены выявлены у 20 из 70 (28,6 %) штаммов *Candida spp.* Ген *ERG11*, который отвечает за резистентность к триазолам, детектирован только у штаммов *C. albicans* (8,6 %), причем внутри этого вида только 54,5 % изолятов несли ген *ERG11*. Из 11 штаммов *C. albicans* у двух была зарегистрирована резистентность ко всем трем препаратам этого класса, и только у одного из них выявлен ген *ERG11*, у двух штаммов, несущих ген *ERG11*, была установлена чувствительность к флуконазолу при увеличенной экспозиции противогрибкового препарата, и у 4 штаммов – чувствительность ко всем трем триазолам при стандартном режиме дозирования.

В нашем исследовании ни у одного штамма *C. albicans* не выявлено гена *FKSI*, ответственного за резистентность к эхинокандинам. Ген *FKSI* определен у 14 штаммов (20,0 %): штаммы *C. parapsilosis* составили 85,7 %, штаммы *C. tropicalis* и *C. glabrata* – по 7,1 % каждый вид. Из всех изолятов, несущих ген *FKSI*, только 1 штамм (*C. glabrata*) был *in vitro* резистентен к анидулафунгину и микафунгину, остальные 13 изолятов расценены как чувствительные к эхинокандинам.

Как следует из данных табл. 6, гены факторов патогенности определены у 78,6 % штаммов *C. albicans* и у 79,1 % изолятов *C. parapsilosis*. Более половины всех изолятов (54,3 %) обладали гемолитическими свойствами, в т. ч. 28,6 % – *C. albicans* и 58,2 % – *C. parapsilosis* ($p < 0,05$). У штаммов *C. albicans* наблюдалась более широкая линейка генов факторов патогенности по сравнению с *C. parapsilosis*, у которых выявлены только *ALSI*, *HWP1* и гемолиз. В целом, из 70 изолятов *Candida spp.* только у 15 (21,4 %) не выявлены те гены факторов патогенности, поиск которых мы осуществляли. *C. krusei* – это единственный вид, у которого не было зарегистрировано ни одного из исследуемых факторов патогенности. Штаммы *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. lusitanae* и *C. guilliermondii* обладали гемолитическими свойствами, и иных факторов патогенности у них обнаружено не было. У редкого вида *C. utilis*, помимо гемолиза, выявлен ген *ALSI*, который индуцируется во время процесса филаментации и опосредует адгезию клеток *Candida spp.* к клеткам и тканям хозяина.

Обсуждение

Нередко терапия при подозрении на ИГИ назначается эмпирически, и в такой ситуации крайне важно опираться на данные мониторинга таксономической структуры основных возбудителей и их резистентности к АФП в конкретном стационаре. При кандидемии резистентность ведущих возбудителей к системным АФП у онкологических больных нашей клиники регистрируется в основном к триазолам. Эхинокандины *in vitro* сохраняют высокую активность, причем в отношении *C. albicans* наиболее эффективен анидулафунгин, а для *C. parapsilosis* – анидулафунгин и микафунгин. Оценка полученных значений МИК с использованием критериев CLSI существенно отличается (за исключением флуконазола) от результатов при применении критериев EUCAST: в первом случае резистентность к АФП в несколько раз ниже, чем во втором.

По данным литературных источников, приобретенная (адаптивная) резистентность к эхинокандинам в основном наблюдается среди *Candida albicans* и *Candida glabrata* и связана с мутациями *FKS*-гена. Хотя устойчивость к эхинокандинам представляет собой возрастающую проблему, на самом деле имеется немного эпидемиологических данных о степени приобретенной резистентности, подтвержденной молекулярно-генетическими методами, и о тенденциях в течение многих лет в отношении потребления эхинокандинов. А. Kritikos et al. [29] представили результаты 10-летнего общенационального исследования изолятов *C. albicans* и *C. glabrata* из крови в Швейцарии. Анализ данных показал, что резистентность к эхинокандинам оставалась на низком уровне, несмотря на значительное увеличение применения эхинокандинов, и была в основном связана с индивидуальным воздействием в течение длительного периода времени. Наше исследование также подтверждает выводы зарубежных исследователей о невысокой степени приобретенной резистентности, связанной с молекулярно-генетическими изменениями штаммов, но анализ наших данных показал, что *FKSI*-ген, ответственный за резистентность к эхинокандинам, в 85,7 % случаев выявлен у штаммов *C. parapsilosis*, составляющих основную долю возбудителей при кандидемии. Ген *ERG11*, который отвечает за резистентность к триазолам, несли только штаммы *Candida albicans* (8,6 %), причем внутри этого вида только 54,5 % таких изолятов. Механизмы развития резистентности к триазолам различны, и один из основных – это изменение мишени клеточной мембраны гриба (стерол-14- α -деметилаза). Мутации в гене *ERG11*, который кодирует мишень, приводят к снижению силы воздействия азолов [14, 30].

В нашем исследовании среди штаммов, несущих гены резистентности, были изоляты, *in vitro* чувствительные к АФП. Такие изоляты могут со-

держат «слабые мутации», при этом не все генетические варианты связаны с устойчивостью к АФП [14, 31]. Резистентность к азолам может быть вызвана не только геном *ERG11*, но и другими аллелями этого гена. Кроме того, вероятно, в нашей клинике резистентность к АФП связана и с другими механизмами, например, с активным выведением (эффлюкс) противогрибкового препарата из внутриклеточного пространства клеток кандид или мутацией белков пориновых каналов, или с иными механизмами [32]. Кроме того, у всех штаммов, кроме *C. krusei*, детектированы факторы патогенности.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Alves J., Palma P., Azevedo D., Rello J. Candidemia in the patient with malignancy. *Hosp Pract* (1995). 2018; 46(5): 246–52. doi: 10.1080/21548331.2018.1508290.
2. McCarthy M.W., Walsh T.J. Candidemia in the cancer patient: diagnosis, treatment, and future directions. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2018; 16(11): 849–54. doi: 10.1080/14787210.2018.1536546.
3. Colombo A.L., Agnelli C., Kontoyannis D.P. Knowledge gaps in candidemia/invasive candidiasis in haematological cancer patients. *J Antimicrob Chemother*. 2021; 76(3): 543–6. doi: 10.1093/jac/dkaa446.
4. Togano T., Suzuki Y., Nakamura F., Tse W., Kume H. Epidemiology of visceral mycoses in patients with acute leukemia and myelodysplastic syndrome: Analyzing the national autopsy database in Japan. *Med Mycol*. 2021; 59(1): 50–7. doi: 10.1093/mmy/myaa029.
5. Kotev F., Dayie N., Tetteh-Uarcoo P.B., Donkor E.S. Candida Bloodstream Infections: Changes in Epidemiology and Increase in Drug Resistance. *Infect Dis (Auckl)*. 2021; 14: 1–5. doi: 10.1177/11786337211026927.
6. Risum M., Astvad K., Johansen H.K., Schønheyder H.C., Rosenvinge F., Knudsen J.D., Hare R.K., Dancu R., Røder B.L., Antsupova V.S., Kristensen L., Gertsen J.B., Møller J.K., Dzajic E., Søndergaard T.S., Arendrup M.C. Update 2016–2018 of the Nationwide Danish Fungaemia Surveillance Study: Epidemiologic Changes in a 15-Year Perspective. *J Fungi (Basel)*. 2021; 7(6): 491. doi: 10.3390/jof7060491.
7. Schroeder M., Weber T., Denker T., Winterland S., Wichmann D., Rohde H., Ozga A.K., Fischer M., Kluge S. Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia in critically ill patients in Germany: a single-center retrospective 10-year analysis. *Ann Intensive Care*. 2020; 10(1): 142. doi: 10.1186/s13613-020-00755-8.
8. Prasad R., Nair R., Banerjee A. Emerging Mechanisms of Drug Resistance in *Candida albicans*. *Prog Mol Subcell Biol*. 2019; 58: 135–53. doi: 10.1007/978-3-030-13035-0_6.
9. Xu Y., Chen L., Li C. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* species to fluconazole and detection of *Candida albicans* ERG11 mutations. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 61(4): 798–804. doi: 10.1093/jac/dkn015.
10. Chowdhary A., Prakash A., Sharma C., Kordalewska M., Kumar A., Sarma S., Tarai B., Singh A., Upadhyaya G., Upadhyay S., Yadav P., Singh P.K., Khillan V., Sachdeva N., Perlin D.S., Meis J.F. A multicentre study of antifungal susceptibility patterns among 350 *Candida auris* isolates (2009–17) in India: role of the ERG11 and FKS1 genes in azole and echinocandin resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2018; 73(4): 891–9. doi: 10.1093/jac/dkx480.
11. Pais P., Galocha M., Teixeira M.C. Genome-Wide Response to Drugs and Stress in the Pathogenic Yeast *Candida glabrata*. *Prog Mol Subcell Biol*. 2019; 58: 155–93. doi: 10.1007/978-3-030-13035-0_7.
12. Davari A., Haghani L., Hassanmoghadam F., Nabili M., Shokohi T., Hedayati M.T., Shabanzadeh S., Moazeni M. Echinocandin resistance in *Candida parapsilosis* sensu stricto: Role of alterations in CHS3, FKS1 and Rho gene expression. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020; 22: 685–8. doi: 10.1016/j.jgar.2020.06.025.
13. Беженар М.Б., Плахова К.И. Механизмы развития резистентности к противогрибковым препаратам грибов рода *Candida* при рецидивирующем течении урогенитального кандидоза. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2020; 38(1): 15–23. [Bezhenar M.B., Plakhova K.I. Antifungal drug resistance *Candida* spp. mechanisms in recurrent genital candidiasis. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2020; 38(1): 15–23. (in Russian)]. doi: 10.17116/molgen2020380115.
14. Пчелин И.М., Рябинин И.А., Сташук А.А., Выборнова И.В., Чилина Г.А., Добродеева В.С., Насырова Р.Ф., Шагдильева Е.В., Васильева Н.В., Тараскина А.Е. Генетический полиморфизм ERG11 клинических изолятов *Candida albicans*: теоретические и практические аспекты. Проблемы медицинской микологии. 2020; 22(3): 36–42. [Pchelina I.M., Ryabinin I.A., Stashuk A.A., Vybornova I.V., Chilina G.A., Dobrodeeva V.S., Nasyrova R.F., Shagdileeva E.V., Vasilyeva N.V., Taraskina A.E. ERG11 genetic polymorphism in clinical isolates of *Candida albicans*: theoretical and practical aspects. *Problems of Medical Mycology*. 2020; 22(3): 36–42. (in Russian)]. doi: 10.24412/1999-6780-2020-3-36-42.
15. Thomaz D.Y., Melhem M.S.C., de Almeida Júnior J.N., Benard G., Del Negro G.M.B. Lack of efficacy of echinocandins against high metabolic activity biofilms of *Candida parapsilosis* clinical isolates. *Braz J Microbiol*. 2020; 51(3): 1129–33. doi: 10.1007/s42770-019-00219-7.
16. Kumari A., Tripathi A.H., Gautam P., Gahtori R., Pande A., Singh Y., Madan T., Upadhyay S.K. Adhesins in the virulence of opportunistic fungal pathogens of human. *Mycology*. 2021; 12(4): 296–324. doi: 10.1080/21501203.2021.1934176.
17. Rosiana S., Zhang L., Kim G.H., Revtovich A.V., Uthayakumar D., Sukumaran A., Geddes-McAlister J., Kirienko N.V., Shapiro R.S. Comprehensive genetic analysis of adhesin proteins and their role in virulence of *Candida albicans*. *Genetics*. 2021; 217(2). doi: 10.1093/genetics/iyab003.
18. Singh D.K., Németh T., Papp A., Tóth R., Lukács S., Heidingsfeld O., Dostal J., Vágvolgyi C., Bajtaj Z., Józsi M., Gácsér A. Functional Characterization of Secreted Aspartyl Proteases in *Candida parapsilosis*. *mSphere*. 2019; 4(4). doi: 10.1128/mSphere.00484-19.
19. Rasheed M., Battu A., Kaur R. Aspartyl proteases in *Candida glabrata* are required for suppression of the host innate immune response. *J Biol Chem*. 2018; 293(17): 6410–33. doi: 10.1074/jbc.M117.813741.
20. Frias-De-León M.G., Hernández-Castro R., Conde-Cuevas E., García-Coronel I.H., Vázquez-Aceituno V.A., Soriano-Ursúa M.A., Farfán-García E.D., Ocharán-Hernández E., Rodríguez-Cerdeira C., Arenas R., Robledo-Cayetano M., Ramírez-Lozada T., Meza-Meneses P., Pinto-Almazán R., Martínez-Herrera E. *Candida glabrata* Antifungal Resistance and Virulence Factors, a Perfect Pathogenic Combination. *Pharmaceutics*. 2021; 13(10): 1529. doi: 10.3390/pharmaceutics13101529.
21. Мальчикова А.О., Клясова Г.А. Продукция биопленок среди возбудителей инвазивного кандидоза у больных онкологическими заболеваниями системы крови и у больных без опухолевых заболеваний системы крови. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(3): 281–90. [Malchikova A.O., Klyasova G.A. Biofilm production among *Candida* spp. causing invasive candidiasis in patients with hematological malignancies and without hematological malignancies. *Hematology and Transfusiology*. 2020; 65(3): 281–90. (in Russian)]. doi: 10.35754/0234-5730-2020-65-3-281-290.
22. Bentz M.L., Sexton D.J., Welsh R.M., Litvintseva A.P. Phenotypic switching in newly emerged multidrug-resistant pathogen *Candida auris*. *Med Mycol*. 2018. doi: 10.1093/mmy/myy100.
23. de Jong A.W., Hagen F. Attack, Defend and Persist: How the Fungal Pathogen *Candida auris* was Able to Emerge Globally in Healthcare Environments. *Mycopathologia*. 2019; 184(3): 353–65. doi: 10.1007/s11046-019-00351-w.
24. Xu Y., Chen L., Li C. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* species to fluconazole and detection of *Candida albicans* ERG11 mutations. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 61(4): 798–804. doi: 10.1093/jac/dkn015.
25. Kordalewska M., Lee A., Park S., Berrio I., Chowdhary A., Zhao Y., Perlin D.S. Understanding Echinocandin Resistance in the Emerging Pathogen *Candida auris*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018; 62(6). doi: 10.1128/AAC.00238-18.
26. Shrief R., Sayed Zaki M.E., El-Sehsah E.M., Ghaleb S., Mofreh M. Study of Antifungal Susceptibility, Virulence Genes and Biofilm Formation in *Candida albicans*. *Open Microbiol J*. 2019; 13(1): 241–8. doi: 10.2174/1874285801913010241.
27. Stieh F., Felk A., Gácsér A., Kretschmar M., Mähns B., Neuber K., Hube B., Schäfer W. Expression analysis of the *Candida albicans* lipase gene

Закключение

Молекулярно-генетические методы выявления штаммов *Candida spp.*, несущих гены резистентности к антифунгальным лекарственным средствам, детекция факторов патогенности – это перспективные направления для поиска биомаркеров, облегчающих сложную задачу трактовки результатов микробиологического исследования по оценке способности штаммов *Candida spp.* к развитию ИГИ.

family during experimental infections and in patient samples. *FEMS Yeast Res.* 2004; 4(4–5): 401–8. doi: 10.1016/S1567-1356(03)00205-8.

28. Kadry A.A., El-Ganiny A.M., El-Baz A.M. Relationship between Sap prevalence and biofilm formation among resistant clinical isolates of *Candida albicans*. *Afr Health Sci.* 2018; 18(4): 1166–74. doi: 10.4314/ahs.v18i4.37.

29. Kritikos A., Neofytos D., Khanna N., Schreiber P.W., Boggian K., Bille J., Schrenzel J., Mühlethaler K., Zbinden R., Bruderer T., Goldenberger D., Pfyffer G., Conen A., Van Delden C., Zimmerli S., Sanglard D., Bachmann D., Marchetti O., Lamothe F.; Fungal Infection Network of Switzerland (FUNGINOS). Accuracy of Sensititre YeastOne echinocandins epidemiological cut-off values for identification of FKS mutant *Candida albicans* and *Candida glabrata*: a ten year national survey of the Fungal Infection Network of Switzerland (FUNGINOS). *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24(11). doi: 10.1016/j.cmi.2018.05.012.

30. Sheng C., Zhang W. New lead structures in antifungal drug discovery. *Curr Med Chem.* 2011; 18(5): 733–66. doi: 10.2174/092986711794480113.

31. Arendrup M.C., Friberg N., Mares M., Kahlmeter G., Meletiadis J., Guinea J.; Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). *Clin Microbiol Infect.* 2020; 26(11): 1464–72. doi: 10.1016/j.cmi.2020.06.007.

32. Bhattacharya S., Sae-Tia S., Fries B.C. Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(6): 312. doi: 10.3390/antibiotics9060312.

Поступила/Received 26.01.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 02.06.2022

Принята к публикации/Accepted 13.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Багирова Наталия Сергеевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: nbagirova@mail.ru. SPIN-код: 3189-8188. Researcher ID (WOS): AAJ-4392-2021. Author ID (Scopus): 6603332319. ORCID: 0000-0003-1405-3536.

Горемыкина Евгения Андреевна, магистрант, ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт» (г. Пушкино, Россия); стажер-исследователь лаборатории антимикробных препаратов, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (г. Серпухов, п. Оболенск, Россия). SPIN-код: 3467-0375. ORCID: 0000-0002-2374-3646.

Слукин Павел Владимирович, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (г. Серпухов, п. Оболенск, Россия). SPIN-код: 8271-7799. Researcher ID (WOS): AAI-5985-2020. Author ID (Scopus): 57200329884. ORCID: 0000-0002-4976-0145.

Хохлова Ольга Евгеньевна, доктор биологических наук, профессор, факультет биологической безопасности, ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт» (г. Пушкино, Россия); ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (г. Серпухов, п. Оболенск, Россия). SPIN-код: 5730-6812. Researcher ID (WOS): J-3119-2017. Author ID (Scopus): 54986821300. ORCID: 0000-0002-2829-5117.

Фурсова Надежда Константиновна, кандидат биологических наук, доцент, факультет биологической безопасности, ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт» (г. Пушкино, Россия); ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (г. Серпухов, п. Оболенск, Россия). SPIN-код: 9115-5689. Researcher ID (WOS): K-1133-2017. Author ID (Scopus): 6602108685. ORCID: 0000-0001-6053-2621.

Петухова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1265-2875. Author ID (Scopus): 6701329760. ORCID: 0000-0003-3077-0447.

Григорьевская Злата Валерьевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией микробиологической, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4416-5191. Author ID (Scopus): 57200538935. ORCID: 0000-0003-4294-1995.

ВКЛАД АВТОРОВ

Багирова Наталия Сергеевна: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ и статистическая обработка результатов, написание текста рукописи.

Горемыкина Евгения Андреевна: микробиологические и молекулярно-генетические исследования.

Слукин Павел Владимирович: микробиологические и молекулярно-генетические исследования, статистическая обработка данных, обзор публикаций по теме статьи, критический пересмотр статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Хохлова Ольга Евгеньевна: планирование экспериментов, анализ результатов, обзор публикаций по теме статьи.

Фурсова Надежда Константиновна: планирование экспериментов, анализ результатов, редактирование.

Петухова Ирина Николаевна: обзор публикаций по теме статьи, критический пересмотр статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Григорьевская Злата Валерьевна: ответственность за целостность всех частей статьи, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках НИР по теме АААА-А20-120031090079-6. Исследование выполнено в рамках Отраслевой программы Роспотребнадзора.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Nataliya S. Bagirova, MD, DSc, Leading Researcher of the Microbiological Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). E-mail: nbagirova@mail.ru. Researcher ID (WOS): AAJ-4392-2021. Author ID (Scopus): 6603332319. ORCID: 0000-0003-1405-3536.

Evgenia A. Goremykina, graduate student, Pushchino State Institute of Natural Sciences (Pushchino, Russia); Research Trainee, Antimicrobials Lab., State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor (Obolensk, Serpukhov, Russia). ORCID: 0000-0002-2374-3646.

Pavel V. Slukin, Researcher, Antimicrobials Lab., State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor (Obolensk, Serpukhov, Russia). Researcher ID (WOS): AAI-5985-2020. Author ID (Scopus): 57200329884. ORCID: 0000-0002-4976-0145.

Olga E. Khokhlova, DSc, Professor, Pushchino State Institute of Natural Sciences (Pushchino, Russia); Leading Researcher, Antimicrobials Lab., State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor (Obolensk, Serpukhov, Russia). Researcher ID (WOS): J-3119-2017. Author ID (Scopus): 54986821300. ORCID: 0000-0002-2829-5117.

Nadezhda K. Fursova, PhD, Associate Professor, Pushchino State Institute of Natural Sciences (Pushchino, Russia); Leading Researcher, Antimicrobials Lab., State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor (Obolensk, Serpukhov, Russia). Researcher ID (WOS): K-1133-2017. Author ID (Scopus): 6602108685. ORCID: 0000-0001-6053-2621.

Irina N. Petukhova, MD, DSc, Leading Researcher of the Microbiological Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6701329760. ORCID: 0000-0003-3077-0447.

Zlata V. Grigorievskaya, MD, DSc, Head of the Microbiological Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57200538935. ORCID: 0000-0003-4294-1995.

AUTHOR CONTRIBUTION

Nataliya S. Bagirova: study conception and design, data collection and interpretation, statistical data analysis, writing of the text of the manuscript.

Evgenia A. Goremykina: microbiological and molecular genetic studies.

Pavel V. Slukin: microbiological and molecular genetic studies, statistical data processing, review of publications on the topic of the article, critical revision of the article with the introduction of valuable intellectual content.

Olga E. Khokhlova: planning of experiments, analysis of results, review of publications on the topic of the article.

Nadezhda K. Fursova: planning of experiments, analysis of results, editing of the manuscript.

Irina N. Petukhova: review of publications on the topic of the article, critical revision of the article with the introduction of valuable intellectual content

Zlata V. Grigorievskaya: responsibility for the integrity of all parts of the article, editing, approval of the final version of the article for publication.

Funding

The study was done with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation within the framework of the research work on the topic AAAA-A20-120031090079-6. The study was carried out as part of the Industry Program of Rospotrebnadzor.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-81-89
УДК: 616.71-006.6-089.843

Для цитирования: Сафин И.Р., Родионова А.Ю., Рукавишников Д.В., Хасанов Р.Ш. Реконструкция послеоперационного дефекта углеродным наноструктурным имплантатом с интрамедуллярным остеосинтезом после резекции длинных трубчатых костей по поводу первичных и метастатических опухолей. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 81–89. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-81-89

For citation: Safin I.R., Rodionova A.Yu., Rukavishnikov D.V., Khasanov R.Sh. Reconstruction of postoperative defects using carbon nanostructured implants with intramedullary osteosynthesis after extremity long bone resection for primary and metastatic tumors. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 81–89. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-81-89

РЕКОНСТРУКЦИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ДЕФЕКТА УГЛЕРОДНЫМ НАНОСТРУКТУРНЫМ ИМПЛАНТАТОМ С ИНТРАМЕДУЛЛЯРНЫМ ОСТЕОСИНТЕЗОМ ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИИ ДЛИННЫХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ ПО ПОВОДУ ПЕРВИЧНЫХ И МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ОПУХОЛЕЙ

И.Р. Сафин^{1,2}, А.Ю. Родионова¹, Д.В. Рукавишников¹, Р.Ш. Хасанов²

ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан», Казань, Россия¹

Россия, 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 29. E-mail: safin74@bk.ru¹

Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Казань, Россия²

Россия, 420012, г. Казань ул. Муштары, 11²

Аннотация

Актуальность. Приоритетным в лечении первичных и метастатических злокачественных опухолей костей является комбинированное лечение, включающее хирургический этап, а также лекарственную и лучевую терапию, что позволило улучшить выживаемость. Достаточно важным является вопрос сохранения функции конечности. Хороший функциональный результат после оперативных вмешательств по поводу опухолей длинных трубчатых костей в первую очередь обусловлен реконструктивным этапом. Выбор метода реконструкции обуславливается локализацией опухоли, степенью ее локального распространения, наличием угрозы развития или уже состоявшегося патологического перелома, соматическим статусом пациента. Реконструктивный этап при диафизарной локализации опухолей является достаточно сложной задачей. Для реконструкции диафизарных послеоперационных дефектов используются эндопротезы, аллоимплантаты, аутокость. Для обеспечения стабильности пораженного сегмента конечности используются различные варианты остеосинтеза. Современные научные разработки обеспечивают появление материалов, обладающих характеристиками, близкими к характеристикам человеческой костной ткани, однако не имеющими недостатков, присущих алло- и аутокостным имплантатам. **Цель исследования** – улучшение результатов хирургического лечения опухолей длинных трубчатых костей диафизарной локализации. **Материал и методы.** Предложена технология, основой которой является реконструкция послеоперационного дефекта углеродным наноструктурным имплантатом (УНИ) в комбинации с интрамедуллярным остеосинтезом блокированным штифтом. С использованием предложенного метода оперировано 25 пациентов, из них 9 – с состоявшимся патологическим переломом, у 24 – опухоль представлена метастазами рака. Дооперационно у всех пациентов был выражен болевой синдром и ограничение функции конечности. **Результаты.** Интра- и послеоперационных осложнений не было. Через 1 мес все пациенты отметили значительное уменьшение выраженности болевого синдрома. Функциональные результаты через 3 мес были хорошими. Ни у одного пациента не выявлено локального рецидива, нестабильности оперированного сегмента конечности, а также реакции отторжения углеродного наноструктурного имплантата. **Заключение.** Реконструктивный этап с использованием углеродных наноструктурных имплантатов после

резекций длинных трубчатых костей по поводу метастатического поражения обеспечивает хорошие функциональные результаты и удовлетворительный локальный контроль.

Ключевые слова: метастазы, патологический перелом, остеосинтез, углеродный наноструктурный имплантат, комбинированное лечение, выживаемость.

RECONSTRUCTION OF POSTOPERATIVE DEFECTS USING CARBON NANOSTRUCTURED IMPLANTS WITH INTRAMEDULLARY OSTEOSYNTHESIS AFTER EXTREMITY LONG BONE RESECTION FOR PRIMARY AND METASTATIC TUMORS

I.R. Safin^{1,2}, A.Yu. Rodionova¹, D.V. Rukavishnikov¹, R.Sh. Khasanov²

Republican Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia¹
29, Sibirsky Trakt St., 420029, Kazan, Russia. E-mail: safin74@bk.ru¹
Kazan State Medical Academy – branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of Russia, Kazan, Russia²
11, Mushtari St., 420029, Kazan, Russia²

Abstract

Background. Recent studies have shown that a combination of surgery with chemotherapy and radiotherapy can significantly improve survival in patients with primary and metastatic bone tumors. Reconstruction of bone defects after resection of long bones is critical for successful functional limb salvage. The choice of the reconstruction technique depends on the tumor location, tumor extension, presence of pathological fracture, and somatic status of the patient. Reconstruction of bone defects in cases with diaphyseal tumor location can pose a surgical challenge. For the reconstruction of diaphyseal bone defects, endoprostheses, alloimplants, and autologous bone grafts are used. To achieve stability of the affected segment of the limb, various options for osteosynthesis are used. Modern technological achievements provide the emergence of materials with characteristics close to those of human bone tissue, however, without the disadvantages inherent in allo- and autologous implants. **The purpose of the study** was to improve surgical treatment outcomes in patients with long tubular bone tumors. **Material and Methods.** For the reconstruction of postoperative long bone defects, we used carbon nanostructured implants (CNI) in combination with intramedullary osteosynthesis with a blocked pin. A total of 25 patients underwent surgery (including 9 patients with a pathological fracture), 24 of them had metastases. **Results.** There were no intraoperative and postoperative complications. All patients had a significant decrease in pain 1 month after surgery. At 3 months after surgery, functional outcomes were satisfactory. None of the patients had a local recurrence, instability of the operated limb segment, or a reaction of rejection of a carbon nanostructured implant. **Conclusion.** Reconstruction of postoperative defects with carbon nanostructured implants after resection of long tubular bones for metastatic cancer provides good functional results and satisfactory local control.

Key words: metastases, pathological fracture, osteosynthesis, carbon nanostructured implant, combined treatment, survival.

Введение

Первичные злокачественные опухоли костей составляют 0,001 % от всех впервые выявленных злокачественных новообразований [1]. Метастатическое поражение костей встречается в 35–40 раз чаще первичных опухолей. По частоте метастатического поражения кости занимают 3-е место после печени и легких. У 9–29 % пациентов с метастазами в кости первым проявлением опухолевого процесса является патологический перелом. Наиболее часто поражение скелета метастазами встречается при раке молочной железы, щитовидной железы, предстательной железы, легкого, почки, колоректальном раке. Метастазы в длинные трубчатые кости составляют 13–24 % [2]. Течение метастатического процесса в 5–30 % осложняется патологическим переломом, что

требуют хирургического лечения у 9–12 % больных. Первичные опухоли костей осложняются развитием патологического перелома в 1–10 %. Современные методы диагностики и лечения позволяют выполнять органосохраняющие операции как при первичных, так и при метастатических опухолях костей [3].

Лечение диссеминированных форм рака шагнуло далеко вперед, благодаря появлению новых поколений цитостатиков, таргетных и иммуноонкологических препаратов. В связи с этим значительно увеличилась выживаемость пациентов, что расширяет показания к резекционным операциям с реконструктивным этапом [4]. Поражение диафиза длинных трубчатых костей как при первичных, так и при метастатических опухолях встречается значительно реже, чем поражение эпиметафизов [5].

В эпифизарной зоне могут локализоваться гигантоклеточная опухоль, хондробластома, хондросаркома [6]. Метафизарное расположение характерно для остеосаркомы. Наиболее часто диафиз кости поражается при саркоме Юинга и PNET, а также при метастазах [7, 8].

При литических поражениях кости высок риск патологического перелома. Угроза развития патологического перелома при поражении длинных костей оценивается по шкале Mirel (1989). Развитие патологического перелома при локализации очага в области диафиза в значительной степени ухудшает состояние пациента с выпадением функции пораженной конечности [9]. Несмотря на то, что патологический перелом не является противопоказанием к химиотерапии, нередко больным отказывают в ее проведении в связи с невозможностью пациента самостоятельно передвигаться, поэтому при угрозе патологического перелома приоритетным является вопрос о хирургическом лечении.

Выбор метода операции зависит от гистотипа и степени дифференцировки опухоли, протяженности поражения [10]. При первичных опухолях оперативные вмешательства включают сегментарные резекции кости и ампутации/экзартикуляции. Сегментарные резекции длинных костей при первичных злокачественных опухолях включают обязательный реконструктивный этап в виде эндопротезирования, реконструкции с использованием аллоимплантов или аутокости с дополнением ее остеосинтезом (накостным, интрамедуллярным, чрескостным) [11–15]. При метастазах диафизарной локализации выполняются резекционные и стабилизирующие операции [16]. Стабилизирующие операции (интрамедуллярный остеосинтез заблокированным штифтом, накостный остеосинтез) не предусматривают резекции патологического очага и являются паллиативными вмешательствами, обеспечивающим контроль болевого синдрома и стабильность пораженного сегмента конечности [17] и в дальнейшем требуют дополнительной дистанционной лучевой терапии для обеспечения локального контроля [18, 19]. Однако достаточно часто лучевой терапии бывает недостаточно для достижения данной цели, что приводит к росту метастатического очага и, как следствие, нестабильности металлоконструкции. Резекционные операции включают внутриочаговую резекцию с использованием методов локальной деструкции (криодеструкция, термоабляция) и пластикой костным цементом, сегментарные резекции с пластикой дефекта эндопротезом, аллоимплантатами, костными аутоотрансплантатами [20].

При опухолевом поражении диафиза в ходе реконструкции постоперационного дефекта ставятся следующие задачи: обеспечение стабильности концов резецированной кости и имплантата, профилактика формирования ложного сустава, восстановление длины конечности, реализация возможности ранней реабилитации с максималь-

ным восстановлением функции конечности [21]. Для реконструкции диафизарных послеоперационных дефектов применяются аутоотрансплантаты (васкуляризированные и невааскуляризированные), аллоимплантаты, эндопротезы, имплантаты (титановые и углеродные) в сочетании с погружным остеосинтезом (БИОС), а также компрессионно-дистракционный остеосинтез по Илизарову [22–24]. Учитывая особенности комбинированного лечения опухолей костей, метод Илизарова, предполагающий длительные сроки лечения (3–4 мес), не является удовлетворительным вариантом, поскольку требует отсрочки начала лучевой и/или химиотерапии, что негативно влияет на общую и безрецидивную выживаемость. Невааскуляризованные аутоотрансплантаты и аллоимплантаты также имеют свои недостатки, в частности, отсутствие биоинтеграции, ограниченные возможности реконструкции (замещение непротяженных дефектов), функциональный и косметический дефект в донорской области [25, 26]. Применение аллотрансплантатов ограничивается отсутствием банков донорской кости в большинстве лечебных учреждений, а также ввиду длительных сроков для консолидации имплантата (длительная иммобилизация и задержка проведения химиолучевой терапии) [27]. Диафизарные эндопротезы изготавливаются из титанового сплава или полиоксиметилена, чаще индивидуального дизайна [28, 29]. При оперативном лечении опухолей с поражением диафиза эндопротезирование или сочетание углеродного имплантата с остеосинтезом являются наиболее предпочтительными вариантами, т.к. обеспечивают раннюю активизацию и своевременное начало лучевой и/или химиотерапии (3–4 нед после операции).

Цель исследования – улучшение результатов хирургического лечения опухолей длинных трубчатых костей диафизарной локализации.

Материал и методы

Для решения данных задач нами была предложена технология, основанная на реконструкции постоперационного дефекта углеродным наноструктурным имплантатом (УНИ) в комбинации с интрамедуллярным остеосинтезом заблокированным штифтом. Имплантаты представляют собой прочный пористый композит из углеродных волокон, связанных наноструктурной углеродной матрицей, который по своим свойствам близок к свойствам человеческой кости [30]. Данный материал, являющийся инновационным изобретением, запатентован в 2002 г., а в 2008 г. получил регистрационное удостоверение. С 2008 г. начали выполняться оперативные вмешательства с реконструкцией послеоперационных дефектов углеродными наноструктурными имплантатами. С этого времени совершенствуются линейка продукции, технологии изготовления материала, а в 2015 г. был построен завод по производству УНИ. Углеродные наноструктурные имплантаты используют-



Рис. 1. Углеродный наноструктурный имплант
Fig. 1. Carbon nanostructured implant

ся для реконструкции дефектов при оперативных вмешательствах на длинных костях, позвонках [31]. Имплантаты имеют плотность, близкую к костной ткани человека, биоинертны, обладают свойством остеоиндукции, рентгенонегативны, а также могут являться депо для лекарственных препаратов (рис. 1). При опухолях костей УНИ используются для замещения пострезекционных дефектов и формирования спейсеров при двухэтапном эндопротезировании [32, 33]. Нами предложен метод реконструкции диафизарных послеоперационных дефектов с использованием углеродных наноструктурных имплантатов в сочетании со стабилизирующей системой. Этапы операции по поводу злокачественного новообразования с поражением диафиза включают резекцию пораженного участка кости в пределах здоровых тканей; установку интрамедуллярного заблокированного штифта с углеродным имплантатом, замещающим постоперационный дефект; блокировку штифта винтами, обеспечивающую плотный контакт имплантата с костью и стабильность конструкции. В последующем это обеспечивает формирование костно-углеродного блока.

Всего прооперировано 25 пациентов (таблица). Морфологические варианты опухолей представлены метастазами рака молочной железы (n=11), рака почки (n=9), меланомы (n=1), эпителиоидной гемангиоэндотелиомой (n=1), гигантоклеточной опухолью (n=1), деструкцией костной ткани на фоне гиперпаратиреоза, вызванного аденомой паращитовидной железы (n=2). У 9 пациентов был состоявшийся патологический перелом. До операции все пациенты получали анальгетики (от нестероидных противовоспалительных средств до морфина), индекс боли по ВАШ составлял от 5 до 8 баллов. Во всех случаях ранний послеоперационный период протекал без осложнений.

Данный вариант реконструкции позволяет начать реабилитационные мероприятия через 1–2 нед (через 2 нед – при резекции бедренной кости) после вмешательства с максимальным восстановлением функции оперированной конечности, а также обеспечить продолжение лекарственной терапии

через 2–3 нед после операции. После хирургического лечения (результат анализировался через 3 мес после операции) большинство пациентов (n=22) ограничиваются приемом ненаркотических анальгетиков до 2 раз в нед, 3 больных получают трамадол перорально до 4 раз в нед. В среднем функциональные результаты (по MSTs) через 3 мес после операции составили для верхней конечности 80 %, для нижней конечности – 70 %. Локальное прогрессирование не выявлено ни в одном случае. Системная диссеминация отмечена у 8 пациентов, что потребовало смены схемы лекарственного лечения.

Клинический случай

Пациентка З., 1946 г.р. В январе 2017 г. выполнено иссечение пигментной опухоли кожи поясничной области справа в условиях поликлиники по месту жительства с использованием аппарата «Сургитрон». При пересмотре гистологических препаратов в РКОД верифицирована меланома кожи pT_xN0M0 (установить уровень инвазии невозможно). Выполнено широкое реиссечение послеоперационного рубца, затем больная находилась под диспансерным наблюдением. В августе 2019 г. стала отмечать боли в области левого плеча, не связанные с физической нагрузкой, травмой. В сентябре 2019 г., при плановой позитронно-эмиссионной томографии выявлено очаговое поражение левой плечевой кости. По данным рентгенографии имелся очаг в средней трети диафиза литического характера с деструкцией кортикального слоя (патологический перелом без смещения) (рис. 2). При остеосцинтиграфии



Рис. 2. Рентгенограмма до операции
Fig. 2. X-ray before surgery

Таблица/Table

Характеристика больных с реконструкцией послеоперационных дефектов углеродным наноструктурным имплантатом

Patients with reconstruction of postoperative defects with a carbon nanostructured implant

Пациент/ Patient	Морфологический вариант/ Morphological type	Локализация патологиче- ского очага/ Tumor loca- tion	ВАШ до операции/ VAS before surgery	ВАШ после операции/ VAS after surgery	Функциональ- ный результат до операции по шкале MSTs/ Functional result before surgery (MSTs)	Функциональ- ный резуль- тат после операции по шкале MSTs/ Functional result after sur- gery (MSTs)	Выживаемость/ Survival rate
Ж., 78 лет/ W., 78 years	Меланома/ Melanoma	Плечевая кость/ Humerus	8	3	40 %	67 %	12 мес, прогрессирование (висцеральные метастазы)/ 12 months, progression (visceral metastases)
Ж., 61 год/ W., 61 years	Рак молочной же- лезы/ Breast cancer	Бедренная кость/ Femur	7	2	40 %	83 %	26 мес, без прогресси- рования/ 26 months, without progression
Ж., 70 лет/ W., 70 years	Рак молочной же- лезы/ Breast cancer	Бедренная кость/ Femur	8	4	40 %	83 %	24 мес, жива, без прогрес- сирования/ 24 months, alive, without progression
М., 51 год/ M., 51 years	Гигантоклеточная опухоль/ Giant cell tumor	Лучевая кость/ Radius bone	8	4	53 %	70 %	24 мес, жив, без прогрес- сирования/ 24 months, alive, without progression
М., 72 года/ M., 72 years	Рак почки/ Kidney cancer	Бедренная кость/ Femur	8	3	40 %	83 %	7 мес, жив, без прогресси- рования/ 7 months, alive, without progression
Ж., 80 лет/ W., 80 years	Рак почки/ Kidney cancer	Бедренная кость/ Femur	7	3	40 %	83 %	4 мес, жива, без прогресси- рования/ 4 months, alive, without progression
Ж., 80 лет/ W., 80 years	Рак молочной желе- зы/ Breast cancer	Плечевая кость/ Humerus	8	3	40 %	83 %	3 мес, жива, без прогресси- рования/ 3 months, alive, without progression
М., 77 лет/ M., 77 years	Рак почки/ Kidney cancer	Бедренная кость/ Femur	7	3	40 %	83 %	24 мес, жив, без прогрес- сирования/ 24 months, alive, without progression
Ж., 59 лет/ W., 59 years	Рак молочной же- лезы/ Breast cancer	Бедренная кость/ Femur	8	2	40 %	83 %	14 мес, жива, без прогрес- сирования/ 14 months, alive, without progression
Ж., 72 года/ W., 72 years	Эпителиоидная ге- мангиоэндотелиома/ Epithelioid hemangiioendothelioma	Бедренная кость/ Femur	7	2	73 %	83 %	24 мес, без прогресси- рования/ 24 months, alive, without progression
М., 56 лет/ M., 56 years	Гиперпаратиреоз/ Hyperparathyroidism	Бедренная кость/ Femur	7	2	73 %	83 %	16 мес, жив, без прогрес- сирования/ 16 months, alive, without progression
М., 62 года/ M., 62 years	Гиперпаратиреоз/ Hyperparathyroidism	Бедренна я кость/ Femur	7	3	40 %	83 %	20 мес, жив, без прогрес- сирования/ 20 months, alive, without progression
Ж., 67 лет/ W., 67 years	Рак молочной желе- зы/ Breast cancer	Плечевая кость/ Humerus	6	2	73 %	83 %	14 мес, жива, прогресси- рование (скелет)/ 14 months, alive, progression (skeleton)

Окончание таблицы/End of Table

Ж., 46 лет/ W., 46 years	Рак почки/ Kidney cancer	Плечевая кость/ Humerus	7	2	40 %	73 %	8 мес, жива, прогресси- рование (висцеральные метастазы)/ 8 months, alive, progression (visceral metastases)
М., 66 лет/ M., 66 years	Рак почки/ Kidney cancer	Бедренная кость/ Femur	6	3	40 %	83 %	10 мес, жив, прогрессиро- вание (скелет)/ 10 months, alive, progression (skeleton)
Ж., 73 года/ W., 73 years	Рак молочной желе- зы/ Breast cancer	Бедренная кость/ Femur	6	2	40 %	83 %	13 мес, жива, прогресси- рование (висцеральные метастазы)/ 13 months, alive, progres- sion (visceral metastases)
Ж., 79 лет/ W., 79 years	Рак молочной желе- зы/ Breast cancer	Плечевая кость/ Humerus	8	3	40 %	83 %	5 мес, жива, прогрессиро- вание (скелет)/ 5 months, alive, progression (skeleton)
М., 58 лет/ M., 58 years	Рак почки/ Kidney cancer	Плечевая кость/ Humerus	6	3	73 %	83 %	7 мес, прогрессирование (висцеральные метастазы)/ 7 months, alive, progression (visceral metastases)
Ж. 75 лет/ W., 75 years	Рак почки/ Kidney cancer	Плечевая кость/ Humerus	7	2	73 %	83 %	9 мес, жива, без прогресси- рования/ 9 months, alive, without progression
М., 69 лет/ M., 69 years	Рак почки/ Kidney cancer	Бедренная кость/ Femur	7	3	40 %	67 %	10 мес, жив, прогрессиро- вание (скелет)/ 10 months, alive, progression (skeleton)
Ж., 69 лет/ W., 69 years	Рак молочной желе- зы/ Breast cancer	Бедренная кость/ Femur	7	2	40 %	67 %	8 мес, жива, без прогресси- рования/ 8 months, alive, without progression
Ж., 60 лет/ W., 60 years	Рак молочной желе- зы/ Breast cancer	Плечевая кость/ Humerus	8	2	60 %	83 %	14 мес, жива, без прогрес- сирования/ 14 months, alive, without progression
Ж., 72 года/ W., 72 years	Рак молочной желе- зы/ Breast cancer	Плечевая кость/ Humerus	8	3	60 %	83 %	12 мес, жива, без прогрес- сирования/ 12 months, alive, without progression
М, 70 лет/ M., 70 years	Рак почки/ Kidney cancer	Бедренная кость/ Femur	6	2	60 %	83 %	9 мес, жив, без прогресси- рования/ 9 months, alive, without progression
Ж., 77 лет/ W., 77 years	Рак молочной желе- зы/ Breast cancer	Плечевая кость/ Humerus	8	3	60 %	83 %	11 мес, умерла по при- чинам, не связанным с основным заболеванием / 11 months, died for reasons unrelated to the underlying disease

выявлена гиперфиксация радиофармпрепарата в средней трети левой плечевой кости протяженностью 40 мм. Выполнена открытая биопсия очага плечевой кости. При гистологическом исследовании: метастаз меланомы в плечевую кость. Учитывая выраженный болевой синдром, отсутствие висцеральных метастазов, солитарный характер метастатического поражения скелета, удовлетворительный соматический статус, решено выполнить резекцию плечевой кости с реконструктивным этапом. На операции в декабре 2019 г. выполнен послойный разрез в области средней трети

левого плеча по задне-латеральной поверхности с обеспечением доступа к плечевой кости. В области средней трети диафиза имелась опухоль, диаметром 4,3 см, с деструкцией кортикального слоя и мягкотканым компонентом. Острым путем выполнена мобилизация плечевой кости с опухолью и резекция на протяжении 7 см (рис. 3, 4). Для замещения послеоперационного дефекта использован углеродный наноструктурный имплантат, длиной 7 см. Интрамедуллярный штифт установлен в костномозговой канал, проведен через канал имплантата и фиксирован блокирующими винтами:

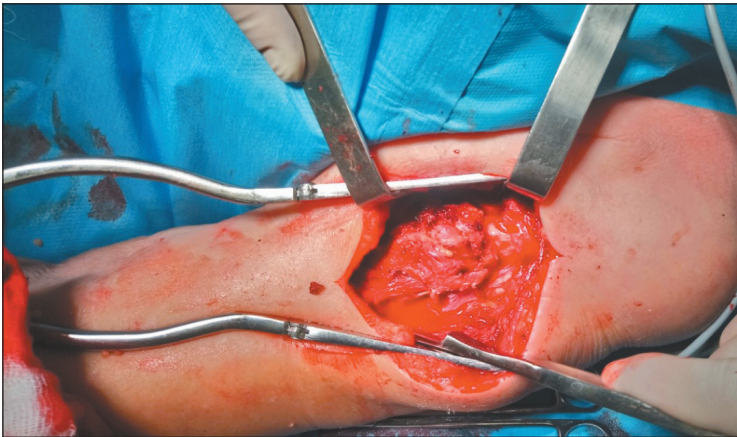


Рис. 3. Пострезекционный дефект
Fig. 3. Post-resection defect

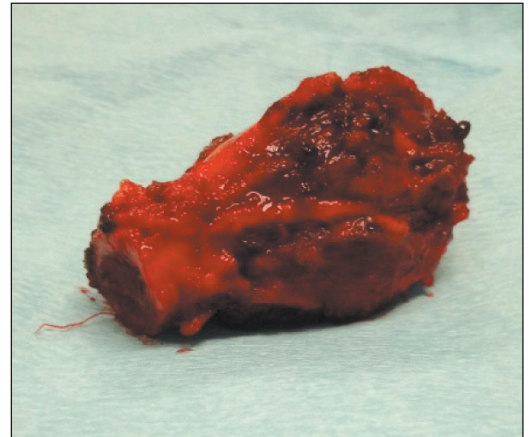


Рис. 4. Удаленный препарат
Fig. 4. Surgical resection specimen



Рис. 5. Реконструктивный этап
Fig. 5. Reconstruction of postoperative defect

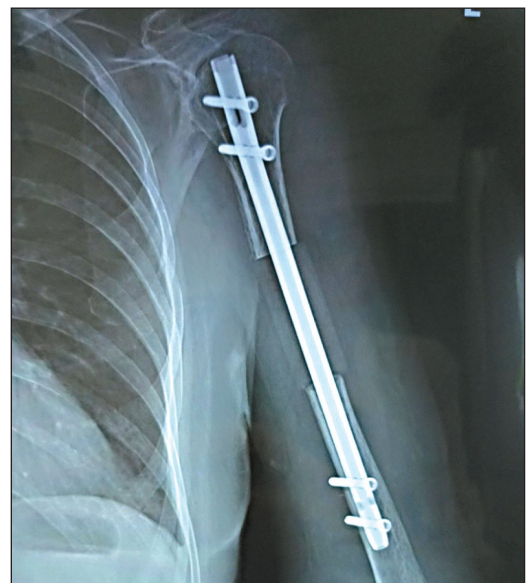


Рис. 6. Рентгенограмма после операции
Fig. 6. X-ray after surgery

2 – в области проксимального эпиметафиза, 2 – в нижней трети диафиза плечевой кости (рис. 5). Рана послойно ушита с оставлением дренажа. Послеоперационное течение гладкое, дренаж удален на 3-и сут. С 7-х сут начаты реабилитационные мероприятия. В раннем послеоперационном периоде пациентка отмечала умеренный болевой синдром, купируемый введением НПВС. К моменту выписки (10-е сут) движения в плечевом суставе незначительно ограничены за счет сохраняющегося незначительного болевого синдрома, в локтевом суставе движения в полном объеме. В последующем назначена иммунотерапия, отмечена стабилизация заболевания. Период наблюдения – 8 мес. Функциональный результат хороший (MSTS – 80 %). Рентгенологически система стабильна (рис. 6).

Заключение

Выполнение резекционных операций с реконструктивным этапом при метастазах диафизарной

локализации показано в случае солитарных метастазов рака молочной железы, почки, толстой и прямой кишки, меланомы кожи, при хорошем онкологическом прогнозе заболевания и удовлетворительном соматическом статусе пациента, а также при первичных злокачественных опухолях костей в качестве метода выбора на этапе оперативного лечения. Оперативное вмешательство обеспечивает удовлетворительный локальный контроль заболевания, а также хорошие функциональные результаты. Углеродные наноструктурные имплантаты позволяют реконструировать костные дефекты различной протяженности, также с возможностью использования металлоконструкций и различных способов закрытия дефектов мягких тканей. Имплантаты не вызывают реакции отторжения. При обеспечении плотного контакта имплантата с костью в последующем происходит формирование костно-углеродного блока, способствующего стабильности имплантата. Наличие в организме пациента углеродного наноструктурного имплан-

тата не является противопоказанием для любого системного противоопухолевого лечения, а также

не препятствует проведению лучевой терапии при прогрессировании заболевания.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Coleman R.E. Skeletal complications of malignancy. *Cancer*. 1997; 80(8): 1588–94. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19971015)80:8<1588::aid-cnrcr9>3.3.co;2-z. PMID: 9362426.
2. Ebeid W., Amin S., Abdelmegid A., Refaat Y., Ghoneimy A. Reconstruction of distal tibial defects following resection of malignant tumours by pedicled vascularised fibular grafts. *Acta Orthop Belg*. 2007; 73(3): 354–9.
3. Eneking W.F., Dunham W., Gebhardt M.C., Malawar M., Pritchard D.J. A system for the functional evaluation of reconstructive procedures after surgical treatment of tumors of the musculoskeletal system. *Clin Orthop Relat Res*. 1993; (286): 241–6.
4. Gebert C., Harges J., Hoffmann C., Winkelmann W., Gosheger G. Options for surgical treatment of malignant bone tumors. *Chirurg*. 2002; 73(12): 1162–9. doi: 10.1007/s00104-002-0565-7.
5. Gokaraju K., Sri-Ram K., Donaldson J., Parratt M.T., Blunn G.W., Cannon S.R., Briggs T.W. Use of a distal radius endoprosthesis following resection of a bone tumour: a case report. *Sarcoma*. 2009. doi: 10.1155/2009/938295.
6. Gutowski C.J., Basu-Mallick A., Abraham J.A. Management of bone sarcoma. *Surg Clin North Am*. 2016; 96(5): 1077–1106. doi: 10.1016/j.suc.2016.06.002.
7. Hatano H., Morita T., Kobayashi H., Otsuka H. A ceramic prosthesis for the treatment of tumours of the distal radius. *J Bone Joint Surg Br*. 2006; 88(12): 1656–8. doi: 10.1302/0301-620X.88B12.17989.
8. Kabukcuoglu Y., Grimer R.J., Tillman R.M., Carter S.R. Endoprosthetic replacement for primary malignant tumors of the proximal femur. *Clin Orthop*. 1999; 358: 8–14.
9. Marcove R.C., Lewis M.M., Rosen G., Huvos A.G. Total femur replacement. *Compr Ther*. 1977 Feb; 3(2):13–19.
10. Maruthainar N., Zambakidis C., Harper G., Calder D., Cannon S., Briggs T. Functional outcome following excision of tumors of the distal radius and reconstruction by autologous non-vascularized osteoarticular fibula grafting. *J Hand Surg*. 2002; 27(2): 171–4. doi: 10.1054/jhsb.2001.0707.
11. McGrath A., Sewell M.D., Hanna S.A., Pollock R.C., Skinner J.A., Cannon S.R., Briggs T.W.R. Custom endoprosthetic reconstruction for malignant bone disease in the humeral diaphysis. *Acta Orthop Belg*. 2011; 77(2): 171–9.
12. Niu X.H., Hao L., Zhang Q., Ding Y. Massive allograft replacement in management of bone tumors. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2007; 45(10): 677–80.
13. Sewell M.D., Hanna S.A., McGrath A., Aston W.J.S., Blunn G.W., Pollock R.C., Skinner J.A., Cannon S.R., Briggs T.W.R. Intercalary diaphyseal endoprosthetic reconstruction for malignant tibial bone tumors. *J Bone Joint Surg Br*. 2011; 93(8): 1111–7. doi: 10.1302/0301-620X.93B8.25750.
14. Sewell M.D., Spiegelberg B.G.I., Hanna S.A., Aston W.J.S., Meswania J.M., Blunn G.W., Henry C., Cannon S.R., Briggs T.W.R. Non-invasive extendible endoprostheses for limb reconstruction in skeletally-mature patients. *J Bone Joint Surg Br*. 2009; 91(10): 1360–5. doi: 10.1302/0301-620X.91B10.22144.
15. Shalaby S., Shalaby H., Bassiony A. Limb salvage for osteosarcoma of the distal tibia with resection arthrodesis, autogenous fibular graft and Ilizarov external fixator. *J Bone Joint Surg Br*. 2006; 88(12): 1642–6. doi: 10.1302/0301-620X.88B12.17879.
16. Shekheris A.S., Hanna S.A., Sewell M.D., Spiegelberg B.G.I., Aston W.J.S., Blunn G.W., Cannon S.R., Briggs T.W.R. Endoprosthetic reconstruction of the distal tibia and ankle joint after resection of primary bone tumors. *J Bone Joint Surg Br*. 2009; 91(10): 1378–82. doi: 10.1302/0301-620X.91B10.22643.
17. Алиев М.Д. Становление и современное состояние отечественной онкологической ортопедии. *Вопросы онкологии*. 2005; 3: 283–7. [Aliiev M.D. Formation and current state of domestic oncological orthopedics. *Problems in Oncology*. 2005; 3: 283–7. (in Russian)].
18. Алиев М.Д., Соколовский В.А., Дмитриева Н.В., Синюкова Г.Т., Сычева Л.Ю., Амирасланов А.А., Мистакопуло Н.Ф. Осложнения при эндопротезировании больных с опухолями костей. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2003; 14(2): 35–39. [Aliiev M.D., Sokolovsky V.A., Dmitrieva N.V., Sinyukova G.T., Sycheva L.Yu., Amiraslanov A.A., Mistakopulo N.F. Complications during endoprosthetics in patients with bone tumors. *Bulletin of the N.N. Blokhin Russian Academy of Medical Sciences*. 2003; 14 (2): 35–39. (in Russian)].
19. Алиев М.Д., Тепляков В.В., Калистов В.Е., Валмев А.К., Трапезников Н.Н. Современные подходы к хирургическому лечению метастазов злокачественных опухолей в кости. *Практическая онкология*. 2001; 1(5): 39–43. [Aliiev M.D., Teplyakov V.V., Callistov V.E., Valmiev A.K., Trapeznikov N.N. Modern approaches to the surgical treatment of bone metastases of malignant tumors. *Practical Oncology*. 2001; 1(5): 39–43. (in Russian)].
20. Вагнер Е.А., Денисов А.С., Скрыбин В.Л. Углеродный материал нового поколения в эндопротезировании костей и суставов. *Пермь*, 1993. 64 с. [Wagner E.A., Denisov A.S., Skryabin V.L. New generation carbon material in endoprosthetics of bones and joints. Perm, 1993. 64 p. (in Russian)].
21. Залуцкий И.В. Реконструктивная и пластическая хирургия в клинической онкологии. Минск, 2007. 252 с. [Zalutsky I.V. Reconstructive and plastic surgery in clinical oncology. Minsk, 2007, 252 p. (in Russian)].
22. Зацепин С.Т. Сохраняющие операции при опухолях костей. М., 1984. С. 82–144, 154–203, 206–215. [Zatsepin S.T. Preservation operations for bone tumors. Moscow, 1984. P. 82–144, 154–203, 206–215. (in Russian)].
23. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М., 2020. 236 с. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. The state of cancer care for the population of Russia in 2019. Moscow, 2020. 236 p. (in Russian)].
24. Литвинов С.Д. Наноразмерный композитный материал «ЛитАр» – универсальный имплантат. Самара, 2008. 250 с. [Litvinov S.D. Nano-sized composite material «LitAR» is a universal implant. Samara, 2008. 250 p. (in Russian)].
25. Махсон А.Н., Шуцак М.Ю. Принципы хирургических вмешательств адекватной терапии больных с опухолями бедренной кости. Настоящее и будущее костной патологии. М., 1997: 61–62. [Makhson A.N., Shchupak M.Yu. Principles of surgical interventions for adequate therapy of patients with femoral tumors. Present and future of bone pathology. Moscow, 1997: 61–62. (in Russian)].
26. Скрыбин В.Л., Денисов А.С. Использование углеродных наноструктурных имплантатов для замещения пострезекционных дефектов при опухолевых и кистозных поражениях костей. Клинические рекомендации. Пермь, 2014. 17 с. [Skryabin V.L., Denisov A.S. The use of carbon nanostructured implants to replace post-resection defects in tumor and cystic bone lesions. Clinical guidelines. Perm, 2014: 17 p. (in Russian)].
27. Соловьев Ю.Н. Новые нозологические формы в классификации опухолей костей. *Архив патологии*. 1998; 60(4): 57–61. [Soloviev Yu.N. New nosological forms in the classification of bone tumors. *Archive of Pathology*. 1998; 60 (4): 57–61. (in Russian)].
28. Столяров В.И., Колосов А.Е., Кастельянос Х.Э. Сберегательные операции и прогноз при саркомах мягких тканей и костей. Ленинград, 1991. 160 с. [Stolyarov V.I., Kolosov A.E., Castellanos H.E. Savings operations and prognosis for soft tissue and bone sarcomas. Leningrad, 1991. 160 p. (in Russian)].
29. Сушенцов Е.А., Соколовский В.А., Кабардаев Р.М., Дзампаев А.З., Кубиров М.С., Николаев А.П. Эндопротезирование диафизарных дефектов при опухолях костей. *Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи*. 2014; 3–4: 20–25. [Sushentsov E.A., Sokolovsky V.A., Kabardaev R.M., Dzampaev A.Z., Kubirov M.S., Nikolaev A.P. Endoprosthetics of diaphyseal defects in bone tumors. *Sarcomas of Bones, Soft Tissues and Skin Tumors*. 2014; 3–4: 20–25. (in Russian)].
30. Тепляков В.В., Карпенко В.Ю., Франк Г.А., Буланов А.А., Державин В.А., Шаталов А.М. Эндопротезирование при опухолевом поражении длинных костей. *Российский онкологический журнал*. 2009; 5: 11–15. [Teplyakov V.V., Karpenko V.Yu., Frank G.A., Bulanov A.A., Derzhavin V.A., Shatalov A.M. Endoprosthetics for tumor lesions of long bones. *Russian Journal of Oncology*. 2009; 5: 11–15. (in Russian)].
31. Тяжелов О.А., Акушина Н.А., Иванов Г.В. Оценка биосовместимости углерод-углеродного композиционного материала в экспериментах. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2006; 4: 47–50. [Tyazhelov O.A., Akushina N.A., Ivanov G.V. Evaluation of the biocompatibility of a carbon-carbon composite material in experiments. *Orthopedics, Traumatology and Prosthetics*. 2006; 4: 47–50. (in Russian)].
32. Чиссов В.И., Алиев М.Д., Семиглазов В.Ф. Сберегательные и органосохраняющие операции при злокачественных опухолях костей и мягких тканей. СПб., 2004. [Chissov V.I., Aliiev M.D., Semiglazov V.F. Savings and organ-preserving surgeries for malignant tumors of bones and soft tissues. St. Petersburg, 2004. (in Russian)].
33. Шугабейкер Х., Малауэр М.М. Хирургия сарком мягких тканей и костей. М., 1996: 84–5. [Shugabaker H., Malauer M.M. Surgery for soft tissue and bone sarcomas. Moscow, 1996: 84–5. (in Russian)].

Поступила/Received 18.08.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 04.10.2021

Принята к публикации/Accepted 25.10.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сафин Ильдар Рафаилович, кандидат медицинских наук, врач-онколог, ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан»; доцент, кафедра травматологии и ортопедии, Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (г. Казань, Россия). E-mail: safin74@bk.ru. Researcher ID (WOS): E-6654-2019. ORCID: 0000-0001-7728-4863.

Родионова Анна Юрьевна, врач-онколог, ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 8480-7860.

Рукавишников Денис Владимирович, врач-онколог, ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (г. Казань, Россия). Researcher ID (WOS): C-7074-2019. ORCID: 0000-0002-0564-3270.

Хасанов Рустем Шамильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии, радиологии и паллиативной медицины, ректор, Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (г. Казань, Россия). SPIN-код: 9198-5989.

ВКЛАД АВТОРОВ

Сафин Ильдар Рафаилович: сбор и обработка материала, составление черновика статьи.

Родионова Анна Юрьевна: сбор и обработка материала, анализ научной работы.

Рукавишников Денис Владимирович: сбор и обработка материала, анализ научной работы.

Хасанов Рустем Шамильевич: разработка концепции научной работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Ildar R. Safin, MD, PhD, Oncologist, Republican Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan; Associate Professor of Traumatology and Orthopedics of the Kazan State Medical Academy – branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia).

Anna Yu. Rodionova, MD, Oncologist, Republican Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan (Kazan, Russia).

Denis V. Rukavishnikov, MD, Oncologist, Republican Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan (Kazan, Russia).

Rustem Sh. Khasanov, MD, Professor, Head of Department of Oncology, Radiology and Palliative Medicine, Rector of Kazan State Medical Academy – branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Ildar R. Safin: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Anna Yu. Rodionova: data collection and analysis, study supervision.

Denis V. Rukavishnikov: data collection and analysis, study supervision.

Rustem Sh. Khasanov: study design and concept.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-90-103
УДК: 616.37-006.6-036.22

Для цитирования: Шаньгина О.В., Максимович Д.М., Заридзе Д.Г. Описательная, аналитическая и молекулярная эпидемиология рака поджелудочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 90–103. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-90-103

For citation: Shangina O. V., Maximovich D. M., Zaridze D. G. Descriptive, analytical and molecular epidemiology of pancreatic cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 90–103. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-90-103

ОПИСАТЕЛЬНАЯ, АНАЛИТИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

О.В. Шаньгина, Д.М. Максимович, Д.Г. Заридзе

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

Аннотация

Цель исследования – представить современные данные о роли факторов образа жизни и наследственности в этиологии рака поджелудочной железы (РПЖ). **Материал и методы.** Проанализированы результаты эпидемиологических исследований, посвященных роли факторов образа жизни и наследственности в этиологии РПЖ. Поиск соответствующих источников производился в системах Medline и Elibragy. **Результаты.** Рак поджелудочной железы занимает 9-е место в структуре онкологической смертности в мире. Он имеет крайне неблагоприятный прогноз, 5-летняя выживаемость больных РПЖ не превышает 9 %. Самые высокие показатели заболеваемости и смертности от РПЖ зарегистрированы в странах Восточной Европы, включая Россию. Заболеваемость РПЖ в 2019 г. составила 9,3 на 100 тыс. населения у мужчин и 5,7 у женщин. В России, как и во всем мире, наблюдается рост заболеваемости и смертности от РПЖ. Доказанными факторами риска являются курение, потребление алкоголя, избыточный вес, ожирение и диабет, панкреатит в анамнезе. На риск развития РПЖ влияет микробиом полости рта и толстой кишки. Установлено, что 5–10 % случаев РПЖ являются наследственными. Идентифицированы наследственные синдромы. Риск развития РПЖ у пациентов с такими синдромами колеблется от 2 (синдром наследственного рака молочной железы и яичников) до 132 (синдром Пейтца–Егерса). Выявлены участки генома, содержащие варианты полиморфизма одиночных нуклеотидов (SNPs), которые чаще встречаются у больных РПЖ, чем у здоровых людей. К часто встречающимся соматическим мутациям относится мутация драйверных генов (driver-gene) РПЖ, к которым относятся онкоген *KRAS* и гены-супрессоры опухолей *TP53*, *CDKN2A* и *SMAD4*. Идентифицированы и так называемые пассажирские мутации, которые при РПЖ встречаются реже (*AIB1/NCOA*, *ERBB2/HER2/EGFR2*, *AKT2*, *BRAF*, *CCND1*, *RB1*). Однако комбинированный эффект полиморфизма этих генов может быть существенным и сравнимым с влиянием драйверного гена. **Заключение.** На сегодняшний день существенным недостатком нашего понимания процесса канцерогенеза является отсутствие информации о том, какие именно канцерогенные факторы приводят к тем или иным конкретным мутациям, т. е. образованию мутационных сигнатур. Для разрешения этой проблемы в 2017 г. стартовал международный научный проект GRAND CHALLENGE “Mutograph”, в котором участвуют сотрудники отдела анализа эпидемиологии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина».

Ключевые слова: рак поджелудочной железы, эпидемиология, этиология, факторы риска.

DESCRIPTIVE, ANALYTICAL AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF PANCREATIC CANCER

O.V. Shangina, D.M. Maximovich, D.G. Zaridze

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia
24, Kashirskoe shosse, 115478, Moscow, Russia. E-mail: oshangina@mail.ru.

Abstract

The purpose of the study was to present current data on the role of lifestyle and heredity factors in the etiology of pancreatic cancer (PC). **Material and Methods.** A systemic literature search was conducted using Medline and Elibrary databases. **Results.** Pancreatic cancer is the 9th leading cause of cancer-related deaths worldwide. PC has an extremely poor prognosis. The 5-year survival rate of patients with PC does not exceed 9 %. The highest incidence and mortality rates from PC are found in Eastern Europe, including Russia. The incidence of PC in 2019 was 9.3 per 100,000 males and 5.7 per 100,000 females. In Russia, PC incidence and mortality rates in both males and females show a steady increase. Risk factors associated with PC include smoking, heavy alcohol drinking, overweight and obesity, diabetes and chronic pancreatitis. The microbiome of the oral cavity and colon influence the risk of PC. Approximately 10 % of PC is estimated to have familial inheritance. The risk of PC in patients with inherited syndromes ranges from 2 (hereditary breast and ovarian cancer syndrome) to 132 (Peutz-Jeghers syndrome). Regions of the genome containing variants of single nucleotide polymorphism (SNPs), which are more common in patients with PC than in healthy people, were identified. The most common somatic mutations include mutations in the driver genes of prostate cancer, which include the *KRAS* oncogene and tumor suppressor genes *TP53*, *CDKN2A*, and *SMAD4*. The less common mutations of genes include *AIB1/NCOA*, *ERBB2/HER2/EGFR2*, *AKT2*, *BRAF*, *CCND1*, *RB1*, etc. They are identified as “passenger” mutations although the combined effect of polymorphism of these genes can be significant and comparable to the influence of the driver gene. **Conclusion.** A significant disadvantage of our understanding of the process of carcinogenesis is the lack of information about carcinogenic factors that cause specific mutations, i.e. the formation of mutational signatures. To solve this problem, in 2017, the international scientific project GRAND CHALLENGE “Mutograph” was launched. The scientists of the Department of Cancer Epidemiology of N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology are members of the international team working on this project.

Key words: pancreatic cancer, epidemiology, etiology, risk factors.

Рак поджелудочной железы (РПЖ) занимает 9-е место в структуре онкологической смертности в мире [1]. В 2020 г. в мире зарегистрировано свыше 495 тыс. случаев РПЖ, а умерло – 466 тыс. [1]. По прогнозам, к 2030 г. смертность от РПЖ займет 2-е ранговое место в смертности от онкологических причин [2]. Рак поджелудочной железы имеет крайне неблагоприятный прогноз. 5-летняя выживаемость больных РПЖ, по данным США, не превышает 9 % и мало изменилась за последние десятилетия [3]. Основная причина плохого прогноза РПЖ связана с поздним выявлением заболевания: в 29 % случаев РПЖ диагностируется с метастазами в регионарных лимфатических узлах, а в 53 % случаев – с отдаленными метастазами [4]. Довольно часто РПЖ диагностируется по-смертно. В результате в некоторых статистических отчетах число умерших от РПЖ превышает число заболевших.

По данным Международного агентства по изучению рака [1], самые высокие показатели заболеваемости РПЖ у мужчин зарегистрированы в странах Восточной Европы: в Венгрии (13,7)

(здесь и далее скорректированные по мировому стандартному населению показатели на 100 тыс. населения), Словакии (12,0), Латвии (11,9), Молдове (11,3), Чехии (11,2), Эстонии (11,5), а также в Уругвае (12,8) и в Японии (11,7). У женщин заболеваемость РПЖ наиболее высока в Венгрии (9,2), Уругвае (8,9), Японии (8,2), Австрии (8,0), Чехии (8,0). Аналогичное распределение наблюдается и по уровню смертности. Мужчины умирают от РПЖ значительно чаще, чем женщины [1, 5]. Причины более низкой заболеваемости РПЖ у женщин до конца не изучены, поскольку мужчины курят в 5 раз чаще (25,0 %), чем женщины (5,4 %), возможно, этим и объясняются гендерные различия [6].

За последние три десятилетия количество заболевших и умерших от РПЖ в мире выросло более чем в 2 раза [5]. Этот рост связан, в первую очередь, со старением населения, т. е. с увеличением доли пожилых людей в общей численности населения. Однако этот рост может быть связан и с распространением в мире таких факторов риска РПЖ, как ожирение и диабет [7]. Географические различия в заболеваемости РПЖ, скорее всего, можно объ-

яснить различием в воздействии известных или предполагаемых факторов риска [5]. Например, региональные различия в распространенности курения, доказанного фактора риска РПЖ, могут частично объяснить эти географические особенности. Другие факторы риска РПЖ, такие как ожирение и диабет, более распространены в странах с высоким уровнем жизни по сравнению со странами с низким уровнем жизни, что также может влиять на географические различия в заболеваемости РПЖ.

Россия, по данным МАИР, относится к регионам с высокой заболеваемостью и смертностью от РПЖ [8]. Заболеваемость РПЖ в 2019 г. составила 9,31 у мужчин и 5,68 у женщин. Однако в ряде регионов показатели заболеваемости РПЖ выше общероссийских. На рис. 1 представлены регионы России с самыми высокими и самыми низкими показателями заболеваемости РПЖ среди мужчин в 2019 г. Самая высокая заболеваемость (более 10,0) отмечена в Ненецком автономном округе (22,95), Еврейской автономной области (16,4) и Орловской области (16,16), а самые низкие показатели заболеваемости РПЖ зарегистрированы в Республике Алтай (3,65). Среди женщин (рис. 2) высокая заболеваемость отмечается в Ненецком автономном округе (11,55), Мурманской области (9,64) и на Камчатке (9,13), самые низкие показатели – в Республике Чувашия (2,89) [8].

По показателям смертности Россия также относится к регионам с высокой смертностью от РПЖ [1]. Смертность от РПЖ в 2019 г. составила 9,26 у мужчин и 5,27 у женщин. В России, как и в других странах, смертность от РПЖ коррелирует с заболеваемостью, т.е. она высока в регионах с высокой заболеваемостью и низка там, где заболеваемость низкая (рис. 3, 4). Так, самая высокая смертность от РПЖ у мужчин в Еврейской автономной области составила 20,88, в Ненецком автономном округе – 17,27, низкая – в Чеченской Республике (2,15). Показатели смертности от РПЖ у женщин в России также значительно варьируют: лидирует Ненецкий автономный округ (9,94), далее следуют Сахалинская область (8,64), Амурская область (8,6), самая низкая смертность – в Республике Ингушетия (0,96) [8].

Показатели заболеваемости и смертности от РПЖ практически не отличаются друг от друга. 5-летняя выживаемость больных РПЖ в России не превышает 1 %. В некоторые годы смертность выше заболеваемости, что указывает на недоучет при жизни больных РПЖ [9]. В России наблюдается рост заболеваемости и смертности от РПЖ как у мужчин, так и у женщин. На графиках (рис. 5) представлена динамика заболеваемости и смертности от РПЖ в России среди мужчин и женщин. С 1990 г. заболеваемость и смертность от РПЖ у мужчин выросла примерно на 50 %. Наиболее

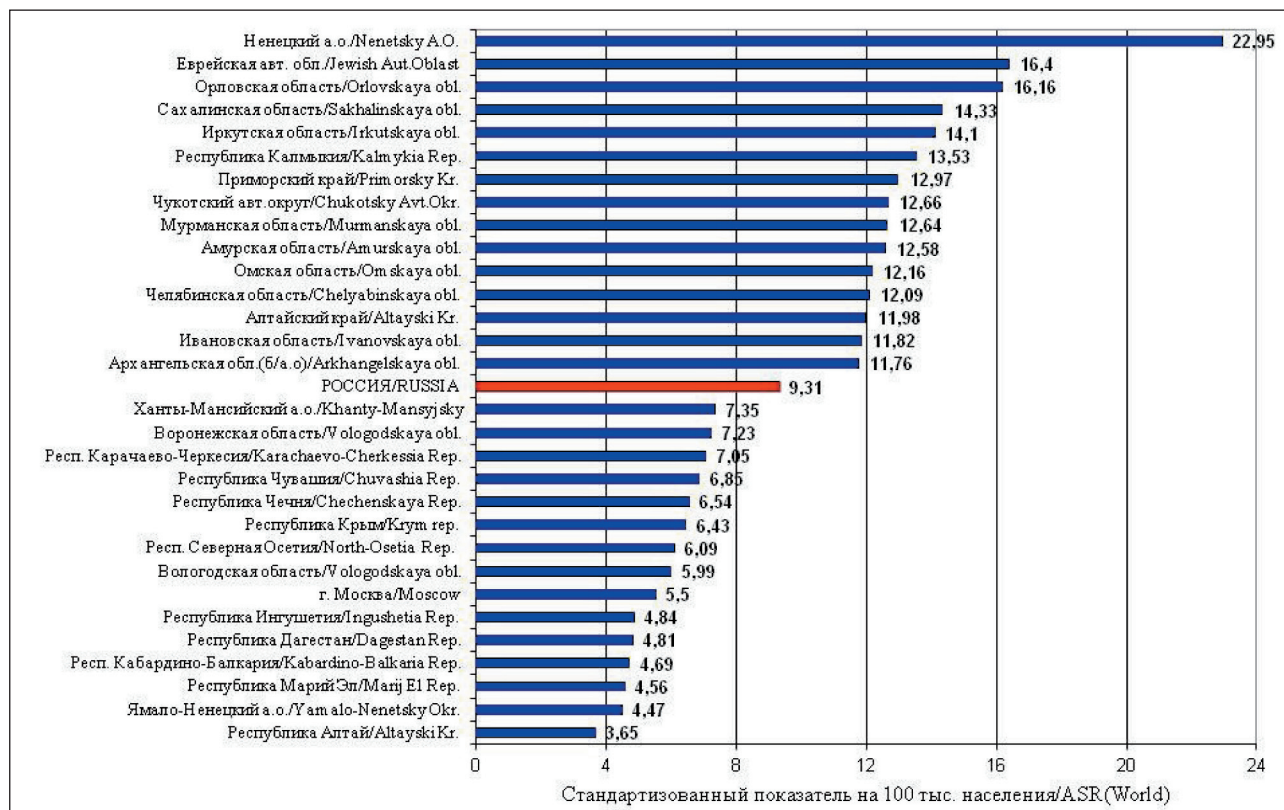


Рис. 1. Регионы России с наибольшей и наименьшей заболеваемостью раком поджелудочной железы, мужчины, 2019 г. (скорректированный по стандартному мировому населению показатель на 100 000 населения).

Fig. 1. Regions of Russia with the highest and lowest incidence of pancreatic cancer in men in 2019 (standardized rate per 100,000 population)

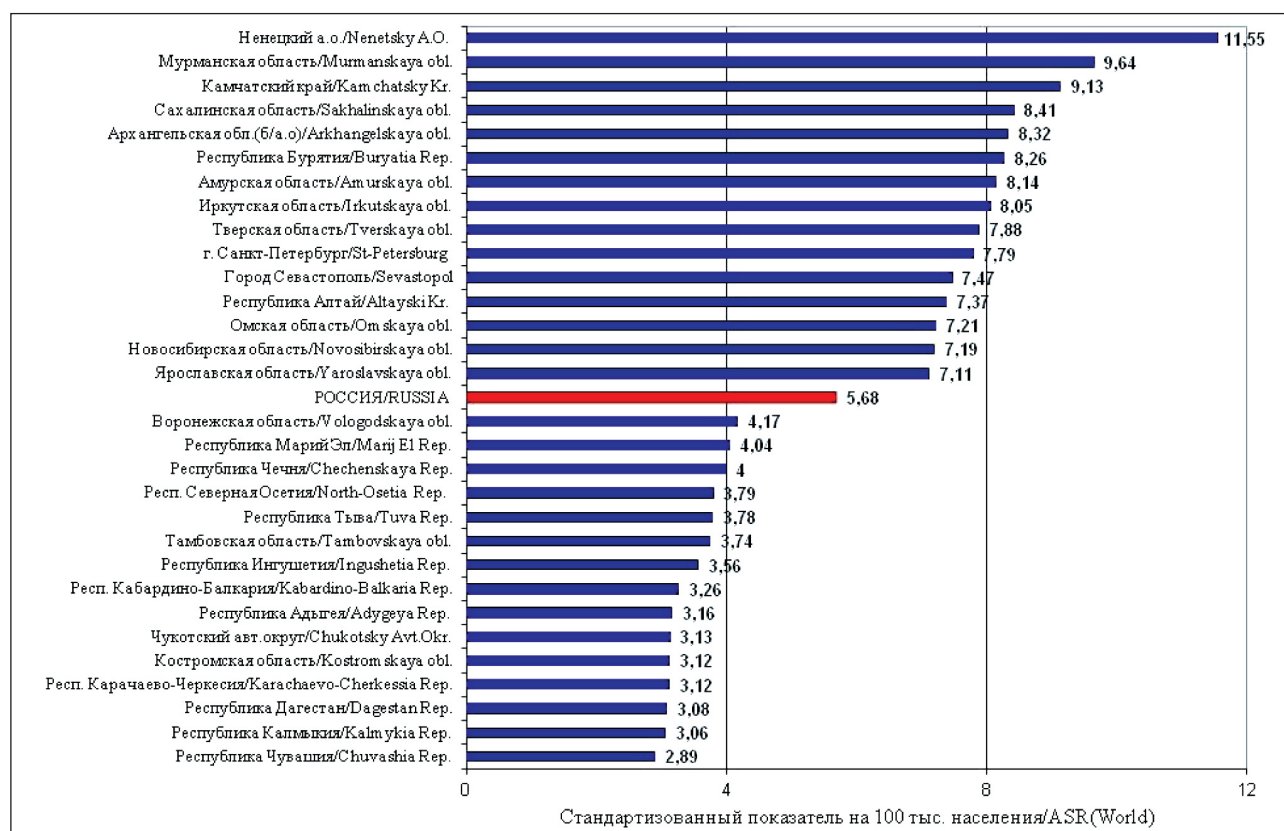


Рис. 2. Регионы России с наибольшей и наименьшей заболеваемостью раком поджелудочной железы, женщины, 2019 г. (скорректированный по стандартному мировому населению показатель на 100 000 населения)

Fig. 2. Regions of Russia with the highest and lowest incidence of pancreatic cancer in women in 2019 (standardized rate per 100,000 population)

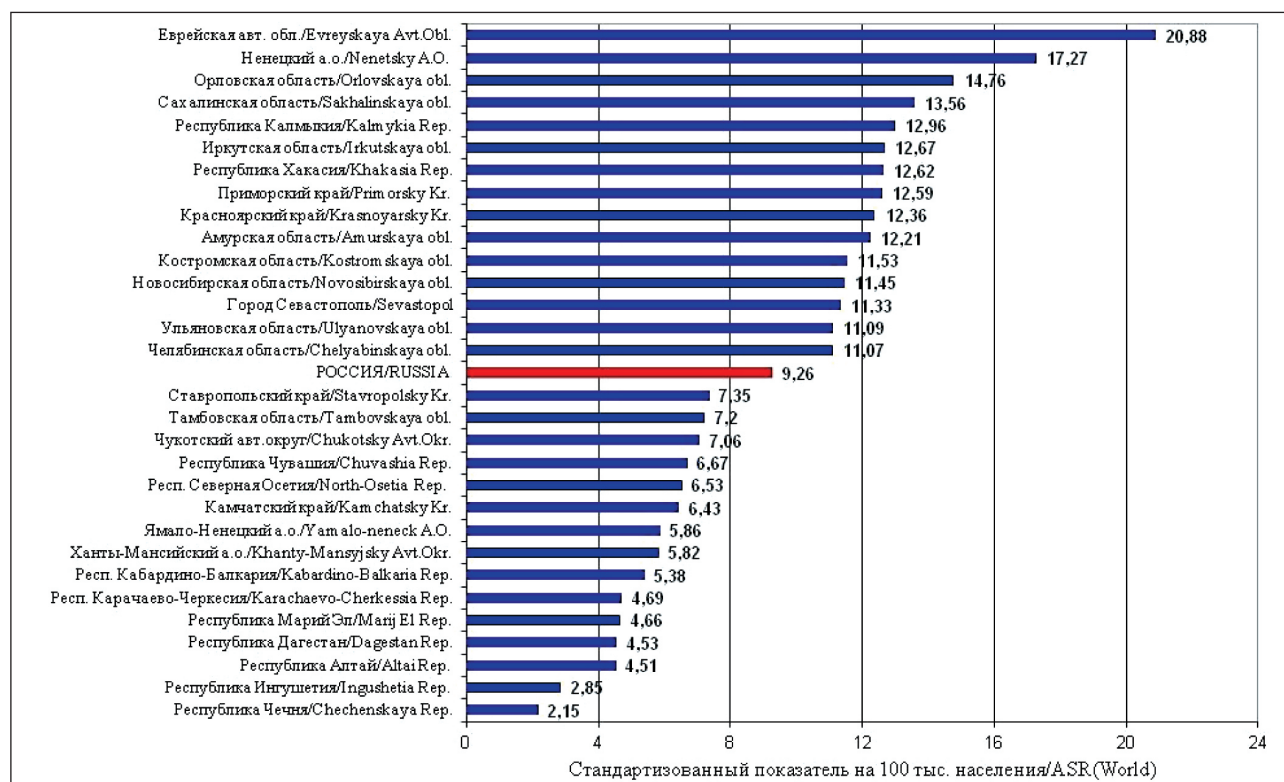


Рис. 3. Регионы России с наибольшей и наименьшей смертностью от рака поджелудочной железы, мужчины, 2019 г. (скорректированный по стандартному мировому населению показатель на 100 000 населения)

Fig. 3. Regions of Russia with the highest and lowest mortality from pancreatic cancer in men in 2019 (standardized rate per 100,000 population)

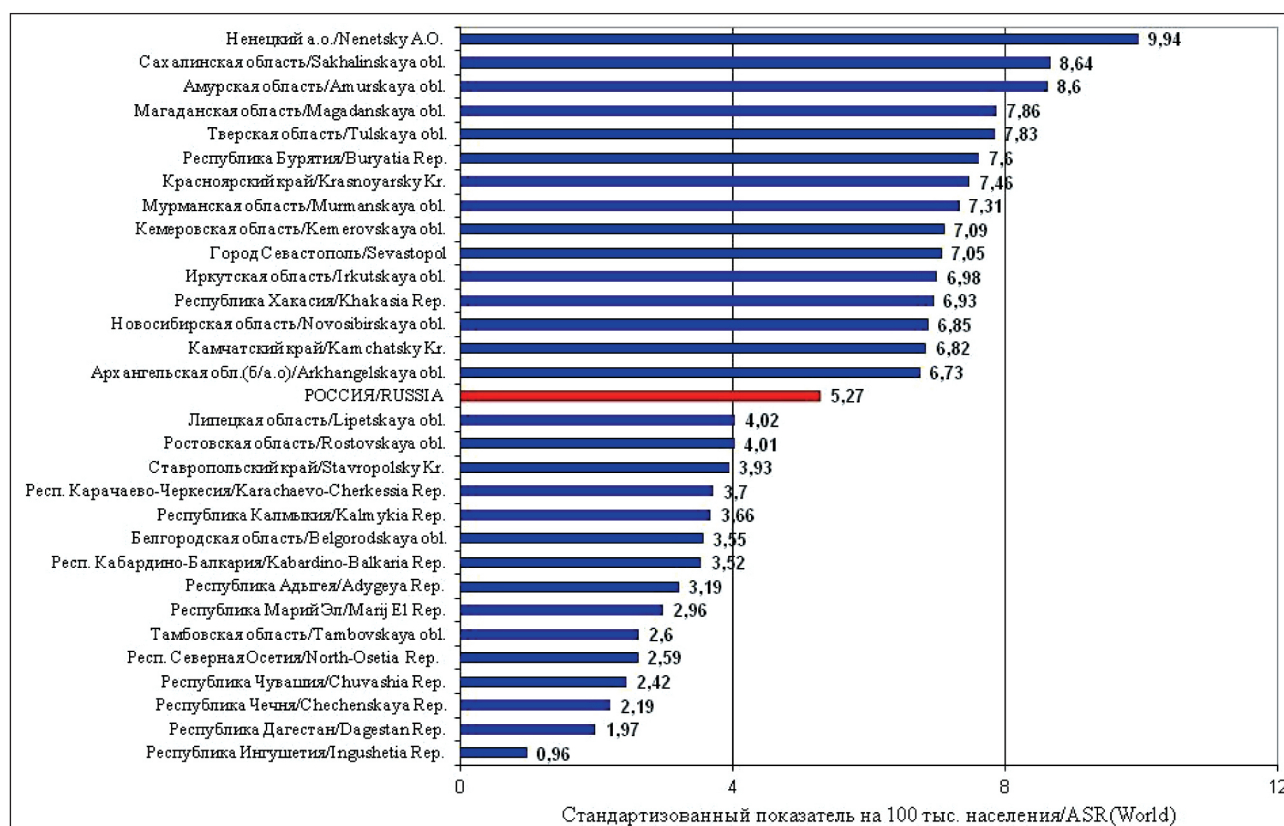


Рис. 4. Регионы России с наибольшей и наименьшей смертностью от рака поджелудочной железы, женщины, 2019 г. (скорректированный по стандартному мировому населению показатель на 100 000 населения)
 Fig. 4. Regions of Russia with the highest and lowest mortality from pancreatic cancer in women in 2019 (standardized rate per 100,000 population)

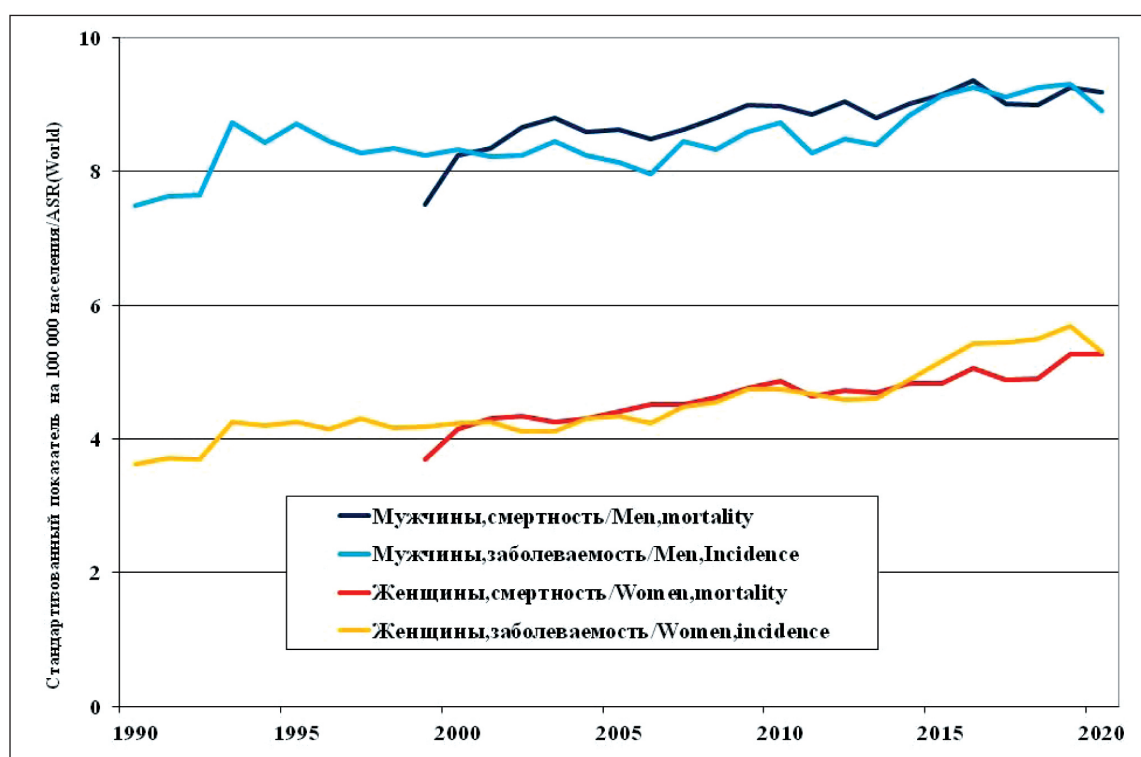


Рис. 5. Динамика заболеваемости и смертности раком поджелудочной железы в России (скорректированный по стандартному мировому населению показатель на 100 000 населения)
 Fig. 5. Trends in pancreatic cancer incidence and mortality in Russia (standardized rate per 100,000 population)

выраженный рост заболеваемости и смертности от РПЖ наблюдается у женщин: заболеваемость, и смертность от РПЖ выросла в 2 раза. По-видимому, это гендерное различие в динамике показателей связано с более широким распространением факторов риска РПЖ среди женщин. Например, распространенность ожирения значительно выше среди российских женщин по сравнению с мужчинами [10].

РПЖ, как правило, является болезнью пожилых людей, поскольку 90 % вновь диагностированных пациентов старше 55 лет [5]. Анализ смертности по возрастным группам показал рост смертности в старших возрастных группах (60–64, 65–69, 70–74, 75–79) как у мужчин, так и у женщин. В более молодых возрастных группах (35–39, 40–44, 45–49, 50–54, 55–60) тенденции роста не наблюдаются.

Факторы риска РПЖ

Курение

Курение является основной доказанной причиной РПЖ [11]. Причинная связь между курением и риском развития РПЖ выявлена как в ретроспективных, так и в проспективных исследованиях. Атрибутивный риск РПЖ, связанный с курением, составляет 20–25 % [12]. Обзор последних работ показал, что риск развития РПЖ у курильщиков в 1,5–2 раза выше по сравнению с некурящими. По результатам крупного метаанализа, который объединил данные 20 когортных исследований, риск РПЖ у курящих составил 1,56 (95 % доверительный интервал (95 % ДИ) 1,34–1,83), у бросивших курить лиц – 1,15 (95 % ДИ 1,06–1,26) по сравнению с теми, кто никогда не курил [13]. Этот эффект курения не зависел от употребления алкоголя, индекса массы тела и наличия диабета. Кроме того, в этом исследовании была выявлена дозо-зависимая связь между интенсивностью курения, количеством сигарет, выкуренных в течение жизни, длительностью курения и смертностью от РПЖ.

Другой метаанализ 78 эпидемиологических исследований показал, что относительный риск (ОР) РПЖ повышен в 1,8 раза у курящих (95 % ДИ 1,7–1,9) и в 1,2 раза (95 % ДИ 1,1–1,2) у бросивших курить лиц по сравнению с некурящими [14]. Показатель ОР повышался с ростом количества выкуриваемых сигарет в день (для куривших 30 сигарет в день ОР 2,2; 95 % ДИ 1,9–2,4) и длительности курения (для куривших более 30 лет ОР 1,8; 95 % ДИ 1,6–2,0). Риск РПЖ снижался через несколько лет после отказа от курения, однако для достижения уровня некурящих потребовалось до 20 лет.

Алкоголь

Чрезмерное употребление алкоголя повышает риск РПЖ, в то время как влияние средних и низких доз алкоголя на риск РПЖ до сих пор неясно. Основываясь на многих исследованиях, ученые

пришли к выводу, что риск РПЖ увеличивается при чрезмерном потреблении алкоголя (более 3 доз (25 мл) спиртных напитков в день), тогда как связи с умеренным и низким потреблением алкоголя обнаружено не было [15]. Повышение риска РПЖ было выявлено у лиц, пьющих крепкие спиртные напитки. Пиво и вино на риск РПЖ не влияют. Курение усиливает эффект чрезмерного потребления алкоголя на риск РПЖ. Недавно опубликованное исследование показало [16], что чрезмерное потребление алкоголя у курильщиков повышало риск РПЖ в 4 раза (ОР 4,04, 95 % ДИ 1,58–10,37), тогда как у лиц, которые никогда не курили, риск был в 2 раза ниже (ОР 2,01, 95 % ДИ: 0,50–8,18) [16].

Избыточный вес и ожирение

Ожирение является одним из признанных факторов риска РПЖ. Рабочая группа Международного агентства по изучению рака (МАИР) пришла к заключению, что «полнота тела», которая включает избыточный вес (индекс массы тела (ИМТ) 25,0–29,9 кг/м²) и ожирение (ИМТ ≥ 30 кг/м²), повышает риск РПЖ [17]. Основанием для такого вывода послужили многочисленные работы, посвященные этой проблеме. Так, в исследовании, в которое вошли 8769 случаев РПЖ и 7055 контрольных лиц, показан повышенный риск РПЖ в группе с самым высоким квартилем ИМТ по сравнению с группой с самым низким квартилем (ОР 1,43, 95 % ДИ 1,20–1,71) [18]. Установлено, что риск РПЖ повышается на 10 % с увеличением ИМТ на каждые 5 кг/м² (ОР 1,10, 95 % ДИ 1,07–1,14). Кроме того, наличие избыточного веса и ожирения в детском и юношеском возрасте повышало заболеваемость и смертность от РПЖ в более позднем возрасте [19].

Питание

Всемирный фонд исследований рака/Американский институт исследований рака (WCRF/AICR) в своем отчете о РПЖ за 2012 г. отметил, что доказательства, подтверждающие связь между факторами питания и РПЖ, ограничены [20]. Несколько исследований показали, что потребление «красного» мяса и обработанного мяса (колбасы, ветчины) повышает риск РПЖ [21, 22]. В 2017 г. проведен метаанализ, который объединил 28 исследований, как когортные проспективные исследования, так и ретроспективные, методом случай-контроль. Метаанализ когортных исследований выявил положительную связь между заболеваемостью РПЖ и высоким потреблением красного (100 г/день) или обработанного мяса (50 г/день) ($p < 0,01$) у мужчин. Результаты анализа объединенных данных исследований «случай-контроль» показали, что потребление «красного» мяса и обработанного мяса статистически достоверно связано с риском РПЖ для обоих полов ($p = 0,02$ и $p < 0,01$ соответственно) [22]. Обработанное мясо часто содержит нитраты,

из которых в организме в результате реакции с аминами образуются канцерогенные нитрозо(а)амины, которые действуют как мощные мутагены [23].

Потребление овощей и фруктов, особенно цитрусовых, оказывает защитное действие, снижая риск на 38 % (95 % ДИ 0,54 – 0,73) и 29 % (95 % ДИ 0,59–0,84) соответственно [24]. Интересно, что в крупном британском когортном исследовании, опубликованном в 2016 г., смертность от РПЖ была ниже среди тех, кто ограничивал количество пищи в целом (примерно на 30–45 %), а также среди вегетарианцев и веганов (примерно на 50 %) по сравнению с обычными потребителями [25]. Известно, что пища с высоким содержанием клетчатки, потребление рыбы или средиземноморская диета обладают протективным эффектом от ряда онкологических заболеваний, однако в исследованиях, изучавших их влияние на РПЖ, этой связи не найдено [26].

Физическая активность

Исследования, изучающие связь между физическими нагрузками и РПЖ, дали противоречивые результаты. Метаанализ 26 исследований установил, что физическая активность в свободное время была связана с пониженным риском РПЖ (ОР 0,89, 95 % ДИ 0,82–0,96). Обратная связь была выявлена только в ретроспективных исследованиях «случай-контроль», но не в проспективных когортных исследованиях [27]. Проспективное когортное исследование, проведенное в США, не выявило связи между физической активностью и РПЖ, китайские исследователи выявили снижение риска РПЖ, связанного с физическими нагрузками среди мужчин (ОР 0,71, 95 % ДИ 0,50–1,00), но не среди женщин (ОР 1,06, 95 % ДИ 0,81–1,38) [28]. В целом, роль физических нагрузок в предотвращении возникновения РПЖ является неубедительной. Тем не менее физическая активность, в дополнение к здоровой диете, важна для предотвращения ожирения, которое является известным фактором риска РПЖ.

Сахарный диабет

В многочисленных исследованиях была показана положительная связь между диабетом I и II типа и РПЖ. В недавно опубликованном эпидемиологическом исследовании показано, что у пациентов с наличием в анамнезе сахарного диабета риск РПЖ повышен на 75 % [29]. Однако выводы исследователей по поводу причинно-следственной связи между РПЖ и диабетом разделились: сахарный диабет может как являться причиной развития РПЖ, так и быть следствием РПЖ и являться ранним маркером развития РПЖ. Анализ, объединяющий данные 15 исследований методом «случай-контроль», показал, что у пациентов, которым был диагностирован сахарный диабет менее 2 лет до диагноза РПЖ, риск РПЖ был повышен на

90 % (ОР 1,90, 95 % ДИ 1,72–2,09). В то время как у пациентов, которые страдали сахарным диабетом более 20 лет, риск РПЖ был повышен на 30 % (ОР 1,30, 95 % ДИ 1,03–1,63) [30]. Диабет и рак РПЖ имеют много общих факторов риска, таких как неправильное питание, отсутствие физической активности, курение и ожирение, которые затрудняют интерпретацию результатов исследований.

Панкреатит

Известно, что у больных, которые длительное время страдали хроническим панкреатитом, РПЖ развивается в 2,7–16 раз чаще, чем у людей с неотягощенным анамнезом. Однако только у 4 % пациентов с хроническим панкреатитом развивается РПЖ. Метаанализ, объединяющий данные 13 исследований, показал, что хронический панкреатит связан с повышенным риском РПЖ, диагностированным в течение 2 лет после диагноза хронического панкреатита (ОР 16,16, 95 % ДИ 12,59–20,73). Риск уменьшался с увеличением времени между постановкой диагноза хронического панкреатита и развитием РПЖ [31]. По данным A. Syed et al., панкреатит возник у 81,3 % пациентов за 3 мес до постановки диагноза РПЖ и у 98,9 % за 3 года [32]. Таким образом, исследователи пришли к выводу, что хронический панкреатит, как и сахарный диабет, может являться как фактором риска РПЖ, так и быть следствием РПЖ из-за возможной обструкции протоков опухолью и в данном случае может выступать в роли раннего маркера РПЖ.

Основными причинами хронического панкреатита являются чрезмерное употребление алкоголя, камни в желчном пузыре и аутоиммунные заболевания. Метаболические факторы, такие как ожирение и сахарный диабет, также играют важную роль в развитии как хронического панкреатита, так и РПЖ.

Микробиом и гигиена полости рта

Исследователи, изучавшие связь между состоянием полости рта (заболевания пародонта и потеря зубов) и риском РПЖ, пришли к выводу, что состояние полости рта влияет на риск РПЖ. Так, результаты недавнего исследования, которое включало примерно 40 000 афроамериканских женщин, выявили, что потеря зубов, пародонтоз или и то и другое повышают риск развития РПЖ [33].

Микробиом полости рта содержит более 700 различных видов бактерий и целый ряд других микроорганизмов (грибы и вирусы) [34]. Микробиом, выделенный из поджелудочной железы, аналогичен микробиому полости рта. Обнаружено, что *Porphyromonas gingivalis*, периодонтитогенная бактерия, вызывает внутри опухолевых клеток РПЖ, а высокие уровни сывороточных антител к этим бактериям были связаны с повышенным риском РПЖ. Микроорганизмы полости рта могут колонизировать поджелудочную железу

через желудочно-кишечный тракт, особенно в случае панкреатита. Наличие бактерий способно оказывать влияние и на клиническое течение заболевания, поскольку бактерии, подобные видам *Fusobacterium*, в тканях опухоли коррелируют с плохим прогнозом РПЖ, а внутриопухолевые бактерии могут метаболизировать противоопухолевый препарат гемцитабин, тем самым снижая терапевтический эффект. Кроме того, предполагается, что особенности орального микробиома могут служить неинвазивным биомаркером РПЖ.

Кишечный микробиом также играет роль в развитии РПЖ [35]. E. Riquelme et al. при сравнении микробиома опухоли и кишечника обнаружили, что 25 % микробиома опухоли составляет микробиом кишечника, что указывает на способность микробиома кишечника специфически колонизировать опухоли поджелудочной железы [36]. S. Pushalkar et al. показали способность кишечных бактерий мигрировать в поджелудочную железу, что предполагает возможность прямого взаимодействия между кишечными бактериями и микроокружением поджелудочной железы [37].

Наследственность

По последним данным, 21,2 % случаев РПЖ являются наследственными [38]. У лиц, в семейном анамнезе которых имеется, по крайней мере, два родственника первой степени (мать, отец, брат, сестра) с РПЖ, риск РПЖ повышен почти в 2 раза [39].

Наследование генов с высокопенетрантными мутациями является причиной развития наследственных онкологических синдромов и, соответственно, повышенного риска злокачественных опухолей. В результате изучения семейных форм РПЖ были идентифицированы наследственные синдромы и связанные с ними гены, при которых повышен риск РПЖ. К ним относятся синдром наследственного рака молочной железы и яичников (мутация генов *BRCA1* и *BRCA2*), герминогенная мутация *PALB2*, семейная атипичная множественная меланома (мутация гена *CDKN2A*), синдром Пейтца–Егерса (мутация гена *STK11*), наследственный панкреатит (ген *PRSS1*), синдром Ли–Фраумени (мутации *TP53*), семейный аденоматозный полипоз (АРС), атаксии–телеангиоэктазии (АТМ), синдром Линча (в основном мутации в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* и *PMS2*). Риск развития РПЖ у пациентов с такими синдромами колеблется от 2 (синдром наследственного рака молочной железы и яичников) до 132 (синдром Пейтца–Егерса) [40].

Герминогенные мутации некоторых генов (*PALLD*, *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *FANCC*, *FANCG*, *ATM*, *CDKN2A* и *CHEK2*) выявлены у 15–20 % пациентов с наследственной формой РПЖ. У остальных 80–85 % пациентов наследственный РПЖ определялся наличием 2 и более родственников первой степени родства или 3 и более родственни-

ков независимо от степени родства по одной линии семьи [38, 41]. Риск семейного РПЖ при наличии РПЖ по крайней мере у одного родственника первой степени родства возрастает в 2,3 раза, при наличии РПЖ у 2 родственников первой степени родства – в 6 раз, у 3 родственников – в 32 раза.

Генетические наследуемые мутации встречаются не только у пациентов с семейными формами РПЖ, но и у пациентов со спорадическим РПЖ. Так, в исследовании 306 пациентов с РПЖ у 14 выявлены мутации в *BRCA1* или *BRCA2*, в то время как только у 2 из них в анамнезе был семейный рак [42]. Мутации генов *CDKN2A*, *BRCA2*, *MLH1*, *TP53* и *STK11* могут быть как герминогенными, так и соматическими, и, согласно гипотезе «двух ударов» Кнудсона (two-hit hypothesis), эти гены, вероятно, являются наиболее значимыми в развитии РПЖ [43]. Скорее всего, РПЖ является заболеванием с комбинацией наследственных и соматических мутаций.

Однонуклеотидный полиморфизм последовательностей (single nucleotide polymorphism-SNP)

Для идентификации распространенных герминогенных вариантов низкого риска, а именно однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), проводятся полногеномные исследования (Genome Wide Association Study (GWAS)) наследственного генома, которые без предварительной гипотезы с помощью микрочипов способны картировать многочисленный набор генов у большого числа пациентов. Риск развития рака, связанный с этим типом полиморфизма, невысок (не более 1,5), и доля РПЖ, связанная с определенным вариантом полиморфизма, зависит от частоты встречаемости этого варианта среди населения. Полногеномные исследования РПЖ были выполнены Консорциумом по изучению рака поджелудочной железы (PanScan) и Консорциумом по борьбе с раком поджелудочной железы (PanC4) с целью идентификации маркеров предрасположенности.

Первое полногеномное исследование РПЖ (PanScan I) было двухэтапным, включавшим 1896 случаев РПЖ и 1939 контролей, а также 2457 случаев и 2654 контроля на стадии репликации [44]. В результате идентифицирован SNP высокого риска (rs505922) на хромосоме 9q34.2 (ОР 1,20; 95 % ДИ 1,12–1,28), который был расположен в первом интроне гена у обладателей группы крови АВО. Исследователи установили, что Т/Т генотип SNP rs505922 (0 группа крови) является протективным фактором от РПЖ. Wolpin et al. (2010) на базе данных PanScan I показали, что у лиц с группами крови А был повышенный риск РПЖ по сравнению с лицами нулевой группы крови (ОР 1,38, 95 % ДИ 1,18–1,62), АВ (ОР 1,47, 95 % ДИ 1,07–2,02) и В (ОР 1,53, 95 % ДИ 1,21–1,92) [45]. Несмотря на то, что ассоциация этого локуса с РПЖ была

неоднократно воспроизведена в последующих исследованиях в европейских и азиатских популяциях, механизм влияния группы крови на риск РПЖ остается неясен.

Согласно КATALOGу GWAS, 32 локуса повышают риск развития РПЖ у европейского населения [46]. Кроме того, были выполнены два полногеномных исследования среди японского и китайского населения, результаты которых установили еще 8 локусов предрасположенности к РПЖ среди азиатской популяции.

Результаты полногеномных исследований расширили понимание процесса канцерогенеза РПЖ. Например, некоторые из установленных SNP, повышающих риск РПЖ, находятся в генах, участвующих в развитии и дифференцировке экзокринной поджелудочной железы. Так, 1q32.1/NR5A2 (rs3790844, OR 0,77, $p=2,5 \times 10^{-10}$) и 13q12.2/PDX1 (rs9581943, OR 1,15 $p=2,4 \times 10^{-9}$) являются регуляторами транскрипции, играющими главную роль в развитии поджелудочной железы и экспрессии ацинарных генов, ген 13q22.1/KLF5 (rs9543325, OR 1,26, $p=3,27 \times 10^{-11}$) регулирует клеточный цикл и трансформацию клетки, а ген 12q24.31/HNF1A (rs1182933, OR 1,12, $p=1,1 \times 10^{-6}$ и rs7310409, OR 1,11, $p=6,3 \times 10^{-7}$) регулирует клеточный цикл и апоптоз клеток и является геном-супрессором в канцерогенезе РПЖ [47].

Последний метаанализ данных, включающий 36 360 больных РПЖ и 54 752 контрольных лица, выявил статистически достоверную связь между TP53 rs9895829 (OR 1,23, 95 % ДИ 1,14–1,33), VDR rs2228570 (OR 1,98, 95 % ДИ 1,50–2,61) и CTLA-4 rs231775 (OR 0,33, 95 % ДИ 0,22–0,49) и РПЖ [48].

Эпигенетические изменения при РПЖ

Установлено, что полиморфизм SNPs, выявленных в полногеномных исследованиях, часто не затрагивает изменения непосредственно в генах, а встречается в интронах или межгенных областях генома и влияет на эпигенетическую активность. На риск РПЖ влияют три отдельных взаимоусиливающих эпигенетических изменения: метилирование ДНК; дерегуляция уровня микроРНК; посттрансляционная модификация гистонов и ремоделирование хроматина.

Гиперметилирование приводит к повышению активности онкогенов или потере функции в генах-супрессорах опухоли и генах репарации ДНК. S.D. Henriksen et al. (2017) идентифицирована панель гиперметилированных генов (*BMP3*, *RASSF1A*, *BNC1*, *MESTv2*, *TFPI2*, *APC*, *SFRP1* и *SFRP2*), которые значительно чаще встречаются при РПЖ по сравнению с доброкачественными опухолями и панкреатитом ($p<0,001$). В исследовании было установлено, что гиперметилированные внеклеточные ДНК в плазме крови обнаруживаются на всех стадиях РПЖ, однако пациенты с IV стадией

отличаются значимо повышенным количеством гиперметилированных генов во внеклеточной ДНК по сравнению с I–III стадиями. Среднее количество гиперметилированных генов у больных с I, II и III стадией заболевания было практически одинаковым (ОР 7,09, 95 % ДИ 5,51–8,66; ОР 7,00, 95 % ДИ 5,93–8,07 и ОР 6,77, 95 % ДИ 5,08–8,46, соответственно), в то время как у больных с IV стадией РПЖ количество гиперметилированных генов возрастало (ОР 10,24; 95 % ДИ 8,88–11,60) [49].

За последние десятилетия проведено большое количество исследований, посвященных роли малых, не кодирующих белок молекул РНК (микроРНК) в канцерогенезе РПЖ. Семейство генов микроРНК составляет 3 % от всего генома человека, но регулирует экспрессию 20–30 % всех генов, которые играют роль в регуляции онкогенеза, апоптозе клеток, их пролиферации, инвазии, эпителиально-мезенхимальном переходе, метастазировании и химиорезистентности. Исследователи определили 95 микроРНК, экспрессия которых изменяется при РПЖ. Так, определение профиля экспрессии микроРНК установило, что уровни miRNA-10b, miRNA-21, miRNA-30c, miRNA-181a и miRNA-17-5p были значительно выше у больных РПЖ по сравнению с группой контрольных лиц. В то же время низкий уровень miRNA-155 и miRNA-196a и miRNA-let7a был значительно ниже у пациентов РПЖ по сравнению с контрольной группой [50].

Модификация гистонов с помощью ферментов изменяет структуру хроматина и его функции, а также влияет на контроль за репликацией ДНК, ее репарацией и транскрипцией. Потеря триметилирования лизина в позиции 9 на гистоне 3 (H3K9) увеличивает вероятность метастазирования РПЖ, а триметилирование лизина 27 (H3K27me3) было связано с плохим прогнозом у пациентов с РПЖ. Триметилирование лизина в позиции 4 гистона 3 (H3K4me3) ассоциировано с прогрессированием РПЖ [51]. Повышенная активность гистондеацетилаз часто встречается при РПЖ и может привести к снижению модификаций ацетилирования гистонов, что, в свою очередь, приводит к репрессии генов-супрессоров p27 и p53. Кроме того, ферменты, модифицирующие гистоны, действуют только на одну или несколько гистоновых меток, что делает их идеальными мишенями для таргетной терапии.

Соматические мутации при РПЖ

Накопление мутаций ключевых генов приводит к злокачественной трансформации эпителия поджелудочной железы. С генетической точки зрения РПЖ представляет собой полигенное заболевание, при котором ряд генов изменяется с помощью различных механизмов, включая точечные мутации, хромосомные aberrации и эпигенетические ме-

ханизмы. Наиболее часто мутируют четыре гена, также называемые «генетические горные вершины РПЖ»: онкоген *KRAS* и гены-супрессоры опухолей *TP53*, *CDKN2A* и *SMAD4* [51]. Мутации этих генов отмечены еще на этапах предопухолевых поражений поджелудочной железы, к которым относятся внутриэпителиальные неоплазии (PanIN), внутрипротоковые сосочковые муцинозные неоплазии (IPMN) и муцинозные кистозные опухоли. Большинство РПЖ развивается из PanIN, микроскопического внутриэпителиального повреждения, которое обнаруживается в поджелудочной железе при инвазивном раке в 80 % случаев и классифицируется в зависимости от степени дисплазии от низкой (PanIN 1) до высокой степени (PanIN 3).

В зависимости от частоты соматические мутации при РПЖ можно подразделить на часто и редко встречающиеся. К часто встречающимся мутациям относится мутация драйверных генов (driver-gene) РПЖ. Наиболее часто мутирующим геном при РПЖ (>90 % случаев) является *KRAS*, онкоген, локализованный на коротком плече 12-й хромосомы (12p12.1). Он стимулирует некоторые внутриклеточные сигнальные пути, такие как MAPK и PI3K, контролирующие пролиферацию, метаболизм, миграцию и апоптоз клеток. Примечательно, что до сих пор попытки ингибировать активность мутантного *KRAS*-онкопротеина были безуспешными, что, возможно, и является одной из важных причин высокой смертности при РПЖ. Совсем недавно появились новые данные о *KRAS* (G12C)-селективных ингибиторах, что, возможно, улучшит перспективу лечения этих опухолей. Мутации *KRAS* являются иницирующим генетическим событием для РПЖ, т. к. они обнаруживаются на самых ранних этапах предопухолевых поражений, таких как PanIN и IPMN, с низкой степенью дисплазии [52].

CDKN2A является геном-супрессором опухоли, расположенным на хромосоме 9 (9p21), и его инактивация отмечается в 95 % случаев РПЖ. p16, белок, кодируемый этим геном, регулирует цикл клетки путем активации белка ретинобластомы. Изменение этого сигнального пути способствует неконтролируемому росту клеток и прогрессированию опухоли. Мутации *CDKN2A* представляют собой более позднее, следующее за мутацией *KRAS*, событие в онкогенезе РПЖ [52].

Ген-супрессор опухолевого роста *TP53* находится на хромосоме 17p13.1 и мутирует от 50–60 до 80 % случаев РПЖ [52]. Этот ген кодирует p53, важнейший белок, который контролирует рост клеток, обмен веществ, старение, репарацию ДНК и апоптоз в ответ на различные типы клеточных и внеклеточных процессов, таких как гипоксия и повреждение ДНК. Подобно мутациям *KRAS*, изменения *TP53* в настоящее время считаются «неубиваемыми» с терапевтической точки зрения, что является еще одним объяснением высокой

смертности при РПЖ. Мутации *TP53* можно классифицировать как позднее событие в канцерогенезе РПЖ: они были обнаружены в PanIN и IPMN с выраженной дисплазией или только в инфильтрирующем компоненте РПЖ.

Изменения гена-супрессора опухоли *SMAD4*, расположенного на хромосоме 18q21, встречаются в 30–60 % случаях РПЖ [52]. Этот ген инактивируется гомозиготной делецией или внутригенными мутациями, сопровождающимися потерей второго аллеля. Белок, кодируемый *SMAD4*, является фактором сигнального пути трансформирующего фактора роста- β (TGF- β). Мутации *SMAD4* и последующие нарушения этого пути приводят к пролиферативному эффекту и активации процесса эпителиально-мезенхимального перехода. При этом опухолевые клетки теряют свои эпителиальные свойства и приобретают «мезенхимальный» фенотип, который необходим для сосудистой инвазии и общего метастазирования. Показано, что мутации *SMAD4* увеличивают способность клеток РПЖ к колонизации в отдаленных органах. Мутации этого гена встречаются при метастатическом, и обычно отсутствуют при локализованном РПЖ. Мутации *SMAD4* также можно отнести к поздним событиям в онкогенезе РПЖ. Таким образом, по мере прогрессирования предопухолевого повреждения поджелудочной железы происходит постепенное накопление мутаций: от *KRAS* и p16/*CDKN2A* на стадиях PanIN 1 и 2 до мутаций *TP53* и *SMAD4*, которые появляются на стадии PanIN 3 и при инвазивном раке.

Гены в опухолевых клетках РПЖ, мутация которых встречается с меньшей частотой, их называют «генетическими холмами РПЖ» в генетическом ландшафте РПЖ, идентифицируются как «пассажирские» мутации [53]. К ним относятся мутации в генах *AIB1/NCOA*, *ERBB2/HER2/EGFR2*, *AKT2*, *BRAF*, *CCND1*, *RB1* и др. В то же время комбинированный эффект полиморфизма этих генов может быть существенным и сравнимым с влиянием драйвер-генов.

РПЖ является генетически гетерогенным заболеванием. В среднем, в каждой опухоли поджелудочной железы выявляется 63 генных изменения, что усложняет разработку панели маркеров для ранней диагностики и выработку единой тактики лечения.

Мутационные сигнатуры

Существенным недостатком нашего понимания процесса канцерогенеза является отсутствие информации о том, какие именно канцерогенные факторы приводят к тем или иным конкретным мутациям, т. е. образованию мутационных сигнатур. Под этим термином имеется в виду комплекс мутаций, причину которой мы знаем, т. е. мы знаем, что она произошла в результате воздействия конкретного канцерогенного вещества или фактора. Для

изучения мутационных сигнатур злокачественных опухолей, идентификации онкогенных мутаций для ранней диагностики и классификации опухолей в соответствии с паттернами генетических изменений был осуществлен проект «Полногеномный анализ злокачественных опухолей» (проект Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes (PCAWG)). Участниками проекта было проанализировано около 5 млн мутаций 7 042 генома из каталога мутаций с 30 самыми распространенными видами рака [54]. Этот анализ позволил выявить более 20 мутационных сигнатур.

Для РПЖ было идентифицировано 6 мутационных сигнатур – 1В, 2, 3, 5, 6 и 13. Сигнатура 1В встречается в большинстве видов рака и коррелирует с возрастом пациентов, т. е. с большой долей вероятности, появление этой сигнатуры – следствие старения организма. Сигнатура 2 может быть результатом аномальной активности ферментов, которые модифицируют ДНК – семейства АРОВЕС. Однако причина экстремальной активации этого мутационного процесса при РПЖ неизвестна. Сигнатура 13 часто встречается в образцах, в которых присутствует сигнатура 2, и, по-видимому, также связана с активностью ферментов семейства АРОВЕС. Сигнатура 3 является результатом дефектов репарации ДНК из-за мутаций в генах-супрессорах *BRCA 1* и 2. Наличие сигнатуры 3 было тесно связано с мутациями *BRCA1* и *BRCA2* при РПЖ. Этиология сигнатуры 5 до сих пор неизвестна. И наконец, сигнатура 6 ассоциирована с нарушениями в поддержании стабильности ДНК и ее дефектного восстановления. Кроме того, отдельные регионы генома содержат множество мутаций, и это явление, которое исследователи называли категис (kataegis), присутствует почти во всех видах рака, в т. ч. при РПЖ. Дополненные данные о мутационных сигнатурах опубликованы в Каталоге соматических мутаций при раке, COSMIC, доступном по адресу: <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/signatures>.

Таким образом, благодаря новым биоинженерным технологиям ученые приблизились к пониманию канцерогенеза РПЖ. Однако, несмотря на прорыв в генной биоинженерии, проблемы возникновения РПЖ и его резистентность к лечению остаются открытыми. Для разрешения в т. ч. и этих

задач с 2017 г. стартовал новый грандиозный проект GRAND CHALLENGE – “Mutograph”, который объединил ученых из 50 научных и медицинских центров со всех континентов мира. Российская часть исследования выполняется в отделе анализа эпидемиологии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина».

Первичная профилактика и скрининг РПЖ

Единственной действенной признанной мерой по предупреждению РПЖ является первичная профилактика, направленная на известные этиологические факторы: отказ от курения и чрезмерного потребления алкоголя, профилактика избыточного веса и ожирения, повышение физической активности, сокращение потребления переработанных мясных продуктов и красного мяса и увеличение потребления фруктов и овощей. Кроме того, необходим регулярный контроль за состоянием здоровья для выявления диабета и панкреатита на ранних стадиях и их своевременное лечение. Отказ от курения – наиболее эффективная мера предупреждения РПЖ и многих других форм рака, ассоциированных с курением. Методы отказа от курения должны включать психологическое консультирование, лечение никотиновой зависимости с применением никотинзаместительной терапии (НЗТ), а также возможный переход от традиционных сигарет к употреблению альтернативных средств доставки никотина, включая электронные сигареты и электронные системы нагревания табака.

Проведение скрининга РПЖ в общей популяции не рекомендуется, т. к. его эффективность не доказана и нет надежных неинвазивных методов скрининга с высокой специфичностью и чувствительностью. Международным Консорциумом по скринингу рака поджелудочной железы рассматривается целесообразность проведения скрининга в группах высокого риска [55]. Однако единого мнения по стратегии его проведения среди экспертов нет. Остаются открытыми вопросы о возрасте начала скрининга, определении групп лиц для генетического тестирования, набора генов для исследования, периодичности скрининга и выбора инструментальных методов исследования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Cancer Today*: Data visualization tool for exploring the global cancer burden in 2020 [Internet]. 2020 International Agency for Research on Cancer, Lyon France. [cited 2021 June 26]. URL: <http://geo.iarc.fr/today/home>.
2. Rahib L., Smith B.D., Aizenberg R., Rosenzweig A.B., Fleshman J.M., Matrisian L.M. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res.* 2014; 74(11): 2913–21. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0155.
3. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020; 70(1): 7–30. doi: 10.3322/caac.21590.
4. National Cancer Institute SEER Stat Fact Sheets: Pancreas Cancer [Internet] [cited 2007 Feb 21]. URL: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>.

5. GBD 2017 Pancreatic Cancer Collaborators. The global, regional, and national burden of pancreatic cancer and its attributable risk factors in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2019; 4(12): 934–47. doi: 10.1016/S2468-1253(19)30347-4.
6. Capasso M., Franceschi M., Rodriguez-Castro K.I., Crafa P., Cambiè G., Miraglia C., Barchi A., Nounvenne A., Leandro G., Meschi T., De' Angelis G.L., Di Mario F. Epidemiology and risk factors of pancreatic cancer. *Acta Biomed.* 2018; 89(9): 141–6. doi: 10.23750/abm.v89i9.S.7923.
7. Windarti N., Hlaing S.W., Kakinaka M. Obesity Kuznets curve: international evidence. *Public Health.* 2019; 169: 26–35. doi: 10.1016/j.puhe.2019.01.004.
8. *Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность)*. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского,

- А.О. Шахзадовой. М., 2019, 250 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Eds. A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2019, 250 p. (in Russian)].
9. Заридзе Д.Г., Каприн А.Д., Стилиди И.С. Динамика заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в России. Вопросы онкологии. 2018; 64(5): 578–91. [Zaridze D.G., Kaprin A.D., Stilidi I.S. Dynamics of morbidity and mortality from malignant neoplasms in Russia. Problems in Oncology. 2018; 64(5): 578–91. (In Russian)]. doi: 10.37469/0507-3758-2018-64-5-578-591.
 10. Баланова Ю.А., Шальнова С.А., Деев А.Д., Имаева А.Э., Концевая А.В., Муромцева Г.А., Капустина А.В., Евстифеева С.Е., Драккина О.М., Бойцов С.А., Гомыранова Н.В., Жернакова Ю.В., Константинов В.В., Мамедов М.Н., Метельская В.А., Оганов Р.Г., Суворова Е.И., Худяков М.Б., Оценоква Е.В., Баранова Е.И. Ожирение в российской популяции – распространенность и ассоциации с факторами риска хронических неинфекционных заболеваний. Российский кардиологический журнал. 2018; 23(6): 123–30. [Balanova Yu.A., Shal'nova S.A., Deev A.D., Imaeva A.E., Kontsevaya A.V., Muromtseva G.A., Kapustina A.V., Evstifeeva S.E., Drapkina O.M., Boitsov S.A., Gomyranova N.V., Zhernakova Yu.V., Konstantinov V.V., Mamedov M.N., Metel'skaya V.A., Oganov R.G., Suvorova E.I., Khudyakov M.B., Oshchepkova E.V., Baranova E.I. Obesity in Russian population — prevalence and association with the non-communicable diseases risk factors. Russ J Cardiol. 2018; 23(6): 123–30. (in Russian)]. doi: 10.15829/1560-4071-2018-6-123-130.
 11. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Tobacco smoke and involuntary smoking. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2004; 83: 1–1438.
 12. Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels A.B. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2009; 6(12): 699–708. doi: 10.1038/nrgastro.2009.177.
 13. Ben Q.W., Liu J., Sun Y.W., Wang L.F., Zou D.W., Yuan Y.Z. Cigarette Smoking and Mortality in Patients With Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. Pancreas. 2019; 48(8): 985–95. doi: 10.1097/MPA.0000000000001383.
 14. Lugo A., Peveri G., Bosetti C., Bagnardi V., Crippa A., Orsini N., Rota M., Gallus S. Strong excess risk of pancreatic cancer for low frequency and duration of cigarette smoking: A comprehensive review and meta-analysis. Eur J Cancer. 2018; 104: 117–26. doi: 10.1016/j.ejca.2018.09.007.
 15. Vanella G., Archibugi L., Stigliano S., Capurso G. Alcohol and gastrointestinal cancers. Curr Opin Gastroenterol. 2019; 35(2): 107–13. doi: 10.1097/MOG.0000000000000502.
 16. Rahman F., Cotterchio M., Cleary S.P., Gallinger S. Association between alcohol consumption and pancreatic cancer risk: a case-control study. PLoS One. 2015; 10(4). doi: 10.1371/journal.pone.0124489.
 17. Lauby-Secretan B., Scoccianti C., Loomis D., Grosse Y., Bianchini F., Straif K.; International Agency for Research on Cancer Handbook Working Group. Body Fatness and Cancer—Viewpoint of the IARC Working Group. N Engl J Med. 2016; 375(8): 794–8. doi: 10.1056/NEJMsrl606602.
 18. Lu Y., Gentiluomo M., Lorenzo-Bermejo J., Morelli L., Obazee O., Campa D., Canzian F. Mendelian randomisation study of the effects of known and putative risk factors on pancreatic cancer. J Med Genet. 2020; 57(12): 820–8. doi: 10.1136/jmedgenet-2019-106200.
 19. Zohar L., Rottenberg Y., Twig G., Katz L., Leiba A., Derazne E., Tzur D., Eizenstein S., Keinan-Boker L., Afek A., Kark J.D. Adolescent overweight and obesity and the risk for pancreatic cancer among men and women: a nationwide study of 1.79 million Israeli adolescents. Cancer. 2019; 125(1): 118–26. doi: 10.1002/cncr.31764.
 20. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective. [Internet]. World Cancer Research Fund & American Institute for Cancer Research, Third Expert Report. [cited 2021 July 27]. URL: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/pancreatic-cancer/>.
 21. Larsson S.C., Wolk A. Red and processed meat consumption and risk of pancreatic cancer: meta-analysis of prospective studies. Br J Cancer. 2012; 106(3): 603–7. doi: 10.1038/bjc.2011.585.
 22. Zhao Z., Yin Z., Pu Z., Zhao Q. Association Between Consumption of Red and Processed Meat and Pancreatic Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2017; 15(4): 486–93. doi: 10.1016/j.cgh.2016.09.143.
 23. Beaney A.J., Banim P.J.R., Luben R., Lentjes M.A.H., Khaw K.T., Hart A.R. Higher meat intake is positively associated with higher risk of developing pancreatic cancer in an age-dependent manner and are modified by plasma antioxidants: a prospective cohort study (EPIC-Norfolk) using data from food diaries. Pancreas. 2017; 46(5): 672–8. doi: 10.1097/MPA.0000000000000819.
 24. Paluszkiwicz P., Smolińska K., Dębińska I., Turski W.A. Main dietary compounds and pancreatic cancer risk. The quantitative analysis of case-control and cohort studies. Cancer Epidemiol. 2012; 36(1): 60–7. doi: 10.1016/j.canep.2011.05.004.
 25. Appleby P.N., Crowe F.L., Bradbury K.E., Travis R.C., Key T.J. Mortality in vegetarians and comparable nonvegetarians in the United Kingdom. Am J Clin Nutr. 2016; 103(1): 218–30. doi: 10.3945/ajcn.115.119461.
 26. Schulpen M., Peeters P.H., van den Brandt P.A. Mediterranean diet adherence and risk of pancreatic cancer: A pooled analysis of two Dutch cohorts. Int J Cancer. 2019; 144(7): 1550–60. doi: 10.1002/ijc.31872.
 27. Farris M.S., Mosli M.H., McFadden A.A., Friedenreich C.M., Brenner D.R. The Association between Leisure Time Physical Activity and Pancreatic Cancer Risk in Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2015; 24(10): 1462–73. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0301.
 28. Wu L., Zheng W., Xiang Y.B., Gao Y.T., Li H.L., Cai H., Shu X.O. Physical Activity and Pancreatic Cancer Risk among Urban Chinese: Results from Two Prospective Cohort Studies. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2018; 27(4): 479–87. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-17-0895.
 29. Goto A., Yamaji T., Sawada N., Momozawa Y., Kamatani Y., Kubo M., Shimazu T., Inoue M., Noda M., Tsugane S., Iwasaki M. Diabetes and cancer risk: A Mendelian randomization study. Int J Cancer. 2020; 146(3): 712–9. doi: 10.1002/ijc.32310.
 30. Bosetti C., Rosato V., Li D., Silverman D., Petersen G.M., Bracci P.M., Neale R.E., Muscat J., Anderson K., Gallinger S., Olson S.H., Miller A.B., Bas Bueno-de-Mesquita H., Scelo G., Janout V., Holcatova I., Lagiou P., Serraino D., Lucenteforte E., Fabianova E., Baghurst P.A., Zatonski W., Foretova L., Fontham E., Bamlet W.R., Holly E.A., Negri E., Hassan M., Prizment A., Cotterchio M., Cleary S., Kurtz R.C., Maisonneuve P., Trichopoulos D., Polesel J., Duell E.J., Boffetta P., La Vecchia C., Ghadirian P. Diabetes, antidiabetic medications, and pancreatic cancer risk: An analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium. Ann. Oncol. 2014; 25(10): 2065–72. doi: 10.1093/annonc/mdl276.
 31. Kirkegard J., Mortensen F.V., Cronin-Fenton D. Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. Am J Gastroenterol. 2017; 112(9): 1366–72. doi: 10.1038/ajg.2017.218.
 32. Syed A., Babich O., Thakkar P., Patel A., Abdul-Baki H., Farah K., Morrissey S., Mitre M., Dhawan M., Kochhar G., Kulkarni A., Thakkar S. Defining Pancreatitis as a Risk Factor for Pancreatic Cancer: The Role, Incidence, and Timeline of Development. Pancreas. 2019; 48(8): 1098–1101. doi: 10.1097/MPA.0000000000001367.
 33. Gerlovin H., Michaud D.S., Cozier Y.C., Palmer J.R. Oral Health in Relation to Pancreatic Cancer Risk in African American Women. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2019; 28(4): 675–9. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-18-1053.
 34. Zhang W., Zhang K., Zhang P., Zheng J., Min C., Li X. Research Progress of Pancreas-Related Microorganisms and Pancreatic Cancer. Front Oncol. 2021; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.604531.
 35. Thomas R.M., Jobin C. Microbiota in pancreatic health and disease: the next frontier in microbiome research. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2020; 17(1): 53–64. doi: 10.1038/s41575-019-0242-7.
 36. Riquelme E., Zhang Y., Zhang L., Montiel M., Zoltan M., Dong W., Quesada P., Sahin I., Chandra V., San Lucas A., Scheet P., Xu H., Hanash S.M., Feng L., Burks J.K., Do K.A., Peterson C.B., Nejm D., Tzeng C.D., Kim M.P., Sears C.L., Ajami N., Petrosino J., Weed L.D., Maitra A., Straussman R., Katz M., White J.R., Jenq R., Wargo J., McAllister F. Tumor Microbiome Diversity and Composition Influence Pancreatic Cancer Outcomes. Cell. 2019; 178(4): 795–806. doi: 10.1016/j.cell.2019.07.008.
 37. Pushalkar S., Hundeyin M., Daley D., Zambirinis C.P., Kurz E., Mishra A., Mohan N., Aykut B., Usyk M., Torres L.E., Werba G., Zhang K., Guo J., Li Q., Akkad N., Lall S., Wadowski B., Gutierrez J., Kochen Rossi J.A., Herzog J.W., Diskin B., Torres-Hernandez A., Leinwand J., Wang W., Taunk P.S., Savadkar S., Janal M., Saxena A., Li X., Cohen D., Sartor R.B., Saxena D., Miller G. The Pancreatic Cancer Microbiome Promotes Oncogenesis by Induction of Innate and Adaptive Immune Suppression. Cancer Discov. 2018; 8(4): 403–16. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1134.
 38. Chen F., Childs E.J., Mocci E., Bracci P., Gallinger S., Li D., Neale R.E., Olson S.H., Scelo G., Bamlet W.R., Blackford A.L., Borges M., Brennan P., Chaffee K.G., Duggal P., Hassan M.J., Holly E.A., Hung R.J., Goggins M.G., Kurtz R.C., Oberg A.L., Orlov I., Yu H., Petersen G.M., Risch H.A., Klein A.P. Analysis of Heritability and Genetic Architecture of Pancreatic Cancer: A PanC4 Study. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2019; 28(7): 1238–45. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-18-1235.
 39. Greer J.B., Whitcomb D.C., Brand R.E. Genetic predisposition to pancreatic cancer: a brief review. Am J Gastroenterol. 2007; 102(11): 2564–9. doi: 10.1111/j.1572-0241.2007.01475.x.
 40. Syngal S., Brand R.E., Church J.M., Giardiello F.M., Hampel H.L., Burt R.W.; American College of Gastroenterology. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. Am J Gastroenterol. 2015; 110(2): 223–62. doi: 10.1038/ajg.2014.435.
 41. Stoffel E.M., McKernin S.E., Khorana A.A. Evaluating Susceptibility to Pancreatic Cancer: ASCO Clinical Practice Provisional Clinical Opinion Summary. J Oncol Pract. 2019; 15(2): 108–11. doi: 10.1200/JOP.18.00629.

42. Holter S, Borgida A, Dodd A, Grant R, Semotiuk K, Hedley D, Dhani N, Narod S, Akbari M, Moore M, Gallinger S. Germline BRCA Mutations in a Large Clinic-Based Cohort of Patients With Pancreatic Adenocarcinoma. *J Clin Oncol*. 2015; 33(28): 3124–9. doi: 10.1200/JCO.2014.59.7401.
43. Sikdar N, Saha G, Dutta A, Ghosh S, Shrikhande S.V., Banerjee S. Genetic Alterations of Periapillary and Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: An Overview. *Curr Genomics*. 2018; 19(6): 444–63. doi: 10.2174/1389202919666180221160753.
44. Amundadottir L, Kraft P, Stolzenberg-Solomon R.Z., Fuchs C.S., Petersen G.M., Arslan A.A., Bueno-de-Mesquita H.B., Gross M., Helzlsouer K., Jacobs E.J., LaCroix A., Zheng W., Albanes D., Bamlet W., Berg C.D., Ber-rino F., Bingham S., Buring J.E., Bracci P.M., Canzian F., Clavel-Chapelon F., Clipp S., Cotterchio M., de Andrade M., Duell E.J., Fox J.W. Jr, Gallinger S., Gaziano J.M., Giovannucci E.L., Goggins M., González C.A., Hallmans G., Hankinson S.E., Hassan M., Holly E.A., Hunter D.J., Hutchinson A., Jackson R., Jacobs K.B., Jenab M., Kaaks R., Klein A.P., Kooperberg C., Kurtz R.C., Li D., Lynch S.M., Mandelsson M., McWilliams R.R., Mendelsohn J.B., Michaud D.S., Olson S.H., Overvad K., Patel A.V., Peeters P.H., Rajkovic A., Riboli E., Risch H.A., Shu X.O., Thomas G., Tobias G.S., Trichopoulos D., Van Den Eeden S.K., Virtamo J., Wactawski-Wende J., Wolpin B.M., Yu H., Yu K., Zeleniuch-Jacquotte A., Chanock S.J., Hartge P., Hoover R.P. Genome-wide association study identifies variants in the ABO locus associated with susceptibility to pancreatic cancer. *Nat Genet*. 2009; 41(9): 986–90. doi: 10.1038/ng.429.
45. Wolpin B.M., Rizzato C., Kraft P., Kooperberg C., Petersen G.M., Wang Z., Arslan A.A., Beane-Freeman L., Bracci P.M., Buring J., Canzian F., Duell E.J., Gallinger S., Giles G.G., Goodman G.E., Goodman P.J., Jacobs E.J., Kamineni A., Klein A.P., Kolonel L.N., Kulke M.H., Li D., Malats N., Olson S.H., Risch H.A., Sesso H.D., Viswanathan K., White E., Zheng W., Abnet C.C., Albanes D., Andreotti G., Austin M.A., Barfield R., Basso D., Berndt S.I., Boutron-Ruault M.C., Brotzman M., Büchler M.W., Bueno-de-Mesquita H.B., Bugert P., Burdette L., Campa D., Caporaso N.E., Capurso G., Chung C., Cotterchio M., Costello E., Elena J., Funel N., Gaziano J.M., Giese N.A., Giovannucci E.L., Goggins M., Gorman M.J., Gross M., Haiman C.A., Hassan M., Helzlsouer K.J., Henderson B.E., Holly E.A., Hu N., Hunter D.J., Innocenti F., Jenab M., Kaaks R., Key T.J., Khaw K.T., Klein E.A., Kogevinas M., Krogh V., Kupcinskas J., Kurtz R.C., LaCroix A., Landi M.T., Landi S., Le Marchand L., Mambri-ni A., Mannisto S., Milne R.L., Nakamura Y., Oberg A.L., Owzar K., Patel A.V., Peeters P.H., Peters U., Pezzilli R., Piepoli A., Porta M., Real F.X., Riboli E., Rothman N., Scarpa A., Shu X.O., Silverman D.T., Soucek P., Sund M., Talar-Wojnarowska R., Taylor P.R., Theodoropoulos G.E., Thornquist M., Tjønneland A., Tobias G.S., Trichopoulos D., Vodicka P., Wactawski-Wende J., Wentzensen N., Wu C., Yu H., Yu K., Zeleniuch-Jacquotte A., Hoover R., Hartge P., Fuchs C., Chanock S.J., Stolzenberg-Solomon R.S., Amundadottir L.T. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for pancreatic cancer. *Nat Genet*. 2014; 46(9): 994–1000. doi: 10.1038/ng.3052.
46. Buniello A., MacArthur J.A.L., Cerezo M., Harris L.W., Hayhurst J., Malangone C., McMahon A., Morales J., Mountjoy E., Sollis E., Surveges D., Vrousou O., Whetzel P.L., Amodio R., Guillen J.A., Riat H.S., Trevanion S.J., Hall P., Junkins H., Flicke P., Burdett T., Hindorf L.A., Cunningham F., Parkinson H. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Res*. 2019; 47(1): 1005–12. doi: 10.1093/nar/gky1120.
47. Chen F, Roberts N.J., Klein A.P. Inherited Pancreatic Cancer. *Chin Clin Oncol*. 2017; 6(6): 58. doi: 10.21037/cco.2017.12.04.
48. Ye Z.M., Li L.J., Luo M.B., Qing H.Y., Zheng J.H., Zhang C., Lu Y.X., Tang Y.M. A systematic review and network meta-analysis of single nucleotide polymorphisms associated with pancreatic cancer risk. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12(24): 25256–74. doi: 10.18632/aging.104128.
49. Henriksen S.D., Madsen P.H., Larsen A.C., Johansen M.B., Pedersen I.S., Krarup H., Thorlacius-Ussing O. Promoter hypermethylation in plasma-derived cell-free DNA as a prognostic marker for pancreatic adenocarcinoma staging. *Int J Cancer*. 2017; 141(12): 2489–97. doi: 10.1002/ijc.31024.
50. Lai X., Wang M., McElyea S. D., Sherman S., House M., Korc M. A microRNA signature in circulating exosomes is superior to exosomal glypican-1 levels for diagnosing pancreatic cancer. *Cancer Letters*. 2017; 393: 86–93. doi: 10.1016/j.canlet.2017.02.019.
51. Lu C., Paschall A.V., Shi H., Savage N., Waller J.L., Sabbatini M.E., Oberlies N.H., Pearce C., Liu K. The MLL1-H3K4me3 axis-mediated PD-L1 expression and pancreatic cancer immune evasion. *J. Natl. Cancer Inst*. 2017; 109(6). doi: 10.1093/jnci/djw283.
52. Riva G., Pea A., Pilati C., Fiadone G., Lawlor R.T., Scarpa A., Luchini C. Histo-molecular oncogenesis of pancreatic cancer: From pre-cancerous lesions to invasive ductal adenocarcinoma. *World J Gastrointest Oncol*. 2018; 10(10): 317–27. doi: 10.4251/wjgo.v10.i10.317.
53. Pea A., Cheng L., Luchini C. Dissecting the molecular landscape of pancreatic cancer: Towards a precision medicine approach. *Exp Rev Prec Med Drug Develop*. 2019; 4: 113–9. doi: 10.1080/23808993.2019.160413.
54. Alexandrov L.B., Nik-Zainal S., Wedge D.C., Aparicio S.A., Beh-jati S., Biankin A.V., Bignell G.R., Bolli N., Borg A., Borresen-Dale A.L., Boyault S., Burkhardt B., Butler A.P., Caldas C., Davies H.R., Desmedt C., Eils R., Eyfjord J.E., Foekens J.A., Greaves M., Hosoda F., Hutter B., Ilcic T., Imbeaud S., Imielinski M., Jäger N., Jones D.T., Jones D., Knappskog S., Kool M., Lakhani S.R., López-Otin C., Martin S., Munshi N.C., Nakamura H., Northcott P.A., Pajic M., Papaemmanuil E., Paradiso A., Pearson J.V., Puente X.S., Raine K., Ramakrishna M., Richardson A.L., Richter J., Rosenstiel P., Schlessner M., Schumacher T.N., Span P.N., Teague J.W., Totoki Y., Tutt A.N., Valdés-Mas R., van Buuren M.M., van 't Veer L., Vincent-Salomon A., Waddell N., Yates L.R.; Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative; ICGC Breast Cancer Consortium; ICGC MML-Seq Consortium; ICGC PedBrain, Zucman-Rossi J., Futreal P.A., McDermott U., Lichter P., Meyerson M., Grimmond S.M., Siebert R., Campo E., Shibata T., Pfister S.M., Campbell P.J., Stratton M.R. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 2013; 500(7463): 415–21. doi: 10.1038/nature12477.
55. Goggins M., Overbeek K.A., Brand R., Syngal S., Del Chiaro M., Bartsch D.K., Bassi C., Carrato A., Farrell J., Fishman E.K., Fockens P., Gress T.M., van Hooft J.E., Hruban R.H., Kastrinos F., Klein A., Lennon A.M., Lucas A., Park W., Rustgi A., Simeone D., Stoffel E., Vasen H.F.A., Cahen D.L., Canto M.I., Bruno M.; International Cancer of the Pancreas Screening (CAPS) consortium. Management of patients with increased risk for familial pancreatic cancer: updated recommendations from the International Cancer of the Pancreas Screening (CAPS) Consortium. *Gut*. 2020; 69(1): 7–17. doi: 10.1136/gutjnl-2019-319352.

Поступила/Received 27.08.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 28.01.2022

Принята к публикации/Accepted 16.02.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шаньгина Оксана Валентиновна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела клинической эпидемиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4109-7508. ORCID: 0000-0003-2431-068X. Author ID (Scopus): 13204358800. Researcher ID (WOS): E-9068-2019.

Максимович Дмитрий Михайлович, старший научный сотрудник отдела клинической эпидемиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1866-3425. ORCID: 0000-0001-7560-5088.

Заридзе Давид Георгиевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клинической эпидемиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9739-1250. ORCID: 0000-0002-2824-3704. Author ID (Scopus): 7005676681. Researcher ID (WOS): K-5605-2013.

ВКЛАД АВТОРОВ

Шаньгина Оксана Валентиновна: разработка концепции научной работы, анализ современных литературных данных, составление черновика рукописи.

Максимович Дмитрий Михайлович: статистическая обработка.

Заридзе Давид Георгиевич: редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oxana V. Shangina, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Clinical Epidemiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 13204358800. Researcher ID (WOS): E-9068-2019. ORCID: 0000-0003-2431-068X.

Dmitriy M. Maximovich, Senior Researcher, Department of Clinical Epidemiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-7560-5088.

David G. Zaridze, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Clinical Epidemiology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 7005676681. Researcher ID (WOS): K-5605-2013. ORCID: 0000-0002-2824-3704.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Oxana V. Shangina: study conception, literature review, drafting of the manuscript

Dmitriy M. Maximovich: statistical analysis

David G. Zaridze: critical revision for the important intellectual content

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Рябова А.И., Новиков В.А., Чойнзоннов Е.Л., Спирина Л.В., Юнусова Н.В., Пономарева А.А., Тамкович С.Н., Грибова О.В. Роль жидкостной биопсии в диагностике прогрессирования глиобластомы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 104–116. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-104-116

For citation: Ryabova A.I., Novikov V.A., Choynzonov E.L., Spirina L.V., Yunusova N.V., Ponomareva A.A., Tamkovich S.N., Gribova O.V. The role of liquid biopsy in the diagnosis of glioblastoma progression. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 104–116. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-104-116

THE ROLE OF LIQUID BIOPSY IN THE DIAGNOSIS OF GLIOBLASTOMA PROGRESSION

A.I. Ryabova¹, V.A. Novikov^{1,2}, E.L. Choynzonov^{1,2}, L.V. Spirina^{1,2},
N.V. Yunusova^{1,2}, A.A. Ponomareva¹, S.N. Tamkovich^{3,4}, O.V. Gribova¹

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

5, Kooperativny Street, 634009, Tomsk, Russia. E-mail: Bochkarevanv@oncology.tomsk.ru¹

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

2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia²

Laboratory of Molecular Medicine, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine,
Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia³

8, Academician Lavrentiev Ave., 630090, Novosibirsk, Russia³

Department of Clinical Biochemistry, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia⁴

2, Pirogova St., 630090, Novosibirsk, Russia⁴

Abstract

Purpose: to summarize available data on the diagnostic value of various circulating biomarkers for the detection of glioblastoma recurrence. **Material and Methods.** A literature search was conducted using PubMed ExoCarta and SILVA databases. **Results.** Glioblastoma multiforme (GBM) is the most common glioma in adults with an unfavorable prognosis. Treatment of tumor recurrence can improve the survival of patients. Neuroimaging is the standard method of diagnosing brain tumor recurrence. However, a neuroimaging method to clearly distinguish between pseudo progression and tumor progression has not been found to date. Current molecular tumor profiling relies heavily on tissue resection or biopsy. Tissue profiling has several disadvantages in the central nervous system's tumors, including the challenge associated with invasive biopsy, the heterogeneous nature of many malignancies where a small biopsy can under represent the mutational profile. Liquid biopsy is a promising method in diagnosing malignant tumors. Blood collection is a simple, minimally invasive procedure, but cerebrospinal fluid allows tumor markers to be detected more confidently. However, collection of cerebrospinal fluid is a complex and invasive procedure that can be accompanied by serious complications. **Conclusion.** Biological fluid markers such as circulating tumor cells, extracellular vesicles, cell-free DNA and cell-free RNA allow for the detection of GBM, determination of molecular genetic features of cancer during response to therapy, and early detection of GBM recurrence.

Key words: extracellular vesicles, cell-free DNA, cell-free RNA, circulating tumor cells, glioblastoma recurrence, tumor diagnostics

РОЛЬ ЖИДКОСТНОЙ БИОПСИИ В ДИАГНОСТИКЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ГЛИОБЛАСТОМЫ

А.И. Рябова¹, В. А. Новиков^{1,2}, Е.Л. Чойнзонов^{1,2}, Л.В. Спирина^{1,2},
Н.В. Юнусова^{1,2}, А.А. Пономарева¹, С.Н. Тамкович^{3,4}, О.В. Грибова¹

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

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: Bochkarevanv@oncology.tomsk.ru¹

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

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

Лаборатория молекулярной медицины Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия³

Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8³

Кафедра клинической биохимии, ФГБОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия⁴

Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2⁴

Аннотация

Цель исследования – обобщение имеющихся данных о диагностической ценности различных циркулирующих биомаркеров для диагностики рецидива глиобластомы. **Материал и методы.** Проведен биоинформационный поиск в универсальной базе данных PubMed, в базе данных экзосомальных белков, РНК и липидов ExoCarta, в базе данных внеклеточной ДНК, в базе данных внеклеточной ДНК SILVA. **Результаты.** Мультиформная глиобластома (МГБ) – наиболее распространенная глиальная опухоль у взрослых с плачевным прогнозом. Лечение рецидива опухоли может улучшить выживаемость пациентов. Нейровизуализация – стандартный метод диагностики рецидива опухоли головного мозга. Однако методы нейровизуализации, позволяющие четко различать прогрессирование опухоли и связанные с лечением рентгенографические изменения на ранних стадиях, сегодня не найдены. Современное молекулярное профилирование опухоли в значительной степени зависит от резекции ткани или биопсии. Профилирование ткани имеет несколько недостатков при опухолях центральной нервной системы, в т. ч. проблемы, связанные с инвазивной биопсией, неоднородной природой многих злокачественных новообразований, когда небольшая биопсия может недооценивать мутационный профиль. Жидкая биопсия – перспективное направление современной онкологии. Сбор крови – это простая, малоинвазивная процедура, но спинномозговая жидкость позволяет более уверенно обнаруживать опухолевые маркеры, однако получение ее является сложной и инвазивной процедурой, которая может сопровождаться серьезными осложнениями. **Заключение.** Маркеры биологических жидкостей, такие как циркулирующие опухолевые клетки, внеклеточные везикулы, внеклеточная ДНК и внеклеточная РНК, позволяют выявить МГБ, определить молекулярно-генетические особенности рака во время ответа на терапию и обнаружить рецидив МГБ на ранней стадии.

Ключевые слова: внеклеточные везикулы, внеклеточная ДНК, внеклеточная РНК, циркулирующие опухолевые клетки, рецидив глиобластомы, диагностика опухолей.

Introduction

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most frequently diagnosed and aggressive glial brain tumor. It is characterized by rapid progression and poor prognosis. According to the results of the Central Brain Tumor Registry of the United States, the largest population register of tumors of the central nervous system, the overall one-year survival of patients with GBM is about 40 %, and the five-year survival is 5–7 % [1]. Even with the current standard of combined treatment in significant randomized Phase III trials, the median progression-free survival does not exceed 11 months. The overall survival is less than two years [2–4]. Currently, the definite diagnosis is established on histological examination of the biopsy samples. How well a

tumor will respond to treatment, remain in remission, or recur after treatment depends on the specific tumor type and its molecular makeup [5]. The significant advances in brain imaging have resulted in more detailed anatomic and functional localization of gliomas concerning the eloquent cortex and improvements in microsurgical techniques, and enhanced adjuvant stereotactic radiation delivery. But a recurrent tumor remains a huge issue in modern oncology [6].

The adequate treatment of recurrent GBM can prolong patients' survival and improve their quality of life [7]. Contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI), widely used during GBM patients' follow-up, has no 100 % sensitivity and specificity. A contrast accumulation in the brain during MRI after radiation

therapy may indicate the recurrent tumor and the phenomenon of “pseudoprogression” or radiation-induced necrosis. Pseudoprogression occurs in 10–30 % of patients with GBM, usually during the first 12 weeks after adjuvant chemoradiotherapy (CRT) [8]. The opposite phenomenon, namely “pseudo-response”, is characterized by a rapid decrease in contrast enhancement accumulation and stabilization of the blood-brain barrier under the influence of antiangiogenic therapy. It does not indicate an exact tumor response to treatment [8, 9]. Perfusion MRI and nuclear medicine techniques can distinguish between the actively growing tumor and post-radiation necrosis [10]; however, these techniques are not available in all clinics and cannot always detect a recurrent tumor in the early stages [11, 12]. Biopsy verification of GBM recurrence is not performed due to the highly invasive nature of the procedure and complications that may worsen the patient’s condition. When it is impossible to distinguish pseudo-progression from GBM progression, treatment decisions are usually delayed until imaging techniques clarify tumor behavior [13]. Delayed treatment often leads to tumor growth, an increase in the neurological deficit, and poor prognosis.

DNA-based GBM markers include *IDH1*, *IDH2*, *MGMT*, *EGFR* mutations and 1p/19q co-deletion [14]. Besides, GBM secrete specific tumor markers (soluble proteins, circulating nucleic acids) both independently and as part of circulating tumor cells (CTCs) and extracellular vesicles (EVs) into the cerebrospinal fluid (CSF). Then these biomarkers can cross the intact blood-brain barrier [15, 16], and it is possible to detect them in the blood of GBM patients. By this reason the potential of the so-called “liquid biopsy” in the diagnosis and treatment of glial tumors, including GBM, is being actively investigated [17–19]. The advantage of liquid biopsy is that it reflects the entire tumor’s genetic diversity and allows repeated studies without the risk of serious complications. The main circulating biomarkers found in biological fluids in GBM patients are CTCs, EVs, circulating coding and non-coding nucleic acids. Currently, GBM does not have a reliable biomarker in serum or CSF. There is no agreed guidance on using single or multiple GBM biomarkers assessments in a clinical setting [19–21]. Accordingly, literature data were analyzed regarding the role of CTCs, EVs, and cell-free nucleic acids secreted into the CSF and blood in the diagnosis of recurrent glioblastoma.

Circulating tumor cells

The importance of detecting of CTCs in CSF and peripheral blood to assess tumor progression and response to therapy has been shown in numerous studies in malignant tumors of various localizations [22–24]. Since extracranial metastases are observed only in 0.2–0.5 % of GBM patients [25, 26], for a long time, it was believed that a unique microenvironment in the brain prevented the migration of glioma cells into the

bloodstream [26]. The first attempt to detect CTCs in blood using real time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assay for the detection of mRNA encoding glial fibrillary acidic protein (GFAP) in GBM patients was unsuccessful [27]. The following attempts were made only a decade later. In 2014, in several studies, tumor cells were found in the peripheral blood of GBM patients. Müller and colleagues (2014) isolated CTCs from blood in GBM patients using a fluorescence immunocytochemical analysis with an anti-GFAP antibody as a putative marker for CTCs of glioblastoma. Only 29 out of 141 (20.6 %) patients were found to have 1 to 22 GFAP-positive cells that contained GBM-associated genomic aberrations [25].

For CTCs detection in blood, Sullivan et al. (2014) used CTC isolation protocol with staining with a combination of antibodies to CD14, CD16, CD45, and nuclear staining with DAPI. The number of CTCs detected in 12 patients with a progressive brain tumor was higher (median 11.8 cells per ml) than in 21 patients with stable disease (median 2.1 cells per ml) ($p < 0.001$). Single CTCs isolated from GBM patients demonstrated enrichment for mesenchymal over neural differentiation markers compared with primary GBMs [28].

MacArthur et al. (2014) developed a CTC detection method in the blood samples of GBM patients using an adenoviral-based probe to telomerase reverse transcriptase. The CTC status was confirmed by a FISH study of GFAP and nestin expressions, epidermal growth factor receptor (EGFR) amplification, and the absence of epithelial cell adhesion marker. CTCs were detected in 8 out of 11 (72.7 %) patients with high-grade glioma before starting radiation therapy; the average value was 8.8 cells in ml of blood. The CTC’s diagnostic significance for the early differential diagnosis of progression and pseudoprogression was shown in two cases [11].

Gao et al. (2016) used the determination of chromosome 8 aneuploidy using CEP8-FISH method to detect CTCs. The study included 31 patients with primary WHO grade II–IV gliomas including 11 patients with glioblastoma. The incidence of CTCs in the peripheral blood of patients with grade II–IV glioma was 83 %, 63 %, and 82 %, respectively, with no statistically significant differences ($p = 0.525$). All detected CTCs showed five or more copies of chromosome 8, with the number of CTCs varied from 1 to 10 per 7.5 ml of blood. In five patients with a new growing lesion on the first MRI scan after radiation therapy, the possibility of determining the quantity of CTCs in the peripheral blood for early differential diagnosis of a tumor and radiation necrosis was confirmed [12].

The detection of CTCs is a promising approach to the GBM diagnosis since reliable gliomas markers have not yet been established. The use of various techniques made it possible to isolate CTCs from the blood of GBM patients in 82 % of cases. A clear relationship

Table/Таблица

miRNA expression levels as biomarkers of treatment response in GBM patients
Уровни экспрессии микроРНК как биомаркеры ответа на лечение у пациентов с глиобластомой

miRNAs	Sample information/ Информация об образцах	Treatment modality/ Лечение	Level after treatment/ Уровень маркера после лечения	References/ Ссылки
miR-10b miR-21	CSF, 19 GBM patients/ ЦСЖ 19 больных ГБ	Remission vs progression/ Ремиссия vs прогрессии	Decrease in remis- sion/ Снижение при ремиссии	Teplyuk N.M. et al., 2012 [93]
miR-21	Plasma, 10 GBM patients/ Плазма 10 больных ГБ	Chemoradiation/ Химиорадиотерапия	Decrease/ Снижение	Wang Q. et al., 2012 [92]
miR-128, miR-342- 3p	Plasma, 10 GBM patients/ Плазма 10 больных ГБ	Surgery, Chemoradiation/ Хирургия, химиорадиоте- рапия	Increase/ Повышение	Wang Q. et al., 2012 [92]
miR-15b, miR-23a, miR-133a, miR-150, miR-197, miR-497, miR-548b-5p	Serum, 26 GBM patients/ Сыворотка 26 больных ГБ	Surgery/ Хирургия	Increase/ Повышение	Yang C. et al., 2013 [109]
miR-454-3p	Plasma, 22 GBM patients/ Плазма 22 больных ГБ	Surgery/ Хирургия	Decrease/ Снижение	Shao N. et al., 2015 [110]
miR-128	Serum, 59 glioma patients (Grade I–IV)/ Сыворотка 59 больных с глиомами	Surgery/ Хирургия	Increase/ Повышение	Sun J. et al., 2015 [111]
miR-185	Plasma, 19 GBM patients/ Плазма 19 больных ГБ	Chemoradiation/ Химиорадиотерапия	Decrease/ Снижение	Tang H. et al., 2015 [112]
miR-205	Serum, 10 glioma patients (Grade I–IV)/ Сыворотка 10 больных с глиомами	Surgery/ Хирургия	Increase/ Повышение	Yue X. et al., 2016 [108]
miR-26a	Serum, 15 GBM patients/ Сыворотка 15 больных ГБ	Surgery/ Хирургия	Decrease/ Снижение	Parviz H.M. et al., 2019 [113]
miR-214	Serum, 30 glioma patients (Grade I–IV)/ Сыворотка 30 больных с глиомами	Surgery/ Хирургия	Decrease/ Снижение	Wang J. et al., 2019 [114]

Note: CSF – cerebrospinal fluid, GB – glioblastoma.

Примечание: ЦСЖ – цереброспинальная жидкость, ГБ – глиобластома.

between the number of CTCs and tumor progression/pseudoprogression has been shown [17, 18, 25, 28]. However, the quantity of studies is limited, the quantity of patient samples are not representative, and different CTCs isolation approaches make it difficult to compare the results. There are several limitations to the widespread use of CTCs as a biomarker for glioblastoma progression: 1) the detection of GBM CTCs in the peripheral blood requires a complex combination of technologies and relatively immediate blood sample processing; 2) the method with optimal sensitivity and specificity has not been determined yet. The frequency of CTCs released into the peripheral blood from GBM has not been established.

A major advantage of the next generation sequencing approach for detecting CTCs is the simultaneous identification of several markers relevant for GBM diagnostics, allowing molecular diagnostics on cytological specimens [29].

Extracellular vesicles

EVs are extracellular structures enclosed in a lipid bilayer, secreted or released by normal and tumor cells. EVs can be divided into exosomes, microvesicles, and apoptotic bodies based on the size, morphology, and biogenesis mechanism [30]. EVs released by GBM cells contain a wide range of molecules, including nucleic acids and proteins, which correspond to the primary tumor cells' specific molecular features and are changed during treatment [21, 31, 32]. Simultaneously, the lipid membrane protects the EVs' internal contents from enzymatic degradation [30, 33]. It has been shown that EVs from tumor cells cross intact blood-brain barrier and can be found in the blood of GBM patients [16]. EVs can be isolated from CSF and blood plasma by ultracentrifugation, ultrafiltration, or immunoprecipitation. Transmission electron microscopy, nanoparticle tracking analysis, flow cytometry, or western blotting are usually performed to confirm the EVs nature [34, 35].

EVs produced by GBM tumors have been shown to play an essential role in cellular communication and modulation of the tumor microenvironment. They provide tumor heterogeneity, modulate proliferation, reprogram metabolic activity, induce angiogenesis and invasion, and contribute to suppression of the immune response and acquisition of drug resistance [36, 37]. As GBM-derived EVs contain specific “molecular signatures” of their parental cells and can transmigrate across the blood-brain barrier, they are considered a valuable source of potential diagnostic biomarkers.

Several studies have noted a significant increase in the EVs in GBM patients' blood than people with other malignant neoplasms of the central nervous system and healthy ones [38, 39], however, no correlation was found between the EVs level and the patient's overall survival [40]. Koch et al. (2014) examined serum microvesicles' levels in 11 patients with GBM. Samples were collected before CRT, and 1, 3, 6, 12, and 24 months after CRT. A statistically significant difference in the number of microvesicles in tumor progression cases was found compared to patients who responded to treatment ($p=0.014$) [41]. Andre-Gregoire et al. (2018) isolated exosomes from plasma of six patients with newly diagnosed GBM and healthy donors. Isolated EVs in both groups of patients had a comparable average diameter of 80 nm. However, the exosomes concentration in patients' plasma with GBM was higher than in the control group [38].

Osti et al. (2019) examined patients with GBM ($n=43$), healthy people ($n=33$), and patients with other central nervous system malignancies ($n=25$). Plasma samples were purified by differential centrifugation with ultrafiltration through a 0.22 μm filter. The average size of EVs in GBM patients and the validation group was about 150 nm. The number of circulating EVs was significantly higher in GBM patients than in healthy controls and patients with metastatic and extra-brain tumors. It has been shown that the EVs level increased in preoperative plasma samples, reliably decreases after the resection of the primary tumor, and again increases with the tumor relapse ($p=0.028$) [39].

As previously shown by J.M. Fiqueroa et al (2017) CSF-derived EVs contain RNA signatures reflective of the underlying molecular genetic status of GBMs in terms of wtEGFR expression and EGFRvIII status. The high specificity (up to 98 %) of the CSF-derived EV diagnostic test gives us an accurate determination of positive EGFRvIII tumor status which can be useful for therapy strategy [21]. Shao et al. (2012) analyzed a panel of four GBM-related proteins (EGFR, EGFRvIII, podoplanin (PDPN), and isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) in EVs obtained from the serum of 12 glioblastoma patients. It was shown that EVs demonstrate a distinct molecular signature of the tumor, and increased expression of EGFR, EGFRvIII, PDPN, and IDH1 R132H made it possible to diagnose GBM with an accuracy of 36 % to 76 % using

separate markers. When the results were combined, the accuracy increased to 91 %. The drug response index calculated based on the relative changes in the amount of GBM EVs, and the expression levels of EVs biomarkers before and after CTC made it possible to reliably differentiate patients with progression from those who responded to therapy ($p<0.005$) [42].

Currently, vesicular miRNAs are the most attractive for differential diagnosis, diagnosis of glioblastoma recurrence and assessment of the effectiveness of its therapy. The study of miRNAs obtained from EVs showed the possibility of distinguishing of GBM from non-oncologic patients based on the increased content of miR-21 in CSF EVs with high sensitivity and specificity (87 % and 93 %, respectively) [43]. Ebarahimkhani et al. found twenty-six microRNAs, differentially expressed in GBM patient exosomes. Combination of just four miRNAs (miR-182-5p, miR-328-3p miR-485-3p, miR-486-5p) distinguished GBM patients from healthy controls with 100 % accuracy [44]. A recent meta-analysis found 24 EVs derived RNA biomarkers for GBM diagnosis, and the overall sensitivity and specificity of 16 ones in the meta-analysis were 76 % and 80 %, respectively [45]. Santangelo et al. (2018) evaluated the expression levels of blood-derived exosomal miR-21, miR-222, and miR-124-3p from 25 patients with high-grade gliomas before and after surgery. The assessment of these miRNAs expression in samples obtained after surgery showed a sharp decrease in the number of individual miRNAs: miR-21 ($p<0.001$), miR-222 ($p<0.01$), and miR-124-3p ($p<0.001$), as well as in the cumulative expression level of the studied miRNAs ($p<0.001$) [46]. Lan et al. (2018) investigated the exosomal miR-301a in the serum of 7 patients with GBM before surgery, two weeks after surgery, and during tumor progression. It was found that its level was significantly higher in patients with glioma than in healthy controls and patients with non-glial tumors ($p<0.01$). The blood-derived miR-301a exosomal expression was decreased considerably after surgery ($p<0.01$) and again increased in the GBM recurrence ($p<0.01$) [47]. In the next study, the exosomal miR-210 level was studied in 10 patients with GBM. Blood samples were taken before the primary tumor's surgical treatment, after surgery, and after diagnosis of disease recurrence. The miR-210 level was significantly reduced after surgery ($p<0.01$) and at the time of the GBM recurrence ($p<0.01$) [48].

The expediency of detecting various subpopulations of blood plasma exosomes for evaluating the effectiveness of immunotherapy in patients with recurrent forms of glioblastomas after standard therapy has been shown. Galbo et al. (2017) evaluated the level of blood serum exosomes expressing CD9, GFAP, and survivin on their surface in 8 patients with recurrent malignant gliomas during anti-survivin immunotherapy [49]. Survivin is a family member of apoptosis protein inhibitors associated with poor prognosis and

refractoriness to treatment in various cancer types, including gliomas [50]. It was shown that the CD9+/survivin+ exosomes proportion in patients with glioma was 9.1 % and only 0.43 % in the control group. There was a statistically significant increase in the CD9+/survivin+ exosomes level ($p=0.0299$) and CD9+/GFAP+/survivin+ exosomes ($p=0.0225$) in glioma progression. The authors suggested that the CD9, survivin, and GFAP combined detection on exosomes' surface could be used to assess tumor response in patients receiving survivin-based immunotherapy and to monitor glioma progression. Wang et al. (2019) compared the EGFR expression in serum EVs of 23 patients with glioma before and one week after surgery. Most GBM is characterized by the EGFR1 overexpression; therefore, an EGFR serum level analysis appears to be a promising biomarker [33].

The disadvantages of using EVs as diagnostic material include the duration of vesicles isolation and the presence of a large volume of CSF and blood. There is a problem of isolating the total pool and the pool of tumor EVs, since the concentration of a specific marker of gliomas GFAP on vesicles will be several hundred times lower than on cells of the original tumor due to the peculiarities of exosome biogenesis [30, 51]. There also remains the dilemma of using CSF or blood as a source of total EV or individual EV fractions for the early diagnosis of glioblastoma recurrence, as predictor and prognostic biomarkers.

Cell-free DNA

Extracellular nucleic acids (cfNAs) circulate in the blood as a part of supramolecular complexes, such as nucleosomes, complexes with proteins and lipoproteins, and can bound to the surface of blood cells [52]. Sources of cell-free DNA (cfDNA) are apoptosis, necrosis and active secretion by cells [53]. cfDNA seems to be a promising real-time tumor load biomarker, which can provide minimally invasive monitoring of the response to anti-tumor therapy [54].

Recent studies have confirmed the feasibility of using cfDNA quantification as a biomarker for GBM progression. In a prospective study, Nørøxe et al. (2019) evaluated blood samples from newly diagnosed GBM patients from the date of diagnosis or the start of treatment until disease progression. They observed the highest cfDNA values before surgical procedure and during tumor progression. Determining the cfDNA level helped to differentiate actual tumor progression from pseudoprogression in 3 cases [55].

In another single-center pilot study, Bagley et al. (2020) evaluated plasma cfDNA levels in 42 patients with newly diagnosed GBM from the date of diagnosis until disease progression. Before treatment, patients with GBM had a higher plasma cfDNA concentration than healthy patients in the control group (average 13.4 vs 6.7 ng/ml, $p<0.001$). A significant increase in plasma cfDNA was found during disease progression in most patients [54]. Thus, the level of cfDNA in

peripheral blood can be a valid biomarker of disease progression.

Since an increase of concentration of ctDNA is not specific disease marker (cfDNA high level in the blood was also described in patients with autoimmune diseases [56], sepsis and systemic inflammatory response syndrome [57], myocardial infarction [58], etc.), detection of tumor specific genetic alterations can significantly increase the method specificity.

The first attempts to determine tumor ctDNA in the blood of patients with GBM relied on the identification of prognostically significant genetic markers, such as methylation profiles of individual gene promoters, loss of heterozygosity of chromosome 10, IDH1 mutation, and EGFRvIII deletion [59–64]. Some studies have shown that tumor ctDNA can be isolated from the GBM patient's blood in 15–88.8 % of cases [54, 62, 65–71].

The possibility of detecting tumor DNA in the CSF of a patient with glioblastoma was first reported by Rhodes et al. in 1995 when they determined tumor-derived p53 DNA in cisternal CSF at autopsy using allele-specific PCR [72]. Wang et al. examined CSF collected during surgery in 11 patients with GBM. In all the cases, tumor bulk was adjacent to the CSF space (the subarachnoid area or the ventricular wall) and had detectable tumor DNA in CSF [70]. The ctDNA analysis in patients with gliomas allows determining the gene's methylation status, predicting the patients' response to therapy. The sensitivity and specificity are about 59 and 100 %, respectively [62, 69]. The sensitivity in the detection of ctDNA in the CSF in GBM patients reaches 70 % [69], and in cases of tumor node adherence it is 100 % [70–71]. To test whether the amount of detectable mutant DNA in plasma can reflect the tumor's state, the authors amplified the mutant DNA from these patients' plasma. In two cases with total tumor resection, no ctDNA was detected in the blood plasma, while in one case, a residual amount of ctDNA was detected, reflecting incomplete tumor resection [64].

Further studies have focused on genome-wide tumor sequencing and the use of multi-gene panels to detect tumor ctDNA. The relationship between the ctDNA gene methylation and therapy response or tumor recurrence in the available literature is not described. There was no information about the disease stage, mutational profile of the tumor tissues, and its relationship to the blood gene status. In the study Bagley et al. (2019), at least one somatic mutation was detected in preoperative plasma samples from 11 of 20 (55 %) patients with newly diagnosed GBM using next-generation sequencing (NGS). However, none of the plasma mutations were identified in the corresponding tumor samples [54]. Such results can be partially explained by the pronounced molecular heterogeneity of GBM, which is found even within a single tumor bulk [8]. The tremendous success in detecting tumor ctDNA in the blood of patients with

glioblastoma was achieved by Ahmed et al. (2019), which analyzed 27 patients with malignant gliomas using NGS and their specialized 50-gene panel. In 24 out of 27 (88.8 %) patients, ctDNA was detected. A good correlation was obtained between NGS results in plasma and PCR in tumor samples [68].

De Mattos-Arruda et al. compared the ratio of tumor ctDNA in plasma and CSF based on somatic genomic changes detected in tumors by exomic sequencing [73]. At least one tumor mutation was detected in CSF of 4 GBM patients, while in the blood plasma, the tests were negative. To assess the feasibility of using tumor ctDNA as a biomarker of disease progression, the frequency of mutant alleles in CSF and blood was determined in 2 patients using digital PCR during anti-tumor therapy. The tumor ctDNA level in CSF decreased with the response to systemic therapy and increased in disease progression. In a larger study using targeted analysis based on NGS, Miller et al. (2019) evaluated many diffuse gliomas, including 46 adult patients with GBM. Tumor DNA was detected in 59 % patients with glioblastoma. The tumor ctDNA presence in CSF was associated with tumor progression ($p=0.0005$), higher tumor burden ($p=0.0000017$), and tumor spread to the CSF space ($p=0.02$). Based on the results obtained, the authors suggested that tumor ctDNA in CSF may be an early indicator of glioma progression [74].

A low detection rate of tumor mutations in patients' peripheral blood makes it difficult to use tumor ctDNA as a biomarker of GBM progression. The study of CSF for tumor mutations seems more promising. However, lumbar puncture is not always possible to perform, as it is accompanied by some complications and the refusal of patients to participate in studies requiring lumbar puncture [75].

Cell-free RNAs

The cell-free RNA (ctRNA) secreted by glioblastoma cells could prove a valuable resource for biomarker discovery. Tumor-released ctRNA may be coding and non-coding. Non-coding RNA play an essential role in almost all tumor genesis, including tumor initiation, progression, therapy resistance, and can be found in the blood and CSF of patients with gliomas [18, 76–78].

To date, several studies confirming the diagnostic [79, 80], prognostic [81–85], and predictive role [86, 87] of circular RNA (circRNA) in patients with brain gliomas have been published. Despite the existing possibility of detecting circRNA in body fluids, the expression of circRNA was determined mainly in tumor tissue. The potential of circRNA in the non-invasive diagnosis of glioblastoma recurrence is currently unclear. The role of long non-coding RNAs (lncRNAs) as a biomarker has been studied somewhat more broadly. More and more studies suggest lncRNAs to be promising diagnostic biomarkers and therapeutic targets in many cancers, including gliomas.

Understanding the role of lncRNAs in gliomas may lead to discovering the novel molecular mechanisms behind glioma biological features [88]. In particular, it was shown, that the high TP73-AS1 and MALAT1 predict poor prognosis in primary GBM cohorts and these lncRNAs promote tumor aggressiveness and temozolamide (TMZ) resistance in GMB patients [89, 90]. LncRNA may also be ideal for gene/protein delivery in future brain cancer therapies [91]. However, there is no information about the study of lncRNA levels in the blood or CSF of patients with GBM during the treatment course and follow-up in the available literature.

The plasma levels of miR-21, miR-128, and miR-342-3p were significantly altered in GBM patients compared to normal controls, that could discriminate glioma from healthy controls with high specificity and sensitivity [92]. MiR-10b and miR-21 in the CSF are significantly increased in patients with GBM. Quantification of as few as seven microRNAs in CSF enables differential recognition of glioblastoma and metastatic brain cancer using computational machine learning tools with high accuracy (91–99 %) [93, 94]. The signature of miRNAs in serum, including miR-128, miR-342-3p, miR-194, miR-628-3p, allows distinguishing of blood samples from patients with GBM and healthy control groups (the accuracy, sensitivity, and specificity is 81 %, 79 %, and 81 %, respectively) [95, 96].

The relationship between miRNAs dysregulation and prognosis in patients with GBM was shown. The miRNA expression signature of 10 microRNAs in glioblastoma samples can predict GBM patient survival [97]. MiR-182, miR-20a-5p, miR-106a-5p and miR-222-3p high level and miR-182, miR-145-5p, and miR-485-3p decreased level in the GBM patients' blood are significantly associated with worse survival [98–100]. Many studies have evaluated surgery's effect and combined modality treatment on the miRNA levels in blood or CSF [76, 92, 101–112]. For example, miR-125b-2 and miR-223 play a role in tumor sensitivity to TMZ chemotherapy [101, 102], and miR-21, miR-128, miR-301a and miR-145-5p maintain the resistance to radiation therapy [103–106].

The diagnostic value of miRNA as a biomarker for glioblastoma recurrence has been shown only in a few studies on a small amount of clinical material [46, 48, 93]. Teplyuk et al. (2012) found the elevated miR-21 and miR-10b level in CSF in only 1 of 19 GBM patients. After chemoradiotherapy, the miR-21 level in CSF was comparable with that in the control (non-tumor) group, while the miR-10b level was significantly higher than in the control group. The sharp increase in the miR-21 level and a further increase in miR-10b level at a later date (25 weeks) indicated disease progression, confirmed by MRI, PET-CT, and repeated biopsy. In this case, no single miRNA behaved as a simple tumor burden biomarker [93]. Subsequently, significant variability in miRNA profiles

in the CSF of patients with glioblastoma was shown, mainly related to the CSF collection site – ventricle or lumbar puncture [107]. Yue et al. (2016) found the correlation of the miR-205 expression with relapse of cancer in the serum of 6 patients with glioblastoma studied before surgery, two weeks after surgery in a case of deterioration. Serum miR-205 levels were significantly increased in postoperative samples compared to corresponding preoperative samples ($p < 0.01$) and were reduced again during glioblastoma recurrence ($p < 0.01$) [108]. Oncogenic miRNAs such as miR-10b, miR-21, miR-26a, miR-214, miR-210, miR-222, miR-124-3p, miR-301a, miR-454-3p [46-48, 92-94, 99, 111-112], and suppressive miRNAs, such as miR-15b, miR-23a, miR-128, miR-133a, miR-150, miR-185, miR-197, miR-205, miR-342-3p, miR-497 и miR-548b-5p [92, 109-115] were identified as markers of response to glioblastoma therapy. In summary, miRNAs evaluated in glioblastoma patients' biological fluids depending on the treatment modality are listed in Table 1.

Despite the small number of patients included, the studies showed the promising role of different miRNAs

as GBM recurrence biomarkers. At the same time, there are several drawbacks to the widespread use of this marker. The modulation of microRNAs is a result of involvement in various physiological and pathological conditions, such as circadian rhythm, fatigue, medication intake, chronic inflammation, and various non-tumor pathologies [19, 115]. The difference in miRNA expression in different ethnic groups can also affect miRNA's diagnostic value [114]. There is also no generally accepted endogenous control for the quantitative determination of circulating miRNAs due to the significant variability between the samples and the relatively low body fluids expression [111-114].

Conclusion

The works of the last decade more and more convincingly prove that liquid biopsy of cerebrospinal fluid and blood (or its individual components) of patients with GBM can be used both for differential diagnosis of a tumor and for evaluating the effectiveness of anti-tumor therapy, since it is a safer technology for obtaining a molecular portrait of a tumor. Detection of tumor

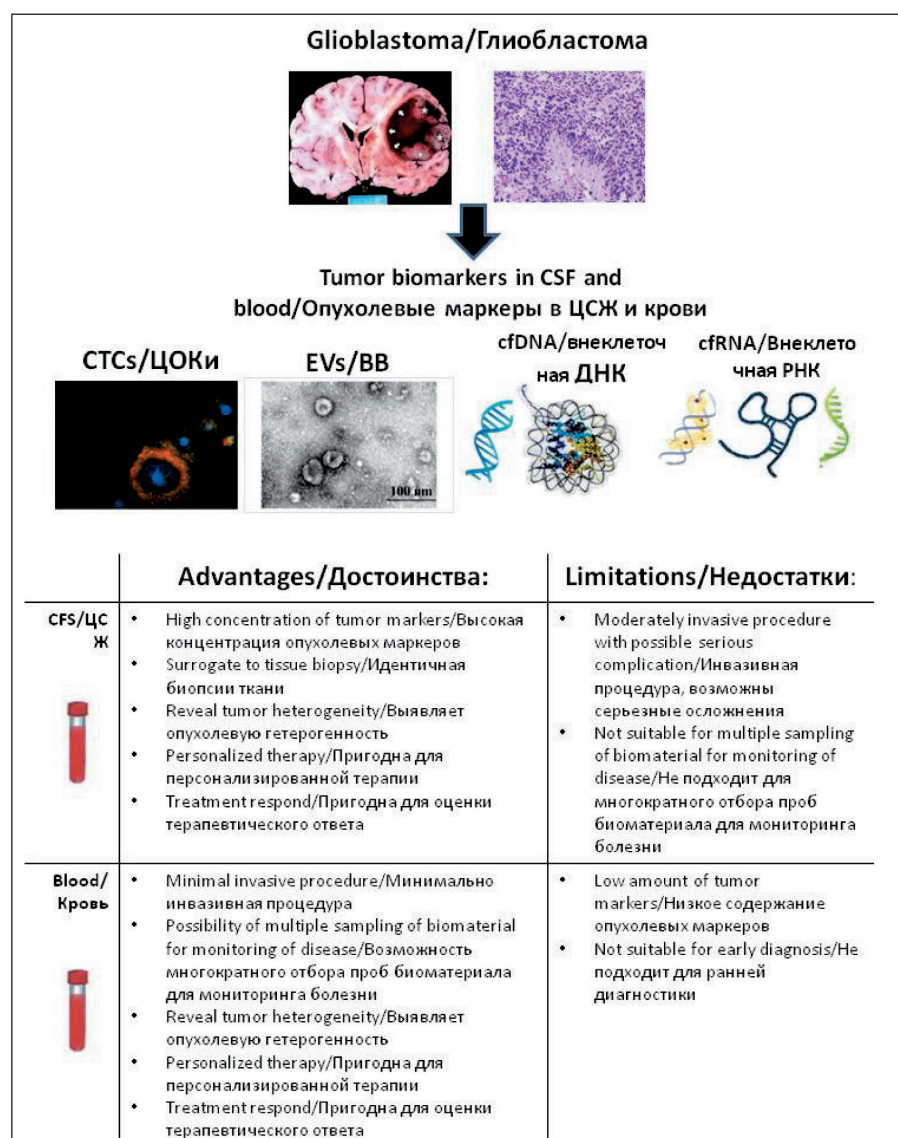


Fig. 1. Current status and future perspectives of liquid biopsy in GBM.

Note: EVs, extracellular vesicles; CTCs – circulating tumor cells; MRI, magnetic resonance imaging; CFS, cerebrospinal fluid; cfDNA, cell-free DNA; cfRNA, cell-free RNA

Рис. 1. Текущее состояние и перспективы жидкой биопсии при ГБМ.

Примечание: BB – внеклеточные везикулы; ЦОКи – циркулирующие опухолевые клетки; MPT – магнитно-резонансная томография; ЦСЖ – спинномозговая жидкость

markers in the CSF and/or blood of patients will make it possible to individualize the treatment of patients and timely monitor the effectiveness of antitumor therapy. Nevertheless, liquid biopsy still has a number of limitations for widespread use in practical medicine (Fig. 1). Therefore, a large number of studies are needed to test the efficacy and reliability of liquid biopsy in pa-

tients with GBM, and we need to continuously develop simpler and more accurate methods for monitoring biomarkers and evaluating efficacy. We believe that CSCs, EVs, cfDNA, and cfRNA in cerebrospinal fluid and/or blood will have broad application prospects in the diagnosis, prognosis, and treatment response of patients with glioblastoma in the future.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Ostrom Q.T., Cioffi G., Gittleman H., Patil N., Waite K., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012–2016. *Neuro Oncol.* 2019; 21(5):1–100. doi: 10.1093/neuonc/noz150.
- Chinot O.L., Wick W., Mason W., Henriksson R., Saran F., Nishikawa R., Carpentier A.F., Hoang-Xuan K., Kavan P., Cernea D., Brandes A.A., Hilton M., Abrey L., Cloughesy T. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 2014; 370(8): 709–22. doi: 10.1056/NEJMoal308345.
- Gilbert M.R., Dignam J.J., Armstrong T.S., Wefel J.S., Blumenthal D.T., Vogelbaum M.A., Colman H., Chakravarti A., Pugh S., Won M., Jeraj R., Brown P.D., Jaeckle K.A., Schiff D., Stiebert V.W., Brachman D.G., Werner-Wasik M., Tremont-Lukats I.W., Sulman E.P., Aldape K.D., Curran W.J. Jr., Mehta M.P. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 2014; 370(8): 699–708. doi: 10.1056/NEJMoal308573.
- Stupp R., Taillibert S., Kanner A., Read W., Steinberg D., Lhermitte B., Toms S., Idubai A., Ahluwalia M.S., Fink K., Di Meco F., Lieberman F., Zhu J.J., Stragliotto G., Tran D., Brem S., Hottinger A., Kirson E.D., Lavy-Shahaf G., Weinberg U., Kim C.Y., Paek S.H., Nicholas G., Bruna J., Hirte H., Weller M., Palti Y., Hegi M.E., Ram Z. Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2017; 318(23): 2306–16. doi: 10.1001/jama.2017.18718.
- Louis D.N., Perry A., Reifenberger G., von Deimling A., Figarella-Branger D., Cavenee W.K., Ohgaki H., Wiestler O.D., Kleihues P., Ellison D.W. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016; 131(6): 803–20. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
- Soffietti R., Franchino F., Magistrello M., Pellerino A., Rudà R. Perspectives of Personalized Chemotherapy of Gliomas Based on Molecular Tumor Profiling. *Prog Neurol Surg.* 2018; 31: 168–79. doi: 10.1159/000467378.
- Weller M., Le Rhun E., Preusser M., Tonn J.C., Roth P. How we treat glioblastoma. *ESMO Open.* 2019; 4(2). doi: 10.1136/esmoopen-2019-000520.
- Strauss S.B., Meng A., Ebani E.J., Chiang G.C. Imaging Glioblastoma Posttreatment: Progression, Pseudoprogression, Pseudoreponse, Radiation Necrosis. *Radiol Clin North Am.* 2019; 57(6): 1199–216. doi: 10.1016/j.rcl.2019.07.003.
- Arevalo O.D., Soto C., Rabiei P., Kamali A., Ballester L.Y., Esquenazi Y., Zhu J.J., Rascos R.F. Assessment of Glioblastoma Response in the Era of Bevacizumab: Longstanding and Emergent Challenges in the Imaging Evaluation of Pseudoreponse. *Front Neurol.* 2019; 10: 460. doi: 10.3389/fneur.2019.00460.
- Zikou A., Sioka C., Alexiou G.A., Fotopoulos A., Voulgaris S., Argyropoulou M.I. Radiation Necrosis, Pseudoprogression, Pseudoreponse, and Tumor Recurrence: Imaging Challenges for the Evaluation of Treated Gliomas. *Contrast Media Mol Imaging.* 2018; 2018: 6828396. doi: 10.1155/2018/6828396.
- Macarthur K.M., Kao G.D., Chandrasekaran S., Alonso-Basanta M., Chapman C., Lustig R.A., Wileto E.P., Hahn S.M., Dorsey J.F. Detection of brain tumor cells in the peripheral blood by a telomerase promoter-based assay. *Cancer Res.* 2014; 74(8): 2152–9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0813.
- Gao F., Cui Y., Jiang H., Sui D., Wang Y., Jiang Z., Zhao J., Lin S. Circulating tumor cell is a common property of brain glioma and promotes the monitoring system. *Oncotarget.* 2016; 7(44): 71330–40. doi: 10.18632/oncotarget.11114.
- Mohammadi H., Shiue K., Grass G.D., Verma V., Engelland K., Daubner D., Schackert G., Gondim M.J., Gondim D., Vortmeyer A.O., Kamer A.P., William J., Robinson T.J., Watson G., Yu H.H.M., Lautenschlaeger T. Isocitrate dehydrogenase 1 mutant glioblastomas demonstrate a decreased rate of pseudoprogression: a multi-institutional experience. *Neurooncol Pract.* 2020; 7(2): 185–95. doi: 10.1093/nop/npz050.
- Sottoriva A., Spiteri I., Piccirillo S.G., Touloumis A., Collins V.P., Marioni J.C., Curtis C., Watts C., Tavaré S. Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(10): 4009–14. doi: 10.1073/pnas.1219747110.
- Draaisma K., Chatzili A., Taphoorn M., Kerkhof M., Weyerbroek A., Sanson M., Hoebe A., Lukacova S., Lombardi G., Leenstra S., Hanse M., Fleischeuer R., Watts C., McAbee J., Angelopoulos N., Gorlia T., Golfopoulos V., Kros J.M., Verhaak R.G.W., Bours V., van den Bent M.J., McDermott U., Robe P.A., French P.J. Molecular Evolution of IDH Wild-Type Glioblastomas Treated With Standard of Care Affects Survival and Design of Precision Medicine Trials: A Report From the EORTC 1542 Study. *J Clin Oncol.* 2020; 38(1): 81–99. doi: 10.1200/JCO.19.00367.
- García-Romero N., Carrión-Navarro J., Esteban-Rubio S., Lázaro-Ibáñez E., Peris-Celda M., Alonso M.M., Guzmán-De-Villoria J., Fernández-Carballal C., de Mendivil A.O., García-Duque S., Escobedo-Lucea C., Prat-Acin R., Belda-Iniesta C., Ayuso-Sacido A. DNA sequences within glioma-derived extracellular vesicles can cross the intact blood-brain barrier and be detected in peripheral blood of patients. *Oncotarget.* 2017; 8(1): 1416–28. doi: 10.18632/oncotarget.13635.
- Shankar G.M., Balaj L., Stott S.L., Nahed B., Carter B.S. Liquid biopsy for brain tumors. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017; 17(10): 943–7. doi: 10.1080/14737159.2017.1374854.
- Müller Bark J., Kulasinghe A., Chua B., Day B.W., Punyadeera C. Circulating biomarkers in patients with glioblastoma. *Br J Cancer.* 2020; 122(3): 295–305. doi: 10.1038/s41416-019-0603-6.
- Silantyev A.S., Falzone L., Libra M., Gurina O.I., Kardashova K.S., Nikolouzakis T.K., Nosyrev A.E., Sutton C.W., Mitsias P.D., Tsatsakis A. Current and Future Trends on Diagnosis and Prognosis of Glioblastoma: From Molecular Biology to Proteomics. *Cells.* 2019; 8(8): 863. doi: 10.3390/cells8080863.
- Quddusi A., Shamim M.S. Serum biomarkers for glioblastoma multiforme. *J Pak Med Assoc.* 2019; 69(6): 913–4.
- Figuerola J.M., Skog J., Akers J., Li H., Komotar R., Jensen R., Ringel F., Yang L., Kalkanis S., Thompson R., LoGuidice L., Berghoff E., Parsa A., Liau L., Curry W., Cahill D., Bettegowda C., Lang F.F., Chiocca E.A., Henson J., Kim R., Breakefield X., Chen C., Messer K., Hochberg F., Carter B.S. Detection of wild-type EGFR amplification and EGFRVIII mutation in CSF-derived extracellular vesicles of glioblastoma patients. *Neuro Oncol.* 2017; 19(11): 1494–1502. doi: 10.1093/neuonc/nox085.
- Lee J.S., Melisko M.E., Magbanua M.J., Kablanian A.T., Scott J.H., Rugo H.S., Park J.W. Detection of cerebrospinal fluid tumor cells and its clinical relevance in leptomeningeal metastasis of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2015; 154(2): 339–49. doi: 10.1007/s10549-015-3610-1.
- Malani R., Fleisher M., Kumthekar P., Lin X., Omuro A., Groves M.D., Lin N.U., Melisko M., Lassman A.B., Jeyapalan S., Seidman A., Skakodub A., Boire A., DeAngelis L.M., Rosenblum M., Raizer J., Pentsova E. Cerebrospinal fluid circulating tumor cells as a quantifiable measurement of leptomeningeal metastases in patients with HER2 positive cancer. *J Neurooncol.* 2020; 148(3): 599–606. doi: 10.1007/s11060-020-03555-z.
- Katz R.L., Zaidi T.M., Ni X. Liquid Biopsy: Recent Advances in the Detection of Circulating Tumor Cells and Their Clinical Applications. In: Bui MM, Pantanowitz L (eds). *Modern Techniques in Cytopathology.* Monogr Clin Cytol. Basel, Karger. 2020; 25: 43–66. doi: 10.1159/000455780.
- Müller C., Holtschmidt J., Auer M., Heitzer E., Lamszus K., Schulte A., Matschke J., Langer-Freitag S., Gasch C., Stoupiec M., Mauermann O., Peine S., Glatzel M., Speicher M.R., Geigl J.B., Westphal M., Pantel K., Riethdorf S. Hematogenous dissemination of glioblastoma multiforme. *Sci Transl Med.* 2014; 6(247). doi: 10.1126/scitranslmed.3009095.
- Carvalho J.A.D.V., Barbosa C.C.L., Feher O., Maldaun M.V.C., Camargo V.P., Moraes F.Y., Marta G.N. Systemic dissemination of glioblastoma: literature review. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2019; 65(3): 460–8. doi: 10.1590/1806-9282.65.3.460.
- Böhm C., Wassmann H., Paulus W. No evidence of tumour cells in blood of patients with glioma. *Mol Pathol.* 2003; 56(3): 187–9. doi: 10.1136/mp.56.3.187.
- Sullivan J.P., Nahed B.V., Madden M.W., Oliveira S.M., Springer S., Bhere D., Chi A.S., Wakimoto H., Rothenberg S.M., Sequist L.V., Kapur R., Shah K., Iqbal A.J., Curry W.T., Loeffler J.S., Batchelor T.T., Louis D.N., Toner M., Maheswaran S., Haber D.A. Brain tumor cells in circulation are enriched for mesenchymal gene expression. *Cancer Discov.* 2014; 4(11): 1299–309. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0471.

29. Kolostova K., Pospisilova E., Pavlickova V., Bartos R., Sames M., Pawlak I., Bobek V. Next generation sequencing of glioblastoma circulating tumor cells: non-invasive solution for disease monitoring. *Am J Transl Res.* 2021; 13(5): 4489–99.
30. Hallal S., Ebrahimkhani S., Shivalingam B., Graeber M.B., Kaufman K.L., Buckland M.E. The emerging clinical potential of circulating extracellular vesicles for non-invasive glioma diagnosis and disease monitoring. *Brain Tumor Pathol.* 2019; 36(2): 29–39. doi: 10.1007/s10014-019-00335-0.
31. Chen W.W., Balaj L., Liau L.M., Samuels M.L., Kotsopoulos S.K., Maguire C.A., Loguidice L., Soto H., Garrett M., Zhu L.D., Sivaraman S., Chen C., Wong E.T., Carter B.S., Hochberg F.H., Breakefield X.O., Skog J. BEAMing and Droplet Digital PCR Analysis of Mutant IDH1 mRNA in Glioma Patient Serum and Cerebrospinal Fluid Extracellular Vesicles. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2013; 2(7): 109. doi: 10.1038/mtna.2013.28.
32. Lane R., Simon T., Vintu M., Solkin B., Koch B., Stewart N., Benstead-Hume G., Pearl F.M.G., Critchley G., Stebbing J., Giamas G. Cell-derived extracellular vesicles can be used as a biomarker reservoir for glioblastoma tumor subtyping. *Commun Biol.* 2019; 2: 315. doi: 10.1038/s42003-019-0560-x.
33. Wang H., Jiang D., Li W., Xiang X., Zhao J., Yu B., Wang C., He Z., Zhu L., Yang Y. Evaluation of serum extracellular vesicles as noninvasive diagnostic markers of glioma. *Theranostics.* 2019; 9(18): 5347–58.
34. Morishita M., Takahashi Y., Nishikawa M., Takakura Y. Pharmacokinetics of Exosomes-An Important Factor for Elucidating the Biological Roles of Exosomes and for the Development of Exosome-Based Therapeutics. *J Pharm Sci.* 2017; 106(9): 2265–9. doi: 10.1016/j.xphs.2017.02.030.
35. Tamkovich S.N., Yunusova N.V., Stakheeva M.N., Somov A.K., Frolova A.Y., Kirushina N.A., Afanasyev S.G., Grigoryeva A.E., Laktionov P.P., Kondakova I.V. Isolation and characterization of exosomes from blood plasma of breast cancer and colorectal cancer patients. *Biomed Khim.* 2017; 63(2): 165–9. doi: 10.18097/PBMC20176302165.
36. Ciccocioppo F., Lanuti P., Marchisio M., Miscia S. Extracellular Vesicles Involvement in the Modulation of the Glioblastoma Environment. *J Oncol.* 2020; 2020: 3961735. doi: 10.1155/2020/3961735.
37. Yekula A., Yekula A., Muralidharan K., Kang K., Carter B.S., Balaj L. Extracellular Vesicles in Glioblastoma Tumor Microenvironment. *Front Immunol.* 2020; 10: 3137. doi: 10.3389/fimmu.2019.03137.
38. André-Grégoire G., Bidère N., Gavard J. Temozolomide affects Extracellular Vesicles Released by Glioblastoma Cells. *Biochimie.* 2018; 155: 11–5. doi: 10.1016/j.biochi.2018.02.007.
39. Osti D., Del Bene M., Rappa G., Santos M., Matafora V., Richichi C., Faletti S., Bezoussenko G.V., Mironov A., Bachi A., Fornasari L., Bongetta D., Gaetani P., DiMeco F., Lorico A., Pellicci G. Clinical Significance of Extracellular Vesicles in Plasma from Glioblastoma Patients. *Clin Cancer Res.* 2019; 25(1): 266–76. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1941.
40. Evans S.M., Putt M., Yang X.Y., Lustig R.A., Martinez-Lage M., Williams D., Desai A., Wolf R., Brem S., Koch C.J. Initial evidence that blood-borne microvesicles are biomarkers for recurrence and survival in newly diagnosed glioblastoma patients. *J Neurooncol.* 2016; 127(2): 391–400. doi: 10.1007/s11060-015-2051-3.
41. Koch C.J., Lustig R.A., Yang X.Y., Jenkins W.T., Wolf R.L., Martinez-Lage M., Desai A., Williams D., Evans S.M. Microvesicles as a Biomarker for Tumor Progression versus Treatment Effect in Radiation/Temozolomide-Treated Glioblastoma Patients. *Transl Oncol.* 2014; 7(6): 752–8. doi: 10.1016/j.tranon.2014.10.004.
42. Shao H., Chung J., Balaj L., Charest A., Bigner D.D., Carter B.S., Hochberg F.H., Breakefield X.O., Weissleder R., Lee H. Protein typing of circulating microvesicles allows real-time monitoring of glioblastoma therapy. *Nat Med.* 2012; 18(12): 1835–40. doi: 10.1038/nm.2994.
43. Akers J.C., Ramakrishnan V., Kim R., Skog J., Nakano I., Pingle S., Kalinina J., Hua W., Kesari S., Mao Y., Breakefield X.O., Hochberg F.H., Van Meir E.G., Carter B.S., Chen C.C. MiR-21 in the extracellular vesicles (EVs) of cerebrospinal fluid (CSF): a platform for glioblastoma biomarker development. *PLoS One.* 2013; 8(10): 78115. doi: 10.1371/journal.pone.0078115.
44. Ebrahimkhani S., Vafaei F., Hallal S., Wei H., Lee M.Y.T., Young P.E., Satgunaseelan L., Beadnall H., Barnett M.H., Shivalingam B., Suter C.M., Buckland M.E., Kaufman K.L. Deep sequencing of circulating exosomal microRNA allows non-invasive glioblastoma diagnosis. *NPJ Precis Oncol.* 2018; 2: 28. doi: 10.1038/s41698-018-0071-0.
45. Jafari D., Tiyyuri A., Rezaei E., Moradi Y., Jafari R., Jokar Shoorijeh F., Barati M. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid and serum-isolated extracellular vesicles for glioblastoma: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Mol Diagn.* 2020; 20(11): 1075–85. doi: 10.1080/14737159.2020.1844006.
46. Santangelo A., Imbrucè P., Gardenghi B., Belli L., Agushi R., Tamanini A., Munari S., Bossi A.M., Scambi I., Benati D., Mariotti R., Di Gennaro G., Sbarbati A., Eccher A., Ricciardi G.K., Ciceri E.M., Sala F., Pinna G., Lippi G., Cabrini G., Dehecchi M.C. A microRNA signature from serum exosomes of patients with glioma as complementary diagnostic biomarker. *J Neurooncol.* 2018; 136(1): 51–62. doi: 10.1007/s11060-017-2639-x.
47. Lan F., Qing Q., Pan Q., Hu M., Yu H., Yue X. Serum exosomal miR-301a as a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma. *Cell Oncol (Dordr).* 2018; 41(1): 25–33. doi: 10.1007/s13402-017-0355-3.
48. Lan F., Yue X., Xia T. Exosomal microRNA-210 is a potentially non-invasive biomarker for the diagnosis and prognosis of glioma. *Oncol Lett.* 2020; 19(3): 1967–74. doi: 10.3892/ol.2020.11249.
49. Galbo P.M. Jr., Ciesielski M.J., Figel S., Maguire O., Qiu J., Wilsie L., Minderman H., Fenstermaker R.A. Circulating CD9+/GFAP+/survivin+ exosomes in malignant glioma patients following survivin vaccination. *Oncotarget.* 2017; 8(70): 114722–35. doi: 10.18632/oncotarget.21773.
50. Lv S., Dai C., Liu Y., Shi R., Tang Z., Han M., Bian R., Sun B., Wang R. Retraction Note to: The Impact of Survivin on Prognosis and Clinicopathology of Glioma Patients: A Systematic Meta-Analysis. *Mol Neurobiol.* 2017; 54(3): 2376. doi: 10.1007/s12035-017-0402-0.
51. Brennan K., Martin K., FitzGerald S.P., O'Sullivan J., Wu Y., Blanco A., Richardson C., Mc Gee M.M. A comparison of methods for the isolation and separation of extracellular vesicles from protein and lipid particles in human serum. *Sci Rep.* 2020. doi: https://doi.org/10.1038/s41598-020-57497-7.
52. Tamkovich S., Bryzgunova O. Protease Activity and Cell-Free DNA in Blood Plasma of Healthy Donors and Breast Cancer Patients. *J Immunoassay Immunochem.* 2016; 37(2): 141–53. doi: 10.1080/15321819.2015.1069745.
53. Bryzgunova O.E., Tamkovich S.N., Cherepanova A.V., Yarmoshchuk S.V., Permyakova V.I., Anykееva O.Y., Laktionov P.P. Redistribution of Free- and Cell-Surface-Bound DNA in Blood of Benign and Malignant Prostate Tumor Patients. *Acta Naturae.* 2015; 7(2): 115–8.
54. Bagley S.J., Nabavizadeh S.A., Mays J.J., Till J.E., Ware J.B., Levy S., Sarchiapone W., Hussain J., Prior T., Guiry S., Christensen T., Yee S.S., Nasrallah M.P., Morrisette J.J.D., Binder Z.A., O'Rourke D.M., Cucchiara A.J., Brem S., Desai A.S., Carpenter E.L. Clinical Utility of Plasma Cell-Free DNA in Adult Patients with Newly Diagnosed Glioblastoma: A Pilot Prospective Study. *Clin Cancer Res.* 2020; 26(2): 397–407. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-2533.
55. Norøxe D.S., Østrup O., Yde C.W., Ahlborn L.B., Nielsen F.C., Michaelsen S.R., Larsen V.A., Skjøth-Rasmussen J., Brennum J., Hamerlik P., Poulsen H.S., Lassen U. Cell-free DNA in newly diagnosed patients with glioblastoma – a clinical prospective feasibility study. *Oncotarget.* 2019; 10(43): 4397–4406. doi: 10.18632/oncotarget.27030.
56. Duvvuri B., Lood C. Cell-Free DNA as a Biomarker in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Front Immunol.* 2019; 10: 502. doi: 10.3389/fimmu.2019.00502.
57. Hou Y.Q., Liang D.Y., Lou X.L., Zhang M., Zhang Z.H., Zhang L.R. Branched DNA-based Alu quantitative assay for cell-free plasma DNA levels in patients with sepsis or systemic inflammatory response syndrome. *J Crit Care.* 2016; 31(1): 90–5. doi: 10.1016/j.jccr.2015.10.013.
58. Jing R., Cui M., Wang H., Ju S. Cell-free DNA: characteristics, detection and its applications in myocardial infarction. *Curr Pharm Des.* 2013; 19(28): 5135–45. doi: 10.2174/1381612811319280012.
59. Balaña C., Ramirez J.L., Taron M., Roussos Y., Ariza A., Ballester R., Sarries C., Mendez P., Sanchez J.J., Rosell R. O6-methyl-guanine-DNA methyltransferase methylation in serum and tumor DNA predicts response to 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea but not to temozolomide plus cisplatin in glioblastoma multiforme. *Clin Cancer Res.* 2003; 9(4): 1461–8.
60. Weaver K.D., Grossman S.A., Herman J.G. Methylated tumor-specific DNA as a plasma biomarker in patients with glioma. *Cancer Invest.* 2006; 24(1): 35–40. doi: 10.1080/07357900500449546.
61. Majchrzak-Celińska A., Paluszczak J., Kleszcz R., Magiera M., Barciszewska A.M., Nowak S., Baer-Dubowska W. Detection of MGMT, RASSF1A, p15INK4B, and p14ARF promoter methylation in circulating tumor-derived DNA of central nervous system cancer patients. *J Appl Genet.* 2013; 54(3): 335–44. doi: 10.1007/s13353-013-0149-x.
62. Lavon I., Refael M., Zelikovitch B., Shalom E., Siegal T. Serum DNA can define tumor-specific genetic and epigenetic markers in gliomas of various grades. *Neuro Oncol.* 2010; 12(2): 173–80. doi: 10.1093/neuonc/nop041.
63. Boisselier B., Gállego Pérez-Larraya J., Rossetto M., Labussière M., Ciccarino P., Marie Y., Delattre J.Y., Sanson M. Detection of IDH1 mutation in the plasma of patients with glioma. *Neurology.* 2012; 79(16): 1693–8. doi: 10.1212/WNL.0b013e31826e9b0a.
64. Salkeni M.A., Zarzour A., Ansary T.Y., McPherson C.M., Warnick R.E., Rixe O., Bahassi E.M. Detection of EGFRvIII mutant DNA in the peripheral blood of brain tumor patients. *J Neurooncol.* 2013; 115(1): 27–35. doi: 10.1007/s11060-013-1209-0.

65. Bettgowda C., Sausen M., Leary R.J., Kinde I., Wang Y., Agrawal N., Bartlett B.R., Wang H., Lubner B., Alani R.M., Antonarakis E.S., Azad N.S., Bardelli A., Brem H., Cameron J.L., Lee C.C., Fecher L.A., Gallia G.L., Gibbs P., Le D., Giuntoli R.L., Goggins M., Hogarty M.D., Holdhoff M., Hong S.M., Jiao Y., Juhl H.H., Kim J.J., Siravegna G., Laheru D.A., Lauricella C., Lim M., Lipson E.J., Marie S.K., Netto G.J., Oliner K.S., Olivi A., Olsson L., Riggins G.J., Sartore-Bianchi A., Schmidt K., Shih I.M., Oba-Shinjo S.M., Siena S., Theodorescu D., Tie J., Harkins T.T., Veronesi S., Wang T.L., Weingart J.D., Wolfgang C.L., Wood L.D., Xing D., Hruban R.H., Wu J., Allen P.J., Schmidt C.M., Choti M.A., Velculescu V.E., Kinzler K.W., Vogelstein B., Papadopoulos N., Diaz L.A. Jr. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014; 6(224). doi: 10.1126/scitranslmed.3007094.
66. Schwaederle M., Husain H., Fanta P.T., Piccioni D.E., Kesari S., Schwab R.B., Banks K.C., Lanman R.B., Talasz A., Parker B.A., Kurzrock R. Detection rate of actionable mutations in diverse cancers using a biopsy-free (blood) circulating tumor cell DNA assay. *Oncotarget*. 2016; 7(9): 9707–17. doi: 10.18632/oncotarget.7110.
67. Piccioni D.E., Achrol A.S., Kiedrowski L.A., Banks K.C., Boucher N., Barkhoudarian G., Kelly D.F., Juarez T., Lanman R.B., Raymond V.M., Nguyen M., Truong J.D., Heng A., Gill J., Saria M., Pingle S.C., Kesari S. Analysis of cell-free circulating tumor DNA in 419 patients with glioblastoma and other primary brain tumors. *CNS Oncol*. 2019; 8(2). doi: 10.2217/cns-2018-0015.
68. Ahmed K.I., Govardhan H.B., Roy M., Naveen T., Siddanna P., Sridhar P., Suma M.N., Nelson N. Cell-free circulating tumor DNA in patients with high-grade glioma as diagnostic biomarker – A guide to future directive. *Indian J Cancer*. 2019; 56(1): 65–9. doi: 10.4103/ijc. IJC_551_17.
69. Wang Z., Jiang W., Wang Y., Guo Y., Cong Z., Du F., Song B. MGMT promoter methylation in serum and cerebrospinal fluid as a tumor-specific biomarker of glioma. *Biomed Rep*. 3(4) (2015), 543–548.
70. Wang Y., Springer S., Zhang M., McMahon K.W., Kinde I., Dobyn L., Ptak J., Brem H., Chaichana K., Gallia G.L., Gokaslan Z.L., Groves M.L., Jallo G.I., Lim M., Olivi A., Quinones-Hinojosa A., Rigamonti D., Riggins G.J., Sciubba D.M., Weingart J.D., Wolinsky J.P., Ye X., Oba-Shinjo S.M., Marie S.K., Holdhoff M., Agrawal N., Diaz L.A. Jr., Papadopoulos N., Kinzler K.W., Vogelstein B., Bettgowda C. Detection of tumor-derived DNA in cerebrospinal fluid of patients with primary tumors of the brain and spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015; 112(31): 9704–9. doi: 10.1073/pnas.1511694112.
71. Osei E., Walters P., Masella O., Tennant Q., Fishwick A., Dadzie E., Bhangu A., Darko J. A review of predictive, prognostic and diagnostic biomarkers for brain tumours: Towards personalised and targeted cancer therapy. *J Radiother Pract*. 2019; 1–16.
72. Rhodes C.H., Honsinger C., Sorenson G.D. PCR-detection of tumor-derived p53 DNA in cerebrospinal fluid. *Am J Clin Pathol*. 1995; 103(4): 404–8. doi: 10.1093/ajcp/103.4.404.
73. De Mattos-Arruda L., Mayor R., Ng C.K.Y., Weigelt B., Martínez-Ricarte F., Torrejon D., Oliveira M., Arias A., Raventos C., Tang J., Guerin-Rocco E., Martínez-Sáez E., Lois S., Marín O., de la Cruz X., Piscuoglio S., Towers K., Vivancos A., Peg V., Ramon y Cajal S., Carles J., Rodon J., González-Cao M., Tabernero J., Felip E., Sahuquillo J., Berger M.F., Cortes J., Reis-Filho J.S., Seoane J. Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma. *Nat Commun*. 2015; 6: 8839. doi: 10.1038/ncomms9839.
74. Miller A.M., Shah R.H., Pentsova E.I., Pourmaleki M., Briggs S., Distefano N., Zheng Y., Skakodub A., Mehta S.A., Campos C., Hsieh W.Y., Selcuklu S.D., Ling L., Meng F., Jing X., Samoil A., Bale T.A., Tsui D.W.Y., Grommes C., Viale A., Souweidane M.M., Tabar V., Brennan C.W., Reiner A.S., Rosenblum M., Panageas K.S., DeAngelis L.M., Young R.J., Berger M.F., Mellinghoff I.K. Tracking tumour evolution in glioma through liquid biopsies of cerebrospinal fluid. *Nature*. 2019; 565(7741): 654–8. doi: 10.1038/s41586-019-0882-3.
75. Day G.S., Rappai T., Sathyan S., Morris J.C. Deciphering the factors that influence participation in studies requiring serial lumbar punctures. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2020; 12(1). doi: 10.1002/dad2.12003.
76. Zhang Y., Cruickshanks N., Pahuski M., Yuan F., Dutta A., Schiff D., Purow B., Abounader R. Noncoding RNAs in Glioblastoma. In: De Vleeschouwer S., editor. *Glioblastoma* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2017.
77. Zorofchian S., Iqbal F., Rao M., Aung P.P., Esquenazi Y., Ballester L.Y. Circulating tumour DNA, microRNA and metabolites in cerebrospinal fluid as biomarkers for central nervous system malignancies. *J Clin Pathol*. 2019; 72(4): 271–80. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205414.
78. Duan X., Liu D., Wang Y., Chen Z. Circular RNA hsa_circ_0074362 Promotes Glioma Cell Proliferation, Migration, and Invasion by Attenuating the Inhibition of miR-1236-3p on HOXB7 Expression. *DNA Cell Biol*. 2018; 37(11): 917–24. doi: 10.1089/dna.2018.4311.
79. Song X., Zhang N., Han P., Moon B.S., Lai R.K., Wang K., Lu W. Circular RNA profile in gliomas revealed by identification tool UROBORUS. *Nucleic Acids Res*. 2016; 44(9). doi: 10.1093/nar/gkw075.
80. Barbagallo D., Caponnetto A., Cirnigliaro M., Brex D., Barbagallo C., D'Angeli F., Morrone A., Caltabiano R., Barbagallo G.M., Ragusa M., Di Pietro C., Hansen T.B., Purrello M. CircSMARCA5 Inhibits Migration of Glioblastoma Multiforme Cells by Regulating a Molecular Axis Involving Splicing Factors SRSF1/SRSF3/PTB. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(2): 480. doi: 10.3390/ijms19020480.
81. Wang Y., Sui X., Zhao H., Cong L., Li Y., Xin T., Guo M., Hao W. Decreased circular RNA hsa_circ_0001649 predicts unfavorable prognosis in glioma and exerts oncogenic properties in vitro and in vivo. *Gene*. 2018; 676: 117–22. doi: 10.1016/j.gene.2018.07.037.
82. Barbagallo D., Caponnetto A., Brex D., Mirabella F., Barbagallo C., Lauretta G., Morrone A., Certo F., Broggi G., Caltabiano R., Barbagallo G.M., Spina-Purrello V., Ragusa M., Di Pietro C., Hansen T.B., Purrello M. CircSMARCA5 Regulates VEGFA mRNA Splicing and Angiogenesis in Glioblastoma Multiforme Through the Binding of SRSF1. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 194. doi: 10.3390/cancers11020194.
83. Jin P., Huang Y., Zhu P., Zou Y., Shao T., Wang O. Circular RNA circHIPK3 serves as a prognostic marker to promote glioma progression by regulating miR-654/IGF2BP3 signaling. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 503(3): 1570–4. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.07.081.
84. Zhang M., Huang N., Yang X., Luo J., Yan S., Xiao F., Chen W., Gao X., Zhao K., Zhou H., Li Z., Ming L., Xie B., Zhang N. A novel protein encoded by the circular form of the SHPRH gene suppresses glioma tumorigenesis. *Oncogene*. 2018; 37(13): 1805–14. doi: 10.1038/s41388-017-0019-9.
85. Yang M., Li G., Fan L., Zhang G., Xu J., Zhang J. Circular RNA circ_0034642 elevates BATF3 expression and promotes cell proliferation and invasion through miR-1205 in glioma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019; 508(3): 980–5. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.12.052.
86. Lei B., Huang Y., Zhou Z., Zhao Y., Thapa A.J., Li W., Cai W., Deng Y. Circular RNA hsa_circ_0076248 promotes oncogenesis of glioma by sponging miR-181a to modulate SIRT1 expression. *J Cell Biochem*. 2019; 120(4): 6698–6708. doi: 10.1002/jcb.27966.
87. Ding C., Yi X., Wu X., Bu X., Wang D., Wu Z., Zhang G., Gu J., Kang D. Exosome-mediated transfer of circRNA CircNFIX enhances temozolomide resistance in glioma. *Cancer Lett*. 2020; 479: 1–12. doi: 10.1016/j.canlet.2020.03.002.
88. DeOsesano-Pereira C., Machado R.A.C., Chudzinski-Tavassi A.M., Sogayar M.C. Emerging Roles and Potential Applications of Non-Coding RNAs in Glioblastoma. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(7): 2611. doi: 10.3390/ijms21072611.
89. Chen W., Xu X.K., Li J.L., Kong K.K., Li H., Chen C., He J., Wang F., Li P., Ge X.S., Li F.C. MALAT1 is a prognostic factor in glioblastoma multiforme and induces chemoresistance to temozolomide through suppressing miR-203 and promoting thymidylate synthase expression. *Oncotarget*. 2017; 8(14): 22783–99. doi: 10.18632/oncotarget.15199.
90. Mazar G., Levin L., Picard D., Ahmadov U., Carén H., Borkhardt A., Reifemberger G., Lepruvier G., Remke M., Rotblat B. The lncRNA TP73-AS1 is linked to aggressiveness in glioblastoma and promotes temozolomide resistance in glioblastoma cancer stem cells. *Cell Death Dis*. 2019; 10(3): 246. doi: 10.1038/s41419-019-1477-5.
91. Liu Q., Qi C., Li G., Su W. Prediction of the Outcome for Patients with Glioblastoma with lncRNA Expression Profiles. *Biomed Res Int*. 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/5076467>.
92. Wang Q., Li P., Li A., Jiang W., Wang H., Wang J., Xie K. Plasma specific miRNAs as predictive biomarkers for diagnosis and prognosis of glioma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2012; 31(1): 97. doi: 10.1186/1756-9966-31-97.
93. Teplyuk N.M., Mollenhauer B., Gabriely G., Giese A., Kim E., Smolsky M., Kim R.Y., Saria M.G., Pastorino S., Kesari S., Krichevsky A.M. MicroRNAs in cerebrospinal fluid identify glioblastoma and metastatic brain cancers and reflect disease activity. *Neuro Oncol*. 2012; 14(6): 689–700. doi: 10.1093/neuonc/nos074.
94. Roth P., Wischhusen J., Hoppold C., Chandran P.A., Hofer S., Eisele G., Weller M., Keller A. A specific miRNA signature in the peripheral blood of glioblastoma patients. *J Neurochem*. 2011; 118(3): 449–57. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07307.x.
95. Manterola L., Guruceaga E., Gállego Pérez-Larraya J., González-Huarriz M., Jauregui P., Tejada S., Díez-Valle R., Segura V., Samprón N., Barrena C., Ruiz I., Aguirre A., Ayuso A., Rodríguez J., González A., Xipell E., Matheu A., López de Munain A., Tuñón T., Zazpe I., García-Foncillas J., Paris S., Delattre J.Y., Alonso M.M. A small noncoding RNA signature found in exosomes of GBM patient serum as a diagnostic tool. *Neuro Oncol*. 2014; 16(4): 520–7. doi: 10.1093/neuonc/not218.
96. Zhang Y., Ta W.W., Sun P.F., Meng Y.F., Zhao C.Z. Diagnostic and prognostic significance of serum miR-145-5p expression in glioblastoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019; 12(7): 2536–43.

97. Srinivasan S., Patric I.R., Somasundaram K. A ten-microRNA expression signature predicts survival in glioblastoma. *PLoS One*. 2011; 6(3). doi: 10.1371/journal.pone.0017438.
98. Xiao Y., Zhang L., Song Z., Guo C., Zhu J., Li Z., Zhu S. Potential Diagnostic and Prognostic Value of Plasma Circulating MicroRNA-182 in Human Glioma. *Med Sci Monit*. 2016; 22: 855–62. doi: 10.12659/msm.897164.
99. Zhao H., Shen J., Hodges T.R., Song R., Fuller G.N., Heimberger A.B. Serum microRNA profiling in patients with glioblastoma: a survival analysis. *Mol Cancer*. 2017; 16(1): 59. doi: 10.1186/s12943-017-0628-5.
100. Wang Z.Q., Zhang M.Y., Deng M.L., Weng N.Q., Wang H.Y., Wu S.X. Low serum level of miR-485-3p predicts poor survival in patients with glioblastoma. *PLoS One*. 2017; 12(9). doi: 10.1371/journal.pone.0184969.
101. Shi L., Zhang S., Feng K., Wu F., Wan Y., Wang Z., Zhang J., Wang Y., Yan W., Fu Z., You Y. MicroRNA-125b-2 confers human glioblastoma stem cells resistance to temozolomide through the mitochondrial pathway of apoptosis. *Int J Oncol*. 2012; 40(1): 119–29. doi: 10.3892/ijo.2011.1179.
102. Huang B.S., Luo Q.Z., Han Y., Huang D., Tang Q.P., Wu L.X. MiR-223/PAX6 Axis Regulates Glioblastoma Stem Cell Proliferation and the Chemo Resistance to TMZ via Regulating PI3K/Akt Pathway. *J Cell Biochem*. 2017; 118(10): 3452–61. doi: 10.1002/jcb.26003.
103. Gwak H.S., Kim T.H., Jo G.H., Kim Y.J., Kwak H.J., Kim J.H., Yin J., Yoo H., Lee S.H., Park J.B. Silencing of microRNA-21 confers radio-sensitivity through inhibition of the PI3K/AKT pathway and enhancing autophagy in malignant glioma cell lines. *PLoS One*. 2012; 7(10). doi: 10.1371/journal.pone.0047449.
104. Sun J., Ye L., Wang C., Li N., Wang D., Li X. MicroRNA-128 increases glioma cell radio-sensitivity by suppressing senescent evasion through oncogene Bmi-1. *Int J Clin Exp Pathol*. 2018; 11(3): 1423–30.
105. Yue X., Lan F., Xia T. Hypoxic Glioma Cell-Secreted Exosomal miR-301a Activates Wnt/ β -catenin Signaling and Promotes Radiation Resistance by Targeting TCEAL7. *Mol Ther*. 2019; 27(11): 1939–49. doi: 10.1016/j.yth.2019.07.011.
106. Zhang Y., Ta W.W., Sun P.F., Meng Y.F., Zhao C.Z. Diagnostic and prognostic significance of serum miR-145-5p expression in glioblastoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019; 12(7): 2536–43.
107. Zhou Q., Liu J., Quan J., Liu W., Tan H., Li W. MicroRNAs as potential biomarkers for the diagnosis of glioma: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Sci*. 2018; 109(9): 2651–9. doi: 10.1111/cas.13714.
108. Yue X., Lan F., Hu M., Pan Q., Wang Q., Wang J. Downregulation of serum microRNA-205 as a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma. *J Neurosurg*. 2016; 124(1): 122–8. doi: 10.3171/2015.1.JNS141577.
109. Yang C., Wang C., Chen X., Chen S., Zhang Y., Zhi F., Wang J., Li L., Zhou X., Li N., Pan H., Zhang J., Zen K., Zhang C.Y., Zhang C. Identification of seven serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as potential noninvasive biomarkers for malignant astrocytomas. *Int J Cancer*. 2013; 132(1): 116–27. doi: 10.1002/ijc.27657.
110. Shao N., Wang L., Xue L., Wang R., Lan Q. Plasma miR-454-3p as a potential prognostic indicator in human glioma. *Neurol Sci*. 2015; 36(2): 309–13. doi: 10.1007/s10072-014-1938-7.
111. Sun J., Liao K., Wu X., Huang J., Zhang S., Lu X. Serum microRNA-128 as a biomarker for diagnosis of glioma. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(1): 456–63.
112. Tang H., Liu Q., Liu X., Ye F., Xie X., Xie X., Wu M. Plasma miR-185 as a predictive biomarker for prognosis of malignant glioma. *J Cancer Res Ther*. 2015; 11(3): 630–4. doi: 10.4103/0973-1482.146121.
113. ParvizHamidi M., Haddad G., Ostadrahimi S., Ostadrahimi N., Sadeghi S., Fayaz S., Fard-Esfahani P. Circulating miR-26a and miR-21 as biomarkers for glioblastoma multiform. *Biotechnol Appl Biochem*. 2019; 66(2): 261–5. doi: 10.1002/bab.1707.
114. Wang J., Che F., Zhang J., Zhang M., Xiao S., Liu Y., Zhou L., Su Q., You C., Lu Y., Heng X. Diagnostic and Prognostic Potential of Serum Cell-Free microRNA-214 in Glioma. *World Neurosurg*. 2019; 125: 1217–25. doi: 10.1016/j.wneu.2019.02.009.
115. Akers J.C., Hua W., Li H., Ramakrishnan V., Yang Z., Quan K., Zhu W., Li J., Figueroa J., Hirshman B.R., Miller B., Piccioni D., Ringel F., Komotar R., Messer K., Galasko D.R., Hochberg F., Mao Y., Carter B.S., Chen C.C. A cerebrospinal fluid microRNA signature as biomarker for glioblastoma. *Oncotarget*. 2017; 8(40): 68769–79. doi: 10.18632/oncotarget.18332.

Поступила/Received 29.09.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 21.02.2022

Принята к публикации/Accepted 12.03.2022

ABOUT THE AUTHORS

Anastasiya I. Ryabova, MD, PhD, Senior Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-1138-2012. Author ID (Scopus): 57190937361. ORCID: 0000-0002-7171-8728.

Valery A. Novikov, MD, DSc, Leading Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Oncology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-9057-2012. Author ID (Scopus): 7402005343. ORCID: 0000-0003-0364-0831.

Evgeny L. Choyznzonov, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Head of the Department of Oncology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): P-1470-2014. Author ID (Scopus): 6603352329. ORCID: 0000-0002-3651-0665.

Lyudmila V. Spirina, MD, DSc, Leading Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Acting Head of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course in Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID: A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500. ORCID: 0000-0002-5269-736X.

Natalia V. Yunusova, MD, DSc, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course in clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). E-mail: Bochkarevanv@oncology.tomsk.ru. Researcher ID: C-9275-2012. Author ID (Scopus): 8354141400. ORCID: 0000-0003-4595-4177.

Anastasiya A. Ponomaryova, PhD, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID: D-8734-2012. Author ID (Scopus): 37116096000. ORCID: 0000-0003-2060-4840.

Svetlana N. Tamkovich, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Medicine, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, Novosibirsk State University (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): G-9790-2013. Author ID (Scopus) 7801643574. ORCID: 0000-0001-7774-943X.

Olga V. Gribova, MD, DSc, Senior Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-7796-2012. Author ID (Scopus): 55917908000. ORCID: 0000-0003-1696-427X.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Anastasiya I. Ryabova: conceptualization, preparation of manuscript.

Valery A. Novikov: conceptualization, revision for important intellectual content.

Evgeny L. Choyzonov: revision for important intellectual content.
Lyudmila V. Spirina: preparation of manuscript.
Natalia V. Yunusova: preparation of manuscript, final approval of the version of the manuscript for publication.
Anastasiya A. Ponomaryova: preparation of manuscript.
Svetlana N. Tamkovich: revision for important intellectual content.
Olga V. Gribova: preparation of manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Рябова Анастасия Игоревна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия). SPIN-код: 3128-2940. Researcher ID (WOS): D-1138-2012. Author ID (Scopus): 57190937361. ORCID: 0000-0002-7171-8728.

Новиков Валерий Александрович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Томск, Россия). SPIN-код: 9350-3617. Researcher ID (WOS): D-9057-2012. Author ID (Scopus): 7402005343. ORCID: 0000-0003-0364-0831.

Чойзонзов Евгений Лхаматренович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; заведующий кафедрой онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Томск, Россия). SPIN-код: 2240-8730. Researcher ID (WOS): P-1470-2014. Author ID (Scopus): 6603352329. ORCID: 0000-0002-3651-0665.

Спирина Людмила Викторовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; исполняющий обязанности заведующей кафедрой биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Томск, Россия). SPIN-код: 1336-8363. Researcher ID (WOS): A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500. ORCID: 0000-0002-5269-736X.

Юнусова Наталья Валерьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Томск, Россия). E-mail: Bochkarevanv@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 3513-1888. Researcher ID (WOS): C-9275-2012. Author ID (Scopus): 8354141400. ORCID: 0000-0003-4595-4177.

Пономарёва Анастасия Алексеевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия). SPIN-код: 3185-5606. Researcher ID (WOS): D-8734-2012. Author ID (Scopus): 37116096000. ORCID: 0000-0003-2060-4840.

Тамкович Светлана Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной медицины, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН; доцент кафедры клинической биохимии, ФГБОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (Новосибирск, Россия). SPIN-код: 6462-3700. Researcher ID (WOS): G-9790-2013. Author ID (Scopus): 7801643574. ORCID: 0000-0001-7774-943X.

Грибова Ольга Вячеславовна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия). SPIN-код: 1405-1669. Researcher ID (WOS): D-7796-2012. Author ID (Scopus): 55917908000. ORCID: 0000-0003-1696-427X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Рябова Анастасия Игоревна: разработка концепции, подготовка рукописи.

Новиков Валерий Александрович: концептуализация.

Чойзонзов Евгений Лхаматренович: подготовка рукописи.

Спирина Людмила Викторовна: подготовка рукописи.

Юнусова Наталья Валерьевна: подготовка рукописи, окончательное утверждение версии рукописи к публикации.

Пономарёва Анастасия Алексеевна: подготовка рукописи.

Тамкович Светлана Николаевна: доработка таблицы и рисунка.

Грибова Ольга Вячеславовна: подготовка рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: *Водолажский Д.И., Нехаева Т.Л., Балдуева И.А.* Циркулирующие опухолевые клетки в онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 117–125. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-117-125

For citation: *Vodolazhsky D.I., Nekhaeva T.L., Baldueva I.A.* Circulating tumor cells in oncology. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 117–125. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-117-125

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ В ОНКОЛОГИИ

Д.И. Водолажский, Т.Л. Нехаева, И.А. Балдуева

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: dvodolazhsky@gmail.com

Аннотация

Цель исследования. В рамках настоящего исследования предпринята попытка выявления общих закономерностей наличия детектируемых количеств циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), отрицательно коррелирующих с общей выживаемостью пациентов и их способностью образовывать метастазы в отдаленных тканях и органах. Обобщение биологических свойств и взаимодействие ЦОК с другими типами клеток во время интравазации, циркуляции в кровотоке, экстравазации и колонизации, являющихся многогранными и включающими в себя изменения фенотипов ЦОК, которые регулируются многими сигнальными молекулами, включая цитокины и хемокины. **Материал и методы.** Нами проведен поиск литературы в электронных базах данных PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Web of Science (https://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch), Cancer Tomorrow (<https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>) и Global cancer observatory (<https://gco.iarc.fr>), опубликованных в период с января 1994 г. по май 2021 г., с использованием ключевых слов: «circulating tumor cells», «biomarker» и «metastasis». **Результаты.** Мониторинг уровня ЦОК в крови может иметь исключительные прогностические и мониторинговые последствия. Жидкостная биопсия для выявления ЦОК и их продуктов может быть использована для диагностики онкологических заболеваний в общей популяции, а также для прогнозирования биомаркеров у онкологических больных. С развитием более совершенных технологий детекции ЦОК и клинических испытаний в крупных проспективных исследованиях можно ожидать увеличения клинической полезности ЦОК. Понимание их биологии и взаимодействия с другими типами клеток, особенно с иммунной системой, и развитие иммунотерапии также дают большие перспективы для новых терапевтических возможностей. **Заключение.** ЦОК в настоящее время рутинно не используются в клинической практике, но исследования в этой области продолжают накапливать клиническую валидность и соответствующие инструментальные подходы. Это связано с возможностью мониторинга состояния пациентов с использованием методов жидкостной биопсии при использовании ЦОК. Мы представляем обзор текущей клинической ценности ЦОК в качестве биомаркера, а также основные концепции и исследования, изучающие клиническую полезность ЦОК.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, злокачественные новообразования, маркеры малигнизации, внеклеточная ДНК (вкДНК), эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП).

CIRCULATING TUMOR CELLS IN ONCOLOGY

D.I. Vodolazhsky, T.L. Nekhaeva, I.A. Baldueva

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

68, Leningradskaya St., 197758, St. Petersburg, Russia. E-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Abstract

Purpose of the study: to identify general patterns in the presence of detectable amounts of circulating tumor cells (CTCs) negatively correlated with the overall survival of patients and their ability to form metastases in distant tissues and organs, as well as to summarize the biological properties and interactions of CTCs with other cell types during intravasation, circulation, extravasation, and colonization, which involve changes in CTC phenotypes that are regulated by many signaling molecules, including cytokines and chemokines. **Material and Methods.** We analyzed publications available from PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Web of Science (https://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch), Cancer Tomorrow (<https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>), and Global cancer observatory (<https://gco.iarc.fr>) databases between 2000–2021 using the keywords “circulating tumor cells”, “biomarker”, “metastasis” and others. **Results.** Monitoring of blood levels of CTCs can have exceptional prognostic and monitoring implications. Liquid biopsy to detect CTCs and their progeny can be used to diagnose cancer in the general population, as well as to predict biomarkers in cancer patients. The improvement in the CTC detection technology and clinical trials in large prospective studies will increase the clinical usefulness of these marker cells. Understanding of their biology and interactions with other cell types, especially with the immune cells, and the development of CTC immunotherapy also holds great promise in cancer therapy. **Conclusion.** Currently, CTCs are not routinely used in clinical practice, but research in this area continues to accumulate the data on the clinical validity of CTC detection. This is due to the feasibility of monitoring the patient's condition using liquid biopsy for the CTC detection. We present an overview of the clinical value of CTCs as a biomarker, as well as key studies examining the clinical usefulness of CTCs.

Key words: circulating tumor cells (CTCs), malignant neoplasms, malignancy markers, extracellular DNA (cfDNA), epithelial-mesenchymal transition (EMT), mesenchymal-epithelial transition (MET).

Введение

Метастазирование опухолей является причиной не менее 90 % летальных исходов при развитии онкологических заболеваний, что обуславливает интерес клинических онкологов к прогностической оценке этого явления [1]. В процессе метастазирования раковые клетки распространяются из первичной опухоли, внедряются в ткани и образуют новую опухоль в другой локализации. Поэтому процессы метастазирования сопровождаются появлением ЦОК в периферической крови, которые выявляются как единичные клетки или кластерные клеточные образования [2]. О наличии ЦОК в периферической крови впервые сообщил австралийский врач Т. Эшворт в 1869 г. при изучении материала, полученного при вскрытии пациента с метастатическими подкожными опухолевыми очагами, расположенными в передней стенке грудной клетки и брюшной полости [3].

Современные методы исследования предоставили дополнительные доказательства, подтверждающие концепцию, согласно которой онкологические заболевания характеризуются всеми признаками дарвиновской эволюции: высокая изменчивость и отбор наиболее жизнеспособных клонов клеток, эффективное избегание иммунного ответа [4]. Анализ свойств опухолевых биоптатов, диагностированных много лет назад, часто оказывался причиной малоэффективных клинических решений. Достижения в методах детекции и молекулярно-биологических исследованиях ЦОК позволят оптимизировать решение этой проблемы и разработать терапевтические процедуры на основе мониторинга эволюции опухолевых клеток практически в режиме реального

времени [5]. Практика применения «жидкостной клеточной биопсии» в качестве диагностического, прогностического и тераностического инструмента в клинических исследованиях представляется перспективным подходом ввиду неинвазивности и возможности осуществлять мониторинг состояния опухолей в режиме «Real-Time». Данный подход потенциально позволит обнаруживать изменения генома опухолевых клеток, которые могут служить мишенями для применения и корректировки применения противоопухолевой терапии [6].

По данным сайта Grantome при Национальном Институте Здравоохранения США (NIH USA), в области исследования ЦОК ежегодно финансируются более 60 научных разработок ([https://grantome.com/search?q=circulating %20tumor %20cells](https://grantome.com/search?q=circulating%20tumor%20cells)) с двукратным увеличением количества грантов по этому направлению в интервале с 2006 до 2020 г. По данным ресурса PubMed ([https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=circulating %20tumor %20cells&timeline=expanded](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=circulating%20tumor%20cells&timeline=expanded)), до 1982 г. количество публикаций по тематике «Circulating Tumor Cells» составляло менее 100 публикаций в год, а уже к 2019 г. наблюдался их почти экспоненциальный рост – до 1696 публикаций в год. Эти данные свидетельствуют о большой актуальности и динамичном развитии тематики ЦОК в современной онкологии.

Материал и методы

Нами проведен поиск литературы в электронных базах данных «National Center for Biotechnology Information Search database (PubMed/Medline)», «Grantome» (<https://grantome.com/>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), Web of Science (https://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch), Cancer

Tomorrow (<https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>) и Global cancer observatory (<https://gco.iarc.fr>), опубликованных в период с января 1994 по май 2021 г, с использованием ключевых слов: «circulating tumor cells», «biomarker» и «metastasis».

Циркулирующие опухолевые клетки

ЦОК представляют собой опухолевые клетки, выделяемые в сосудистую сеть из первичного злокачественного новообразования, потенциально представляющие собой исходные клетки («семена») для последующего метастазирования. По сравнению с больными, они крайне редко встречаются у здоровых людей и пациентов с доброкачественными опухолями [7]. Клинические данные указывают на то, что у пациентов с метастатическими поражениями ЦОК, поддающиеся препаративному получению, встречаются значительно чаще, но частота их встречаемости в большинстве случаев варьирует в широких пределах: от ~1–10 до 800 ЦОК на 7,5 мл цельной крови [7, 8]. Хотя, и это необходимо иметь в виду, иногда ЦОК встречаются в количествах, превышающих 1000 ЦОК/7,5 мл крови. Однако доля таких пациентов в общей выборке в большинстве случаев не превышает 5 % [7–9]. Как правило, ЦОК определяются с использованием моноклональных антител (mAb), меченных флуоресцентными красителями, как клетки, положительные по маркерам цитокератинов, молекуле адгезии эпителиальных клеток (Epithelial Cell Adhesion Molecule; EpCAM, CD326) и негативные по CD45 (Leukocyte Common Antigen – LCA), имеющие интактное жизнеспособное ядро (положительное окрашивание по DAPI) [10]. Однако EpCAM и другие маркеры не всегда экспрессируются на поверхности ЦОК вследствие эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) [11]. Известны случаи обнаружения не опухолевых эпителиоподобных клеток, циркулирующих в крови пациентов с простатитом или пациентов, перенесших операцию [12]. С методической точки зрения гетерогенность популяции ЦОК является серьезной проблемой, и это привело к альтернативным стратегиям препаративных методов получения ЦОК, таким как микрофлюидные технологии, которые не зависят от экспрессии каких-либо опухолевых маркеров, которые использовались на ранних этапах исследований [13].

Попадая в кровоток, ЦОК способны вызывать новые метастатические образования [14]. ЦОК способны выживать в кровотоке, противостоять биофизическим и клеточно-опосредованным воздействиям и достигать конечного пункта назначения. Они внедряются в преметастатическую нишу, уже подготовленную мессенджерами из опухолевых клеток. В этой нише ЦОК находятся в состоянии покоя в течение неопределенного периода, пока некоторые еще малоизвестные сигналы не вызовут их пробуждение [15].

Гетерогенность ЦОК

ЦОК – чрезвычайно редкие и гетерогенные клеточные элементы [16]. Их количественная оценка в периферической крови у онкологических больных весьма вариабельна и, как правило, колеблется в диапазоне от единиц до сотен клеток на 7,5 мл периферической крови: этот показатель зависит от применяемых методов селекции и детектируемых маркеров поверхности ЦОК [17]. А. Marchetti et al. [18] продемонстрировано, что кроме «классических» ЦОК также встречаются неопластические клетки, не отвечающие всем критериям Veridex (также известные как «подозрительные объекты»), что подтверждает возможность существования и других фенотипов гетерогенной популяции ЦОК. Ими был разработан протокол для извлечения обогащенных образцов ЦОК из картриджа платформы Veridex (в настоящее время «Janssen Diagnostics»). В результате установлено, что у 37 пациентов с немелкоклеточным раком легкого (Non Small Cell Lung Cancer, NSCLC) распространенность частот аллельных вариантов генетических мутаций варьировала от 0,02 до 24,79 %, со средним значением 6,34 %. Полученные данные наглядно продемонстрировали гетерогенность популяции ЦОК в образцах как одного, так и разных пациентов.

Одним из стимулов для использования ЦОК в диагностике онкологических заболеваний служит тот факт, что пациенты с различными типами опухолей не проходят всестороннее тестирование в режиме мониторинга в соответствии с рекомендациями The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) и не могут получить своевременную коррекцию лечения в соответствии с изменяющимися свойствами опухолевых клеток. ЦОК могут служить источником биологического материала для подобного рода исследований практически в режиме реального времени. Традиционный клинический анализ крови значительно улучшает выполнение рекомендаций по тестированию NCCN и в сочетании с тестом «CELLSEARCH® CTC Test» позволяет обеспечить выбор оптимального курса лечения.

Генетическая гетерогенность ЦОК является отражением эволюции генома, которая часто происходит во время прогрессирования опухолей, создавая вариабельность в первичных опухолях, а также гетерогенность между первичной карциномой и метастазами. Распределения рисков и рекомендации по лечению пациентов основаны на характеристиках первичной опухоли, однако генетические различия между диссеминированными опухолевыми клетками и первичной карциномой могут отрицательно влиять на эффективность лечения и выживаемость пациентов [19]. Это событие может приводить к образованию солидных опухолей, состоящих из множества клонов, которые различаются по транскриптомному, протеомному и функциональному составу. Генетическая гетеро-

генность наиболее агрессивных опухолей, таких как тройной негативный рак молочной железы, может быть весьма выраженной. Экспериментально доказано, что ни одна отдельно взятая клетка этого типа опухолей не имела одинакового геномного профиля, выявляемого секвенированием [20]. Гетерогенность субпопуляций ЦОК может быть реализована с использованием механизмов клонального полиморфизма, отбора и адаптивности клеток солидных опухолей [21]. Действительно, ЦОК могут проявлять признаки генетической гетерогенности со временем, начиная с момента их образования, с эпителио-подобным фенотипом, переходящим в мезенхимо-подобное состояние и наоборот, через процессы, известные как ЭМП $\leftrightarrow$ МЭП [22]. ЭМП может наблюдаться в различных переходных состояниях. Эти состояния ЭМП довольно различны и могут быть обнаружены с использованием маркеров клеточной поверхности и полногеномным секвенированием РНК из отдельных клеток. ЭМП – гибридные ЦОК могут обладать самым высоким метастатическим потенциалом с различной степенью агрессивности благодаря своим молекулярно-биологическим особенностям [23]. Приведенные выше данные предполагают, что изучение небольшого количества биомаркеров в одной или немногих временных точках, например при первой диагностике и/или рецидиве, могут дать очень неполную оценку состояния опухоли или ложно-отрицательный результат. Мониторинг эволюции и прогрессирования опухоли посредством своевременного и точного обнаружения нескольких маркеров является современным требованием для организации оптимального лечения онкологических заболеваний. Исследования свойств ЦОК дают такую возможность, отражая изменяющиеся свойства опухоли. Некоторые из ЦОК имеют признаки стволовых клеток (например, CD44⁺ или ABC-G2-позитивность), другие имеют мезенхимо-подобные характеристики (например, маркеры N-кадгерина) или фенотипы опухолевых гибридов. Некоторые подгруппы ЦОК с точки зрения метастазирования могут быть более агрессивными по сравнению с другими. Другие ЦОК могут экспрессировать эндотелиальные маркеры, и они воспроизводят сосудистую мимикрию (васкулогенную мимикрию), явление, присутствующее в некоторых раковых опухолях человека, связанное с агрессивным развитием заболевания [24].

Методы получения циркулирующих опухолевых клеток

Процедура препаративного получения ЦОК основана на различиях в биохимических или биофизических свойствах между ЦОК и клетками крови. Различия в экспрессии антигенов клеточной поверхности между ЦОК и лейкоцитами позволяют осуществлять положительный отбор ЦОК и отрицательный отбор (удаление) лейкоцитов. При карциномах наиболее часто используемым

антигеном для положительной иммуноселекции ЦОК служит маркер EpCAM, который экспрессируется большинством клеток карцином. Система «Cellsearch®System» является единственной методикой детекции ЦОК, утвержденной Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (US FDA) [25]. Эта система использует EpCAM-положительную иммуноселекцию в качестве этапа получения ЦОК. Биофизические подходы для селекции ЦОК основаны на различиях в размерах клеток, их деформируемости, биоэлектрических характеристиках или различиях в плавучей плотности между ЦОК, эритроцитами и лейкоцитами. После обогащения ЦОК проверка идентичности полученных клеток обычно проводится с использованием методов визуализации с высоким разрешением в сочетании с иммуно-цито-флуоресцентным окрашиванием выбранных маркеров. Более сложные методы включают в себя высокопроизводительную геномную, транскриптомную или протеомную характеристику изолированных клеток и поэтому в рамках данного обзора не рассматриваются. Различные методы позволяют осуществлять препаративное получение ЦОК с различными фенотипами, при этом чувствительность и специфичность этих методов не однородна и варьирует в зависимости от типа заболевания. Также нельзя исключать того, что при различных заболеваниях ЦОК имеют различные фенотипы и свойства, что находит свое отражение в видимой чувствительности различных методов [26].

В работе G. Kallergi et al. [27] проведено сравнительное модельное исследование эффективности различных методов разделения перевиваемых клеточных линий рака молочной железы (MCF7, SKBR3 и MDA MB-231):

- в градиентах плотности фиколла;
- путем лизиса эритроцитов (гемолиз);
- методом положительной иммуномагнитной сепарации на шариках, покрытых антителами к EpCAM («DynaI-anti-EpCAM»);
- отрицательной системы иммуномагнитной сепарации (с использованием антител к CD45);
- «CELLSEARCH®Circulating Tumor Cell (CTC) Test» и «ISET®Technology».

Степень эффективности получения тестируемых клеток при использовании гемолиза и градиента фиколла в этой работе составила 39 и 24 % соответственно. Препаративные методы получения перевиваемых линий раковых клеток с использованием положительных иммуномагнитных методов селекции ранжировались от худшего к лучшему результатам следующим образом: «MyItenyi Biotec» анти-CD45 (24 %); «DynaI-anti-EpCAM» (75 %); «Dynabeads-anti-CD45» (Protein tyrosine phosphatase, receptor type, C (97 %)). Выделение ЦОК из образцов крови с использованием систем «CELLSEARCH® CTC Test» и «ISET®Technology» показало, что каче-

ство выделения для «CELLSEARCH® CTC Test» и «ISET®Technology» составляло 52 и 95 % соответственно. При этом необходимо учитывать, что лабораторные условия тестирования были «идеальными»: в реальных условиях развития опухолевого процесса популяции ЦОК имеют динамически гетерогенные характеристики и на это накладываются эффекты ЭМП↔МЭП, что неизбежно отрицательно скажется на методах иммуномагнитной сепарации. По результатам этого исследования гранулы «Dynal-anti-CD45» в модельных условиях имели лучшую скорость препаративного получения ЦОК по сравнению с другими иммуномагнитными методами, но самый большой процент извлечения клеток продемонстрировал метод «ISET®Technology» (95 %). Скорость извлечения и специфичность метода «ISET®Technology» были выше по сравнению с «CELLSEARCH® CTC Test». В реальных условиях образец крови человека, кроме основных форменных элементов крови, обычно содержит небольшое количество других циркулирующих редких клеток, включая нормальные эпителиальные клетки, эпителиально-атипичные клетки, эндотелиальные клетки и стволовые гемопоэтические клетки. Также содержатся клетки, зависящие от физиологического состояния пациента: клетки плода у беременных и перенесших беременность женщин. Поэтому диагностическая проблема состоит в том, чтобы с высокой специфичностью получить редкие ЦОК среди множества других клеток в данном образце крови [28].

CELLSEARCH® CTC

Наиболее известной и валидной системой детекции ЦОК на сегодняшний день является «CELLSEARCH®CTC Test» от производителя «Janssen Diagnostics» (бывшая Veridex), которая позволяет получать ЦОК методом положительной иммуномагнитной сорбции с использованием антител. Детекция и подсчет клеток производятся в полуавтоматическом микроскопе («CELLTRACKS ANALYZER II® System»). Использование метода количественной оценки ЦОК в качестве диагностического теста с использованием платформы «CELLSEARCH® CTC Test» от Veridex было одобрено US FDA для клинического использования при диагностике больных раком молочной железы [29], колоректальным раком [30] и раком предстательной железы [31]. В качестве маркеров ЦОК в этой платформе традиционно используются EpCam, Cytokeratin 8, 18 и/или 19, CD45 [32]. Положительный тест (более 5 обнаруженных ЦОК для метастатического рака молочной железы и простаты и более 3 ЦОК – для метастатического колоректального рака на 7,5 мл крови) интерпретируется как предиктивный фактор уменьшения показателя выживаемости без прогрессирования заболевания и снижения показателя общей выживаемости у обследованных

пациентов. Результаты теста «CELLSEARCH® CTC Test» должны использоваться в сочетании с доступной клинической информацией, полученной с использованием других диагностических тестов [32, 33]. К недостаткам этой платформы можно отнести возможность получения ложно-отрицательных или просто заниженных результатов в тех случаях, когда ЦОК не несут на своей поверхности маркеры, которые таргетируются антителами, используемыми в этом тесте. Подходы, основанные на биофизических свойствах клеток (размеры, плавучая плотность), в данном случае предпочтительнее, т. к. спектр клеток, извлекаемых с использованием этих методов, не ограничен какими-то маркерами на поверхности клеток. К недостаткам этой платформы можно также отнести относительно низкую чувствительность детекции и сепарации ЦОК при использовании системы «CellSearch», что часто не позволяет детектировать ЦОК. Поэтому количественный выход ЦОК из системы «CellSearch» обычно очень низок и имеет низкую чистоту [34, 35].

Микрофлюидная ISET®Technology

Микрофлюидная «ISET®Technology» (ISET: Isolation by Size of Tumor cells) разработана «Rare-cells Device and Consumables». Этот метод основан на наблюдении, что опухолевые клетки всех видов солидных раков крупнее клеточных элементов крови (лейкоцитов и эритроцитов). Однако фильтрация крови для получения редких циркулирующих опухолевых клеток без потерь и без повреждения клеток является сложной задачей. В «ISET®Technology» используются специально разработанное устройство и специально разработанные фильтры, которые позволяют удалять все эритроциты и большинство лейкоцитов из исследуемого образца, что делает последующий процесс детекции ЦОК значительно более простым и точным. Эффективность использования «ISET®Technology» была подтверждена более чем 50 независимыми научными исследованиями (доступными на сайте www.rarecells.com), на более чем 2 000 пациентах с различными видами онкологических заболеваний (рак легких, рак молочной железы, рак простаты, рак печени, рак почки, кожная и увеальная меланома, рак поджелудочной железы, саркома и т. д.) и на более чем 600 участниках контрольной группы (без онкологических заболеваний). ЦОК присутствуют в образцах крови у пациентов со всеми типами солидных опухолей. «ISET®Technology» позволяет идентифицировать все типы ЦОК, без потерь, без повреждений и с высокой чистотой и жизнеспособностью [36].

Сравнительная оценка технологий

«CellSearch» и «ISET» при детекции ЦОК

М. Tamminga et al. [37] проведено сравнительное исследование ЦОК с использованием

платформ «CellSearch» и «ISET» у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Для увеличения чувствительности детекции применялись препараты, полученные с использованием диагностического лейкофереза (ДЛФ). Авторы обратили внимание на то, что платформа «CellSearch» может обрабатывать только ограниченные объемы ДЛФ (~2 мл). Поэтому ими был разработан протокол для подсчета ЦОК в продуктах ДЛФ с использованием платформы «ISET». Они сравнили количество детектируемых ЦОК между платформами «CellSearch®» и «ISET». С адаптированным протоколом «ISET» можно было обрабатывать 10 мл ДЛФ. «CellSearch» в данном исследовании позволял обнаружить ЦОК в 2×10^8 лейкоцитов (в среднем 2 мл). Авторы отмечают, что платформа «ISET» успешно обработала все продукты ДЛФ. Всего было обработано 10–20 мл ДЛФ. «ISET» позволила детектировать ЦОК в 88 % образцов по сравнению с 69 % ($p < 0,05$) с использованием платформы «CellSearch». «ISET» также позволила детектировать ~в 4 раза большее количество ЦОК в одних и тех же пробах (медианное значение ЦОК «ISET» клеток/мл равно 4, медианное значение ЦОК для CellSearch клеток/мл равно 0,9). Клетки, положительные по маркерам EpCAM в пересчете на 1 мл, были обнаружены в одинаковых количествах обоими методами. В целом, платформа «ISET» позволила обработать большие объемы клеток и детектировать большее количество ЦОК по сравнению с платформой «CellSearch».

AccuCyte® Sample Preparation System («RareCyte»)

Относительно недавно для детекции ЦОК появилась исследовательская платформа «RareCyte» [38, 39]. В платформе «RareCyte» реализованы увеличенные возможности для получения ЦОК с более детализированной фенотипической характеристикой подтипов ЦОК и молекулярного анализа отдельных клеток. В этом отношении «RareCyte» представляет собой «новое поколение» клеточных технологий в жидкой биопсии. Для идентификации и анализа ЦОК «RareCyte» разработала интегрированный процесс подготовки образцов, визуализации и поиска отдельных клеток. Первый шаг в этом процессе «AccuCyte®» (центрифугирование клеток в градиенте плотности) позволяет разделить, собрать и перенести на слайд фракцию ядросодержащих клеток крови, которая содержит ЦОК, и провести иммуно-флуоресцентное окрашивание, идентификацию и отбор отдельных клеток для последующего анализа. Сопоставление основных характеристик платформы «RareCyte» с «золотым стандартом» детекции ЦОК (платформа «CellSearch») на одних и тех же образцах крови продемонстрировало их сопоставимость: в образцах крови пациентов количество детектируемых ЦОК в большинстве случаев не превышало значения 200 клеток в 7,5 мл крови у пациентов с колорек-

тальным раком, раком предстательной и молочной железы. С использованием этой же платформы С.А. Blau et al. [40] исследовано количество ЦОК в крови одной пациентки с метастатическим трипл-негативным раком молочной железы (клинический случай). В статье исходное количество ЦОК в периферической крови пациентки до начала проведения терапевтических процедур приводится равным 1500 ЦОК/мл, однако на графике указывается равным $1,5 \times 10^{-3}$ клеток/мл. Отсутствие табличных данных не позволяет прояснить эти существенные расхождения. В другой работе с использованием этой же платформы [9] данные о количестве клеток приводятся уже в представлении количества ЦОК/7,5 мл крови. В данной работе более чем в 95 % случаев (20/21) этот показатель не превышал значения 300 ЦОК/7,5 мл (или 40 клеток/мл), и только у одного пациента этот показатель превышал значение 3000 ЦОК/7,5 мл периферической крови. Эти данные наглядно демонстрируют уже ранее приводимые нами данные о том, что количественные показатели содержания ЦОК варьируют в очень широком динамическом диапазоне, но в подавляющем большинстве случаев не превышают значения 300 ЦОК/7,5 мл периферической крови у пациентов с онкологическими заболеваниями. Этот же вывод подтверждается в работе [41], в которой авторы приходят к заключению о том, что ЦОК детектируются у 75 % пациентов с онкологическими заболеваниями, при этом количественные показатели детекции ЦОК имеют медианное значение 2,5 ЦОК/7,5 мл с варьированием в диапазоне от 0 до 170 ЦОК/7,5 мл.

Клинические аспекты использования ЦОК

W.C. Chou et al. [42] проанализирована возможность создания прогностической модели с использованием количественных характеристик циркулирующих опухолевых клеток для прогнозирования результатов выживания у пациентов с метастатическим колоректальным раком. Авторы использовали протоколы негативной селекции для удаления эритроцитов (лизис) и лейкоцитов (CD45+ селекция) с последующей проточной цитометрией для количественной идентификации ЦОК. Было продемонстрировано, что ЦОК были обнаружены у всех пациентов, и средний показатель количества ЦОК составлял 30,8 /мл (при диапазоне 5,8–431,3 ЦОК/мл). Медиана общей выживаемости (Overall Survival, OS) и безрецидивной (Progression Free Survival, PFS) составили 37,1 и 13,3 мес соответственно у пациентов с количеством ЦОК ≤ 30 /мл, в то время как медиана OS и PFS составили 14,9 и 5,1 мес соответственно у пациентов с ЦОК > 30 /мл ($p < 0,001$). Прогностическая модель, использующая ЦОК в сочетании с другими независимыми клиническими переменными, позволила еще больше дискриминировать пациентов на «хорошие» и «плохие» прогностические группы. Медиана OS и

PFS составляли 32,4 и 11,5 мес в «хорошей» прогностической группе и 5,4 и 2,7 мес соответственно в «плохой» прогностической группе.

D. Boral et al. [43] проведено исследование молекулярных характеристик транскриптомов ЦОК у больных раком молочной железы и их предиктивной роли с точки зрения образования метастазов головного мозга. Для получения и идентификации ЦОК применяли как рутинно используемую платформу «CellSearch®», так и разработанный авторами мультипараметрический препаративный метод с использованием проточной цитофлуориметрии (FACS Aria II, BD Biosciences), состоящий из 3 последовательных этапов: дискриминации и удаления мертвых клеток, удаления клеток, обычно присутствующих в периферической крови, с использованием антител, и положительного отбора PanCK+ (эпителиальных) или CD44+/CD24- ЦОК с признаками «стволовости». Исследования ЦОК необходимы для ранней идентификации, мониторинга и оценки ответа на эффективность лечения метастазов рака молочной железы головного мозга (breast cancer brain metastasis, BCBM). С использованием комплексного анализа транскриптомов ЦОК авторами обнаружена уникальная «сигнатура генов циркулирующих опухолевых клеток», которая отличается от первичных тканей рака молочной железы. Дальнейшее исследование сигнатур генов ЦОК позволило идентифицировать сигнальные пути, связанные с ЦОК BCBM, которые могут играть роль в потенцировании BCBM. По результатам исследования предложены биомаркеры ЦОК и сигнальные пути, вовлеченные в образование BCBM, которые могут быть использованы в качестве инструмента скрининга для обнаружения микрометастазов головного мозга либо для принятия рациональных решений о лечении и мониторинга терапевтического ответа у пациентов с BCBM.

Заключение

Клиническая практика давно испытывает потребность использования в онкологии малоинвазивных маркеров малигнизации, метастазирования и чувствительности/устойчивости к используемым терапевтическим схемам лечения. Всем этим тре-

бованиям потенциально удовлетворяют малоинвазивные методы детекции, к которым относятся ЦОК и вкДНК. Однако в силу небольших концентраций содержания вышеупомянутых маркеров в биологических жидкостях внедрение этих маркеров в клиническую практику происходит медленно. Это может объясняться несколькими причинами: существует большое количество платформ, описанных для детекции и получения ЦОК без консенсуса относительно идеального технического подхода; множественность потенциальных биомаркеров для оценки опухолевого потенциала, высокая стоимость и методическая сложность доступных в настоящее время методов, которые ограничивают их использование в рутинных клинических исследованиях. В настоящее время клиническая информация, полученная при количественной оценке ЦОК, ограничивается прогнозированием вероятности метастазирования [40, 41]. Однако уже разрабатываются методы использования ЦОК для раннего выявления и мониторинга эффективности используемых индивидуализированных схем лечения. Одной из проблем при работе с ЦОК исследователи считают гетерогенность их свойств и количественных показателей [5, 14, 18]. Однако, с нашей точки зрения, это свойство ЦОК, скорее, свидетельствует о потенциальной информативности этого маркера, позволяющего охарактеризовать феномен клональной клеточной гетерогенности опухолей и своевременного подбора оптимальных терапевтических схем.

Молекулярная характеристика маркеров ЦОК важна при назначении таргетных препаратов и терапевтических процедур, а мониторинг изменяющихся свойств ЦОК во время лечения может стать надежным помощником в постановке своевременного и надежного диагноза, а также своевременной смены схемы лечения [41, 42]. Анализ ЦОК, полученных методом «жидкостной биопсии», может помочь контролировать состояние пациентов в различных временных точках терапии онкологического заболевания, включая детекцию минимального остаточного заболевания, предоставляя ценную информацию о мониторинге эффективности лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Chaffer C.L., Weinberg R.A. A perspective on cancer cell metastasis. *Science*. 2011; 331(6024): 1559–64. doi: 10.1126/science.1203543.
2. Di Raimo T., De Santis E., Coppola L., D'Andrea M.R., Angelini F. Circulating tumor cells and the metastatic process: the complexity of malignancy. *J Cancer Metastasis Treat*. 2018; 4: 54. Open Access Review. doi: 10.20517/2394-4722.2018.50.
3. Ashworth T.R. A Case of Cancer in Which Cells Similar to Those in the Tumours Were Seen in the Blood after Death. *The Medical Journal of Australia*. 14: 146–7.
4. Messerschmidt J.L., Bhattacharya P., Messerschmidt G.L. Cancer Clonal Theory, Immune Escape, and Their Evolving Roles in Cancer Multi-Agent Therapeutics. *Curr Oncol Rep*. 2017; 19(10): 66. doi: 10.1007/s11912-017-0625-2.
5. Agnoletto C., Corrà F., Minotti L., Baldassari F., Crudele F., Cook W.J.J., Di Leva G., d'Adamo A.P., Gasparini P., Volinia S. Heterogeneity in Circulating Tumor Cells: The Relevance of the Stem-Cell Subset. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(4): 483. doi: 10.3390/cancers11040483.
6. Corporate Medical Policy. An Independent Licensee of the Blue Cross and Blue Shield Association. Detection of Circulating Tumor Cells and Cell Free DNA in Cancer Management AHS-G2054 [Internet]. 2019. URL: [https://www.bluecrossnc.com/sites/default/files/document/attachment/services/public/pdfs/medicalpolicy/detection of circulating tumor cells and cell free dna in cancer management 4.pdf](https://www.bluecrossnc.com/sites/default/files/document/attachment/services/public/pdfs/medicalpolicy/detection%20of%20circulating%20tumor%20cells%20and%20cell%20free%20dna%20in%20cancer%20management%204.pdf).
7. Kang H.M., Kim G.H., Jeon H.K., Kim D.H., Jeon T.Y., Park D.Y., Jeong H., Chun W.J., Kim M.H., Park J., Lim M., Kim T.H., Cho Y.K. Circulating tumor cells detected by lab-on-a-disc: Role in early diagnosis of gastric cancer. *PLoS One*. 2017; 12(6). doi: 10.1371/journal.pone.0180251.
8. Miller M.C., Doyle G.V., Terstappen L.W. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the Cell Search System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *J Oncol*. 2010. doi: 10.1155/2010/617421.
9. Kaldjian E.P., Ramirez A.B., Sun Y., Campton D.E., Werbin J.L., Varshavskaya P., Quarre S., George T., Madan A., Blau C.A., Seubert R. The RareCyte® platform for next-generation analysis of circulating tumor cells. *Cytometry A*. 2018; 93(12): 1220–5. doi: 10.1002/cyto.a.23619.

10. Ferreira M.M., Ramani V.C., Jeffrey S.S. Circulating tumor cell technologies. *Mol Oncol.* 2016; 10(3): 374–94. doi: 10.1016/j.molonc.2016.01.007.
11. Grover P.K., Cummins A.G., Price T.J., Roberts-Thomson I.C., Hardingham J.E. Circulating tumour cells: the evolving concept and the inadequacy of their enrichment by EpCAM-based methodology for basic and clinical cancer research. *Ann Oncol.* 2014; 25(8): 1506–16. doi: 10.1093/annonc/mdl018.
12. Murray N.P., Reyes E., Badínez L., Orellana N., Fuentealba C., Olivares R., Porcell J., Dueñas R. Circulating Prostate Cells Found in Men with Benign Prostate Disease Are P504S Negative: Clinical Implications. *J Oncol.* 2013. doi: 10.1155/2013/165014.
13. Karabacak N.M., Spuhler P.S., Fachin F., Lim E.J., Pai V., Ozkumur E., Martel J.M., Kojic N., Smith K., Chen P.I., Yang J., Hwang H., Morgan B., Trautwein J., Barber T.A., Stott S.L., Maheswaran S., Kapur R., Haber D.A., Toner M. Microfluidic, marker-free isolation of circulating tumor cells from blood samples. *Nat. Protoc.* 2014; 9(3): 694–710. doi: 10.1038/nprot.2014.044.
14. Mitra A., Mishra L., Li S. EMT, CTCs and CSCs in tumor relapse and drug-resistance. *Oncotarget.* 2015; 6(13): 10697–711. doi: 10.18632/oncotarget.4037.
15. Vishnoi M., Peddibhotla S., Yin W., T. Scamardo A., George G.C., Hong D.S., Marchetti D. The isolation and characterization of CTC subsets related to breast cancer dormancy. *Sci Rep.* 2015; 5: 17533. doi: 10.1038/srep17533.
16. Reinhardt F., Franken A., Meier-Stiegen F., Driemel C., Stoecklein N.H., Fischer J.C., Niederacher D., Ruckhaeberle E., Fehm T., Neubauer H. Diagnostic Leukapheresis Enables Reliable Transcriptomic Profiling of Single Circulating Tumor Cells to Characterize Inter-Cellular Heterogeneity in Terms of Endocrine Resistance. *Cancers (Basel).* 2019; 11(7): 903. doi: 10.3390/cancers11070903.
17. Broncy L., Paterlini-Bréchet P. Clinical Impact of Circulating Tumor Cells in Patients with Localized Prostate Cancer. *Cells.* 2019; 8(7): 676. doi: 10.3390/cells8070676.
18. Marchetti A., Del Grammastio M., Felicioni L., Malatesta S., Filice G., Centi I., De Pas T., Santoro A., Chella A., Brandes A.A., Venturino P., Cuccurullo F., Crinò L., Buttitta F. Assessment of EGFR mutations in circulating tumor cell preparations from NSCLC patients by next generation sequencing: toward a real-time liquid biopsy for treatment. *PLoS One.* 2014; 9(8). doi: 10.1371/journal.pone.0103883.
19. Ellsworth R.E., Blackburn H.L., Shriver C.D., Soon-Shiong P., Ellsworth D.L. Molecular heterogeneity in breast cancer: State of the science and implications for patient care. *Semin Cell Dev Biol.* 2017; 64: 65–72. doi: 10.1016/j.semdb.2016.08.025.
20. Wang Y., Waters J., Leung M.L., Unruh A., Roh W., Shi X., Chen K., Scheet P., Vattathil S., Liang H., Multani A., Zhang H., Zhao R., Michor F., Meric-Bernstam F., Navin N.E. Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing. *Nature.* 2014; 512(7513): 155–60. doi: 10.1038/nature13600.
21. Williams M.J., Sottoriva A., Graham T.A. Measuring Clonal Evolution in Cancer with Genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2019; 20: 309–29. doi: 10.1146/annurev-genom-083117-021712.
22. Francart M.E., Lambert J., Vanwynsberghe A.M., Thompson E.W., Bourcy M., Polette M., Gilles C. Epithelial-mesenchymal plasticity and circulating tumor cells: Travel companions to metastases. *Dev Dyn.* 2018; 247(3): 432–50. doi: 10.1002/dvdy.24506.
23. Pastushenko I., Blanpain C. EMT Transition States during Tumor Progression and Metastasis. *Trends Cell Biol.* 2019; 29(3): 212–26. doi: 10.1016/j.tcb.2018.12.001.
24. Werner S., Stenzl A., Pantel K., Todenhöfer T. Expression of Epithelial Mesenchymal Transition and Cancer Stem Cell Markers in Circulating Tumor Cells. *Adv Exp Med Biol.* 2017; 994: 205–28. doi: 10.1007/978-3-319-55947-6_11.
25. Veridex L.L.C. CellSearch TM. Circulating Tumor Cell Kit. Pre-market Notification- Expanded Indications for Use Metastatic Prostate Cancer [Internet]. URL: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf7/K073338.pdf.
26. Cabel L., Proudhon C., Gortais H., Loirat D., Coussy F., Pierga J.Y., Bidard F.C. Circulating tumor cells: clinical validity and utility. *Int J Clin Oncol.* 2017; 22(3): 421–30. doi: 10.1007/s10147-017-1105-2.
27. Kallergi G., Politaki E., Alkahtani S., Stournaras C., Georgoulas V. Evaluation of Isolation Methods for Circulating Tumor Cells (CTCs). *Cell Physiol Biochem.* 2016; 40(3–4): 411–9. doi: 10.1159/000452556.
28. Cristofanilli M., Budd G.T., Ellis M.J., Stopeck A., Matera J., Miller M.C., Reuben J.M., Doyle G.V., Allard W.J., Terstappen L.W., Hayes D.F. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2004; 351(8): 781–91. doi: 10.1056/NEJMoa040766.
29. Negin B.P., Cohen S.J. Circulating tumor cells in colorectal cancer: past, present, and future challenges. *Curr Treat Options Oncol.* 2010; 11(1–2): 1–13. doi: 10.1007/s11864-010-0115-3.
30. Resel Folkersma L., Olivier Gómez C., San José Manso L., Véganzones de Castro S., Galante Romo I., Vidaurreta Lázaro M., de la Orden G.V., Arroyo Fernández M., Díaz Rubio E., Silmi Moyano A., Maestro de Las Casas M.A. Immunomagnetic quantification of circulating tumoral cells in patients with prostate cancer: clinical and pathological correlation. *Arch Esp Urol.* 2010; 63(1): 23–31.
31. Riethdorf S., Pantel K. Advancing personalized cancer therapy by detection and characterization of circulating carcinoma cells. *Ann NY Acad Sci.* 2010; 1210: 66–77. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05779.x.
32. Aggarwal C., Meropol N.J., Punt C.J., Iannotti N., Saidman B.H., Sabbath K.D., Gabrail N.Y., Picus J., Morse M.A., Mitchell E., Miller M.C., Cohen S.J. Relationship among circulating tumor cells, CEA and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2013; 24(2): 420–8. doi: 10.1093/annonc/mds336.
33. Кум О.И., Нистратова О.В., Новикова И.А., Водолажский Д.И., Никителова Е.А., Непомнящая Е.М., Ульянова Е.П., Олейникова Е.Н. Ассоциация между наличием KRAS-мутаций в опухоли и количеством циркулирующих опухолевых клеток у больных колоректальным раком. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2016; 1(156): 70–3. [Kit O.I., Nistratova O.V., Novikova I.A., Vodolazhsky D.I., Nikipelova E.A., Nepomnyashchaya E.M., Ulyanova E.P., Oleinikova E.N. The association between the presence of KRAS mutations in the tumor and the number of circulating tumor cells in patients with colorectal cancer. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2016; 1(156): 70–3. (in Russian)].
34. To expand the indication for use of the CellSearch™ CTC Assay for use with colon cancer as well as the previously cleared breast cancer [Internet]. URL: www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K071729.
35. Allard W.J., Matera J., Miller M.C., Repollet M., Connelly M.C., Rao C., Tibbe A.G., Uhr J.W., Terstappen L.W. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res.* 2004; 10(20): 6897–904. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0378.
36. Farace F., Massard C., Vimond N., Drusch F., Jacques N., Billiot F., Laplanche A., Chauchereau A., Lacroix L., Plancharde D., Le Moulec S., André F., Fizazi K., Soria J.C., Vielh P. A direct comparison of CellSearch and ISET for circulating tumour-cell detection in patients with metastatic carcinomas. *Br J Cancer.* 2011; 105(6): 847–53. doi: 10.1038/bjc.2011.294.
37. Tamminga M., Andree K.C., Hiltermann T.J.N., Jayat M., Schuur-ing E., van den Bos H., Spierings D.C.J., Lansdorp P.M., Timens W., Terstappen L.W.M.M., Groen H.J.M. Detection of Circulating Tumor Cells in the Diagnostic Leukapheresis Product of Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Comparing CellSearch® and ISET. *Cancers (Basel).* 2020; 12(4): 896. doi: 10.3390/cancers12040896.
38. Campton D.E., Ramirez A.B., Nordberg J.J., Drovetto N., Clein A.C., Varshavskaya P., Friemel B.H., Quarre S., Brehm A., Dorschner M., Blau S., Blau C.A., Sabath D.E., Stilwell J.L., Kaldjian E.P. High-recovery visual identification and single-cell retrieval of circulating tumor cells for genomic analysis using a dual-technology platform integrated with automated immunofluorescence staining. *BMC Cancer.* 2015; 15: 360. doi: 10.1186/s12885-015-1383-x.
39. Werbin J.L., Nordberg J.J., Tzucker J., Varshavskaya P., Stilwell J.L., Kaldjian E.P. RareCytex® CTC Analysis Step 2: Detection of Circulating Tumor Cells by CyteFinder® Automated Scanning and Semiautomated Image Analysis. *Methods Mol Biol.* 2017; 1634: 173–80. doi: 10.1007/978-1-4939-7144-2_14.
40. Blau C.A., Ramirez A.B., Blau S., Pritchard C.C., Dorschner M.O., Schmechel S.C., Martins T.J., Mahen E.M., Burton K.A., Komashko V.M., Radenbaugh A.J., Dougherty K., Thomas A., Miller C.P., Annis J., Fromm J.R., Song C., Chang E., Howard K., Austin S., Schmidt R.A., Linenberger M.L., Becker P.S., Senecal F.M., Mecham B.H., Lee S.I., Madan A., Ronen R., Dutkowski J., Heimfeld S., Wood B.L., Stilwell J.L., Kaldjian E.P., Haussler D., Zhu J. A Distributed Network for Intensive Longitudinal Monitoring in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *J Natl Compr Canc Netw.* 2016; 14(1): 8–17. doi: 10.6004/jncn.2016.0003.
41. Chalfin H.J., Glavaris S.A., Gorin M.A., Kates M.R., Fong M.H., Dong L., Matoso A., Bivalacqua T.J., Johnson M.H., Pienta K.J., Hahn N.M., McConkey D.J. Circulating Tumor Cell and Circulating Tumor DNA Assays Reveal Complementary Information for Patients with Metastatic Urothelial Cancer. *Eur Urol Oncol.* 2021; 4(2): 310–4. doi: 10.1016/j.euo.2019.08.004.
42. Chou W.C., Wu M.H., Chang P.H., Hsu H.C., Chang G.J., Huang W.K., Wu C.E., Hsieh J.C. A Prognostic Model Based on Circulating Tumour Cells is Useful for Identifying the Poorest Survival Outcome in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Int J Biol Sci.* 2018; 14(2): 137–46. doi: 10.7150/ijbs.23182.
43. Boral D., Vishnoi M., Liu H.N., Yin W., Sprouse M.L., Scamardo A., Hong D.S., Tan T.Z., Thiery J.P., Chang J.C., Marchetti D. Molecular characterization of breast cancer CTCs associated with brain metastasis. *Nat Commun.* 2017; 8(1): 196. doi: 10.1038/s41467-017-00196-1.

Поступила/Received 01.04.2020

Одобрена после рецензирования/Revised 17.08.2020

Принята к публикации/Accepted 08.09.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Водолажский Дмитрий Игоревич, кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела онкоиммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: dvodolazhsky@gmail.com. SPIN-код: 6660-5361. Researcher ID (WOS): AAF-7800-2020. Author ID (Scopus): 6506507156. ORCID: 0000-0003-1114-8732.

Нехаева Татьяна Леонидовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела онкоиммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5366-8969. Researcher ID (WOS): L-7268-2018. ORCID: 0000-0002-7826-4861.

Балдуева Ирина Александровна, доктор медицинских наук, руководитель отдела онкоиммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7512-8789. Researcher ID (WOS): H-9574-2014. Author ID (Scopus): 6602224742. ORCID: 0000-0002-7472-4613.

ВКЛАД АВТОРОВ

Водолажский Дмитрий Игоревич: поиск и анализ научной литературы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания и компоновка материала.

Нехаева Татьяна Леонидовна: общее руководство проектом, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Балдуева Ирина Александровна: разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают свою искреннюю благодарность сотрудникам редакции СОЖ за помощь при оформлении рукописи статьи.

ABOUT THE AUTHORS

Dmitry I. Vodolazhsky, PhD, Researcher of the Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). E-mail: dvodolazhsky@gmail.com. Researcher ID (WOS): AAF-7800-2020. Author ID (Scopus): 6506507156. ORCID: 0000-0003-1114-8732.

Tatyana L. Nekhaeva, MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): L-7268-2018. ORCID: 0000-0002-7826-4861.

Irina A. Baldueva, MD, DSc, Head of the Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): H-9574-2014. Author ID (Scopus): 6602224742. ORCID: 0000-0002-7472-4613.

AUTHOR CONTRIBUTION

Dmitry I. Vodolazhsky: data collection and analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content and layout of the material.

Tatyana L. Nekhaeva: general project management, supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Irina A. Baldueva: study conception, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Funding

No additional funding was required to write this article.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors express their sincere gratitude to the editorial staff of Siberian Journal of Oncology for their help in completing the manuscript.

Для цитирования: Коваленко Н.В., Жаворонкова В.В., Постолов М.П., Суворов В.А. Синдром наследственного диффузного рака желудка: медико-генетическое консультирование, стратегия ведения членов семей, профилактическая гастрэктомия, наблюдение носителей мутаций *CDH1* и *CTNNA1*. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 126–134. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-126-134

For citation: Kovalenko N.V., Zhavoronkova V.V., Postolov M.P., Suvorov V.A. Hereditary diffuse gastric cancer syndrome: medical genetic consulting, family members treatment strategy, prophylactic total gastrectomy, *CDH1*- and *CTNNA1*-mutation carriers surveillance. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 126–134. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-126-134

СИНДРОМ НАСЛЕДСТВЕННОГО ДИФфуЗНОГО РАКА ЖЕЛУДКА: МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ, СТРАТЕГИЯ ВЕДЕНИЯ ЧЛЕНОВ СЕМЕЙ, ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ГАСТРЭКТОМИЯ, НАБЛЮДЕНИЕ НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИЙ *CDH1* И *CTNNA1*

Н.В. Коваленко^{1,2}, В.В. Жаворонкова^{1,2}, М.П. Постолов^{1,2}, 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 – обобщение имеющихся данных о медико-генетическом консультировании, стратегии лечения членов семей, профилактической гастрэктомии (ПГЭ), а также наблюдения за носителями мутаций *CDH1* и *CTNNA1* при синдроме наследственного диффузного рака желудка (НДРЖ).

Материал и методы. Поиск информации производили в базах данных Web of Science, Scopus, MedLine, The Cochrane Library, РИНЦ. **Результаты.** Синдром наследственного диффузного рака желудка –

генетическое заболевание с повышенной частотой возникновения диффузного рака желудка (ДРЖ) и долькового рака молочной железы (ДРМЖ). НДРЖ встречается у 1–3 % пациентов с раком желудка. В 1998 г. Р. Guilford et al. впервые описали высокую частоту мутаций гена *CDH1* в 3 семьях маори из Новой Зеландии и доказали ее роль в возникновении синдрома НДРЖ. Кумулятивный риск заболевания НДРЖ у людей с положительной мутацией *CDH1* к 80 годам составляет 42–70 % для мужчин и 33–56 % для женщин. Ввиду редкости заболевания основными публикациями по данной проблеме являются описания клинических случаев или их серий. **Заключение.** Ключевые вопросы диагностики и лечения синдрома НДРЖ требуют многоцентровых международных исследований.

Ключевые слова: наследственный диффузный рак желудка, *CDH1*, профилактическая гастрэктомия.

HEREDITARY DIFFUSE GASTRIC CANCER SYNDROME: MEDICAL GENETIC CONSULTING, TREATMENT STRATEGY FOR FAMILY MEMBERS, PROPHYLACTIC TOTAL GASTRECTOMY, AND ENDOSCOPIC SURVEILLANCE IN *CDH1*- AND *CTNNA1*-MUTATION CARRIERS

Н.В. Коваленко^{1,2}, В.В. Жаворонкова^{1,2}, М.П. Постолов^{1,2}, В.А. Суворов^{1,2}

Volgograd Regional Clinical Oncology Center, Volgograd, Russia¹

78, Zemlyachki St., 400138, Volgograd, Russia. E-mail: oncologist.suvorov@gmail.com¹

Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Volgograd, Russia²

1, Pavshikh Bortsov Sq., 400131, Volgograd, Russia²

Abstract

The purpose of the study was to summarize available data on genetic counseling for people with hereditary diffuse gastric cancer (HDGC) syndrome, treatment strategies for family members with HDGC, prophylactic gastrectomy (PGE), and surveillance of *CDH1* and *CTNNA1* mutation carriers. **Material and methods.** A literature search was conducted using Web of Science, Scopus, MedLine, Cochrane Library, and RSCI databases. **Results.** HDGC syndrome is an inherited genetic syndrome that leads to the increased risk for both diffuse gastric cancer (DGC) and lobular breast cancer (LBC). About 1 to 3% of all gastric cancer cases are HDGCs. A high frequency of *CDH1* gene mutation was first identified by P. Guilford et al. in 1998 in 3 Maori families from New Zealand. The cumulative risk for HDGC in *CDH1* mutation carriers is 42 to 70% for men and 33-56% for women at the age of 80 years. Due to the rarity of the disease, the main publications dealing with this problem are clinical case descriptions. **Conclusion.** Multicenter clinical trials are required to improve screening and management of HDGC syndrome.

Key words: hereditary diffuse gastric cancer, hereditary tumor, diffuse type, *CDH1* mutation, prophylactic total gastrectomy.

Введение

Рак желудка (РЖ) является 5-й по частоте выявления злокачественной опухоли в мире [1]. Как причина смерти РЖ занимает 3-е место среди онкологических процессов (723 000 смертей ежегодно). В Российской Федерации в 2018 г. выявлено 34 157 новых случаев РЖ, из них I стадии – 12,4 %. В течение 1-го года после установления диагноза умерли 47,4 % пациентов [2].

НДРЖ встречается у 1–3 % пациентов с РЖ [3, 4]. Гистологически это заболевание представлено перстневидноклеточной формой рака желудка или низкодифференцированной аденокарциномой [5]. В развитии синдрома НДРЖ ключевую роль приписывают генетическим мутациям. В хромосоме 16q22.1 расположен ген-супрессор *CDH1*, который кодирует гликопротеин E-cadherin. Это молекула, состоящая из 3 доменов: цитоплазматического, трансмембранного и экстрацеллюлярного. При мутации *CDH1* экстрацеллюлярный домен E-cadherin теряет возможность формировать межклеточные связи [5, 6]. В 1998 г. в 3 семьях маори из Новой Зеландии продемонстрирована высокая частота мутаций *CDH1* и ее связь с ДРЖ во многих поколениях [6]. В дальнейшем установлено, что гетерозиготная герминативная мутация *CDH1* увеличивает риск заболеть в течение жизни НДРЖ, а у женщин еще и ДРМЖ [7].

НДРЖ – редкое заболевание. Клинические рекомендации для диагностики и лечения этого синдрома разработаны на основе публикаций отдельных наблюдений или серий клинических случаев, обсервационных обзоров и опыта экспертов, но не рандомизированных исследований [8]. В англоязычной литературе хорошо освещены генетические механизмы развития синдрома НДРЖ, технические аспекты ПГЭ. При этом сохраняется большое количество нераскрытых вопросов, неясным является оптимальный возраст, в котором необходимо выполнять ПГЭ, не уточнены продолжительность и частота эндоскопического наблюдения за носителями мутаций *CDH1/CTNNA1*. В доступной русскоязычной литературе нами не

встречено систематизированных описаний ключевых зарубежных исследований в области НДРЖ.

Цель исследования – проанализировать доступную на русском и английском языках литературу по НДРЖ, провести обзор доказательной базы применяющихся в мировой и российской практике подходов к диагностике и лечению НДРЖ, а также эндоскопическому наблюдению носителей мутации *CDH1* и *CTNNA1*, изучить имеющийся мировой опыт профилактической гастрэктомии у носителей *CDH1* без подтвержденного НДРЖ.

Материал и методы

Поиск информации осуществляли в базах данных Web of Science, Scopus, MedLine, The Cochrane Library, РИНЦ.

Диагностика, генетическое консультирование и анализ мутаций

В 1999 г. сформирован International Gastric Cancer Linkage Consortium (IGCLC) – Международный консорциум по раку желудка, который в 2010 г. разработал критерии НДРЖ, дал рекомендации по диагностике этого заболевания и медико-генетическому консультированию пациентов и членов их семей. На сегодняшний день актуальны для клинического применения критерии НДРЖ, опубликованные в 2020 г. [8].

Семейные критерии (касаются родственников 1–2-й линий): ≥ 2 случаев рака желудка у родственников вне зависимости от возраста, причем как минимум у 1 родственника это должен быть ДРЖ; ≥ 1 случая ДРЖ в любом возрасте и ≥ 1 случая ДРМЖ в возрасте < 70 лет у различных членов семьи; ≥ 2 случаев ДРМЖ у членов семьи в возрасте < 50 лет.

Индивидуальные критерии: ДРЖ в возрасте < 50 лет; ДРЖ в любом возрасте у представителя национальности маори; ДРЖ в любом возрасте у пациентов с персональной или семейной (родственники 1-й линии) историей заячьей губы или волчьей пасти; ДРЖ и ДРМЖ, диагностированные у 1 пациентки в возрасте < 70 лет; двухсторонний

ДРМЖ в возрасте <70 лет; перстневидноклеточный рак желудка *in situ* или распространение отдельных перстневидных клеток у пациентов в возрасте <50 лет.

Соответствие пациента одному или нескольким критериям является показанием к проведению тестирования на мутации *CDH1*. Если ни один из вариантов мутации *CDH1* не выявлен, IGCLC-2020 рекомендует тестировать пациента на мутацию *CTNNA1* [8]. Генетический анализ лучше всего проводить по образцу крови живого пациента с НДРЖ. Рекомендуемый возраст начала тестирования на мутации *CDH1* и *CTNNA1* – 16 лет [5].

Мутация *CDH1* обнаружена у всех национальностей, но чаще всего встречается среди народов, проживающих на территории Новой Зеландии и Канады. По оценке С. Nakkaart et al. [9], 13 % пациентов с ДРЖ популяции маори Новой Зеландии имеют патогенные варианты мутации *CDH1*. В связи с этим существует национальная особенность рекомендаций для генетического тестирования: всем маори с подтвержденным ДРЖ рекомендуется проведение генетического тестирования мутации *CDH1*. В Японии и Южной Корее национальными рекомендациями регламентируется определение мутации *CDH1* всем пациентам с выявленным при эндоскопическом исследовании или при изучении удаленного желудка перстневидноклеточным раком.

На сегодняшний день в вопросе о популяционной и этнической специфичности мутации *CDH1* нет четкой определенности. В Российской Федерации удалось найти отдельные публикации клинических случаев или серии наблюдений пациентов с НДРЖ и членов их семей. Статистическая база этих исследований пока не позволяет сделать вывод о распространенности мутации *CDH1* при раке желудка на территории РФ [4].

CDH1 – опухолевый супрессор. Потенциальными механизмами, необходимыми для фенотипического проявления мутации, являются: миссенс, делеции и эпигенетические нарушения (гиперметилирование промотора) [5]. Кроме того, существуют более редкие типы мутаций: нонсенс, ошибки сплайсинга и большие делеции экзонов [10, 11].

Описано более 100 мутаций гена *CDH1* в хромосоме 16q22.1 [4, 12, 13]. Одним из основных направлений исследований являются поиск и выявление функционально значимых мутаций, способных инициировать развитие болезни. А.С. Цуканов и соавт. [12], изучив 9 пациентов с синдромом НДРЖ, выявили редкие варианты *c.2253C>T* и *c.1005delA*. Вопрос о повышении риска развития НДРЖ при этих мутациях нуждается в дальнейшем изучении.

В доступной литературе не удалось найти исследований характера течения НДРЖ и его прогноза при различных типах генетических на-

рушений. Общепринятый метод определения мутации *CDH1* – молекулярно-генетический анализ, включающий секвенирование всей открытой рамки считывания, включая границы интронов и экзонов, а также анализ числа копий отдельных экзонов для обнаружения делеций или повторов. Необходимо отметить, что данный метод не обладает 100 % специфичностью и чувствительностью. Лабораторное заключение не характеризуется полярностью: «мутация присутствует» или «мутация отсутствует». Секвенирование определяет нуклеотидную последовательность молекулы ДНК. В дальнейшем врач-генетик интерпретирует генетический вариант *CDH1* как «вероятно патогенный» или с «неустановленной патогенностью». В настоящее время не до конца ясно, необходимо ли пациентам с такими заключениями проводить дальнейшее обследование, лечение или наблюдение [8].

Встречаются работы по применению иммуногистохимического метода для диагностики последствия этого генетического дефекта – недостаточности или отсутствия белка E-Cadherin. И.И. Штефанов и соавт. [6] провели ИГХ-исследование у 33 больных раком желудка. Для определения недостаточности или отсутствия E-Cadherin использовали иммунопероксидазный метод. Слабоположительная или негативная реакция чаще встречались при низкодифференцированных, недифференцированных и перстневидноклеточных формах рака желудка. Слабоположительный результат анализа и отсутствие реакции авторы трактуют как показатель мутации *CDH1*.

По данным различных авторов, частота мутации *CDH1* в семьях, соответствующих критериям НДРЖ, варьирует, составляя от 10,8 до 19 % [10–14], не превышая в общей популяции населения 1 % [5, 8]. Из-за отсутствия сильной корреляции развития синдрома НДРЖ с мутацией *CDH1* поиск иных генов, которые могут быть вовлечены в канцерогенез при НДРЖ, продолжен. Новой герминативной мутацией, связанной с повышенным риском заболевания НДРЖ стала *CTNNA1*, впервые описанная в 2013 г. [15, 16]. В дальнейшем исследования, основанные на полном экзомном секвенировании, выявили другие гены, так или иначе связанные с риском развития НДРЖ: *RAD51C*, *PALB2*, *BRCA2*, *ATM*, *MAP3K6* [1, 13, 15, 17–19]. Авторы делают вывод о целесообразности использования расширенных генных панелей с целью поиска новых мутаций, повышающих предрасположенность к развитию РЖ. В связи с малым количеством информации в рекомендации IGCLC-2020 включены только гены *CDH1* и *CTNNA1*. Тестирование на мутацию *PALB2* может рассматриваться в семьях, где повышен риск рака желудка при отрицательных *CDH1* и *CTNNA1* [8]. Пациентов, соответствующих критериям IGCLC-2020, должен консультировать медицинский генетик [20]. В его задачи входит сбор анамнеза заболеваний 3 поколений семьи

пациента; выявление истории заячьей губы или волчьей пасти у членов этой семьи; обсуждение с пациентом риска развития НДРЖ или ДРМЖ; проведение анализа *CDH1* и *CTNNA1*, интерпретация результата. Установлено, что кумулятивный риск заболевания НДРЖ у людей с положительной мутацией *CDH1* к 80 годам составляет 42–70 % для мужчин и 33–56 % для женщин [12, 21].

Отдельного обсуждения заслуживает такой критерий, как наличие заячьей губы и волчьей пасти в персональном или семейном анамнезе. Исследователи объясняют патогенетический механизм связи этих состояний выявленной ролью мутаций в гене *CDH1* как причины не только НДРЖ и ДРМЖ, но и синдрома заячьей губы и волчьей пасти. Молекулярными механизмами могут быть пониженная транс-димеризация в клетках, усиленный эндоцитоз, потеря взаимодействия цитоскелетов соседних клеток с последующим нарушением трансдукции межклеточных сигналов [15].

Стратегия ведения членов семей пациентов с НДРЖ

Пациентам, у которых выявлена мутация *CDH1*, рекомендации IGCLC-2020 предписывают предлагать профилактическую гастрэктомию (ПГЭ) [8]. В случае отказа пациента от оперативного вмешательства или при наличии противопоказаний рекомендован ЭГДС-контроль 1 раз в 12 мес по специально разработанному протоколу. Определение мутации *CTNNA1* рекомендовано лицам, у которых тест на мутацию *CDH1* оказался отрицательным. В случае обнаружения положительной мутации *CTNNA1* IGCLC-2020 также предлагает ПГЭ [8]. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения РФ, опубликованные в 2020 г., предписывают пациентам с *CDH1* мутацией проходить комплексное обследование каждые 6–12 мес.

Лекарственная профилактика и терапия опухоли при синдроме НДРЖ не до конца разработаны. Так, к примеру, в исследовании N. Bougen-Zhukov et al. [16] показано, что клетки молочной железы и желудка *in vitro*, имеющие мутации *CDH1*, более чувствительны к воздействию АКТ-ингибиторов, чем клетки без данной мутации. Таргетная терапия при синдроме НДРЖ является перспективным направлением дальнейших исследований.

Профилактическая гастрэктомия

Впервые ПГЭ выполнил и описал F.R. Lewis из Henry Ford Hospital (Детройт, США) [22]. Коллектив под его руководством выполнил гастрэктомию 6 носителям мутации *CDH1* из 2 семей с НДРЖ. Исследовав от 150 до 250 гистологических блоков от каждого пациента, авторы обнаружили очаги рака у всех 6 больных. При этом ни в одном случае ЭГДС до операции не позволила выявить и верифицировать злокачественный процесс. После этого схожие или аналогичные серии клинических

наблюдений публиковали и другие авторы, преимущественно из США, Канады и Новой Зеландии. Процедура стала стандартной в этих и некоторых других странах, при согласии и функциональной операбельности пациента.

IGCLC-2020 предлагает выполнять всем лицам с обнаруженной мутацией *CDH1* ПГЭ, независимо от картины на ЭГДС [8]. Возраст, в котором нужно это делать, зависит от следующих факторов: предпочтений пациента; возраста, в котором выявлена мутация; физического и психологического состояния пациента. Большинство авторов сходятся во мнении, что операцию после выявления мутации *CDH1* необходимо выполнить в возрасте не ранее 20 лет. В возрасте старше 70 лет ПГЭ выполняют лишь в отдельных случаях [4, 8].

В 2020 г. M. Laszkowska et al. построили симуляционную модель Маркова для анализа возраста, в котором оптимально провести ПГЭ. В модели произвели симуляцию гипотетического клинического исследования. В нем в когорте пациентов с положительной мутацией *CDH1* выполняли ПГЭ в разном возрасте – от 20 до 79 лет. Модель учитывала ожидаемое качество, продолжительность жизни после ПГЭ, а также прогнозировала выживаемость. Авторы установили, что для мужчин оптимальный возраст ПГЭ составляет 39 лет, в то время как для женщин – 30 лет [23].

Перед ПГЭ обязательно выполняют ЭГДС [8], целью которой является оценка сопутствующей патологии, которая может изменить план операции (например, пищевод Баррета), а также мультифокальную биопсию желудка для обнаружения микроскопических очагов болезни.

На сегодняшний день в доступной литературе нет единого мнения по названию этой процедуры: «профилактическая гастрэктомия» или «рискредуцирующая гастрэктомия». Это связано с тем, что большинство пациентов, перенесших ее, уже имеют микроскопические очаги перстневидноклеточного рака желудка в слизистой органа на момент операции. Большинство исследователей НДРЖ сообщают об обнаружении очагов рака в удаленном препарате, при отсутствии находок при ЭГДС до операции. Наибольшим опытом в выполнении ПГЭ обладают авторы, исследования которых обобщены нами в таблице.

По данным P.C. Hebbard et al., из 23 пациентов, перенесших ПГЭ, у 22 (96 %) нашли очаги злокачественного роста в удаленном желудке. При этом до операции диагноз был верифицирован у 2 (8 %) больных [24]. Обнаружение фокусов рака желудка внутри слизистой при отсутствии других проявлений болезни соответствует I стадии заболевания. Общая 5-летняя выживаемость при НДРЖ I стадии после радикальной операции составляет 90 % [5]. Именно поэтому исследователи из стран, где это закреплено на уровне национальных клинических рекомендаций, настаивают на максимально раннем

Непосредственные результаты выполнения ПГЭ
Short-term outcomes after prophylactic gastrectomy (PG)

Авторы/ Authors	Гистологические находки: рак в биоптате при ЭГДС/ рак после ПГЭ/ Histological findings: cancer cells in biopsy specimens obtained at EGD cancer cells after PG	Метод реконструкции ЖКТ после ПГЭ/ The method of reconstruction of the gastrointestinal tract after PG	Осложнения: всего/ хирургические/ Complications: total/surgical	Леталь- ность/ Mortality
Munitiz, 2019, n=6	0/5	Эзофаго-энтероанастомоз по Roux-en-Y/ Roux-en-Y oesophago-enteroa- nastomosis	0	0
DiBritio, 2020, n=10	2/3	Резервуарный анастомоз/ Reservoir anastomosis	3/2	0
Seevaratman, 2012, n=169	63/147	Различные варианты анасто- мозов/ Different types of anastomosis	Не указаны Not mentioned	0
Strong, 2017, n=41	1/35	Эзофаго-энтероанастомоз по Roux-en-Y/ Roux-en-Y oesophago-enteroa- nastomosis	23/10	1
Lewis, 2001, n=6	0/6	Эзофаго-энтероанастомоз по Roux-en-Y/ Roux-en-Y oesophago-enteroa- nastomosis	1/1	0
van der Kaaij, 2018, n=26	16/23	Эзофаго-энтероанастомоз по Roux-en-Y и формированием еюностомы/ Roux-en-Y oesophago-enteroa- nastomosis with jejunostomy	8/7	0

выполнении ПГЭ после положительного анализа мутации *CDH1* при соответствии критериям IGCLC [8].

Выявление мутаций *CDH1* и *CTNNA1*, а также определение соответствия семьи пациента критериям НДРЖ могут привести к выявлению большого количества пациентов с бессимптомными формами рака. В систематическом обзоре 70 исследований, посвященных ПГЭ при НДРЖ, Seevaratman описывает 220 носителей *CDH1* из 60 семей, 169 (76,8 %) из них проведена ПГЭ. Среди этих пациентов у 106 (62,7 %) диагноз рака желудка до операции не был верифицирован [10].

Большинство мировых лидеров лечения НДРЖ сходятся во мнении об объеме операции: тотальная чрезбрюшинная гастрэктомия. При этом проксимальная граница резекции должна проходить по абдоминальному сегменту пищевода, а дистальная – по 12-перстной кишке. Необходимость удаления всего желудка подтверждена докладами о развитии рака культи желудка при субтотальной резекции органа при НДРЖ [10]. Чистоту краев резекции нужно подтвердить результатами срочного интраоперационного гистологического исследования [8]. Оперативный доступ (открытый или лапароскопический) является темой дискуссии.

Спорным моментом при ПГЭ также остается объем лимфодиссекции. Для диффузного рака желудка частота регионарного метастазирования при pT1a составляет 6 %. При инвазии опухоли в подслизистый слой (pT1b) вероятность наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах повышается до 17–28 %. На дооперационном этапе практически невозможно исключить инвазию опухоли подслизистого слоя. Большинство авторов рекомендует выполнять D1-лимфодиссекцию с удалением 1–7 групп регионарных лимфоузлов у носителей мутации *CDH1* и D2-лимфодиссекцию – у пациентов с дооперационной верификацией НДРЖ [25].

Наиболее распространенным способом реконструкции желудочно-кишечного тракта является методика Roux-en-Y. При этом энтероэнтероанастомоз располагают не менее чем в 50 см от проксимального анастомоза, чтобы исключить рефлюкс желчи в пищевод. Часть авторов рекомендует формировать кишечный резервуар [25]. Проспективные исследования не выявили достоверных преимуществ кишечного резервуара перед Roux-en-Y [26]. Однако эти работы проводились с участием пациентов с верифицированным раком желудка, с алиментарной недостаточностью,

осложнениями опухолевого процесса или у больных, перенесших неоадьювантную химиотерапию. Сравнение их с клинически здоровыми носителями *CDH1* не вполне корректно. Большинство исследователей сходится на том, что должна применяться та методика, которой хирург владеет лучше. По мере накопления данных о пациентах, перенесших ПГЭ, в этот вопрос будет внесено больше ясности. Наблюдение за пациентами, перенесшими ПГЭ, необходимо в течение всей жизни.

Профилактическая гастрэктомия, помимо преимуществ для пациента в виде снижения риска возникновения рака желудка, несет в себе и недостатки. Помимо риска непосредственных, общехирургических осложнений имеются и специфические отдаленные последствия, к ним относятся потеря веса, демпинг-синдром, дефицит витамина В12 и психологический дискомфорт [25, 27]. Пациент, согласившийся на ПГЭ, должен быть предупрежден о возможном летальном исходе после операции, вероятность которого составляет 0–4 % [28].

V.E. Strong et al. [28] приводят данные о 41 пациенте, оперированном с 2005 по 2015 г. в объеме ПГЭ при наличии *CDH1*-мутации и анамнезе НДРЖ. У 35 (85 %) пациентов при послеоперационном гистологическом исследовании обнаружен один и более участков внутрислизистого перстневидноклеточного рака. При этом лишь у 1 (2,4 %) пациента рак был обнаружен на дооперационном этапе при ЭГДС. Послеоперационные осложнения, летальность и качество жизни в течение 6–12 мес после операции были сопоставимы с таковыми в группе сравнения, состоящей из 35 пациентов, оперированных по поводу sporadической аденокарциномы желудка. На основании полученных результатов авторы рекомендуют ПГЭ для пациентов с мутацией *CDH1* как основную лечебную опцию, особенно с учетом низкой эффективности ЭГДС в выявлении раннего НДРЖ.

Доводами в пользу профилактической гастрэктомии являются: высокий риск появления НДРЖ у носителей мутации *CDH1*; недостаточная эффективность стандартной ЭГДС в диагностике диффузных форм рака желудка; наличие микроскопических участков перстневидноклеточного рака в слизистой удаленного желудка, обнаруживаемых более чем у 80 % пациентов; двухлетняя выживаемость пациентов после выполнения ПГЭ без симптомов заболевания до операции составляет 100 %, в то время как при наличии симптомов – 40 %.

Эндоскопический контроль за носителями мутаций *CDH1* и *CTNNA1*

Тем пациентам, кому не выполняется ПГЭ (в силу отказа или выраженности сопутствующей патологии), IGCLC-2020 предлагает эндоскопическое наблюдение [8]. Частота ЭГДС, в соответствии с рекомендациями IGCLC-2020, составляет 1 раз в год.

Оптимальным является эндоскопический контроль в экспертном центре, где работает опытная мультидисциплинарная команда по раку желудка. Если такой вариант недоступен, ЭГДС-контроль можно проводить по месту жительства пациента. При этом желательно обеспечить возможности удаленной консультации эндоскописта и патолога с экспертным центром. Простой осмотр слизистой оболочки желудка нельзя считать эффективным диагностическим методом в случае диффузной формы рака желудка. Опухоль может развиваться под нормальной слизистой и прогрессировать, не вызывая повреждения эпителия стенки желудка [5].

Изучается диагностическая эффективность альтернативных эндоскопических методик: хромоэндоскопии, эндоскопического ультразвукового исследования, аутофлюоресценции, эндоскопии в узком спектре и конфокальной эндоскопической микроскопии. Работы в этом направлении ведутся, однако широкого применения эти методики для наблюдения за носителями мутаций *CDH1* и *CTNNA1* пока не получили [29].

Ключевые аспекты эндоскопического наблюдения определены в Cambridge protocol, описанном впервые в версии IGCLC-2015 [7]. Они заключаются в следующем: необходима отмена антикоагулянтов (варфарин, клопидогрель) до процедуры, большое количество (30 и более) мест взятия биопсии может привести к желудочному кровотечению; осмотр эндоскопом в белом свете с высоким разрешением в течение не менее 30 мин; орошение слизистой комбинацией муколитика (N-ацетилцистеин) и пеногасителя (симетикон) на стерильной воде до осмотра через эндоскоп; раздувание и сдувание желудка до осмотра маленьких очагов поражения для оценки растяжимости стенки желудка, что делается для исключения инфильтративного подслизистого роста опухоли; тестирование и лечение *H. pylori*, которая признана ВОЗ канцерогеном первого класса, поэтому, хоть связь между *H. pylori* и НДРЖ не доказана, пациентам с положительным тестом показана эрадикационная терапия; мультифокусная биопсия. По 5 образцов необходимо взять с каждой области: препилорической зоны, антрального отдела желудка, переходной зоны, тела, дна и кардии желудка.

При этом эффективность эндоскопического контроля остается низкой. Изучение удаленных при ПГЭ препаратов выявляет очаги рака в 45–60 % случаев [30]. Считается, что тщательное регулярное эндоскопическое обследование позволяет правильно поставить показания к профилактической (а в случае обнаружения очагов рака – уже лечебной) гастрэктомии, особенно у пациентов с неясным или неизвестным *CDH1*-статусом [31]. Остается не вполне понятным, необходимо ли постоянное ЭГДС-наблюдение членам семей, соответствующих критериям IGCLC-2020, отрицательных по мутациям *CDH1* и *CTNNA1*. Еще

один вопрос, требующий дальнейших исследований, заключается в том, необходимо ли эндоскопическое наблюдение случайно выявленным при мультигенном панельном тестировании носителям *CDH1*-мутации [30].

Заключение

Большая часть исследований, посвященных проблеме НДРЖ, проводится в США, Канаде, Великобритании, Новой Зеландии, странах Евросоюза. Международные клинические рекомендации по НДРЖ (IGCLC) претерпели 4 издания начиная с 2000 г. В русскоязычной научной печати по базе Elibrary нам удалось найти всего 8 публикаций (4 обзора, 3 разбора клинических случаев и серий случаев, одну оригинальную статью), посвященных этой проблеме. Основные направления, в которых развивается изучение НДРЖ: выявление генетических и эпигенетических механизмов, запускающих прогрессию отдельных злокачественных клеток и их скоплений с формированием полноценной опухоли в желудке; уточнение риска развития НДРЖ при мутациях *CDH1* и *CTNNA1* с неустановленной

патогенностью; выявление мутаций, имеющих высокую специфичность и чувствительность в диагностике синдрома НДРЖ; установление корреляционных взаимосвязей геномных нарушений и фенотипических проявлений НДРЖ; разработка методик диагностики синдрома НДРЖ в рутинной клинической практике, помимо секвенирования; совершенствование методик эндоскопического наблюдения за носителями мутаций *CDH1* и *CTNNA1* для увеличения частоты выявления субклинических очагов рака в стенке желудка; определение тактики ведения клинически здоровых членов семей с НДРЖ, соответствующих критериям IGCLC-2020 и отрицательных по мутациям *CDH1* и *CTNNA1*; проведение многоцентровых международных проспективных исследований, способных внести ясность во многие нюансы тактики ведения пациентов с НДРЖ и их родственников; разработка методов лекарственного предотвращения формирования НДРЖ и ДРМЖ у носителей мутаций *CDH1* и *CTNNA1*; разработка таргетной терапии НДРЖ на основе имеющихся данных о генетических нарушениях при данном заболевании.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sahasrabudhe R., Lott P., Bohorquez M., Toal T., Estrada A.P., Suarez J.J., Brea-Fernández A., Cameselle-Teijeiro J., Pinto C., Ramos I., Mantilla A., Prieto R., Corvalan A., Norero E., Alvarez C., Tapia T., Carvallo P., Gonzalez L.M., Cock-Rada A., Solano A., Neffa F., Della Valle A., Yau C., Soares G., Borowsky A., Hu N., He L.J., Han X.Y.; Latin American Gastric Cancer Genetics Collaborative Group, Taylor P.R., Goldstein A.M., Torres J., Echeverry M., Ruiz-Ponte C., Teixeira M.R., Carvajal-Carmona L.G. Germline Mutations in PALB2, BRCA1, and RAD51C, Which Regulate DNA Recombination Repair, in Patients With Gastric Cancer. *Gastroenterology*. 2017; 152(5): 983–6. doi: 10.1053/j.gastro.2016.12.010.
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2019; 236 с. [The state of oncological care for the population of Russia in 2018. Eds. A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow, 2019; 236 p. (in Russian)].
3. van der Post R.S., Gullo I., Oliveira C., Tang L.H., Grabsch H.I., O'Donovan M., Fitzgerald R.C., van Krieken H., Carneiro F. Histopathological, Molecular, and Genetic Profile of Hereditary Diffuse Gastric Cancer: Current Knowledge and Challenges for the Future. *Adv Exp Med Biol*. 2016; 908: 371–91. doi: 10.1007/978-3-319-41388-4_18.
4. Lyubchenko L.N., Filippova M.G., Anurova O.A., Nazliev P.B., Stildi I.S. Hereditary diffuse gastric cancer: genetic aspects and prophylactic total gastrectomy. *Siberian Journal of Oncology*. 2018; 17(4): 48–52. doi:10.21294/1814-4861-2018-17-4-48-52.
5. Белковец А.В., Курилович С.А., Решетников О.В. Наследственный рак желудка (научный обзор). *Int J Appl Fundam Res*. 2016; 1: 516–22. [Belkovets A.V., Kurilovich S.A., Reshetnikov O.V. Hereditary gastric cancer. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2016; 1: 516–22. (in Russian)]. doi: 10.9783/9781512803761-024.
6. Штефанов И.И., Кулмамбетова Г.Н., Айткулова А.М., Жекеева Ж.Т., Бакиров Н.Д., Пироженко О.Л., Губская Е.Б., Котов И.В., Жакитова А.А., Мироедова Э.П., Макишев А.К. Значение экспрессии e-cadherin при наследственном диффузном раке желудка. *Медицина (Алматы)*. 2019; 200(2): 8–12. [Shtefanov I.I., Kulmamбетova G.N., Aitkulova A.M., Zhekeyeva Z.T., Bakirov N.D., Pirozhenko O.L., Gubskaya E.B., Kotov I.V., Zhakipova A.A., Miroedova E.P., Makishev A.K. The value of the expression E-cadherin in hereditary diffuse gastric cancer. *Int Prof J "Medicine"*. 2019; 200(2): 8–12. (in Russian)]. doi: 10.31082/1728-452x-2019-200-2-8-12.
7. van der Post R.S., Vogelaar I.P., Carneiro F., Guilford P., Huntsman D., Hoogerbrugge N., Caldas C., Schreiber K.E., Hardwick R.H., Asems M.G., Bardram L., Benusiglio P.R., Bisseling T.M., Blair V., Bleiker E., Boussioutas A., Cats A., Coit D., DeGregorio L., Figueiredo J., Ford J.M., Heijkoop E., Hermens R., Humar P., Kaurah P., Keller G., Lai J., Ligtenberg M.J., O'Donovan M., Oliveira C., Pinheiro H., Ragunath K., Rasen-

- berg E., Richardson S., Roviello F., Schackert H., Seruca R., Taylor A., Ter Huurne A., Tischkowitz M., Joe S.T., van Dijk B., van Grieken N.C., van Hillegersberg R., van Sandick J.W., Vehof R., van Krieken J.H., Fitzgerald R.C. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. *J Med Genet*. 2015; 52(6): 361–74. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103094.
8. 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.D., 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., Ros-saak 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., Schulpens E., Ribeiro A.S., Sporle 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. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30219-9.
9. Hakkaart C., Ellison-Loschmann L., Day R., Sporle A., Koea J., Harawira P., Cheng S., Gray M., Whaanga T., Pearce N., Guilford P. Germline CDH1 mutations are a significant contributor to the high frequency of early-onset diffuse gastric cancer cases in New Zealand Māori. *Fam Cancer*. 2019; 18(1): 83–90. doi: 10.1007/s10689-018-0080-8.
10. Seevaratnam R., Coburn N., Cardoso R., Dixon M., Bocicariu A., Helyer L. A systematic review of the indications for genetic testing and prophylactic gastrectomy among patients with hereditary diffuse gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2012; 15(1): 153–63. doi: 10.1007/s10120-011-0116-3.
11. Guilford P., Humar B., Blair V. Hereditary diffuse gastric cancer: translation of CDH1 germline mutations into clinical practice. *Gastric Cancer*. 2010; 13(1): 1–10. doi: 10.1007/s10120-009-0531-x.
12. Цуканов А.С., Шельгин Ю.А., Кашиников В.Н., Фролов С.А., Любченко Л.Н., Шубин В.П., Карпунин А.В., Музаффарова Т.А., Поспехова Н.И. Молекулярно-генетическое исследование наследственной предрасположенности к диффузному раку желудка у российских пациентов. *Вопросы онкологии*. 2013; 59(5): 580–4. [Tsukanov A.S., Shelygin Yu.A., Kashnikov V.N., Frolov S.A., Lyubchenko L.N., Shubin V.P., Karpukhin A.V., Muzaffarova T.A., Pospekhova N.I. Molecular genetic study of hereditary predisposition to diffuse gastric cancer in russian patients. *Problems in Oncology*. 2013; 59(5): 580–4. (in Russian)].
13. Corso G., Marrelli D., Pascale V., Vindigni C., Roviello F. Frequency of CDH1 germline mutations in gastric carcinoma coming from high- and low-risk areas: metaanalysis and systematic review of the literature. *BMC Cancer*. 2012; 12: 8. doi: 10.1186/1471-2407-12-8.
14. Muniz Ruiz V., Jimeno P., Ruiz de Angulo D., Ortiz A., Martinez de Haro L.F., Marin M., Cascales P., Ruiz Garcia G., Ortiz Ruiz E., Par-

- rilla P. Is prophylactic gastrectomy indicated for healthy carriers of CDH1 gene mutations associated with hereditary diffuse gastric cancer? *Rev Esp Enferm Dig.* 2019; 111(3): 189–92. doi: 10.17235/reed.2018.5831/2018.
15. Selvanathan A., Nixon C.Y., Zhu Y., Sciatti L., Forneris F., Uribe L.M.M., Lidral A.C., Jezewski P.A., Mulliken J.B., Murray J.C., Buckley M.F., Cox T.C., Roscioli T. CDH1 Mutation Distribution and Type Suggests Genetic Differences between the Etiology of Orofacial Clefting and Gastric Cancer. *Genes (Basel).* 2020; 11(4): 391. doi: 10.3390/genes11040391.
 16. Bougen-Zhukov N., Nouri Y., Godwin T., Taylor M., Hakkaart C., Single A., Brew T., Permina E., Chen A., Black M.A., Guilford P. Allosteric AKT Inhibitors Target Synthetic Lethal Vulnerabilities in E-Cadherin-Deficient Cells. *Cancers (Basel).* 2019; 11(9): 1359. doi: 10.3390/cancers11091359.
 17. Shenoy S. CDH1 (E-Cadherin) Mutation and Gastric Cancer: Genetics, Molecular Mechanisms and Guidelines for Management. *Cancer Manag Res.* 2019; 11: 10477–86. doi: 10.2147/CMAR.S208818.
 18. Majewski J.J., Kluijff I., Cats A., Scerri T.S., de Jong D., Kluin R.J., Hansford S., Hogervorst F.B., Bosma A.J., Hofland I., Winter M., Huntsman D., Jonkers J., Bahlo M., Bernards R. An α -E-catenin (CTNNA1) mutation in hereditary diffuse gastric cancer. *J Pathol.* 2013; 229(4): 621–9. doi: 10.1002/path.4152.
 19. 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.
 20. Benusiglio P.R., Colas C., Guillerme E., Canard A., Delhomelle H., Warcoin M., Bellanger J., Eyries M., Zizi M., Netter J., Soubrier F., Parc Y., Mourregot A., Maran Gonzalez A., Cusin V., Denis J.A., Coupier I., Svrcak M., Coulet F. Clinical implications of CTNNA1 germline mutations in asymptomatic carriers. *Gastric Cancer.* 2019; 22(4): 899–903. doi: 10.1007/s10120-018-00907-7.
 21. Gaston D., Hansford S., Oliveira C., Nightingale M., Pinheiro H., Macgillivray C., Kaurah P., Rideout A.L., Steele P., Soares G., Huang W.Y., Whitehouse S., Blowers S., LeBlanc M.A., Jiang H., Greer W., Samuels M.E., Orr A., Fernandez C.V., Majewski J., Ludman M., Dyack S., Penney L.S., McMaster C.R., Huntsman D., Bedard K. Germline mutations in MAP3K6 are associated with familial gastric cancer. *PLoS Genet.* 2014; 10(10). doi: 10.1371/journal.pgen.1004669.
 22. Lewis F.R., Mellinger J.D., Hayashi A., Lorelli D., Monaghan K.G., Carneiro F., Huntsman D.G., Jackson C.E., Caldas C. Prophylactic total gastrectomy for familial gastric cancer. *Surgery.* 2001; 130(4): 612–7. doi: 10.1067/msy.2001.117099.
 23. Laszkowska M., Silver E.R., Schrope B., Kastrinos F., Wang T.C., Hur C. Optimal Timing of Total Gastrectomy to Prevent Diffuse Gastric Cancer in Individuals With Pathogenic Variants in CDH1. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020; 18(4): 822–9. doi: 10.1016/j.cgh.2019.06.009.
 24. Hebbard P.C., Macmillan A., Huntsman D., Kaurah P., Carneiro F., Wen X., Kwan A., Boone D., Bursey F., Green J., Fernandez B., Fontaine D., Wirtzfeld D.A. Prophylactic total gastrectomy (PTG) for hereditary diffuse gastric cancer (HDGC): the Newfoundland experience with 23 patients. *Ann Surg Oncol.* 2009; 16(7): 1890–5. doi: 10.1245/s10434-009-0471-z.
 25. DiBrito S.R., Blair A.B., Prasath V., Habibi M., Harmon J.W., Duncan M.D. Total Gastrectomy for CDH-1 Mutation Carriers: An Institutional Experience. *J Surg Res.* 2020; 247: 438–44. doi: 10.1016/j.jss.2019.09.062.
 26. Wang G., Ceng G., Zhou B., Chen Y., Jin C., Feng X. Meta-analysis of two types of digestive tract reconstruction modes after total gastrectomy. *Hepatogastroenterology.* 2013; 60(127): 1817–21.
 27. van der Kaaij R.T., van Kessel J.P., van Dieren J.M., Snaebjornsson P., Balagué O., van Coevorden F., van der Kolk L.E., Sikorska K., Cats A., van Sandick J.W. Outcomes after prophylactic gastrectomy for hereditary diffuse gastric cancer. *Br J Surg.* 2018; 105(2): 176–82. doi: 10.1002/bjs.10754.
 28. Strong V.E., Gholami S., Shah M.A., Tang L.H., Janjigian Y.Y., Schattner M., Selby L.V., Yoon S.S., Salo-Mullen E., Stadler Z.K., Kelsen D., Brennan M.F., Coit D.G. Total Gastrectomy for Hereditary Diffuse Gastric Cancer at a Single Center: Postsurgical Outcomes in 41 Patients. *Ann Surg.* 2017; 266(6): 1006–12. doi: 10.1097/SLA.0000000000002030.
 29. Kumar S., Long J.M., Ginsberg G.G., Katona B.W. The role of endoscopy in the management of hereditary diffuse gastric cancer syndrome. *World J Gastroenterol.* 2019; 25(23): 2878–86. doi: 10.3748/wjg.v25.i23.2878.
 30. Lim Y.C., di Pietro M., O'Donovan M., Richardson S., DeBiram I., Derryhouse S., Hardwick R.H., Tischkowitz M., Caldas C., Ragunath K., Fitzgerald R.C. Prospective cohort study assessing outcomes of patients from families fulfilling criteria for hereditary diffuse gastric cancer undergoing endoscopic surveillance. *Gastrointest Endosc.* 2014; 80(1): 78–87. doi: 10.1016/j.gie.2013.11.040.
 31. Moslim M.A., Heald B., Tu C., Burke C.A., Walsh R.M. Early genetic counseling and detection of CDH1 mutation in asymptomatic carriers improves survival in hereditary diffuse gastric cancer. *Surgery.* 2018; 164(4): 754–9. doi: 10.1016/j.surg.2018.05.059.

Поступила/Received 12.01.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 17.08.2021

Принята к публикации/Accepted 23.09.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Коваленко Надежда Витальевна, кандидат медицинских наук, доцент, главный врач, ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер»; заведующая кафедрой онкологии, гематологии и трансплантологии ИНМФО (Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования) ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (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 (Волгоград, Россия). SPIN-код: 4354-1836. ORCID: 0000-0002-3403-7931.

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 (Волгоград, Россия). SPIN-код: 2313-6106. ORCID: 0000-0001-9953-7286.

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

ВКЛАД АВТОРОВ

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

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

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

Суворов Владимир Александрович: разработка концепции научной работы, проведение поиска литературы, составление черновика рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

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

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

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

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

AUTHOR CONTRIBUTION

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

Victoria V. Zhavoronkova: 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.

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

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Тараканова В.О., Крахмаль Н.В., Паталяк С.В., Тарасов М.Н., Бабышкина Н.Н., Вторушин С.В. Белки ROR1 и BMI-1 как потенциальные факторы прогноза эффективности гормонотерапии при люминальном раке молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 135–142. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-135-142
For citation: Tarakanova V.O., Krakhmal N.V., Patalyak S.V., Tarasov M.N., Babyshkina N.N., Vtorushin S.V. ROR1 and BMI-1 proteins as potential predictors of the effectiveness of hormone therapy in luminal breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 135–142. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-135-142

ROR1 AND BMI-1 PROTEINS AS POTENTIAL PREDICTORS OF THE EFFECTIVENESS OF HORMONE THERAPY IN LUMINAL BREAST CANCER

V.O. Tarakanova^{1,2}, N.V. Krakhmal^{1,2}, S.V. Patalyak^{1,2}, M.N. Tarasov²,
N.N. Babyshkina^{1,2}, S.V. Vtorushin^{1,2}

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

5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia. E-mail: valeria.ssmu@gmail.com¹

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

2, Moskovsky Trakt, 634050, Tomsk, Russia²

Abstract

The purpose of the study was to generalize information regarding the molecular and biological mechanisms involved in the resistance to endocrine therapy with aromatase inhibitors in patients with luminal breast cancer. **Material and Methods.** The literature search was conducted using Medline, Cochrane Library, Elibrary and PubMed databases. **Results.** The review highlights the results of international studies on molecular and biological characteristics of breast tumors and their relationship with the effectiveness of hormone therapy. Particular attention was paid to the description of modern studies on ROR1 and BMI-1 proteins and their contribution to the development of tumor resistance to treatment. **Conclusion.** The analysis of the world literature confirms the relevance of studying the molecular and genetic characteristics of tumor tissue in patients with luminal breast cancer. The data obtained were compared to the clinical course and response to hormone therapy in order to standardize them for implementation in everyday practice as the “gold standard of diagnosis”.

Key words: breast cancer, luminal subtypes, ROR1, BMI-1, adjuvant hormone therapy.

БЕЛКИ ROR1 И BMI-1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГОРМОНОТЕРАПИИ ПРИ ЛЮМИНАЛЬНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В.О. Тараканова^{1,2}, Н.В. Крахмаль^{1,2}, С.В. Паталяк^{1,2}, М.Н. Тарасов²,
Н.Н. Бабышкина^{1,2}, С.В. Вторушин^{1,2}

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

Россия, г. Томск, 634009, пер. Кооперативный, 5. E-mail: valeria.ssmu@gmail.com¹

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

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

Аннотация

Цель исследования – обобщение имеющихся сведений о возможных молекулярно-биологических механизмах развития неэффективности эндокринотерапии ингибиторами ароматазы у пациентов, больных люминальным раком молочной железы. **Материал и методы.** Поиск литературы производился в системах Medline, Cochrane Library, Elibrary и PubMed, включались публикации, характеризующие современный взгляд на проблему устойчивости опухолей молочной железы к проводимой терапии. **Результаты.** В обзоре освещены результаты международных исследований молекулярно-биологических характеристик опухолей молочной железы и их связь с эффективностью проводимой гормонотерапии. Особое внимание уделено описанию современных исследований по изучению белков ROR1 и BMI-1 и их вклада в развитие устойчивости опухоли к лечению. Проведен анализ мировой литературы, подтверждающий актуальность исследования молекулярных и генетических характеристик опухолевой ткани у пациентов с люминальным РМЖ, сопоставления полученных данных с клиническим течением и ответом на гормонотерапию с целью их стандартизации для внедрения в повседневную практику в качестве «золотого стандарта диагностики».

Ключевые слова: рак молочной железы, люминальные подтипы, ROR1, BMI-1, адъювантная гормонотерапия.

Breast cancer (BC) is the most commonly diagnosed cancer in women worldwide. According to the National Center for Health Statistics (NCHS), about 279,000 new cases of breast cancer were diagnosed in the United States in 2020, and about 42,000 women died from the disease [1]. About 70 % of all breast tumors are of the luminal Her2-negative type and characterized by the presence of estrogen/progesterone receptor expression and the absence of Her2Neu protein expression [2]. Adjuvant endocrine therapy is one of the main therapeutic approaches for these types of tumors, as it reduces the risk of progression and recurrence by an average of 40 % [3]. The use of aromatase inhibitors in postmenopausal patients can achieve a favorable clinical outcome. However, most hormone-sensitive tumors develop resistance to therapy [4].

The role of various molecular genetic markers in the mechanisms involved in drug resistance in luminal breast cancer

Over the past years, various molecular biological characteristics of breast tumors have been described to understand the mechanisms of the development of resistance to therapy, including hormone therapy. Much attention is paid to the study of aromatase, which is responsible for the conversion of androgens into estrogens. Normally, the level of aromatase in the breast adipose tissue is low. The distal promoter 1.4 is used in the synthesis of aromatase, and the proximally located promoters 1.3 and II are practically not involved in the process. Malignant epithelial cells of breast tissue are able to secrete prostaglandin E2 (PGE 2), which shifts the promoter from 1.4 to 1.3/II, thereby initiating a sharp jump in aromatase synthesis [5], therefore, it is promising to study and create selective inhibitors of aromatase promoters.

Research is underway to find molecular characteristics of a tumor that can be used as targets to overcome emerging drug resistance. It is known that

the TP53 gene mutation, the wild type of which is an anti-oncogene, is associated with the luminal B subtype of breast cancer and a higher Ki67 level, which, in turn, determines the low efficiency of hormone therapy and a less favorable prognosis of the disease. Also of interest is the contribution to the development of drug resistance of the protein kinase MAP3K1, which is a component of several signaling pathways that regulate inflammation and immune responses. The MAP3K1 gene mutation is associated with the luminal A subtype, low Ki67 values, and a more favorable tumor response to hormone therapy. A number of authors confirm the prospects for further study of the GATA3 transcription factor and its influence on the prognosis of breast cancer. It has been shown experimentally *in vitro* that GATA3 may be one of the key factors in the process of differentiation of tumor cells in luminal type of breast cancer. GATA3 is a regulator of a certain set of genes that directly affect the process of differentiation and proliferation of breast cancer cells [6, 7]. The mutation of the transcription factor GATA3 correlated with a greater suppression of Ki67 levels after treatment with aromatase inhibitors, but not with the initial Ki67 level, which can also be considered a predictor of a more favorable course of the disease [8]. Also, a number of authors note that high expression of GATA3 is most often associated with ER-positive tumors of low malignancy and a more favorable prognosis of the disease [9]. The DNA-binding protein FOXA1 is of interest to many researchers. In breast cancer, the levels of the FOXA1 marker significantly correlate with the positive expression of ER α , GATA3, PR, which indicates its participation in the implementation of estrogen-mediated signaling pathways in tumor cells [10].

In the literature, there are also studies on the role of the estrogen receptor gene ESR1 in the development of resistance to hormone therapy with tamoxifen and aromatase inhibitors. It was noted that in the presence of the ESR1 mutation in tumor cells, hyperactivation

of the UPR (Unfolded protein response) signaling pathway was observed, which contributed to the development of an endocrine-resistant phenotype in the tumor. Thus, UPR hyperactivation can be considered one of the predictors of resistance to hormone therapy. It was also shown that in the presence of the ESR1 mutation, patients responded to therapy with fulvestrant or targeted therapy with CDK 4/6. But to overcome endocrine-resistant forms, it is necessary to develop more selective estrogen receptor destructors and/or new targets [11].

In recent years, it has been promising to study the influence of immune responses on the development of malignant neoplasms. Chronic inflammation is often present in the tissues of breast tumors. In experimental models of breast cancer, it has been revealed that CD4 T-lymphocytes producing IL-4 regulate the activity of the so-called tumor-associated macrophages (TAMs) and promote the invasion of tumor cells into the surrounding healthy tissues, as well as the process of metastasis. TAMs, in turn, activate the EGFR signaling pathway, which is associated with a less favorable prognosis of the course of the disease and resistance to treatment, hormone therapy in particular [11].

It has been shown that chronic inflammation causes an increase in the level of prostaglandin E2 (PGE2), which can induce the expression of the FOXP3 protein in regulatory T cells (Treg), changing their phenotype and thereby reducing the effectiveness of the immune response in the tumor tissue, worsening the prognosis. Studies have shown that high infiltration of Treg cells in breast tumor tissue is associated with a more aggressive course of the disease and ineffectiveness of hormone therapy. It is interesting to note that with neoadjuvant hormone therapy, the levels of FOXP3 protein and Treg cells in the tumor decreased [12].

Currently, special attention is paid to the study of signaling pathways of tumor cells, including the WNT-

intracellular cascade. The Wnt signaling pathway plays an important role in the processes of embryogenesis, cell differentiation, and the development of malignant tumors. The canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway and non-canonical signaling pathways such as Wnt/ Ca^{2+} and Wnt/PCP (planar cell polarity) are distinguished. When Wnt proteins bind to ROR1/2 receptors, receptors of the Frizzled (FZD) family, and RYK (receptor like tyrosine kinase), the Wnt/ Ca^{2+} signaling pathway is activated, which leads to the recruitment of G-proteins. G-proteins, in turn, activate phospholipase C (PLC), which catalyzes the hydrolysis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2) to inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) and diacylglycerol (DAG). DAG remains in the cell membrane, promoting the activation of protein kinase C (PKC). IP3, by diffusion, enters the cytosol of the cell, where it binds to Ca^{2+} channels and triggers the process of Ca^{2+} ions entering the cytoplasm [13]. An increase in the concentration of Ca^{2+} inside the cell can stimulate the activation of calcineurin (Ca^{2+} -dependent serine/threonine phosphatase). This process leads to the accumulation of the nuclear factor associated with T-cells (NFAT), which enhances cell motility and promotes the initiation of the epithelial-mesenchymal transition [14]. I. Pacheco and R.J. Macleod showed that extracellular Ca^{2+} led to the activation of calcium-sensitive receptors (CaSR), which was the reason for an increase in the production of Wnt5a protein.

Wnt5a protein binds to the transmembrane receptor protein kinase ROR1, causing the latter to dimerize, which leads to the activation of the PI3K/AKT signaling pathway. The active PI3K pathway causes phosphorylation of the BMI-1 protein, which leads to chromatin remodeling (fig. 1).

A number of authors associate this process with the development of subsequent genetic instability of the tumor cell and the possibility of the development of

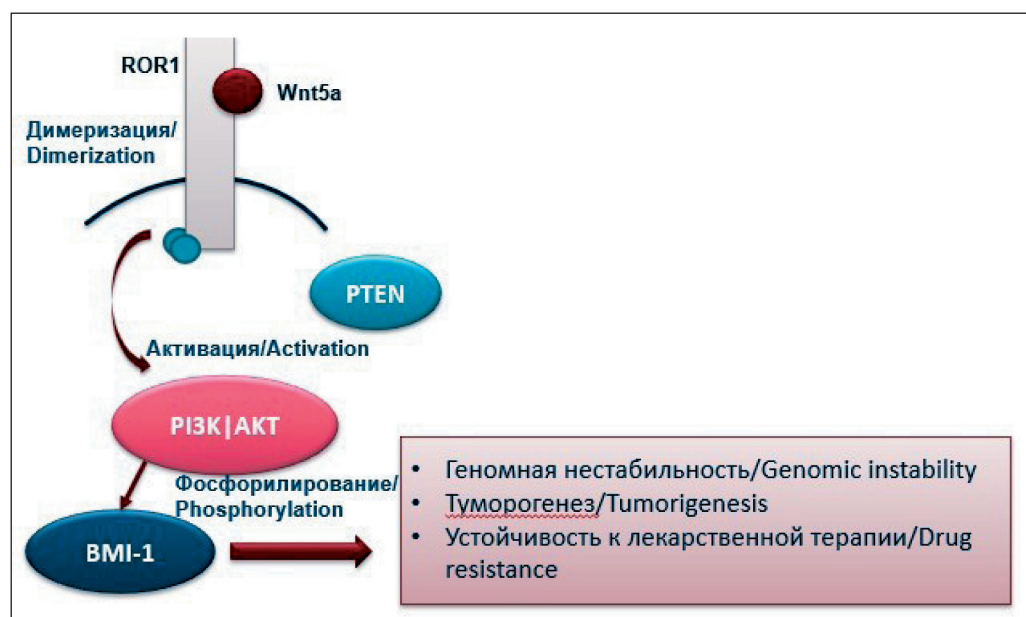


Fig. 1. Wnt signaling pathway. ROR1 and BMI-1 activation mechanism
Рис.1. Wnt-сигнальный путь. Механизм активации ROR1 и BMI-1

drug resistance [15, 16]. The described mechanism is being actively studied in malignant neoplasms of various localization (lungs, prostate gland, colon), but its role in the development of the ineffectiveness of the drug treatment of breast cancer (hormone therapy in particular) has not been sufficiently studied.

Characteristics and role of the ROR1 protein in the development of malignant neoplasms

ROR1 (Receptor Tyrosine Kinase Like Orphan Receptor 1) is a protein of the receptor tyrosine kinase family that is encoded in humans by the ROR1 gene. High expression of this protein is typical for most body tissues during embryogenesis, but practically does not occur in healthy tissues of an adult [17, 18]. However, under physiological conditions, the protein can be expressed in the parathyroid glands, islets of the pancreas, in the esophagus, stomach and duodenum [19]. Increased expression of ROR1 in tissues is associated with the development of malignant neoplasms of various localizations. High levels of expression of the marker are especially characteristic in chronic lymphocytic leukemia and some types of solid tumors, including cancer of the lungs, ovaries, and breast [20, 21]. It has been shown that high rates of ROR1 expression in patients with chronic lymphocytic leukemia are associated with a decrease in overall survival [22]. When studying the role of this protein in ovarian cancer, it was found that tumor cells with a high level of ROR1 expression had a more pronounced genetic similarity with tumor stem cells, which was manifested in high values of CD133, CD44 expression on the cell surface, as well as in high levels of ALDH1. Also, ovarian tumors with high ROR1 expression were prone to more rapid onset of distant metastases, which gives grounds to associate high levels of this protein with a decrease in life expectancy and an unfavorable prognosis of the disease [20].

Studies have found that high levels of ROR1 expression in breast cancer are associated with a later stage of the disease, an aggressive course of the tumor process, more frequent relapses after treatment, and a generally poor prognosis [16]. It was also noted that high levels of expression of this protein in breast neoplasms can promote the growth and proliferation of tumor cells, avoidance of apoptosis, and epithelial-mesenchymal transition [23].

One of the key components associated with the epithelial-mesenchymal transition is the Twist group of transcription factors. Twist1 and Twist2 are key regulators of embryonic development and organogenesis. Twist1 is involved in angiogenesis, dissemination and chemoresistance, and also promotes the acquisition of stem properties by tumor cells in carcinomas, sarcomas of various localizations and hematological malignant neoplasms. At the same time, the biological functions of Twist2 in tumors are still very controversial and poorly understood. According to a study by J. Cao et al. [24] the transcription factor Twist directly activates

ROR1 transcription and triggers a chain of events that can lead to epithelial-mesenchymal transition, invasion, and metastasis.

The researchers found that the mechanism of tumor migration and metastasis occurred due to the phosphorylation of the cortactin protein by ROR1 kinase. Cortactin (also known as EMS1 or CTTN) is expressed by neoplastic cells of various cancers and appears to be involved in the migration of tumor cells during metastasis. Upon external stimulation, cortactin undergoes phosphorylation by tyrosine, which leads to an ordered rearrangement and polymerization of the actin cytoskeleton. This process is also required to start the processes of cell migration [25]. It is interesting to note that a relationship between ROR1 activation and FGFR activation has been shown in models of basal cell BC, which is associated with a poorer prognosis [26].

Several studies reported a high level of ROR1 expression in the surviving tumor cells using models of breast cancer xenografts in mice after a course of chemotherapy with paclitaxel. As a second line of therapy, in such cases, therapy was prescribed with the targeted anti-ROR1 drug cirmtuzumab, which slowed down the processes of metastasis. It was noted that in the group that was initially treated with the combination of paclitaxel+cirmtuzumab, the effectiveness of therapy was higher than in the group where the treatment was started with paclitaxel monotherapy [16]. This study also revealed a relationship between high expression of ROR1 with the activation of the Hippo signaling pathway (namely, the YAP/TAZ gene, which carries the role of an oncogene and promotes the transformation of tumor cells into tumor stem cells) and BMI-1. Targeted blocking of the ROR1 receptor with cirmtuzumab blocked Wnt5a ligand-mediated activation of the Hippo-YAP/TAZ signaling pathway and BMI-1, and was therefore associated with a better prognosis.

One of the mechanisms leading to an increase in the effectiveness of chemotherapy in ROR1 knockdown is associated with the involvement of glycoproteins in the process. ROR1 indirectly through MAPK/ERK increases the expression of the so-called «drug pump» ABCB1, which is a P-glycoprotein, which, in turn, removes chemotherapy drugs outside the cell. Functional ABC transporters are large integral membrane proteins containing two transmembrane domains (TMD) and two nucleotide binding domains (NBD). The molecular mechanism of transport occurs due to the hydrolysis of adenosine triphosphate (ATP), which leads to a series of conformational changes covering the molecule from cytoplasmic ATP-binding units to TMD helices, which form a transmembrane pore through which a particular substance is excreted [27].

ABC transporters are not limited to removing only chemotherapy drugs, but also utilize a whole range of different groups of drugs from the cell, including NSAIDs, antibiotics, and others. ABCB1 predominantly removes hydrophobic compounds. The associa-

tion was reliably identified between ROR1 inhibition and increased DNA damage by anthracyclines and platinum-based drugs [27].

Dimerization of the ROR1 receptor by the Wnt5a ligand of the Wnt signaling pathway leads to the recruitment of various adapter proteins that trigger unwanted activation of the PI3K/AKT pathway [28, 29]. PI3K/AKT pathway is an intracellular signaling pathway, the central components of which are the enzymes phosphoinositide 3-kinase (PI3K), AKT and mTOR kinases. This pathway is one of the universal signaling pathways characteristic of most cells of the human body. Its activation is responsible for cell escape from apoptosis, promotes cell growth and proliferation. A number of clinical studies have confirmed that mutations in the alpha catalytic subunit p110 α PI3K (PI3KCA) are present in 40 % of cases of luminal Her2Neu-negative breast cancer. It was determined that these genetic disorders lead to PI3K/AKT hyperactivation, which, in turn, leads to uncontrolled cell proliferation and is associated with a more unfavorable prognosis of the course of luminal breast cancer [30, 31]. One of the mechanisms of action of the active PI3K/AKT pathway is through phosphorylation of the BMI-1 protein.

Characteristics and role of BMI-1 protein in the development of malignant neoplasms

BMI-1 is a polycomb family protein that is an epigenetic suppressor through heterodimerization by Ring1B/Rnf2. Ring1B/Rnf2 stimulates the activity of BMI-1 ubiquitin ligase against lysine 119 of histone 2A (H2A-K119) [32]. The latter determines the expression pattern of genes involved in various cellular processes such as proliferation, growth, DNA repair, apoptosis, and aging. It is known that BMI-1 plays an important role in modulating the potential of hematopoietic and neuronal stem cells for self-renewal and differentiation. However, this protein also promotes self-renewal and differentiation of tumor stem cells.

High levels of BMI-1 expression are found in malignant neoplasms of various localizations: cancer

of the prostate gland, lungs, pancreas, ovaries, lymphomas, and breast cancer. This protein is capable of imparting stem properties to tumor cells, which contributes to the development of processes of epithelial-mesenchymal transition, metastasis, and, possibly, resistance to chemotherapy [33]. In models of breast cancer, it was shown that knockdown of BMI-1 expression disrupted the ability of tumor stem cells to initiate tumorigenesis, while restoration of the expression of this protein led to the opposite effect. Phosphorylation of proteins of the polycomb family, BMI-1 in particular, leads to chromatin remodeling. This process is associated with a more aggressive clinical course of the tumor process, the emergence of resistance to radiation and drug therapy [17]. Experimental studies showed that the PTC 209 inhibitor reduced the level of BMI-1 protein expression in tumor cells of the colon, biliary tract, and leukemia, which was associated with a more favorable prognosis [34–36]. Most often, BMI-1 inactivation stops the G1 and S phases of the cell cycle, causing apoptosis of tumor cells [37]. Several recent studies indicate BMI1 protein expression levels correlate with the molecular subtype of breast cancer. It has been shown that high expression of this protein is more common in luminal breast cancer and is associated with more favorable prognosis factors, such as low malignancy, low mitotic index, and lack of Her2Neu expression [38].

Thus, based on the accumulated data, there is no reason to doubt the significant role of the ROR-1 and BMI1 proteins in the process of tumorigenesis and their influence on the prognosis of luminal BC types. However, many results are controversial and not sufficient to assess the contribution of these proteins to the development of endocrine therapy ineffectiveness. There is a further need to study the molecular and genetic characteristics of tumor tissue in patients with luminal BC, to compare the data obtained with the clinical course and response to hormone therapy in order to standardize them for implementation in everyday practice as the “gold standard of diagnosis”.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Siegel R.L., Jakubowski C.D., Fedewa S.A., Davis A., Azad N.S. Colorectal cancer in the young: epidemiology, prevention, management. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2020; 40: 1–14. doi: 10.1200/EDBK.279901.
2. Sorlie T., Perou C.M., Tibshirani R., Aas T., Geisler S., Johnsen H., Hastie T., Eisen M.B., van de Rijn M., Jeffrey S.S., Thorsen T., Quist H., Matese J.C., Brown P.O., Botstein D., Lønning P.E., Børresen-Dale A.L. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98(19): 10869–74. doi: 10.1073/pnas.191367098.
3. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. *Lancet*. 2015; 386(10001): 1341–52. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61074-1.
4. Araki K., Miyoshi Y. Mechanism of resistance to endocrine therapy in breast cancer: the important role of PI3K/Akt/mTOR in estrogen receptor-positive, HER2-negative breast cancer. *Breast Cancer*. 2018; 25(4): 392–401. doi: 10.1007/s12282-017-0812-x.
5. Zhao H., Zhou L., Shanguan A.J., Bulun S.E. Aromatase expression and regulation in breast and endometrial cancer. *J Mol Endocrinol*. 2016; 57(1): 19–33. doi: 10.1530/JME-15-0310.
6. Gustin J.P., Miller J., Farag M., Rosen D.M., Thomas M., Scharpf R.B., Lauring J. GATA3 frame shift mutation promotes tumor growth in human luminal breast cancer cells and induces transcriptional changes seen in primary GATA3 mutant breast cancers. *Oncotarget*. 2017; 8(61): 103415–427. doi: 10.18632/oncotarget.21910.
7. Emmanuel N., Lofgren K.A., Peterson E.A., Meier D.R., Jung E.H., Kenny P.A. Mutant GATA3 Actively Promotes the Growth of Normal and Malignant Mammary Cells. *Anticancer Res*. 2018; 38(8): 4435–41. doi: 10.21873/anticancer.12745.
8. Ellis M.J., Ding L., Shen D., Luo J., Suman V.J., Wallis J.W., Van Tine B.A., Hoog J., Goiffon R.J., Goldstein T.C., Ng S., Lin L., Crowder R., Snider J., Ballman K., Weber J., Chen K., Koboldt D.C., Kandoth C., Schierding W.S., McMichael J.F., Miller C.A., Lu C., Harris C.C., McLellan M.D., Wendl M.C., DeSchryver K., Allred D.C., Esserman L., Unzeitig G., Margenthaler J., Babiera G.V., Marcom P.K., Guenther J.M., Leitch M., Hunt K., Olson J., Tao Y., Maher C.A., Fulton L.L., Fulton R.S., Harrison M., Oberkfell B., Du F., Demeter R., Vickery T.L., Elhammali A., Piwnica-Worms H., McDonald S., Watson M., Dooling D.J., Ota D., Chang L.W., Bose R., Ley T.J., Piwnica-Worms D., Stuart J.M., Wilson R.K., Mardis E.R. Whole-genome analysis informs breast cancer response to aromatase inhibition. *Nature*. 2012; 486(7403): 353–60. doi: 10.1038/nature11143.

9. Gonzalez R.S., Wang J., Kraus T., Sullivan H., Adams A.L., Cohen C. GATA-3 expression in male and female breast cancers: comparison of clinicopathologic parameters and prognostic relevance. *Hum Pathol.* 2013; 44(6): 1065–70. doi: 10.1016/j.humpath.2012.09.010.
10. Hurtado A., Holmes K.A., Ross-Innes C.S., Schmidt D., Carroll J.S. FOXA1 is a key determinant of estrogen receptor function and endocrine response. *Nat Genet.* 2011; 43(1): 27–33. doi: 10.1038/ng.730.
11. Ma C.X., Reinert T., Chmielewska I., Ellis M.J. Mechanisms of aromatase inhibitor resistance. *Nat Rev Cancer.* 2015; 15(5): 261–75. doi: 10.1038/nrc3920.
12. Generali D., Bates G., Berruti A., Brizzi M.P., Campo L., Bonardi S., Bersiga A., Allevi G., Milani M., Aguggini S., Dogliotti L., Banham A.H., Harris A.L., Bottini A., Fox S.B. Immunomodulation of FOXP3+ regulatory T cells by the aromatase inhibitor letrozole in breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(3): 1046–51. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1507.
13. De A. Wnt/Ca21 signaling pathway: a brief overview. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2011; 43(10): 745–56. doi: 10.1093/abbs/gmr079.
14. Cai X., Yao Z., Li L., Huang J. Role of DKK4 in Tumorigenesis and Tumor Progression. *Int J Biol Sci.* 2018; 14(6): 616–21. doi: 10.7150/ijbs.24329.
15. Hasan K., Widhopf 2nd G.F., Zhang S., Lam S.M., Shen Z., Briggs S.P., Parker B.A., Kipps T.J. Wnt5a induces ROR1 to recruit cortactin to promote breast-cancer migration and metastasis. *NPJ Breast Cancer.* 2019; 5: 35. doi: 10.1038/s41523-019-0131-9.
16. Zhang S., Zhang H., Ghia E.M., Huang J., Wu L., Zhang J., Lam S., Lei Y., He J., Cui B., Widhopf 2nd G.F., Yu J., Schwab R., Messer K., Jiang W., Parker B.A., Carson D.A., Kipps T.J. Inhibition of chemotherapy resistant breast cancer stem cells by a ROR1 specific antibody. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019; 116(4): 1370–7. doi: 10.1073/pnas.1816262116.
17. Karvonen H., Barker H., Kaleva L., Niininen W., Ungureanu D. Molecular Mechanisms Associated with ROR1-Mediated Drug Resistance: Crosstalk with Hippo-YAP/TAZ and BMI-1 Pathways. *Cells.* 2019; 8(8): 812. doi: 10.3390/cells8080812.
18. Borcherdin N., Kusner D., Liu G.H., Zhang W. ROR1, an embryonic protein with an emerging role in cancer biology. *Protein Cell.* 2014; 5(7): 496–502. doi: 10.1007/s13238-014-0059-7.
19. Balakrishnan A., Goodpaster T., Randolph-Habecker J., Hofstrom B.G., Jalikis F.G., Koch L.K., Berger C., Kosasih P.L., Rajan A., Sommermeier D., Porter P.L., Riddell S.R. Analysis of ROR1 Protein Expression in Human Cancer and Normal Tissues. *Clin Cancer Res.* 2017; 23(12): 3061–71. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2083.
20. Zhang S., Zhao X., Zhang D. Cellular and molecular immunopathogenesis of ulcerative colitis. *Cell Mol Immunol.* 2014; 11(3): 314. doi: 10.1038/cmi.2014.18.
21. Saleh R.R., Antràs J.F., Peinado P., Pérez-Segura P., Pandiella A., Amir E., Ocaña A. Prognostic value of receptor tyrosine kinase-like orphan receptor (ROR) family in cancer: A meta-analysis. *Cancer Treat Rev.* 2019; 77: 11–9. doi: 10.1016/j.ctrv.2019.05.006.
22. Gonzalez-Angulo A.M., Timms K.M., Liu S., Chen H., Litton J.K., Potter J., Lanchbury J.S., Stemke-Hale K., Hennessy B.T., Arun B.K., Hortobagyi G.N., Do K.A., Mills G.B., Meric-Bernstam F. Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2011; 17(5): 1082–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2560.
23. Li C., Wang S., Xing Z., Lin A., Liang K., Song J., Hu Q., Yao J., Chen Z., Park P.K., Hawke D.H., Zhou J., Zhou Y., Zhang S., Liang H., Hung M.C., Gallick G.E., Han L., Lin C., Yang L. A ROR1-HER3-lncRNA signalling axis modulates the Hippo-YAP pathway to regulate bone metastasis. *Nat Cell Biol.* 2017; 19(2): 106–19. doi: 10.1038/ncb3464.
24. Cao J., Wang X., Dai T., Wu Y., Zhang M., Cao R., Zhang R., Wang G., Jiang R., Zhou B.P., Shi J., Kang T. Twist promotes tumor metastasis in basal-like breast cancer by transcriptionally upregulating ROR1. *Theranostics.* 2018; 8(10): 2739–51. doi: 10.7150/thno.21477.
25. Hammer A., Laghate S., Diakonova M. Src tyrosyl phosphorylates cortactin in response to prolactin. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 2015; 463: 644–9. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.05.116.
26. Pandey G., Borcherdin N., Kolb R., Kluz P., Li W., Sugg S., Zhang J., Lai D.A., Zhang W. ROR1 Potentiates FGFR Signaling in Basal-Like Breast Cancer. *Cancers (Basel).* 2019; 11(5): 718. doi: 10.3390/cancers11050718.
27. Fultang N., Illendula A., Lin J., Pandey M.K., Klase Z., Peethambaran B. ROR1 regulates chemoresistance in Breast Cancer via modulation of drug efflux pump ABCB1. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 1821. doi: 10.1038/s41598-020-58864-0.
28. Yu J., Chen L., Cui B., Widhopf G.F. 2nd, Shen Z., Wu R., Zhang L., Zhang S., Briggs S.P., Kipps T.J. Wnt5a induces ROR1/ROR2 heterooligomerization to enhance leukemia chemotaxis and proliferation. *J Clin Invest.* 2016; 126(2): 585–98. doi: 10.1172/JCI83535.
29. Faião-Flores F., Emmons M.F., Durante M.A., Kinose F., Saha B., Fang B., Koomen J.M., Chellappan S.P., Maria-Engler S.S., Rix U., Licht J.D., Harbour J.W., Smalley K.S.M. HDAC Inhibition Enhances the In Vivo Efficacy of MEK Inhibitor Therapy in Uveal Melanoma. *Clin Cancer Res.* 2019; 25(18): 5686–5701. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3382.
30. Hoeflich K.P., Guan J., Edgar K.A., O'Brien C., Savage H., Wilson T.R., Neve R.M., Friedman L.S., Wallin J.J. The PI3K inhibitor taselisib overcomes letrozole resistance in a breast cancer model expressing aromatase. *Genes Cancer.* 2016; 7(3–4): 73–85. doi: 10.18632/genescancer.100.
31. Baselga J., Campone M., Piccart M., Burris H.A., Rugo H.S., Sahmoud T., Noguchi S., Gnant M., Pritchard K.I., Lebrun F., Beck J.T., Ito Y., Yardley D., Deleu I., Perez A., Bachelot T., Vittori L., Xu Z., Mukhopadhyay P., Lebwohl D., Hortobagyi G.N. Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2012; 366(6): 520–9. doi: 10.1056/NEJMoa1109653.
32. Gray F., Cho H.J., Shukla S., He S., Harris A., Boytsov B., Jaremko L., Jaremko M., Demeler B., Lawlor E.R., Grembecka J., Cierpicki T. BMI1 regulates PRC1 architecture and activity through homo- and hetero-oligomerization. *Nat Commun.* 2016; 7: 13343. doi: 10.1038/ncomms13343.
33. Claude-Taupin A., Boyer-Guittaut M., Delage-Mourroux R., Hervouet E. Use of epigenetic modulators as a powerful adjuvant for breast cancer therapies. *Methods Mol Biol.* 2015; 1238: 487–509. doi: 10.1007/978-1-4939-1804-1_25.
34. Kreso A., van Galen P., Pedley N.M., Lima-Fernandes E., Frelin C., Davis T., Cao L., Baizaitov R., Du W., Sydorenko N., Moon Y.C., Gibson L., Wang Y., Leung C., Iscove N.N., Arrowsmith C.H., Szentgyorgyi E., Gallinger S., Dick J.E., O'Brien C.A. Self-renewal as a therapeutic target in human colorectal cancer. *Nat Med.* 2014; 20(1): 29–36. doi: 10.1038/nm.3418.
35. Bolonsky A., Schlangen K., Schreiner W., Zojer N., Ludwig H. Targeting of BMI-1 with PTC-209 shows potent anti-myeloma activity and impairs the tumour microenvironment. *J Hematol Oncol.* 2016; 9: 17. doi: 10.1186/s13045-016-0247-4.
36. Darwish N.H., Sudha T., Godugu K., Elbaz O., Abdelghaffar H.A., Hassan E.E., Mousa S.A. Acute myeloid leukemia stem cell markers in prognosis and targeted therapy: potential impact of BMI-1, TIM-3 and CLL-1. *Oncotarget.* 2016; 7(36): 57811–20. doi: 10.18632/oncotarget.11063.
37. Sahasrabudde A.A. BMI1: A Biomarker of Hematologic Malignancies. *Biomark Cancer.* 2016; 8: 65–75. doi: 10.4137/BIC.S33376.
38. Althobiti M., Muftah A.A., Aleskandarany M.A., Joseph C., Toss M.S., Green A., Rakha E. The prognostic significance of BMI1 expression in invasive breast cancer is dependent on its molecular subtypes. *Breast Cancer Res Treat.* 2020; 182(3): 581–9. doi: 10.1007/s10549-020-05719-x.

Поступила/Received 21.12.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 13.05.2022

Принята к публикации/Accepted 31.06.2022

ABOUT THE AUTHORS

Valeriia O. Tarakanova, MD, Postgraduate at Department of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant at the Oncology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). E-mail: valeria.ssmu@gmail.com. Author ID (Scopus): 869234. ORCID: 0000-0001-9472-017X.

Nadezhda V. Krakhmal, MD, PhD, Associate Professor, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor at the Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3799-2016, Author ID (Scopus): 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

Stanislav V. Patalyak, MD, PhD, Head of the Department of Day hospital, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant at the Oncology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2358-2012. AuthorID (Scopus): 56324415300. ORCID: 0000-0002-9468-1980.

Mikhail N. Tarasov, MD, Resident of Oncology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0003-3878-2290.

Nataliya N. Babyshkina, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor at the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course of clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 26641099700. Researcher ID (WOS): A-7526-2012. ORCID: 0000-0002-0562-3878.

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Head of the Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor at the Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus) 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

AUTHOR CONTRIBUTION

Valeriia O. Tarakanova: concept development, review of publications on the topic of the article, text writing.

Nadezhda V. Krakhmal: analysis of the article, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Stanislav V. Patalyak: analysis of the article, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Mikhail N. Tarasov: analysis of the intellectual content of the article.

Nataliya N. Babyshkina: final approval of the manuscript for publication.

Sergey V. Vtorushin: development of the concept and structure, analysis of the intellectual content of the article, editing of the final version of the article.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тараканова Валерия Олеговна, аспирант, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: valeria.ssmu@gmail.com. SPIN-код: 9986-7494. Author ID (Scopus): 869234. ORCID: 0000-0001-9472-017X.

Крахмаль Надежда Валерьевна, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1543-6546. Researcher ID (WOS): S-3799-2016. Author ID (Scopus): 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

Паталяк Станислав Викторович, кандидат медицинских наук, заведующий онкологическим отделением дневного стационара, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8497-1750. Researcher ID (WOS): D-2358-2012. Author ID (Scopus): 56324415300. ORCID: 0000-0002-9468-1980.

Тарасов Михаил Николаевич, ординатор, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия. ORCID: 0000-0003-3878-2290.

Бобышкіна Наталия Николаевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2738-9275. Author ID (Scopus): 26641099700. Researcher ID (WOS): A-7526-2012. ORCID: 0000-0002-0562-3878.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, заведующий отделением общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2442-4720. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

ВКЛАД АВТОРОВ

Тараканова Валерия Олеговна: разработка концепции, обзор публикаций по теме статьи, написание текста.

Крахмаль Надежда Валерьевна: анализ статьи, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Паталяк Станислав Викторович: анализ статьи, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Тарасов Михаил Николаевич: обзор публикаций по теме статьи.

Бабышкина Наталья Николаевна: окончательное утверждение рукописи для публикации.

Вторушин Сергей Владимирович: разработка концепции и структуры, анализ интеллектуального содержания статьи, редактирование окончательного варианта статьи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-143-150
УДК: 616.24-006.6-089

Для цитирования: Кит О.И., Туркин И.Н., Харагезов Д.А., Лазутин Ю.Н., Лейман И.А., Чубарян А.В., Мирзоян Э.А. Последовательная бронхопластическая верхняя лобэктомия – хирургический компонент мультимодального лечения синхронного двухстороннего первично-множественного немелкоклеточного рака легкого. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 143–150. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-143-150

For citation: Kit O.I., Turkin I.N., Kharagezov D.A., Lazutin Yu.N., Leiman I.A., Chubaryan A.V., Mirzoyan E.A. Sequential bronchoplastic upper lobectomy as a surgical component of multimodal treatment for synchronous bilateral multiple primary non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 143–150. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-143-150

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНАЯ БРОНХОПЛАСТИЧЕСКАЯ ВЕРХНЯЯ ЛОБЭКТОМИЯ – ХИРУРГИЧЕСКИЙ КОМПОНЕНТ МУЛЬТИМОДАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ СИНХРОННОГО ДВУХСТОРОННЕГО ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННОГО НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

О.И. Кит, И.Н. Туркин, Д.А. Харагезов, Ю.Н. Лазутин, И.А. Лейман,
А.В. Чубарян, Э.А. Мирзоян

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России,
г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63. E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru

Аннотация

Актуальность. Рак легкого (РЛ) является основной причиной смерти от рака у мужчин как в России, так и в зарубежных странах. Хирургическое вмешательство является основным методом лечения ранних стадий немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Однако с увеличением распространенности процесса возрастает риск метастазирования, а эффективность хирургического метода снижается. Тактика лечения пациентов с одним НМРЛ отработана, но при наличии 2 и более опухолей, особенно в обоих легких, правильный выбор обусловлен множеством дополнительных факторов. Взгляд на хирургическое лечение синхронного первично-множественного НМРЛ кардинально изменился, вместе с тем больные с местнораспространенным синхронным НМРЛ часто лечатся консервативно, а для тех, кто подвергается оперативному вмешательству, прогностические факторы неясны. В настоящее время доказано, что прогноз заболевания после хирургического лечения по поводу двухстороннего синхронного первично-множественного НМРЛ является благоприятным. Считается, что пневмонэктомия не оказывает отрицательного влияния на выживаемость, но в сериях хирургического лечения синхронного НМРЛ с большим удельным весом данного вмешательства послеоперационная летальность, по данным некоторых авторов, увеличивается до 4,3–6,9 %, т. е. в 1,5–2 раза. **Описание.** Наше сообщение содержит описание редкого применения расширенной бронхопластической верхней лобэктомии в качестве хирургического компонента комплексного лечения больного двухсторонним синхронным НМРЛ. Наш опыт показывает, что последовательное применение современных медицинских технологий позволяет добиться удовлетворительных отдаленных результатов лечения. **Заключение.** Представленное клиническое наблюдение в силу своей уникальности будет полезно для выработки тактики и планирования лечения синхронного местнораспространенного НМРЛ.

Ключевые слова: рак легкого, множественный, синхронный, хирургическое лечение, мультимодальная терапия, прогноз.

SEQUENTIAL BRONCHOPLASTIC UPPER LOBECTOMY AS A SURGICAL COMPONENT OF MULTIMODAL TREATMENT FOR SYNCHRONOUS BILATERAL MULTIPLE PRIMARY NON-SMALL CELL LUNG CANCER

O.I. Kit, I.N. Turkin, D.A. Kharagezov, Yu.N. Lazutin, I.A. Leiman, A.V. Chubaryan, E.A. Mirzoyan

National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia 63, 14-th liniya St., 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru

Abstract

Relevance. Lung cancer (LC) is the leading cause of cancer-related death worldwide including Russia. Surgery remains the standard of care for early non-small cell lung cancer (NSCLC). However, as the disease progresses, the risk of metastasis increases, and the effectiveness of surgical intervention decreases. The treatment strategy for patients presenting with a single NSCLC has long been developed. However, for patients with two or more tumors, especially in both lungs, the correct choice is determined by many additional factors. Currently, the view on the surgical treatment for synchronous multiple primary NSCLC has changed dramatically. However, patients with locally advanced synchronous NSCLC often receive conservative treatment, and for those who do undergo surgery, the prognostic factors are unclear. The disease prognosis in patients after surgical treatment for bilateral synchronous multiple primary NSCLC has now been proven to be favorable. Pneumonectomy is believed to have no any negative effect on survival; however, several authors reported on a 1.5-2-fold increase in postoperative mortality in a series of surgeries for synchronous NSCLC. **Case description.** We herein report a case in which extended bronchoplastic upper lobectomy was successfully applied in the treatment of a patient with bilateral synchronous NSCLC. Our experience demonstrates that the sequential application of modern therapeutic modalities results in satisfactory long-term outcomes in the treatment of locally advanced LC. **Conclusion.** Due to its uniqueness, this clinical case will be useful for developing treatment strategy for synchronous locally advanced NSCLC as well as for improving the quality of life of patients and increasing their survival.

Key words: lung cancer, multiple, synchronous, surgical treatment, multimodal therapy, prognosis.

Актуальность

Рак легкого (РЛ) остается актуальной проблемой современной онкологии из-за роста показателей заболеваемости и смертности [1]. Хирургическое вмешательство является основным методом лечения ранних стадий НМРЛ. По мере прогрессирования заболевания возрастает риск метастазирования, а эффективность хирургического метода снижается. Тактика лечения пациентов с одним НМРЛ отработана, в то время как при наличии двух и более опухолей, особенно в обоих легких, правильный выбор обусловлен множеством дополнительных факторов. В отсутствие экстраторакальных метастазов двухсторонняя патология может представлять собой как независимые первичные опухоли, так и внутрилегочные метастатические очаги [2]. Очевидно, что в первом случае хирургическое вмешательство принесет больному пользу, тогда как во втором не повлияет на исход ставшего системным заболевания, возможно, ухудшив качество жизни. Представленные данные свидетельствуют о сложности рассматриваемой проблемы. В нескольких ранних исследованиях сообщалось об отсутствии длительной выживаемости больных, перенесших

операцию, отсюда, независимо от, вероятно, различного биологического поведения, сложилось мнение о плохом прогнозе мультифокальных опухолей [3]. Вместе с тем медиана общей выживаемости пациентов с ранними стадиями синхронного первично множественного рака легкого при противопоказаниях к хирургическому лечению в результате мультимодальной консервативной терапии достигает 31 мес [4].

Возможности дифференцировать первично-множественные раки легкого для определения показаний к радикальному хирургическому лечению постоянно совершенствуются на базе молекулярно-генетических исследований [2]. Разработанные ранее общие критерии независимой первичности, к сожалению, не помогают больным синхронным раком, т. к., например, около 50,8–57,9 % опухолей имеют сходное морфологическое строение, а правильная оценка вовлеченности медиастинальных лимфатических узлов (N2) до операции сложна [5]. Несмотря на неопределенность в отношении тактики ведения, в исследованиях последних лет сообщается о длительной выживаемости больных двухсторонним синхронным НМРЛ после хирургического лечения [6, 7].

Поскольку сегодня есть возможности для улучшения результатов лечения синхронного рака легкого, нами представлено клиническое наблюдение больного двухсторонним центральным первично-множественным НМРЛ, перенесшего комплексную терапию с хорошим отдаленным результатом. Несмотря на изначальную распространенность опухолевого процесса, основой успеха мультимодальной терапии, несомненно, стало радикальное органосохраняющее хирургическое лечение. В литературе не встретилось сообщений о последовательном выполнении расширенной бронхопластической верхней лобэктомии с обеих сторон как оптимальной опции хирургического компонента комплексного лечения.

Описание клинического случая

Больной К., 61 г., курит более 35 лет, обратился в Ростовский НИИ онкологии с жалобами на сухой кашель, одышку при физической активности. Считает себя больным с марта 2018 г., когда изменился характер кашля. При КТ органов грудной клетки заподозрен центральный рак верхней доли левого легкого, в связи с чем пациент самостоятельно обратился в институт.

При обследовании, по данным КТ грудной клетки (19.04.18): центральный перибронхиально-узловой рак левого легкого 5,0×5,5 см с поражением верхнедолевого и дистальных отделов левого главного бронхов (рис. 1). А также центральный перибронхиально-узловой рак правого легкого с поражением верхнедолевого бронха. Гиповентиляция и пневмонит верхних долей обоих легких. Определялись лимфатические узлы впереди от дуги аорты, диаметром 2,2 см, ретрокаральные – 1,3 см (рис. 2). По данным фибробронхоскопии (28.04.2018): справа просвет В3 четко сужен за счет давления извне с признаками подслизистой инфильтрации; слева просвет верхнего долевого бронха на 4/5 перекрыт экзофитной опухолью (рис. 3). Гистологическое исследование: 1) из В3 справа №40978–82/18 – очаги плоскоклеточной карциномы; 2) из верхнего долевого бронха слева № 40983–88/18 – очаги плоскоклеточной карциномы.

На основании результатов обследования установлен диагноз первично-множественный синхронный рак с поражением обоих легких: Рак левого легкого: центральная перибронхиально-узловая форма с поражением верхнего долевого

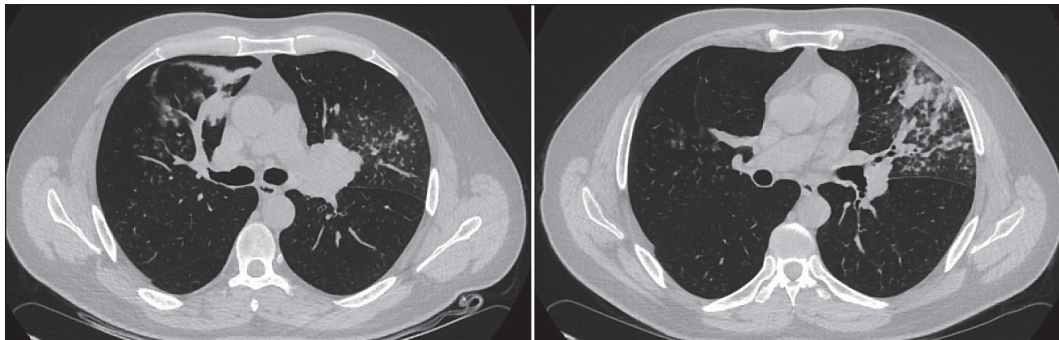


Рис. 1. КТ органов грудной клетки до лечения: центральная перибронхиально-узловая опухоль левого легкого 5,0×5,5 см с поражением верхнедолевого бронха и дистальных отделов левого главного бронха

Fig. 1. Chest CT before treatment: central peribronchovascular nodular tumor of the left lung measuring 5.0×5.5 cm with invasion of the upper lobe bronchus and distal portion of the left main bronchus

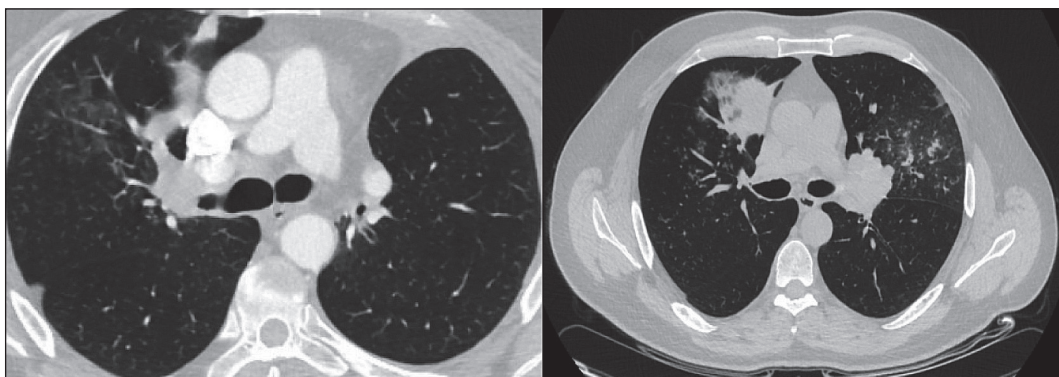


Рис. 2. КТ органов грудной клетки до лечения: центральная перибронхиально-узловая опухоль правого легкого с поражением верхнедолевого бронха

Fig. 2. Chest CT before treatment: central peribronchovascular nodular tumor of the right lung with invasion of the upper lobe bronchus

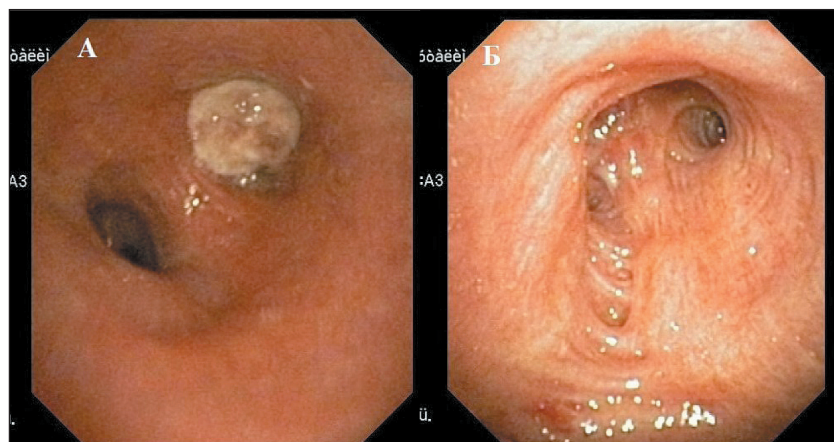


Рис. 3. Фибробронхоскопия до лечения:
А) вид из левого главного бронха,
Б) вид из правого главного бронха
Fig. 3 Fibrotracheobronchoscopy before
treatment: A) view from the left main bron-
chus, B) view from the right main bronchus

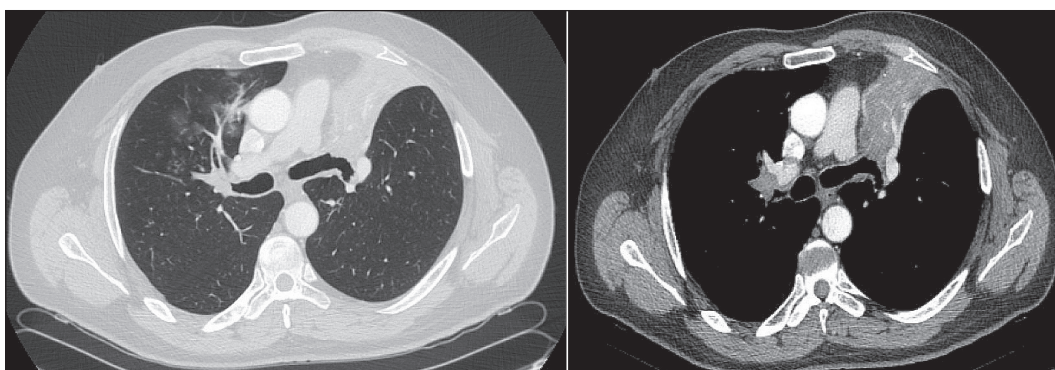


Рис. 4. КТ органов грудной клетки до лечения после завершения индукционной химиоиммунотерапии
Fig. 4. Chest CT after completion of induction chemoimmunotherapy

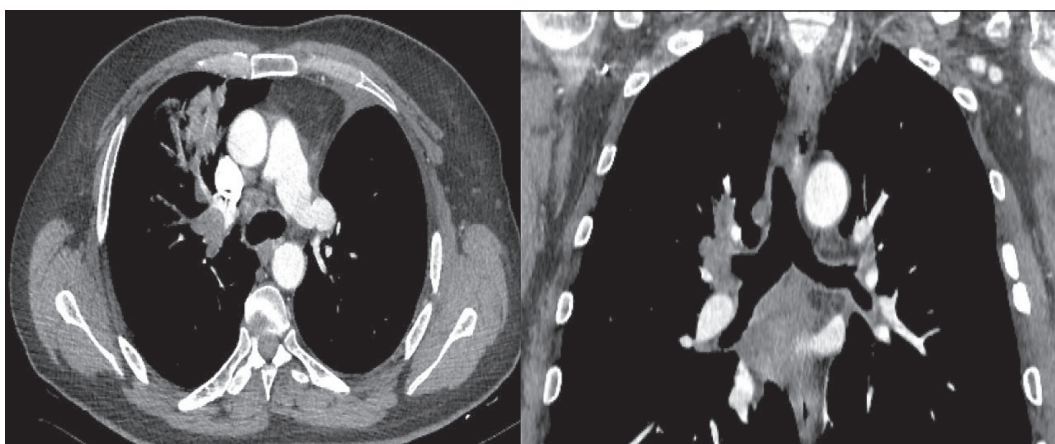


Рис. 5. КТ органов грудной клетки до лечения перед второй операцией с правой стороны
Fig. 5. Chest CT prior to the second surgery on the right side

и дистального отдела левого главного бронха cT2N2M0, IIIA стадия; Рак правого легкого: центральная перибронхиально-узловая форма с поражением верхнего долевого бронха cT1N2M0, IIIA стадия.

Решением консилиума с учетом локо-регионарной распространенности опухоли первым этапом лечения решено провести 3 курса индукционной химиоиммунотерапии по схеме цисплатин – 80 мг/м² + гемцитабин – 1600 мг/м² с рекомбинантным фактором некроза опухоли-тимозин

альфа-1 – 150.000 МЕ/м² [8]. Лечение проведено в период с 18.05. по 26.07.18.

После завершения курсов индукционной химиоиммунотерапии проведена контрольная КТ (10.08.18), на которой визуализирована центральная опухоль левого легкого с поражением верхнего долевого и дистального отдела левого главного бронха, без определяемых четких размеров, сливающаяся с ателектазированной легочной тканью. Ателектаз верхней доли левого легкого. Перибронхиально верхнему долевному бронху спра-

ва плотная ткань, деформирующая его просвет. Участки гиповентиляции верхней доли справа. Лимфатические узлы аортального окна – 1,3 см, предаортальные – 1,3 см с жировыми включениями, ретрокаваальные – 1,6 см с жировыми включениями, бифуркационные – 1,3 см (рис. 4).

При оценке эффективности индукционной терапии с использованием критериев RECIST 1.0 динамика расценена как частичный ответ, в связи с чем принято решение о хирургическом лечении. 3.09.18 выполнена расширенная верхняя бронхопластическая лобэктомия слева с резекцией 3 хрящевых полуколец левого главного бронха и нижнего долевого бронха на уровне устья В6 с формированием прямого межбронхиального анастомоза между главным и нижним долевыми бронхами «конец в конец».

Послеоперационный период протекал без особенностей. Послеоперационное гистологическое исследование: высокодифференцированная плоскоклеточная карцинома с ороговением и очагами некроза, по линии резекции бронхов без признаков опухолевого роста; в 5 из 6 исследованных бронхопальмональных лимфатических узлах – метастазы плоскоклеточной карциномы, в лимфатических узлах корня легкого, «аортального окна» и зоны бифуркации трахеи метастазов нет.

Через 3 нед проведено контрольное обследование, при КТ органов грудной клетки (13.10.18): состояние после расширенной верхней лобэктомии слева. Перибронхиально вдоль верхнего долевого бронха плотная ткань, деформирующая просвет бронха. Участки гиповентиляции верхней доли справа. Ретрокаваальные лимфатические узлы, диаметром до 2 см (рис. 5). Фибробронхоскопия (19.10.18): состояние после бронхопластической верхней лобэктомии слева. Межбронхиальный анастомоз состоятельный, слизистая оболочка без признаков воспаления. Справа В3 целевидно сужен за счет давления извне с признаками подслизистой инфильтрации верхнего долевого бронха (рис. 6).

Через 2 мес после первой операции 30.10.18 выполнена расширенная бронхопластическая верхняя лобэктомия справа с циркулярной резекцией 2 хрящевых полуколец правого главного и одного полукольца промежуточного бронхов и наложением межбронхиального анастомоза «конец в конец». Послеоперационный период протекал без осложнений. Послеоперационное гистологическое исследование: умереннодифференцированная плоскоклеточная карцинома с ороговением; линии резекции бронхов без признаков опухолевого роста; в лимфатических узлах корня правого легкого, паратрахеальных справа – метастазы плоскоклеточной карциномы.

На основании результатов морфологического исследования установлен постхирургический патологический диагноз: первично-множественный

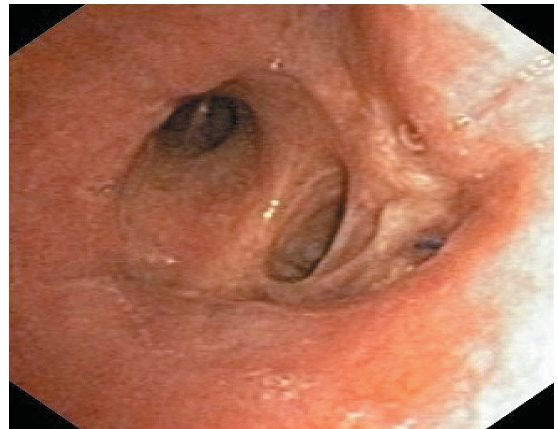


Рис. 6. Фибробронхоскопия: межбронхиальный анастомоз состоятельный без признаков воспаления и деформации. Бронхи нижней доли проходимы

Fig. 6. Fibro-tracheo-bronchoscopy: consistent interbronchial anastomosis without signs of inflammation and deformation. The bronchi of the lower lobe are permeable

синхронный рак с поражением обоих легких: Рак левого легкого: центральная перибронхиально-узловая форма с поражением верхнего долевого и дистального отдела левого главного бронха рТ2N1M0 G1R0, IIb стадия; Рак правого легкого: центральная перибронхиально-узловая форма с поражением верхнего долевого бронха рТ1N2M0G2R0, IIIa стадия. Для определения дальнейшей тактики лечения проведен консилиум в составе: торакального хирурга-онколога, радиолога и химиотерапевта. С учетом достаточной эффективности индукционной химиотерапии рекомендовано проведение 4 курсов адъювантной химиотерапии комбинацией карбоплатины АУС 5–6 и гемцитабина 1000 мг/м² с интервалом 28 дней.

С 24.11.18 по 31.01.19 проведено 2 курса адъювантной химиотерапии, которые сопровождались тромбоцитопенией IV степени, потребовавшей повторных трансфузий тромбоконцентрата. С 1.03.19 по 15.04.19 проведено еще 2 курса адъювантной химиотерапии, с редукцией дозы гемцитабина на 50 %. После завершения лекарственного лечения с 20.05.19 по 14.06.19 на линейном ускорителе Novalis TX, Varian, посредством 7 статических конформных полей с использованием режима IMRT, проведена консолидирующая лучевая терапия на область корней легких и средостение РОД 2 Гр до СОД 46 Гр. С 25.07.19 по 08.08.19 проведена 3D-конформная IMRT лучевая терапия на область шейно-надключичных лимфатических узлов с обеих сторон, РОД 3 Гр, 5 фракций в неделю до СОД 39 изогр. Лучевых реакций не отмечено, лечение перенес удовлетворительно.

При контрольном обследовании в ноябре 2020 г. по данным фибробронхоскопии: состояние после бронхопластической верхней лобэктомии слева и справа. Анастомозы состоятельны, без признаков

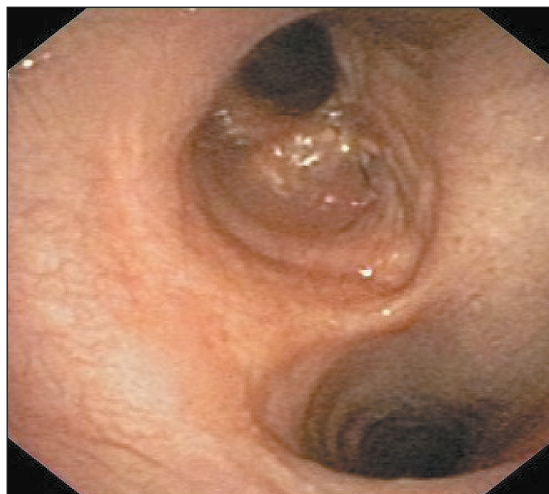


Рис. 7. Фибробронхоскопия: межбронхиальные анастомозы состоятельные, без признаков воспаления и деформации.

Нижнедолевые бронхи с обеих сторон проходимы

Fig. 7. Fibro-tracheo-bronchoscopy: consistent interbronchial anastomoses without signs of inflammation and deformation. The lower lobe bronchi on both sides are permeable

воспаления и деформации. Долевые и сегментарные бронхи с обеих сторон свободно проходимы (рис. 7).

При КТ органов грудной клетки (25.01.21): пневматизация легочной ткани не изменена, без признаков эмфиземы. Состояние после бронхопластической верхней лобэктомии справа и бронхопластической верхней лобэктомии слева бронхи проходимы. Внутригрудные, аксиллярные, над- и подключичные лимфатические узлы не увеличены.

В настоящее время пациент находится под наблюдением без признаков прогрессирования, что позволяет утверждать, что мультимодальное лечение двухстороннего синхронного первично-множественного НМРЛ IIIA стадии с использованием последовательной бронхопластической верхней лобэктомии позволило добиться длительной ремиссии с сохранением хорошего качества жизни.

Обсуждение

В настоящее время показано, что прогноз заболевания у пациентов после хирургического лечения по поводу двухстороннего синхронного первично-множественного НМРЛ является благоприятным. Медиана общей выживаемости при операциях любого объема достигла 52 мес [3], 5-летняя выживаемость – 38 % [6], что значимо выше по сравнению с выживаемостью при предположительной IV стадии НМРЛ. Среди всех резекций легкого, как правило, выполняемых последовательно, двухсторонние лобэктомии производятся примерно одной трети больных. Послеоперационная летальность не превышает 2,9 % [6, 10]. Считается, что пневмонэктомия, ранее рассматриваемая как плохой прогностический фактор, не

оказывает отрицательного влияния на выживаемость. Однако в сериях хирургического лечения синхронного НМРЛ с большим удельным весом данного вмешательства послеоперационная летальность увеличивается в 1,5–2 раза, до 4,3–6,9 % [9, 10]. После билатеральных лобэктомий или лобэктомий с контралатеральными сублобарными резекциями 3- и 5-летняя общая выживаемость достигает 84,5 и 75,0 % соответственно [7]. Считается, что контралатеральные сублобарные резекции при I стадии синхронного НМРЛ отрицательно не влияют на показатели 5-летней выживаемости в отличие от таких статистически значимых предикторов плохого прогноза, как мужской пол и преклонный возраст [3]. Кроме того, установлено, что самыми сильными предикторами плохого прогноза являются: степень вовлеченности внутригрудных лимфатических узлов N2 HR 1,94 по сравнению с N0 и N1 HR 1,68 по сравнению с N0, и односторонняя локализация опухолей HR 1,45 по сравнению с двухсторонней. Лучшие показатели выживаемости при двухстороннем НМРЛ обусловлены большей вероятностью истинного первично-множественного поражения с учетом расстояния между «опухолевыми полями» без очевидных признаков гематогенного метастазирования. Морфологическое сходство опухолей в качестве прогностического фактора не связано с худшей выживаемостью, наоборот, выявлена тенденция к улучшению показателей выживаемости больных опухолями одинакового гистологического строения [3].

Для иллюстрации влияния перечисленных прогностических факторов T. Tanvetyanon et al. провели оценку выживаемости методом Каплана–Мейера в 2 группах пациентов, разделенных в зависимости от наличия таких факторов риска, как пол, возраст, распространенная стадия заболевания и локализация опухоли. Обнаружено, что больные без факторов риска имели значительно лучшую выживаемость, чем пациенты с более чем одним неблагоприятным фактором риска. Предполагаемая 5-летняя выживаемость для больных с отсутствующими факторами риска составила 82 % по сравнению с 43 % для лиц с присутствующими факторами риска [3]. Поскольку одинаково благоприятный исход не коснется всех пациентов, установленные прогностические факторы необходимы для принятия клинических решений.

Послеоперационный патологический диагноз, классифицированный по TNM отдельно для обеих синхронных опухолей, имеет хорошую корреляцию с прогнозом и важен для планирования адъювантной терапии первично-множественного НМРЛ. Следует отметить, что адъювантная и/или неоадъювантная химиотерапия проводится в 25–36 % наблюдений [9–11], лучевая терапия – каждому 10-му больному синхронным раком легкого [9, 10] и нет еще данных о том, улучшают ли таргетная и иммунотерапия результаты лечения. В

качестве факторов прогноза необходимо изучение генетического профиля синхронного рака легкого, влияния адъювантной терапии, состояния функции дыхательной системы и сопутствующей патологии.

Интерес нашего сообщения заключается в том, что оно содержит описание редкого применения расширенной бронхопластической верхней лобэктомии в качестве хирургического компонента комплексного лечения больного двухсторонним синхронным НМРЛ. Последовательное применение современных технологий лечения позволяет добиться удовлетворительных отдаленных результатов.

Заключение

Несмотря на редкость представленного наблюдения, можно сделать ряд практических выводов. Во-первых, органосохраняющее хирургическое вмешательство является оправданным вариантом лечения больных синхронными опухолями обоих легких даже тогда, когда двухсторонний процесс имеет сходное морфологическое строение и доподлинно неизвестно, является ли заболевание первично-множественным раком легкого. Следовательно, если пациент представляется хорошим

кандидатом для оперативного вмешательства, считаем нецелесообразным предлагать ему консервативное лечение без консультации опытного торакального хирурга, даже при необходимости первоначального проведения индукционной терапии. Во-вторых, пациенты с pN2 или pN1, имеющие высокий риск прогрессирования заболевания, нуждаются в адъювантной терапии, планируемой на основании стадии более распространенного опухолевого процесса. Доказано, что первичная множественность суммарно не влияет на распространенность заболевания, определяемую стадией каждой опухоли.

Таким образом, для отдельных пациентов, перенесших комплексное лечение по поводу синхронного первично-множественного рака обоих легких, несколько простых клинических характеристик, а именно стадия, локализация поражения, пол и возраст, служат предикторами выживаемости. Ранняя стадия при отсутствии неблагоприятных прогностических факторов предвещает отличный долгосрочный прогноз с более чем 80 % ожидаемой 5-летней выживаемостью. Представленное клиническое наблюдение в силу своей уникальности будет полезно для определения тактики лечения синхронного местнораспространенного НМРЛ.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Владимиров Л.Ю., Кит О.И., Шолохова Е.А. Роль гистологического и молекулярного анализа в выборе метода лечения немелкоклеточного рака легкого поздних стадий. *Фарматека*. 2012; 8(241): 9–22. [Vladimirova L.Yu., Kit O.I., Sholokhova E.A. The role of histological and molecular analysis in the choice of treatment for advanced non-small cell lung cancer. *Pharmateka*. 2012; 8(241): 9–22. (in Russian)].
2. Romaszko A.M., Doboszyńska A. Multiple primary lung cancer: A literature review. *Adv Clin Exp Med*. 2018; 27(5): 725–30. doi: 10.17219/acepm/68631.
3. Tanvetyanon T., Finley D.J., Fabian T., Riquet M., Voltolini L., Kocaturk C., Fulp W.J., Cerfolio R.J., Park B.J., Robinson L.A. Prognostic factors for survival after complete resections of synchronous lung cancers in multiple lobes: pooled analysis based on individual patient data. *Ann Oncol*. 2013; 24(4): 889–94. doi: 10.1093/annonc/mds495.
4. Griffioen G.H., Lagerwaard F.J., Haasbeek C.J., Smit E.F., Slotman B.J., Senan S. Treatment of multiple primary lung cancers using stereotactic radiotherapy, either with or without surgery. *Radiother Oncol*. 2013; 107(3): 403–8. doi: 10.1016/j.radonc.2013.04.026.
5. Riquet M., Cazes A., Pfeuty K., Ngabou U.D., Foucault C., Dujon A., Banu E. Multiple lung cancers prognosis: what about histology? *Ann Thorac Surg*. 2008; 86(3): 921–6. doi: 10.1016/j.athoracsur.2008.05.041.
6. Leyn P. De, Moons J., Vansteenkiste J., Verbeken E., Raemdonck D.V., Naftoux P., Decaluwe H., Lerut T. Survival after resection of synchronous bilateral lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008; 34(6): 1215–22. doi:10.1016/j.ejcts.2008.07.069.
7. Yang H., Sun Y., Yao F., Yu K., Gu H., Han B., Zhao H. Surgical Therapy for Bilateral Multiple Primary Lung Cancer. *Ann Thorac Surg*. 2016; 101(3): 1145–52. doi: 10.1016/j.athoracsur.2015.09.028.
8. Лазутин Ю.Н., Сергостьянц Г.З., Пыльцин С.П., Харитонов А.П., Лейман И.А. Способ лечения рака легкого. Патент РФ № 2554750. Заявл. 13.02.2014; Оpubл. 27.06.2015. [Lazutin Yu.N., Sergostyants G.Z., Pylytsin S.P., Kharitonova A.P., Leyman I.A. Method of treating lung cancer. The patent of the Russian Federation No 2554750. 27.06.2015. (in Russian)].
9. Tanvetyanon T., Robinson L., Sommers K.E., Haura E., Kim J., Altiock S., Bepler G. Relationship between tumor size and survival among patients with resection of multiple synchronous lung cancers. *J Thorac Oncol*. 2010; 5(7): 1018–24. doi: 10.1097/JTO.0b013e3181dd0fb0.
10. Voltolini L., Rapicetta C., Luzzi L., Ghiribelli C., Paladini P., Granato F., Gallazzi M., Gotti G. Surgical treatment of synchronous multiple lung cancer located in a different lobe or lung: high survival in node-negative subgroup. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010; 37(5): 1198–204. doi: 10.1016/j.ejcts.2009.11.025.
11. Fabian T., Bryant A.S., Mouhass A.L., Federico J.A., Cerfolio R.J. Survival after resection of synchronous non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2011; 142(3): 547–53. doi: 10.1016/j.jtcvs.2011.03.035.

Поступила/Received 06.03.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 25.05.2021

Принята к публикации/Accepted 15.05.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1728-0329. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Туркин Игорь Николаевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела торакальной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0001-6456-1120.

Харагезов Дмитрий Акимович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением торакальной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 5120-0561. ORCID: 0000-0003-0640-299.

Лазутин Юрий Николаевич, кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела торакальной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 5098-7887. ORCID: 0000-0002-6655-7632.

Лейман Игорь Александрович, кандидат медицинских наук, врач-онколог отделения торакальной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 2551-0999. ORCID: 0000-0003-2572-1624.

Чубарян Анна Васильевна, кандидат медицинских наук, врач-онколог отделения торакальной хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия).

Мирзоян Эллада Арменовна, аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru. SPIN-код: 2506-8605. ORCID: 0000-0002-0328-9714.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кит Олег Иванович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Туркин Игорь Николаевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Харагезов Дмитрий Акимович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Лазутин Юрий Николаевич: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Лейман Игорь Александрович: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Чубарян Анна Васильевна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Мирзоян Эллада Арменовна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oleg I. Kit, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Igor N. Turkin, MD, DSc, Leading Researcher, Department of Thoracic Surgery, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0001-6456-1120.

Dmitry A. Kharagezov, MD, PhD, Head of the Department of Thoracic Surgery, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-0640-299.

Yury N. Lazutin, MD, PhD, Associate Professor, Leading Researcher of the Department of Thoracic Surgery of the National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-6655-7632.

Igor A. Leiman, MD, PhD, Oncologist, Department of Thoracic Surgery, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-2572-1624.

Anna V. Chubaryan, MD, PhD, Oncologist, Department of Thoracic Surgery, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia).

Ellada A. Mirzoyan, MD, Postgraduate, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-0328-9714.

AUTHOR CONTRIBUTION

Oleg I. Kit: research supervision, critical revision for important intellectual content.

Igor N. Turkin: research supervision, critical revision for important intellectual content.

Dmitry A. Kharagezov: research supervision, critical revision for important intellectual content.

Yury N. Lazutin: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Igor A. Leiman: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Anna V. Chubaryan: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Ellada A. Mirzoyan: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Пикин О.В., Телегина Л.В., Капланская И.Б., Кутенева Н.В., Бармин В.В., Семикина Д.В. Первичная MALT-лимфома трахеи (клиническое наблюдение). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 151–159. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-151-159

For citation: Pikin O.V., Telegina L.V., Kaplanskaya I.B., Kuteneva N.V., Barmin V.V., Semikina D.V. Primary MALT-tracheal lymphoma: case report. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 151–159. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-151-159

ПЕРВИЧНАЯ MALT-ЛИМФОМА ТРАХЕИ (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

О.В. Пикин, Л.В. Телегина, И.Б. Капланская, Н.В. Кутенева, В.В. Бармин,
Д.В. Семикина

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 пр-д, 3. E-mail: darya.med.job@yandex.ru

Аннотация

Актуальность. В структуре онкологической заболеваемости респираторной системы опухоли трахеи занимают около 2 %, что составляет 0,1 случая на 100 000 человек в год. По данным мировой литературы, первичная MALT-лимфома трахеи встречается крайне редко, в связи с чем нет четко установленного подхода к лечению этого заболевания. Существует несколько эффективных позиций в выборе терапии. В статье рассматриваются возможности эндоскопического хирургического лечения первичной лимфомы трахеи, в обзоре литературы представлены современные данные об эпидемиологии, этиопатогенезе, клинической картине и тактике лечения. **Описание клинического случая.** Пациент П., 72 года, обратился в торакальное хирургическое отделение МНИОИ им. П.А. Герцена с жалобами на одышку при умеренной физической нагрузке и сухой кашель. При обследовании диагностирована опухоль верхней трети трахеи, экзофитная форма роста. Стеноз просвета трахеи II–III степени. На первом этапе принято решение о выполнении по жизненным показаниям лечебно-диагностической эндоскопической операции – удалении экзофитного компонента опухоли с целью восстановления просвета, ликвидации угрозы возможных осложнений. При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании диагностирована MALT-лимфома трахеи. Учитывая индолентный вариант лимфомы, небольшой объем поражения, выполненный объем эндоскопического лечения, возраст пациента и сопутствующую патологию, показаний для проведения системной противоопухолевой терапии не было. Пациенту рекомендовано динамическое наблюдение. В настоящее время пациент наблюдается в МНИОИ им. П.А. Герцена на протяжении 6 мес без признаков рецидива заболевания. **Заключение.** Данный клинический пример показывает возможности метода эндоскопической хирургии, который позволил провести радикальное органосохраняющее лечение у пациента с диагнозом первичной MALT-лимфомы трахеи. С учетом экзофитной формы роста опухоли применение метода комбинированного эндоскопического лечения позволило избежать открытой хирургической операции в виде резекции трахеи, что существенно улучшило качество жизни пациента.

Ключевые слова: опухоли трахеи, эндоскопическая хирургия, экстранодальная лимфома маргинальной зоны, MALT-лимфома, видеобронхоскопия.

PRIMARY MALT-TRACHEAL LYMPHOMA: CASE REPORT

O.V. Pikin, L.V. Telegina, I.B. Kaplanskaya, N.V. Kuteneva, V.V. Barmin,
D.V. Semikina

Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology, Moscow, Russia
3, 2nd Botkinsky Dr., 125284, Moscow, Russia. E-mail: darya.med.job@yandex.ru

Abstract

Background. Tracheal cancer accounts 2 % of all upper respiratory tract cancers, with the incidence of 0.1 cases per 100,000 people per year. Primary tracheal MALT-lymphoma is extremely rare, and therefore there is no clearly established approach to the treatment of this disease. There are several effective positions regarding the choice of therapy. This article discusses the feasibility of endoscopic surgical treatment of primary tracheal lymphoma. The review of the literature presents current data on the epidemiology, etiopathogenesis, clinical features and treatment strategy for this disease. **Description of the clinical case.** A 72-year-old patient was admitted to the Thoracic Surgical Department of the P.A. Herten Cancer Research Center with complaints of shortness of breath with moderate physical exertion and dry cough. The examination revealed a tumor in the upper third of the trachea showing an exophytic growth, and grade I–III tracheal stenosis. To restore the lumen of the trachea and prevent complications, the endoscopic resection of the exophytic part of the tumor was performed. Histological and immunohistochemical studies revealed MALT-lymphoma of the trachea. Taking into consideration the indolent form of lymphoma, small size of the tumor, patient's age and comorbidity, there were no indications for systemic anticancer therapy. The patient was recommended to be followed up. The patient is alive with no evidence of disease recurrence. **Conclusion.** This case report demonstrates the feasibility of performing organ-preserving endoscopic surgery in the patient with primary tracheal MALT-lymphoma. Taking into consideration the exophytic form of the tumor growth, endoscopic surgery made it possible to avoid unnecessary open tracheal resection, thus significantly improving the quality of life of the patient.

Key words: tracheal tumors, endoscopic surgery, marginal zone extranodal lymphoma, MALT-lymphoma, videobronchoscopy.

Введение

В структуре онкологической заболеваемости респираторной системы опухоли трахеи занимают около 2 %, что составляет 0,1 случая на 100 000 человек в год [1]. Наиболее распространенными гистологическими типами рака трахеи являются плоскоклеточная карцинома (45 %), аденокистозная карцинома (16 %) и недифференцированная карцинома (12,8 %) [2]. Также имеют место вторичные опухоли трахеи, возникающие в результате инвазии первичных опухолей, метастатически измененных лимфоузлов или гематогенных метастазов [3]. По данным мировой литературы, первичная MALT-лимфома трахеи встречается крайне редко, в связи с чем нет четко установленного подхода к лечению этого заболевания.

Расширение возможностей эндоскопической диагностики и создание видеоэндоскопов последнего поколения сформировали новое направление в эндоскопии – радикальная или условно-радикальная эндоскопическая хирургия, а совершенствование эндоскопической хирургической техники, создание высокотехнологичной аппаратуры (лазерной, электрохирургической и другой) позволили расширить клинические показания к эндоскопическим операциям как к самостоятельному методу лечения [4].

Местными показаниями к эндоскопическому удалению злокачественных опухолей трахеи и бронхов В.В. Соколов и соавт. (2010) и Л.В. Телегина (2017) считают следующие: 1) экзофитный тип роста опухоли; 2) доступность дистальной границы опухоли через видеоэндоскоп; 3) расположение опухоли в главных, долевыми и сегментарных бронхах; 4) наличие ателектаза или обструктивного пневмонита (и/или его угроза); 5) отсутствие

КТ/МРТ признаков перибронхиального опухолевого компонента и увеличенных внутригрудных ЛУ (в случае планируемого радикального удаления опухоли) [4, 5]. При этом эндоскопическая хирургия как метод радикального удаления опухоли позволяет полностью восстановить просвет трахеи или крупного бронха в 100 % наблюдений (n=60), добиться клинической ремиссии в сроки от 1 года до 27 лет с медианой выживаемости, равной 8,5 лет [5].

В данной статье описывается редкий клинический случай успешного эндоскопического удаления первичной лимфомы трахеи, которая сформировалась из клеток маргинальной зоны, ассоциированной с лимфоидной тканью слизистой оболочки (MALT).

Клиническое наблюдение

Пациент П., 72 года, житель г. Ульяновска, обратился в июне 2021 г. в торакальное хирургическое отделение МНИОИ им. П.А. Герцена с жалобами на одышку при умеренной физической нагрузке и сухой кашель. Из анамнеза: считает себя больным на протяжении последних 5 мес (с января 2021 г), когда начал отмечать признаки дыхательной недостаточности. Пациент-куритель (стаж – 52 пачко/лет), имеет сопутствующую патологию: гипертоническая болезнь 1 степени, 1 стадии, риск ССО 2; хроническая язва луковицы ДПК, вне обострения.

По данным СКТ органов грудной клетки (31.05.21): в просвете трахеи на уровне С7 по правой стенке на широком основании определяется новообразование размером 14×11×22 мм, суживающее просвет трахеи на 2/3; также имеются КТ-признаки хронического бронхита.

Внутригрудной лимфаденопатии не обнаружено (рис. 1а, б).

По данным видеобронхоскопии (ВБС) от 30.06.21: гортань подвижна, не изменена. На протяжении 2,0 см просвет трахеи свободен. Дистальнее определяется экзофитная опухоль, шаровидной формы, ярко-красного цвета, размерами 2,0×2,0 см, смещающаяся при инструментальной пальпации, суживающая просвет на 2/3. У опухоли имеется широкое основание, приблизительными размерами 1,2×1,0 см, расположенное по передне-правой стенке. В режиме NBI имеются признаки вторичного опухолевого неоплазмоза – зеленое окрашивание (рис. 1в, г). Дистальная граница опухоли расположена на 5,5 см выше гребня карины. Нижняя треть трахеи не изменена, карина острая, подвижная. Бронхи осмотрены с обеих сторон до V порядка – просветы не сужены, шпоры острые, секрет скудный, слизистого характера. Заключение: опухоль верхней трети трахеи, экзофитная форма роста. Стеноз просвета трахеи II–III степени.

На консилиуме с участием анестезиолога, хирурга, радиолога, химиотерапевта и эндоскописта, в связи с экзофитным характером роста опухоли, угрозой стеноза и/или асфиксии, на первом

этапе было принято решение о выполнении по жизненным показаниям лечебно-диагностической эндоскопической операции – удалении экзофитного компонента опухоли с целью восстановления просвета, ликвидации угрозы возможных осложнений и направлении материала на плановое гистологическое исследование.

Эндоскопическая операция – реканализация просвета трахеи выполнена 01.07.21. При ВБС: гортань подвижна, не изменена. На протяжении 2,0 см просвет трахеи свободен. Дистальнее сохраняется экзофитная опухоль, шаровидной формы, ярко-красного цвета, размерами 2,0×2,0 см, смещающаяся при инструментальной пальпации, суживающая просвет трахеи на 2/3. Дистальная граница опухоли расположена на 5,5 см выше гребня карины. Под контролем видеобронхоскопа выполнена эндоскопическая операция: лазерная деструкция при помощи полупроводникового лазера Dornier и тотальная петлевая электроэксцизия опухоли трахеи на гистологическое исследование (рис. 2 а–г). Осложнений при выполнении эндоскопической операции не отмечено.

После удаления опухоли клинически пациент отметил значительное улучшение состояния в виде отсутствия признаков дыхательной недостаточности.

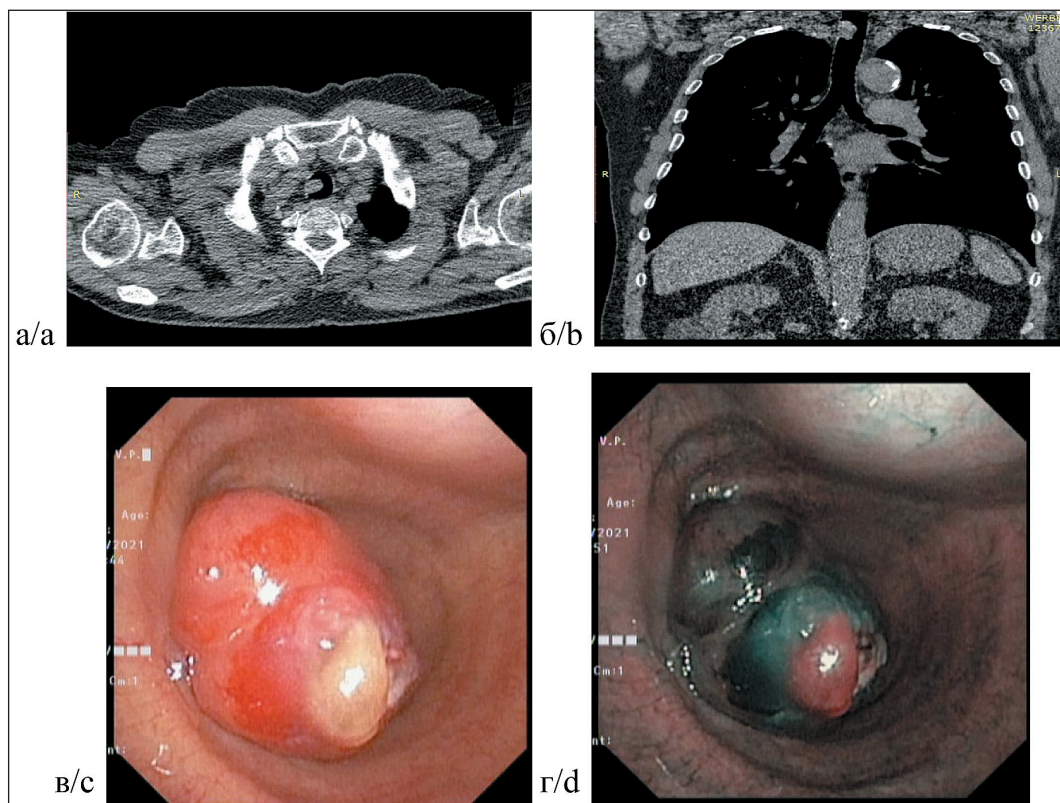


Рис. 1. Диагностика опухоли шейного отдела трахеи у пациента П.:

а – спиральная КТ органов грудной клетки (аксиальная проекция); б – то же (фронтальная проекция); в – экзофитная опухоль (эндоефотограмма в белом свете – WLI); г – то же при узкоспектральном исследовании (эндоефотограмма в режиме NBI)

Fig. 1. Diagnosis of a tumor of the cervical trachea in patient P.:

а – spiral CT scan of the chest (axial projection); б – spiral CT scan of the chest (frontal projection); в – exophytic tumor (WLI white light endophotogram); д – exophytic tumor (narrow-spectrum study, endophotogram in NBI mode).

По данным планового морфологического исследования (20.07.21): фрагменты слизистой оболочки с покровом из метаплазированного многослойного плоского эпителия с изъязвлением, в субэпителиальной основе определяется разрастание злокачественного мономорфного новообразования из относительно мелких лимфоидных клеток, что может соответствовать лимфоме из мелких клеток (рис. 3а, б).

Для уточнения диагноза проведено иммуногистохимическое исследование: в опухолевых клетках реакция с Pan Cytokeratin, CK7, Chromogranin A, CD20 негативная. Они CD45, CD79a позитивны. В части этих клеток выявляется положительная реакция с Plasma cell. Они BCL2 положительны, CD23, CD5, cyclin D1 негативны. Рассеяны немногочисленные CD3 позитивные Т-лимфоциты. Ki67-положительные клетки немногочисленные, не превышают 7 %. Заключение: картина лимфопролиферативного заболевания. Имеющиеся изменения могут иметь место при лимфоме из клеток маргинальной зоны (рис. 3в).

По данным физикального осмотра, лабораторных, функциональных и инструментальных

методов обследования других очагов опухолевого поражения выявлено не было.

Таким образом, пациенту установлен диагноз: экстранодальная В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны, ассоциированная с лимфоидной тканью слизистой оболочки, с поражением трахеи, I ст. Состояние после эндоскопического хирургического лечения.

Через 2 мес пациенту проведено контрольное обследование. При СКТ (20.08.21): структура стенок, анатомия просветов и проходимость трахеи и бронхов не нарушены; стенки мелких бронхов неравномерно утолщены, уплотнены. В месте ранее визуализируемого образования верхней трети трахеи опухолевой патологии не выявлено (рис. 4а, б). При ВБС (24.08.21): гортань подвижна, не изменена, просвет трахеи на всем протяжении свободен. По правой стенке определяется участок эпителизации слизистой, размерами до 7×8 мм, с признаками начала фиброзно-рубцовых изменений. Опухолевой инфильтрации нет. Патологического вторичного сосудистого рисунка в режиме NBI не выявлено. Заключение: состояние после эндоскопического удаления опухоли трахеи. Положительный

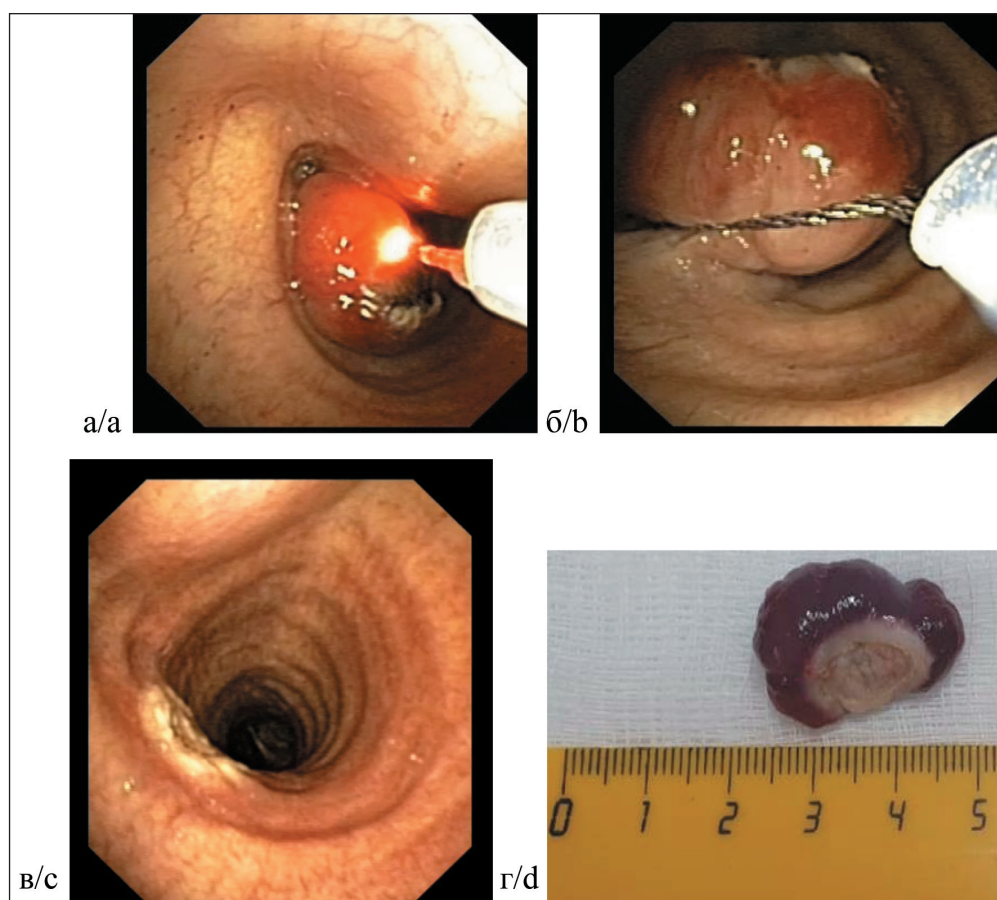


Рис 2. Эндоскопическая операция – реканализация просвета трахеи:

а – лазерная деструкция опухоли; б – петлевая электроэксцизия; в – коагуляционный струп в зоне удаленной «ножки» опухоли (непосредственный результат операции – полное восстановление просвета трахеи); г – удаленная опухоль (макропрепарат)

Fig. 2. Endoscopic surgery – recanalization of the lumen of the trachea:

а – laser destruction of the tumor; б – loop electroexcision; в – coagulation eschar in the area of the removed “leg” of the tumor (the immediate result of surgery is the complete restoration of the lumen of the trachea); г – removed tumor (gross specimen)

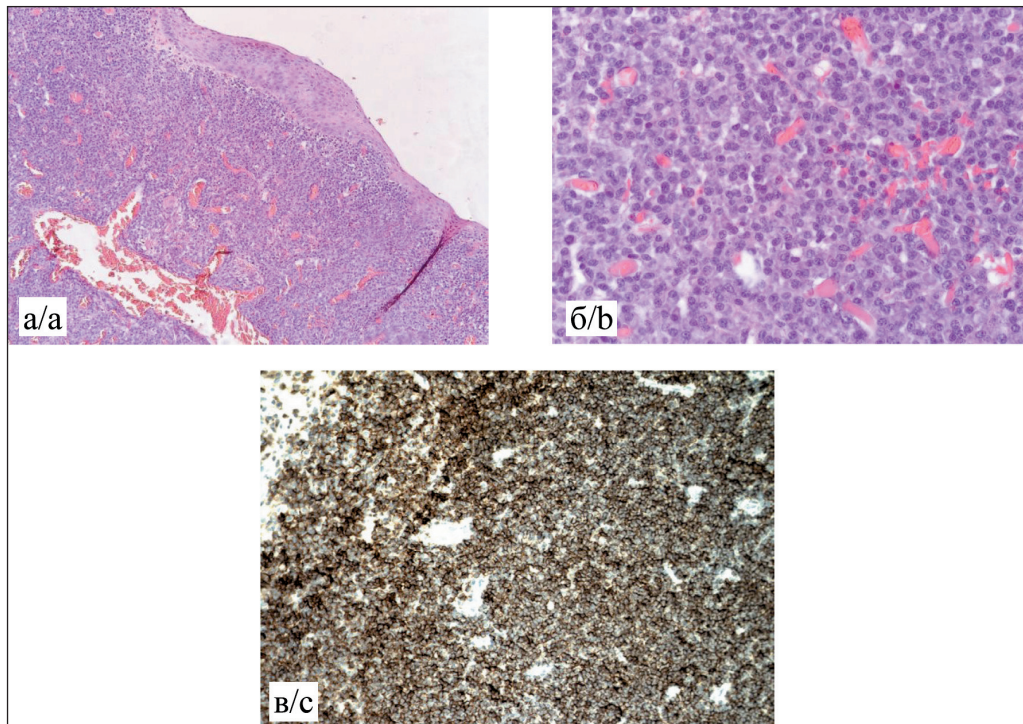


Рис. 3. Гистологическое исследование удаленного препарата – лимфома:

а – микрофото, окраска гематоксилином и эозином, $\times 10$; б – микрофото, окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$; в – иммуногистохимическое исследование, $\times 100$

Fig. 3. Histological examination of the resected specimen – lymphoma:

а – microphoto, stained with hematoxylin and eosin, $\times 10$; б – microphoto, stained with hematoxylin and eosin, $\times 40$; в – immunohistochemical study, $\times 100$

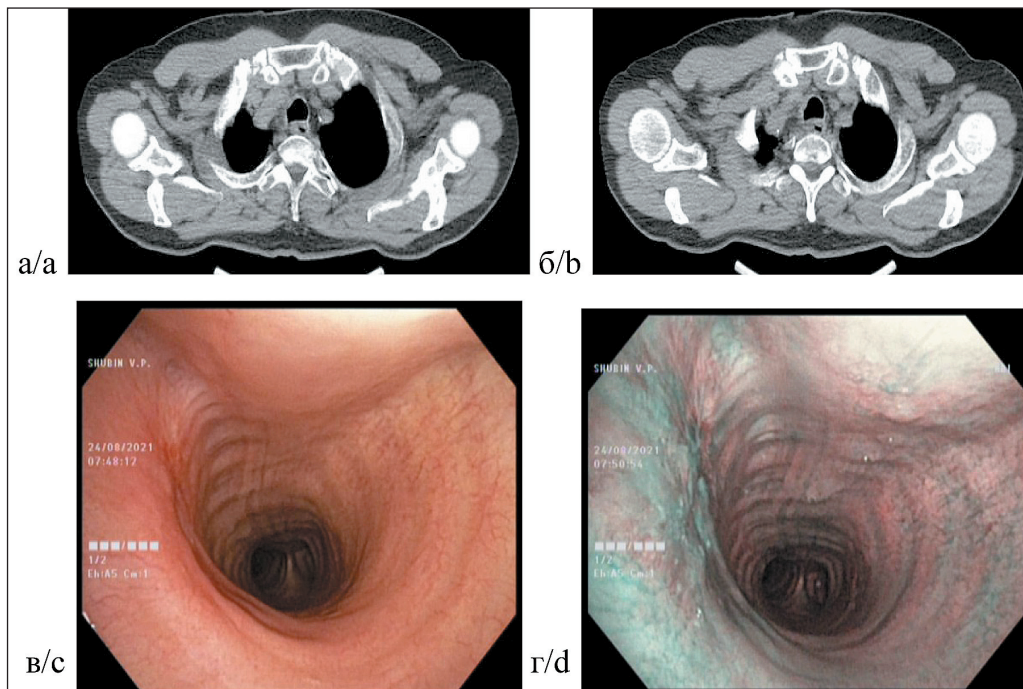


Рис. 4. Результат эндоскопической операции через 2,5 мес:

а – просвет трахеи свободен – проксимальная граница зоны ранее определявшегося опухолевого поражения (спиральная КТ); б – дистальная граница ранее определявшегося опухолевого поражения (спиральная КТ); в – эпителизация слизистой в зоне удаленной опухоли, формирование рубца (эндофотограмма в режиме WLI); г – отсутствие признаков вторичного неоангиогенеза в зоне формирующегося рубца (эндофотограмма в режиме NBI)

Fig. 4. 2.5 months after endoscopic surgery: а – the lumen of the trachea is free – the proximal border of the zone of a previously determined tumor lesion (spiral CT); б – distal border of a previously determined tumor lesion (spiral CT); в – epithelialization of the mucosa in the area of the removed tumor, scar formation (endophotogram in WLI mode); г – no signs of secondary neoangiogenesis in the area of the developing scar (endophotogram in NBI mode)

эффект лечения в виде полной резорбции первичной опухоли (рис. 4в, г).

Учитывая индолентный вариант лимфомы, небольшой объем поражения, выполненный объем эндоскопического лечения, возраст пациента и сопутствующую патологию, показаний для проведения системной противоопухолевой терапии не было. Пациенту рекомендовано динамическое наблюдение и консультация гематолога по месту жительства.

Обсуждение

Лимфомы – группа злокачественных опухолевых заболеваний лимфатической системы, преимущественно берущие свое начало из тканей лимфатических узлов, однако в одном из четырех случаев имеет место поражение экстранодальных клеток лимфоидной ткани [6]. В организме содержится большое количество свободной, не заключенной в соединительнотканную капсулу лимфоидной ткани, которая локализуется в стенках желудочно-кишечного, респираторного и урогенитального трактов. Лимфоциты слизистой оболочки выполняют важную иммунологическую функцию путем секреции IgA. Под воздействием длительной антигенной стимуляции В-лимфоцитов возникают патологические клеточные популяции, способные к формированию опухолевого субстрата. Самыми распространенными факторами риска являются курение, хронические и аутоиммунные заболевания, контакт с асбестом [7, 8].

На долю MALT-лимфом с поражением трахеобронхиального дерева приходится менее 0,5 % первичных злокачественных новообразований легких и менее 1 % всех лимфом [9]. Однако среди MALT-лимфом легочные лимфомы встречаются в 19 %. Наиболее частая локализация поражения выявляется на уровне главных и долевых бронхов. Несмотря на это, первичные проявления MALT-лимфомы, поражающей трахею, очень редки, что возможно объяснить меньшей концентрацией лимфоидных клеток в слизистой оболочке трахеи [10].

Подобно другим опухолям трахеи, MALT-лимфомы не имеют специфических симптомов, клинические проявления в основном обусловлены стенозом просвета трахеи. Пациенты предъявляют жалобы на прогрессирующую одышку, кашель, стридорозное дыхание – признаки обструкции центральных дыхательных путей на $\frac{2}{3}$ объема и более. Данные симптомы могут ошибочно оценивать как проявление бронхиальной астмы или хронической обструктивной болезни легких, однако терапия бронходилататорами и стероидами не дает клинического эффекта. Примечательно, что кровохарканье, еще один частый симптом первичного злокачественного новообразования трахеи, отсутствует, поскольку слизистая оболочка трахеи в большинстве MALT-лимфом не повреждена [11].

Несмотря на первоначальное мнение о моноорганном поражении, последующие исследования показали, что внегастральные MALT-лимфомы проявляют склонность к диссеминированному распространению почти у 50 % пациентов. Принимая во внимание вялотекущий характер и медленный рост MALT-лимфомы, эти результаты также привели к гипотезе о том, что рецидивы, возникающие вскоре после первоначального диагноза и местного лечения, могли быть синхронными очагами MALT-лимфомы, не обнаруженными до начала терапии [12, 13]. Данный факт следует учитывать при определении стадии заболевания и выборе метода терапии.

Компьютерная томография органов грудной клетки и видеоbronхоскопия с биопсией – основные методы диагностики опухолевых заболеваний трахеи, однако характер патологического процесса можно установить только путем гистологического исследования с применением иммуногистохимического окрашивания. Морфологически лимфомы типа MALT характеризуются клеточной гетерогенностью неопластических клеток, включая centrocytopодобные клетки, моноцитоподобные В-клетки, малые лимфоциты и плазматические клетки. В тканях слизистой оболочки клетки маргинальной зоны обычно инфильтрируют эпителий, образуя лимфоэпителиальные поражения. Хотя считается, что лимфоэпителиальные поражения являются отличительной чертой MALT-лимфомы, они не являются предпосылкой для постановки диагноза. При иммуногистохимическом исследовании клетки MALT-лимфомы экспрессируют моноклональный поверхностный Ig, чаще являются IgM-положительными (IgM+), чем IgG+ или IgA+, но не IgD+, и в 40 % случаев экспрессируют цитоплазматические Ig. Опухолевые клетки экспрессируют ассоциированные с В-клетками антигены, такие как CD19, CD20, CD22, CD79a и CD79b, и являются CD5-отрицательными (CD5-), CD43-/CD43+, CD3-, CD23-, CD11c-/CD11c+ и CD10-. Сообщалось об иммунореактивности CD5 в небольшом количестве случаев, возникающих в некоторых экстранодальных участках, особенно в придатках глаза [14].

В связи с отсутствием рандомизированных исследований нет убедительно доказанных данных относительно метода лечения MALT-лимфом трахеи. Существует несколько эффективных позиций касательно выбора терапии. В литературе присутствуют сообщения об успешном хирургическом лечении локализованных форм MALT с безрецидивными отдаленными результатами [11, 15–18]. Однако использование этой стратегии постепенно сокращается, поскольку послеоперационные осложнения более опасны, чем сама лимфома. Учитывая агрессивность хирургических вмешательств, предпочтение стоит отдать эндоскопическим методам – это эффективный метод

устранения обструкции центральных дыхательных путей, который легко переносится пациентами и требует меньшего восстановительного периода [19]. В представленном клиническом наблюдении пациенту проведено эндоскопическое удаление опухоли при помощи полупроводникового лазера Dornier и электропетли с хорошим клиническим эффектом. Также существует стратегия временного стентирования дыхательных путей с последующей химио- и радиотерапией, поскольку это улучшает респираторное состояние пациента до наступления клинического ответа [20].

Одним из вероятных методов консервативного лечения является лучевая терапия, которая доказала свою эффективность при локализованном заболевании, в монорежиме или в комбинации с ПХТ [16, 20–23]. В случае диссеминированного или рефрактерного заболевания варианты системного лечения с химиотерапией и иммунотерапией считаются методом выбора. Химиотерапевтические и иммуноонкологические препараты редко использовались как часть лечения первой линии MALT-лимфомы начальной стадии, поскольку местная терапия способна обеспечить длительный безрецидивный период [24]. Однако в настоящее время опубликовано большое количество статей, описывающих успешное лечение ранних стадий MALT-лимфом с помощью химиотерапии [25–27]. В частности, ритуксимаб показал 70 % ответ при MALT-лимфоме, независимо от локализации опухоли [28]. В некоторых случаях пациенты могут быть оставлены под динамическое наблюдение, при условии бессимптомного течения заболевания. Данный подход может быть предложен для пожилых пациентов или больных с тяжелой сопутствующей патологией [29].

Следует отметить, что лимфомы MALT имеют отличный прогноз с показателями общей 5-летней выживаемости выше 90 % и 10-летней выживаемости

от 75 % до 80 %. Рецидивы могут возникать через несколько лет после лечения, в среднем через 5 лет, с вовлечением того же органа (60 % случаев) или других экстранодальных участков [24]. Также описаны случаи спонтанной регрессии лимфомы после диагностических биопсий [30].

Заключение

Первичная MALT-лимфома трахеи встречается крайне редко, в связи с чем не существует рандомизированных клинических испытаний, посвященных этой проблеме. Учитывая разнообразие эффективных стратегий терапии MALT-лимфом, выбор оптимального варианта лечения требует персонифицированного подхода. На наш взгляд, эндобронхиальная хирургия является методом выбора лечения MALT-лимфом при поражении трахеи и крупных бронхов, поскольку позволяет ликвидировать риск развития осложнений, связанный с различной степенью стеноза дыхательных путей. Принимая во внимание благоприятный прогноз и опыт мировой практики, в некоторых случаях можно использовать динамическое наблюдение, при условии удовлетворительного состояния пациента.

Пациент наблюдается в МНИОИ им. П.А. Герцена на протяжении 6 мес без признаков рецидива заболевания. Данный клинический пример показывает возможности метода эндоскопической хирургии, который позволил провести радикальное органосохраняющее лечение у пациента с диагнозом первичной MALT-лимфомы трахеи. С учетом экзотичной формы роста опухоли применение метода комбинированного эндоскопического лечения позволило избежать открытой хирургической операции в виде резекции трахеи, что существенно улучшило качество жизни пациента.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Diaz-Mendoza J., Debiase L., Peralta A.R., Simoff M. Tracheal tumors. *Curr Opin Pulm Med*. 2019; 25(4): 336–43. doi: 10.1097/MCP.0000000000000585. PMID: 30973357.
2. Urdaneta A.I., Yu J.B., Wilson L.D. Population based cancer registry analysis of primary tracheal carcinoma. *Am J Clin Oncol*. 2011; 34(1): 32–7. doi: 10.1097/COC.0b013e3181cae8ab.
3. Madariaga M.L., Gaissert H.A. Secondary tracheal tumors: a systematic review. *Ann Cardiothorac Surg*. 2018; 7(2): 183–96. doi: 10.21037/acs.2018.02.01.
4. Соколов В.В., Телегина Л.В., Трахтенберг А.Х., Пикин О.В., Осипова Н.А., Бойко А.В., Франк Г.А., Белоус Т.А. Современные возможности эндобронхиальной хирургии и фотодинамической терапии при злокачественных опухолях трахеи и бронхов. *Российский онкологический журнал*. 2010; (3): 46–9. [Sokolov V.V., Telegina L.V., Trakhtenberg A.Kh., Pikin O.V., Osipova N.A., Boyko A.V., Frank G.A., Belous T.A. Modern approaches to endobronchial surgery and photodynamic therapy for malignant tumors of the trachea and bronchi. *Russian Journal of Oncology*. 2010; (3): 46–9. (in Russian)].
5. Телегина Л.В. Эндобронхиальная хирургия при стенозирующих злокачественных опухолях трахеи и крупных бронхов. Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2017. [Telegina L.V. Endobronchial surgery for stenosing malignant tumors of the trachea and large bronchi. D.Sc. thesis. Moscow, 2017. (in Russian)].
6. Iftikhar H., Siddiqui M.I., Minhas K. MALT lymphoma of the base of the tongue: a rare case entity. *BMJ Case Rep*. 2016. doi: 10.1136/bcr-2015-213830.
7. Tao X., Xu A. Amphioxus Immunity. Tracing the Origins of Human Immunity; Chapter 2. Basic Knowledge of Immunology; 2016. 15–42.
8. Yoon R.G., Kim M.Y., Song J.W., Chae E.J., Choi C.M., Jang S. Primary endobronchial marginal zone B-cell lymphoma of bronchus-associated lymphoid tissue: CT findings in 7 patients. *Korean J Radiol*. 2013; 14(2): 366–74. doi: 10.3348/kjr.2013.14.2.366.
9. Minami D., Ando Ch., Sato K., Moriwaki K., Sugahara F., Nakasuka T., Iwamoto Yo., Fujiwara K., Shibayama T., Yonei T., Sato T. Multiple Mucosa-associated Lymphoid Tissue Lymphoma of the Trachea. *Internal Medicine*. 2017; 56(21): 2907–11. doi: 10.2169/internalmedicine.8269-16.
10. Zinzani P.L., Poletti V., Zompatori M., Tani M., Spaggiari L., Tomassetti S., Broccoli A., Derenzini E., Baccarani M. Bronchus-associated lymphoid tissue lymphomas: an update of a rare extranodal maltoma. *Clin Lymphoma Myeloma*. 2007; 7(9): 566–72. doi: 10.3816/clm.2007.n.042.
11. Cai C., Jiang R.C., Li Z.B., Chen X.D., He M.Z., Liu L., Zou X.Y. Two-stage tracheal reconstruction of primary tracheal non-Hodgkin lymphoma with nitinol mesh stent and cervical myocutaneous flap. *Ann Thorac Surg*. 2008; 85(3): 17–9. doi: 10.1016/j.athoracsur.2007.12.003.
12. Raderer M., Wöhrer S., Streubel B., Troch M., Turetschek K., Jäger U., Skrabas C., Gaiger A., Drach J., Puspoeck A., Formanek M., Hoffmann M., Hauff W., Chott A. Assessment of disease dissemination in gastric compared with extragastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma using extensive staging: a single-center experience. *J Clin Oncol*. 2006; 24(19): 3136–41. doi: 10.1200/JCO.2006.06.0723.

13. de Boer J.P., Hiddink R.F., Raderer M., Antonini N., Aleman B.M., Boot H., de Jong D. Dissemination patterns in non-gastric MALT lymphoma. *Haematologica*. 2008; 93(2): 201–6. doi: 10.3324/haematol.11835.
14. Extranodal marginal cell lymphoma of mucosa-associated tissue (MALT lymphoma). In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., Thiele J., Vardiman J.W. WHO Classification of Tumours of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press, 2008. 214–9.
15. Топольницкий Е.Б., Капитанова Д.В., Гарчева А.С., Бородин Ю.А., Доржиева Ю.Э., Козловский В.В., Мальков М.В. Циркулярная резекция грудного отдела трахеи при MALT-лимфоме у пациентки в возрасте 81 года. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2020; (5): 96–9. [Topol'nikskii E.B., Kapitanova D.V., Garcheva A.S., Borodina Yu.A., Dorzhieva Yu.E., Kozlovsky V.V., Malkov M.V. Circular resection of the thoracic trachea for MALT lymphoma in an 81-year-old patient. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2020; (5): 96–9. (in Russian)]. doi: 10.17116/hirurgia202005196.
16. Kaplan M.A., Pettit C.L., Zukerberg L.R., Harris N.L. Primary lymphoma of the trachea with morphologic and immunophenotypic characteristics of low-grade B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Am J Surg Pathol*. 1992; 16(1): 71–5. doi: 10.1097/00000478-199201000-00011.
17. Maeda M., Kotake Y., Monden Y., Nakahara K., Kawashima Y., Kitamura H. Primary malignant lymphoma of the trachea. Report of a case successfully treated by primary end-to-end anastomosis after circumferential resection of the trachea. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1981; 81(6): 835–9.
18. Okubo K., Miyamoto N., Komaki C. Primary mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma of the trachea: a case of surgical resection and long term survival. *Thorax*. 2005; 60(1): 82–3. doi: 10.1136/thx.2003.018721.
19. Tsurutani J., Kinoshita A., Kaida H., Fujii H., Narasaki F., Fukuda M., Oka M., Kohno S. Bronchoscopic therapy for mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma of the trachea. *Intern Med*. 1999; 38(3): 276–8. doi: 10.2169/internalmedicine.38.276.
20. Ding J., Chen Z., Shi M. Tracheal stenting for primary tracheal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Eur J Med Res*. 2013; 18(1): 8. doi: 10.1186/2047-783X-18-8.
21. Gill M.T., Cotelingam J.D., Lowery-Nordberg M., Nathan C.O. Tracheal non-Hodgkin's lymphoma masquerading as benign granulation tissue: a report of two cases. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2010; 119(7): 431–5. doi: 10.1177/000348941011900701.
22. Hashemi S.M., Heitbrink M.A., Jiwa M., Boersma W.G. A patient with endobronchial BALT lymphoma successfully treated with radiotherapy. *Respir Med*. 2007; 101(10): 2227–9. doi: 10.1016/j.rmed.2006.11.028.
23. Kawaguchi T., Himeji D., Kawano N., Shimao Y., Marutsuka K. Endobronchial Mucosa-associated Lymphoid Tissue Lymphoma: A Report of Two Cases and a Review of the Literature. *Intern Med*. 2018; 57(15): 2233–6. doi: 10.2169/internalmedicine.0150-17.
24. Raderer M., Kiesewetter B., Ferreri A.J. Clinicopathologic characteristics and treatment of marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma). *CA Cancer J Clin*. 2016; 66(2): 153–71. doi: 10.3322/caac.21330.
25. Magliari M.E., Aquino R.T., Gonçalves A.L., Marioni F., Bernardi Fdel C., Brasil S., Almeida J.A., Andrade B.J., Chiatone C.S., Lima C.A. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma of the trachea: case report. *Sao Paulo Med J*. 2012; 130(2): 126–9. doi: 10.1590/s1516-31802012000200010.
26. Hiraishi Y., Iikura M., Kogure Y., Hirashima J., Izumi S., Sugiyama H. Two tracheal BALT lymphoma patients successfully treated with chemotherapy including rituximab. *Respir Investig*. 2014; 52(2): 144–6. doi: 10.1016/j.resinv.2013.07.006.
27. Mizuno S., Ota S., Tanaka T., Shiomi K., Matsumura T., Kishimoto N. Primary tracheal malignant lymphoma detected during a regular checkup in an asbestos dust-exposed smoker. *Acta Med Okayama*. 2014; 68(3): 177–81. doi: 10.18926/AMO/52659.
28. Borie R., Wislez M., Antoine M., Copie-Bergman C., Thieblemont C., Cadranet J. Pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma revisited. *Eur Respir J*. 2016; 47(4): 1244–60. doi: 10.1183/13993003.01701-2015.
29. Ahn J.H., Chung J.H., Shin K.C., Choi E.Y., Jin H.J., Choi J.H., Lee K.H. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma of the trachea associated with idiopathic pulmonary fibrosis: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97(20): 10727. doi: 10.1097/MD.00000000000010727.
30. Hosoda C., Ishiguro T., Takahashi N., Kamiishi N., Shimizu Y., Takayanagi N. Spontaneous regression of primary endobronchial extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Respir Med Case Rep*. 2019; 27: 100826. doi: 10.1016/j.rmcr.2019.100826.

Поступила/Received 30.01.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 18.05.2022

Принята к публикации/Accepted 06.05.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пикин Олег Валентинович, доктор медицинских наук, руководитель отделения торакальной хирургии, 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.

Телегина Лариса Валентиновна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отдела эндоскопии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7973-0921. ORCID: 0000-0002-3347-7329.

Капланская Ирина Борисовна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения патологической анатомии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Кутенева Нина Владимировна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела эндоскопии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Бармин Виталий Валерьевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения торакальной хирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2010-5336. ORCID: 0000-0002-5629-340X.

Семикина Дарья Вячеславовна, клинический ординатор торакального хирургического отделения, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2663-6626. ORCID: 0000-0002-0488-5577.

ВКЛАД АВТОРОВ

Пикин Олег Валентинович: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Телегина Лариса Валентиновна: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Капланская Ирина Борисовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Кутенева Нина Владимировна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Бармин Виталий Валерьевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Семикина Дарья Вячеславовна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oleg V. Pikin, MD, DSc, Head of Thoracic Surgery Department, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-6871-6804.

Larisa V. Telegina, MD, DSc, Senior Researcher, Endoscopy Department, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-3347-7329.

Irina B. Kaplanskaya, MD, PhD, Leading Researcher, Department of Pathological Anatomy, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Nina V. Kuteneva, MD, PhD, Researcher, Endoscopy Department, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Vitaly V. Barmin, MD, PhD, Senior Researcher, Thoracic Surgery Department, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-5629-340X.

Darya V. Semikina, MD, Resident, Thoracic Surgery Department, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-0488-5577.

AUTHOR CONTRIBUTION

Oleg V. Pikin: study design and conception, research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Larisa V. Telegina: study design and conception, research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Irina B. Kaplanskaya: research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Nina V. Kuteneva: research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Vitaliy V. Barmin: research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Darya V. Semikina: study design and conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Родионов Е.О., Столярова В.А., Миллер С.В., Подолько Д.В., Тузиков С.А., Безгодова Н.В., Мох А.А., Маркович В.А., Миллер Д.С. Нейроэндокринная опухоль тонкой кишки и карциноидный синдром: трудности диагностики (клиническое наблюдение). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 160–167. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-160-167

For citation: Rodionov E.O., Stolyarova V.A., Miller S.V., Podolko D.V., Tuzikov S.A., Bezgodova N.V., Mokh A.A., Markovich V.A., Miller D.S. Neuroendocrine tumor of the small bowel and carcinoid syndrome: difficulties in diagnosis: a case report. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 160–167. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-160-167

НЕЙРОЭНДОКРИННАЯ ОПУХОЛЬ ТОНКОЙ КИШКИ И КАРЦИНОИДНЫЙ СИНДРОМ: ТРУДНОСТИ ДИАГНОСТИКИ (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

Е.О. Родионов^{1,2}, В.А. Столярова², С.В. Миллер¹, Д.В. Подолько¹,
С.А. Тузиков^{1,2}, Н.В. Безгодова¹, А.А. Мох², В.А. Маркович¹, Д.С. Миллер²

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

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: rodionov_eo@oncology.tomsk.ru¹

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

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

Аннотация

Актуальность. Нейроэндокринные опухоли (НЭО) тонкой кишки являются редкими и медленно растущими опухолями, которые возникают из нейроэндокринных клеток желудочно-кишечного тракта, синтезирующих серотонин и другие вазоактивные молекулы. Диагностика является сложной задачей, и зачастую диагноз устанавливается на поздней стадии заболевания, поскольку опухоль длительное время может быть бессимптомной или сопровождаться неспецифическими жалобами со стороны желудочно-кишечного тракта. Примерно у 40 % пациентов в результате гормональной активности нейроэндокринных опухолей тонкой кишки развивается карциноидный синдром. Хирургическое лечение является единственным методом лечения локализованных НЭО тонкой кишки. Пятилетняя выживаемость пациентов составляет около 85 %, с медианой 9,3 года. **Описание клинического случая.** Больную длительное время беспокоили жалобы на сухие «приливы», представляющие собой выраженное покраснение кожи лица и в меньшей степени кожи туловища, сопровождающиеся чувством жара, выраженной головной болью и слезотечением, общей слабостью, ощущением истощения. Пациентка на протяжении 14 лет безуспешно проходила симптоматическое лечение у разных специалистов (гинеколога, терапевта, психиатра, эндокринолога и др.). В результате длительного и комплексного обследования был установлен диагноз нейроэндокринной опухоли подвздошной кишки. Пациентка была радикально прооперирована (pT2N1M0. Ст. IIIB, G2), но с учетом факторов неблагоприятного прогноза (метастаз в лимфатический узел брыжейки, наличие карциноидного синдрома, повышенные биохимические маркеры, уровень Ki67 6 %, наличие рецепторов соматостатина 2-го и 5-го типа в 60 % опухолевых клеток) в дальнейшем пациентке показано лечение аналогами соматостатина. **Заключение.** При подозрении на НЭО тонкой кишки, особенно при наличии карциноидного синдрома, следует приложить все усилия для подтверждения диагноза с помощью комбинации анатомической и функциональной визуализации опухоли с биохимическими маркерами. Правильная трактовка клинической картины позволила бы направить пациентку на такие исследования, как соматостатин-рецепторная скintiграфия и/или ⁶⁸Ga-ПЭТ/КТ с исследованием биохимических маркеров в крови и моче и, соответственно, диагностировать НЭО тонкой кишки в более ранние сроки и на ранней стадии.

Ключевые слова: нейроэндокринная опухоль, нейроэндокринные биомаркеры, нейроэндокринная опухоль тонкой кишки, карциноидный синдром, карциноидное сердце.

NEUROENDOCRINE TUMOR OF THE SMALL BOWEL AND CARCINOID SYNDROME: DIFFICULTIES IN DIAGNOSIS: A CASE REPORT

E.O. Rodionov^{1,2}, V.A. Stolyarova², S.V. Miller¹, D.V. Podolko¹, S.A. Tuzikov^{1,2},
N.V. Bezgodova¹, A.A. Mokh², V.A. Markovich¹, D.S. Miller²

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

5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia. E-mail: rodionov_eo@oncology.tomsk.ru¹

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

2, Moskovsky trakt, 634050, Tomsk, Russia²

Abstract

Background. Neuroendocrine tumors (NETs) of the small bowel are rare and slow-growing tumors arising from intraepithelial endocrine cells that synthesize serotonin. Diagnosis of these tumors poses a significant challenge because they are often not diagnosed until an advanced stage, since the tumor may be asymptomatic or accompanied by non-specific gastrointestinal complaints. Approximately 40 % of patients develop carcinoid syndrome due to hormonal activity of NETs. Surgery is the mainstay treatment of locoregional small bowel NETs. The five-year survival rate of patients is about 85 %, with a median rate of 9.3 years. **Case description.** The female patient complained of facial redness and, to a lesser extent, redness of the skin of the trunk, accompanied by a feeling of heat, severe headache, lacrimation, and general feeling of weakness. The patient unsuccessfully received symptomatic treatment prescribed by various specialists (gynecologist, therapist, psychiatrist, endocrinologist, etc.) for 14 years. Based on the comprehensive examination, NET of the small bowel was diagnosed. The patient underwent radical surgery (pT2N1M0, stage IIIB, G2), but taking into account the unfavorable prognostic factors (metastases in the mesenteric lymph node, presence of carcinoid syndrome, elevated biochemical markers, Ki67 level = 6 %, presence of somatostatin receptors of 2 and 5 types in 60 % of tumor cells), the patient was further treated with somatostatin analogues. **Conclusion.** When small bowel NETs are suspected, especially with the evidence of carcinoid syndrome, every effort should be made to confirm the diagnosis using a combination of anatomical and functional tumor imaging with biochemical markers.

Key words: NET, neuroendocrine biomarkers, small bowel NETs, carcinoid syndrome, carcinoid heart disease.

Введение

Нейроэндокринные опухоли (НЭО) тонкой кишки являются редкими и медленно растущими опухолями, которые возникают из нейроэндокринных клеток желудочно-кишечного тракта, синтезирующих серотонин и другие вазоактивные молекулы [1]. Частота встречаемости составляет менее 0,8 на 100 000 человек в год [2], при этом НЭО составляют до 40 % всех новообразований тонкой кишки [3, 4].

Диагностика НЭО тонкой кишки является сложной задачей, и зачастую диагноз устанавливается на поздней стадии заболевания, поскольку опухоль длительное время может быть бессимптомной или сопровождаться неспецифическими жалобами со стороны желудочно-кишечного тракта [4]. В редких случаях заболевание может манифестировать такими осложнениями, как кишечная непроходимость, перфорация кишки или кровотечение [5]. НЭО тонкой кишки имеют высокую склонность к метастазированию в лимфатические узлы корня брыжейки и в печень [1]. Примерно у 40 % па-

циентов в результате гормональной активности нейроэндокринных опухолей тонкой кишки с гиперпродукцией вазоактивных веществ, главным образом серотонина, развивается карциноидный синдром. Клинические проявления варьируют от классической триады (покраснение кожи, диарея и бронхоспазм) до нервно-психических симптомов, пеллагры и развития локального или отдаленного фиброза [6]. При подозрении на НЭО тонкой кишки используются такие методы визуализации, как КТ и МРТ органов брюшной полости, ⁶⁸Ga-ПЭТ/КТ в комбинации с показателями биохимических маркеров – хромогранин А, серотонин и 5-ГИУК [7].

Хирургическое лечение является единственным методом лечения локализованных НЭО тонкой кишки. Эффект применения лекарственной терапии зависит как от функциональной активности опухоли, так и от ее биологического потенциала (степени дифференцировки опухоли, наличия сосудистой и периневральной инвазии, количества некрозов, высокой митотической и пролиферативной активности клеток опухоли) [7].

Примерно 80 % пациентов умирают от печеночной недостаточности вследствие метастатического поражения, а 16 % – от кишечной непроходимости [1]. Пятилетняя выживаемость пациентов с нейроэндокринными опухолями тонкой кишки составляет около 85 %, с медианой 9,3 года [3].

Представляем **клинический случай**, показывающий трудности диагностики пациентки с НЭО тонкой кишки.

Пациентка Ш., 1974 г. р., считает себя больной с 2005 г., когда стала отмечать сухие «приливы» в виде выраженного покраснения кожи лица и в меньшей степени кожи туловища, сопровождающиеся чувством жара, выраженной головной болью и слезотечением, общей слабостью, ощущением истощения (рис. 1). Данные приливы возникали несколько раз в день, после приема пищи и при любых стрессовых состояниях, купировались самостоятельно. Также предъявляла жалобы на неустойчивый стул с эпизодами диареи.

Из анамнеза: наблюдалась у гинеколога с 1998 г. с диагнозом: эндометриоз тела матки, брюшины малого таза, яичников; дважды выполнялась диагностическая лапароскопия с биопсией. В 2005 г. установлена внутриматочная терапевтическая система «Мирена», после чего появились указанные жалобы. Проходила неоднократно лечение в терапевтическом стационаре с диагнозом вегето-сосудистая дистония по смешанному типу с abortивными симпато-адреналовыми кризами. Наблюдается у эндокринолога с диагнозом хронический аутоиммунный тиреоидит, гипотиреоз, принимает L-тироксин. В 2013 г. пролечена по поводу описторхоза. Несмотря на проводимую терапию, приливы сохранялись, неоднократно (2009, 2013 гг.) проводилось обследование, включая УЗИ щитовидной железы, УЗИ и МРТ органов брюшной полости малого таза – без выраженной

патологии. Дважды выполнялось МРТ головного мозга (в 2009 и 2015 гг.), патологии не выявлено. Проходила лечение у психиатра по поводу сохраняющихся жалоб, без особого эффекта.

К 2019 г. частота и интенсивность приливов усилились, вновь обратилась к эндокринологу, впервые заподозрен карциноидный синдром, назначено обследование. По данным МРТ органов брюшной полости (14.03.19): солидное образование в нижнем этаже брюшной полости, размерами 44×37 мм однородной структуры, накапливающее контраст. При видеоколоноскопии (2.04.19) признаки экстраорганный компрессии сигмовидной кишки без признаков прорастания стенки кишки извне. Онкомаркеры от марта 2019 г. (СА 19–9, СА 125, РЭА) в пределах референсных значений, повышены хромогранин А – 219 мкг/л (референсные значения <100) и суточная экскреция кортизола в моче – 501,7 нмоль/сут (референсные значения <485,6). Исследование уровня гормонов (инсулин, ФСТ, тестостерон, пролактин, ГСПГ) – показатели в пределах нормы. СКТ органов брюшной полости и малого таза (1.04.19) (пересмотр в НИИ онкологии ТНИМЦ) на уровне Th5 в брыжейке тонкой кишки – объемное образование овальной формы с четкими контурами, размерами 44×36×65 мм, неоднородной структуры, часть сосудов брыжейки тонкой кишки тесно прилежит к образованию. Кроме того, обнаружено образование, располагающееся ниже в стенке одной из петель тонкой кишки, до 28 мм в диаметре, суживающее просвет кишки, но без признаков декомпенсации (рис. 2).

Хирургическое лечение в плановом порядке проведено 7.05.2019. При лапаротомии выявлено, что в забрюшинном пространстве в проекции корня брыжейки подвздошной кишки определялась опухоль, практически не смещаемая, размером 75×55×50 мм; в проекции забрюшинной опухоли



Рис. 1. Фотография пациентки во время эпизода прилива, который проявлялся множественными асимметричными пятнами пурпурно-красного цвета на коже верхних конечностей

Fig. 1. The photo of the patient during an episode of a hot flash; asymmetric multiple spots of purple-red color with localization on the upper limbs

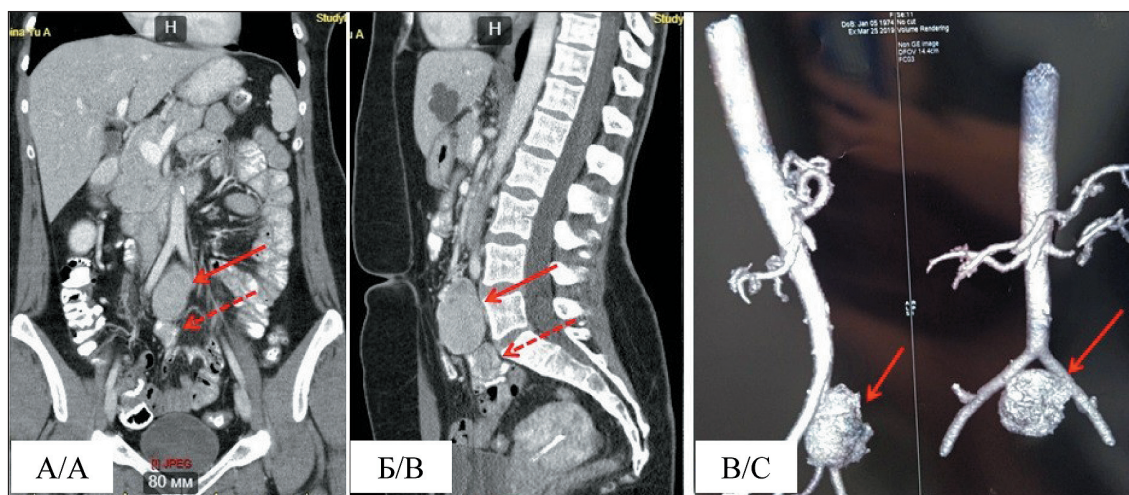


Рис. 2. КТ органов брюшной полости. На уровне Th5 в брыжейке тонкой кишки объемное образование овальной формы с четкими контурами, размерами 44×36×65 мм, неоднородной структуры, часть сосудов брыжейки тонкой кишки тесно прилежит к образованию; образование, располагающееся ниже в стенке одной из петель тонкой кишки, в диаметре размерами до 28 мм, суживает просвет кишки. Примечание: А – фронтальная проекция; Б – сагиттальная проекция; В – 3D-реконструкция. Сплошная стрелочка – метастатический узел, пунктирная – опухолевая ткань

Fig. 2. CT image. At the level of the Th5 vertebra in the mesentery of the small intestine, there is an oval large lesion with clear contours, dimensions: 44×36×65 mm, heterogeneous structure, part of the vessels of the mesentery of the small intestine is closely adjacent to the lesion. A lesion located lower in the wall of one of the loops of the small intestine up to 28 mm in diameter, narrowing the intestinal lumen.

Note: A – frontal projection; B – sagittal projection; C – 3D-reconstruction. Solid arrow – metastatic node, dotted arrow – tumor tissue

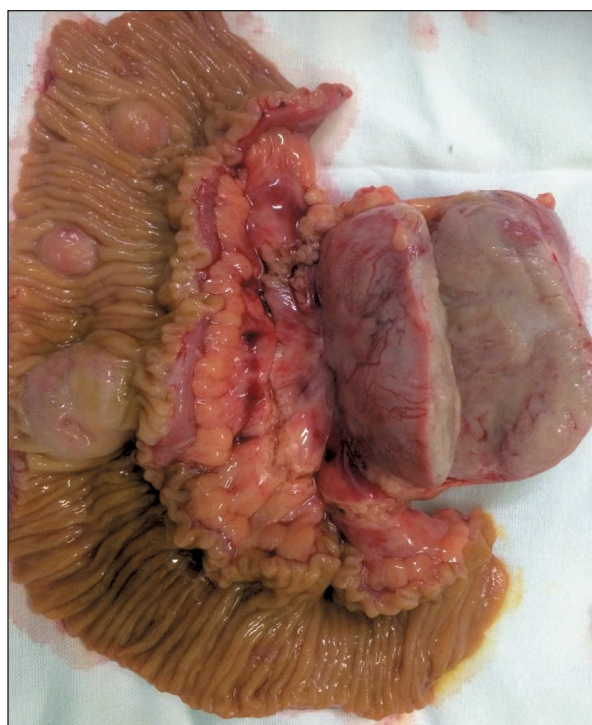


Рис. 3. Операционный препарат. Фрагмент резецированной тонкой кишки с метастатическим лимфоузлом. На поверхности слизистой оболочки кишки имеются 3 плотных округлых образования размерами до 28 мм, серо-розового цвета, деформирующие стенку. Метастатический лимфатический узел в брыжейке кишки, размером 75×55×50 мм

Fig. 3. A fragment of the removed intestine with metastatic lymph node is presented. On the surface of the mucous membrane there are 3 dense rounded lesions up to 28 mm in size, gray-pink in color, deforming the intestinal wall. The mesenteric metastatic lymph node, 75×55×50 mm is size

петля подвздошной кишки имела 3 внутристеночных плотных округлых образования, деформирующих стенку кишки. Выполнена операция в объеме комбинированной резекции неорганной забрюшинной опухоли с резекцией петель подвздошной кишки, аппендэктомией (рис. 3).

Гистологическое исследование от мая 2019 г.: множественная НЭО тонкой кишки с метастазом в лимфатический узел брыжейки тонкой кишки (тотальное замещение лимфатического узла опухолью), G2. По линиям резекции опухолевой ткани не обнаружено. В червеобразном отростке признаки хронического аппендицита. В клетках опухоли определяется диффузная экспрессия Synaptophysin, Chromogranin, Cytokeratin AE1/AE3. Проллиферативная активность высокая – Ki67 экспрессируется ~6 % опухолевых клеток (рис. 4). Дополнительно проведено ИГХ-исследование в ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. академика А.М. Гранова» Минздрава России: позитивная реакция в опухоли на рецепторы к соматостатину 2-го и 5-го типа (60 % клеток).

На основе полученных данных установлен диагноз: нейроэндокринная опухоль подвздошной кишки, pT2N1M0. Ст. IIIB. С учетом стадии процесса, гистологического заключения, повышенного содержания в крови маркеров нейроэндокринной опухоли пациентке показано проведение адъювантного лечения в виде назначения аналогов соматостатина (Соматулин-Аутожел (ланреотид) 120 мг п/к 1 раз в 28 дней; первая инъекция от 20.06.19.). Пациентка регулярно проходила контрольное обследование: ПЭТ/КТ с ⁶⁸Ga-DOTA-TATE и с

⁶⁸Ga-DOTA-NOC, КТ ОБП и ОМТ, исследование маркеров 5-ГИУК, серотонин и хромогранин А. При очередном плановом проведении контрольного обследования ПЭТ/КТ с ⁶⁸Ga-DOTA-NOC от II/2021 (в Санкт-Петербурге): признаков прогрессирования злокачественного процесса не выявлено. ПЭТ/КТ с ⁶⁸Ga-DOTA-NOC от II/2021: появился сомнительный очаг в петле тонкой кишки на уровне L5 размерами 9 мм с SUV=3,2, рекомендовано наблюдение в динамике. Сохраняется высокий уровень серотонина в крови (от 1,5 до 2,5 выше нормы), уровни хромогранина А в крови и метаболитов катехоламинов и серотонина в моче (ВМК, ГВК, 5-ГИУК) в пределах нормы. По данным МРТ органов брюшной полости и малого таза от января 2022 г. явных признаков прогрессирования опухолевого процесса нет.

Пациентка продолжает биотерапию аналогами соматостатина по настоящее время. В процессе терапии регулярно выполнялось ЭХОКГ – патологических изменений не выявлено. Переносит лечение в целом удовлетворительно, с явлениями

холестатического гепатита, синдрома мальабсорбции и мальдигестии, проводится коррекция лечения.

Обсуждение

Карциноидный синдром возникает в результате синергетического взаимодействия опухолевых факторов (серотонин, кинины, калликреин, простагландины и др.), попадающих в общий кровоток [5, 8]. При опухолях, ограниченных тонкой кишкой и регионарными лимфатическими узлами, большинство этих медиаторов поступает в печень и инактивируется там, следовательно, классический карциноидный синдром редко наблюдается при отсутствии отдаленного метастазирования [9, 10].

Высокий уровень циркулирующего серотонина может вызвать такое грозное осложнение, как карциноидная болезнь сердца, которая поражает до 20 % пациентов с карциноидным синдромом и характеризуется фиброзом клапанов правых отделов сердца. Клапанный фиброз в конечном итоге приводит к сердечной недостаточности и

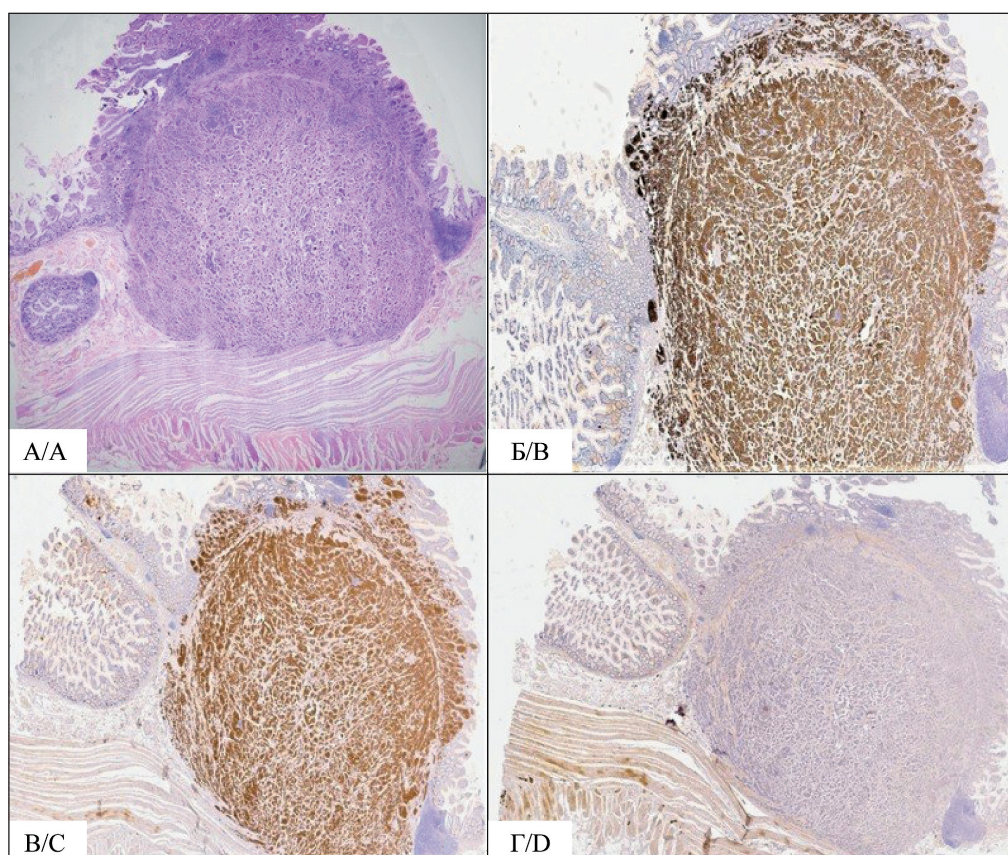


Рис. 4. Микрофото. Гистологические и иммуногистохимическое исследование, $\times 10$:

А – в стенке тонкой кишки рост инвазивной опухоли гнездового строения, представленной крупными относительно монотипными клетками, с хорошо заметными ядрышками и типичной конфигурацией хроматина по типу «соль с перцем», немногочисленными митозами, 4×10 HPF (2 mm^2), окраска гематоксилином и эозином; Б – ИГХ, в опухолевых клетках выявлена диффузная экспрессия хромогранина А; В – ИГХ, диффузная экспрессия синаптофизина; Г – ИГХ, экспрессия CD56 отсутствует (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Fig. 4. Microphoto. Histological and immunohistochemical images, $\times 10$:

А – invasive nested growth in the wall of the small intestine, represented by large relatively monomorphic cells, with clearly visible nucleoli and a typical salt and pepper chromatin configuration, few mitoses, 4×10 HPF (2 mm^2), stained with hematoxylin and eosin; Б – immunohistochemistry, diffuse expression of chromogranin A was detected in tumor cells; В – immunohistochemistry, diffuse expression of synaptophysin; D – immunohistochemistry, no expression of CD56 (cell nuclei stained with Mayer's hematoxylin)

связан со значительно худшим прогнозом [11, 12]. Проявление карциноидной болезни сердца может быть незаметным, и его наиболее надежно выявляют с помощью эхокардиографии, хотя N-концевой натрийуретический пептид типа pro-b (NT-proBNP) является сывороточным маркером с высокой отрицательной прогностической ценностью [11, 12].

НЭО тонкой кишки, несмотря на малые размеры, имеют тенденцию вызывать выраженную фиброзную реакцию в брыжейке и часто сопровождаются метастатическим поражением регионарных лимфоузлов, в связи с чем практически у 50 % пациентов наблюдаются симптомы обструкции кишечника [13].

Карциноидный синдром в описанном клиническом случае явился первым и единственным проявлением опухолевого процесса, при этом НЭО тонкой кишки длительное время не определялась по данным инструментальных методов обследования. Несмотря на «стаж» карциноидного синдрома и высокий уровень серотонина в крови, у пациентки отсутствуют признаки фиброза клапанов и дисфункции сердца по данным ЭХОКГ. Из-за связи карциноидной болезни сердца с повышенным уровнем серотонина пациентке рекомендован препарат телотристат, который применяется у пациентов как с карциноидной болезнью сердца, так и с высоким уровнем серотонина [12].

Мультиспиральная компьютерная томография брюшной полости может служить начальным диагностическим методом, в то время как МРТ может обнаруживать метастазы в печени с более высокой точностью по сравнению с компьютерной томографией. Однако, учитывая, что большинство опухолей имеют рецепторы соматостатина, функциональные методы визуализации, такие как ПЭТ/КТ с аналогами соматостатина, меченными галлием-68, значительно улучшили диагностическую чувствительность [14]. По данным четырех мета-анализов, средняя чувствительность 68Ga-ПЭТ/КТ для НЭО любой локализации составляет от 88 до 93 % [15]. Кроме того, использование таких биомаркеров, как хромогранин А и 5-гидроксидолюксусная кислота (5-ГИУК) в суточной моче, широко распространено в качестве комплексной диагностики НЭО.

По данным литературы, из-за относительно редкой встречаемости нейроэндокринных опухолей, недостаточной осведомленности врачей

общей практики и зачастую неясных симптомов, связанных с НЭО тонкой кишки, правильный диагноз может быть установлен с длительной задержкой. Средний срок от момента появления первых симптомов заболевания до постановки диагноза варьирует от 4,3 мес до 9,2 года [10]. В описанном клиническом случае проявления карциноидного синдрома, к сожалению, длительное время не были правильно расценены врачами разных специальностей, ввиду чего пациентка проходила только симптоматическое лечение без значимого улучшения в течение 14 лет. Правильная трактовка клинической картины позволила бы направить пациентку на такие исследования, как соматостатин-рецепторная скintiграфия и/или 68Ga-ПЭТ/КТ с исследованием биохимических маркеров в крови и моче, и, соответственно, диагностировать НЭО тонкой кишки в более ранние сроки и на ранней стадии.

При операбельном процессе рекомендуется хирургическое лечение [7]. У пациентки с учетом наличия неблагоприятных факторов (метастаз в лимфатический узел брыжейки, наличие карциноидного синдрома, повышенные биохимические маркеры, уровень Ki67 6 %, наличие рецепторов соматостатина 2-го и 5-го типа в 60 % опухолевых клеток) принято решение об адъювантной терапии аналогами соматостатина. Однозначного мнения относительно нео- и адъювантного лечения при НЭО не существует, возможно также применение интерферонов и комбинации химиопрепаратов, не содержащих цисплатин [7].

Заключение

По мере роста заболеваемости НЭО возрастает и важность понимания этой быстро развивающейся области онкологии. Диагностика и лечение нейроэндокринных опухолей тонкой кишки представляют сложную задачу. Клинические проявления характеризуются в основном неопределенными жалобами со стороны желудочно-кишечного тракта, что часто приводит к длительным задержкам постановки диагноза. При подозрении на НЭО тонкой кишки, особенно при наличии карциноидного синдрома, следует приложить все усилия для подтверждения диагноза с помощью комбинации анатомической и функциональной визуализации опухоли, таких как соматостатин-рецепторная скintiграфия и/или 68Ga-ПЭТ/КТ, с исследованием биохимических маркеров в крови и моче.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Farley H.A., Pommier R.F. Surgical Treatment of Small Bowel Neuroendocrine Tumors. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2016; 30(1): 49–61. doi: 10.1016/j.hoc.2015.09.001.
2. Lee M.R., Harris C., Baeg K.J., Aronson A., Wisnivesky J.P., Kim M.K. Incidence Trends of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019; 17(11): 2212–7. doi: 10.1016/j.cgh.2018.12.017.
3. Barsouk A., Rawla P., Barsouk A., Thandra K.C. Epidemiology of Cancers of the Small Intestine: Trends, Risk Factors, and Prevention. *Med Sci (Basel).* 2019; 7(3): 46. doi: 10.3390/medsci7030046.

4. Kalligeros M., Diamantopoulos L., Toumpanakis C. Biomarkers in Small Intestine NETs and Carcinoid Heart Disease: A Comprehensive Review. *Biology (Basel).* 2021; 10(10): 950. doi: 10.3390/biology10100950.
5. Modlin I.M., Kidd M., Latich I., Zikusoka M.N., Shapiro M.D. Current status of gastrointestinal carcinoids. *Gastroenterology.* 2005; 128(6): 1717–51. doi: 10.1053/j.gastro.2005.03.038.
6. Clement D., Ramage J., Srirajaskanthan R. Update on Pathophysiology, Treatment, and Complications of Carcinoid Syndrome. *J Oncol.* 2020. doi: 10.1155/2020/8341426.
7. Орел Н.Ф., Артамонова Е.В., Горбунова В.А., Делекторская В.В., Емельянова Г.С., Любимова Н.В., Маркович А.А.,

Орлова К.В., Орлова Р.В., Трифанов В.С. Практические рекомендации по лекарственному лечению нейроэндокринных неоплазий желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы и других локализаций. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO #3s2. 2021; 11: 499–512 [Orel N.F., Artamonova E.V., Gorbunova V.A., Delektorskaya V.V., Emelyanova G.S., Lyubimova N.V., Markovich A.A., Orlova K.V., Orlova R.V., Trifanov V.S. Practical recommendations for drug treatment of neuroendocrine neoplasms of the gastrointestinal tract, pancreas and other localizations. Malignant tumors. Practical advice from RUSSCO. #3s2. 2021; 11: 499–512. (in Russian)].

8. Granberg D. Biochemical Testing in Patients with Neuroendocrine Tumors. *Front Horm Res.* 2015; 44: 24–39. doi: 10.1159/000381981.

9. Singh S., Asa S.L., Dey C., Kennecke H., Laidley D., Law C., Asmis T., Chan D., Ezzat S., Goodwin R., Mete O., Pasieka J., Rivera J., Wong R., Segelov E., Rayson D. Diagnosis and management of gastrointestinal neuroendocrine tumors: An evidence-based Canadian consensus. *Cancer Treat Rev.* 2016; 47: 32–45. doi: 10.1016/j.ctrv.2016.05.003.

10. Scott A.T., Howe J.R. Management of Small Bowel Neuroendocrine Tumors. *J Oncol Pract.* 2018; 14(8): 471–82. doi: 10.1200/JOP.18.00135.

11. Luis S.A., Pellikka P.A. Carcinoid heart disease: Diagnosis and management. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2016; 30(1): 149–58. doi: 10.1016/j.beem.2015.09.005.

12. Strosberg J.R., Halfdanarson T.R., Bellizzi A.M., Chan J.A., Dillon J.S., Heaney A.P., Kunz P.L., O'Dorisio T.M., Salem R.,

Segelov E., Howe J.R., Pommier R.F., Brendtro K., Bashir M.A., Singh S., Soulen M.C., Tang L., Zacks J.S., Yao J.C., Bergsland E.K. The North American Neuroendocrine Tumor Society Consensus Guidelines for Surveillance and Medical Management of Midgut Neuroendocrine Tumors. *Pancreas.* 2017; 46(6): 707–14. doi: 10.1097/MPA.0000000000000850.

13. Howe J.R., Cardona K., Fraker D.L., Kebebew E., Untch B.R., Wang Y.Z., Law C.H., Liu E.H., Kim M.K., Menda Y., Morse B.G., Bergsland E.K., Strosberg J.R., Nakakura E.K., Pommier R.F. The Surgical Management of Small Bowel Neuroendocrine Tumors: Consensus Guidelines of the North American Neuroendocrine Tumor Society. *Pancreas.* 2017; 46(6): 715–31. doi: 10.1097/MPA.0000000000000846.

14. Maxwell J.E., Howe J.R. Imaging in neuroendocrine tumors: an update for the clinician. *Int J Endocr Oncol.* 2015; 2(2): 159–68. doi: 10.2217/ije.14.40.

15. Sundin A., Arnold R., Baudin E., Cwikla J.B., Eriksson B., Fanti S., Fazio N., Giammarile F., Hicks R.J., Kjaer A., Krenning E., Kwekkeboom D., Lombard-Bohas C., O'Connor J.M., O'Toole D., Rockall A., Wiedenmann B., Valle J.W., Vulliamme M.P., Antibes Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: Radiological, Nuclear Medicine & Hybrid Imaging. *Neuroendocrinology.* 2017; 105(3): 212–44. doi: 10.1159/000471879.

Поступила/Received 14.03.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 16.05.2022

Принята к публикации/Accepted 08.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Родионов Евгений Олегович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: rodionov_eo@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 7650-2129. Researcher ID (WOS): B-7280-2017. Author ID (Scopus): 57189622130. ORCID: 0000-0003-4980-8986.

Столярова Валентина Александровна, кандидат медицинских наук, доцент, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9246-7180. ORCID: 0000-0001-6966-1323.

Миллер Сергей Викторович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6510-9849. Researcher ID (WOS): C-8970-2012. Author-ID (Scopus): 56525429400. ORCID: 0000-0002-5365-9840.

Подолько Данил Владиславович, врач-онколог отделения торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). ORCID: 0000-0002-7725-176X.

Тузиков Сергей Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5662-6431. Researcher ID (WOS): D-1176-2012. Author ID (Scopus): 6507842873. ORCID: 0000-0002-0884-1838.

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

Мох Алена Андреевна, студентка, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). ORCID: 0000-0003-3888-0632.

Маркович Виталий Александрович, младший научный сотрудник отделения торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2954-8330. ORCID: 0000-0002-7599-1211.

Миллер Диана Сергеевна, студентка лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3384-4789. ORCID: 0000-0001-6015-7032.

ВКЛАД АВТОРОВ

Родионов Евгений Олегович: клиническая работа с пациентом, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Столярова Валентина Александровна: клиническая работа с пациентом, разработка концепции, проекта и дизайна работы, научное редактирование статьи, составление черновика рукописи.

Миллер Сергей Викторович: дизайн и концепция исследования с внесением ценного интеллектуального содержания, рецензирование.

Подолько Данил Владиславович: сбор материала, поиск и анализ источников литературы, составление черновика рукописи.

Тузиков Сергей Александрович: дизайн и концепция исследования с внесением ценного интеллектуального содержания, рецензирование.

Безгодова Наталья Владимировна: непосредственная реализация морфологического и иммуногистохимического исследования в данной работе, предоставление микрофотографий.

Мох Алена Андреевна: сбор материала, поиск и анализ источников литературы, составление черновика рукописи.

Маркович Виталий Александрович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, рецензирование.

Миллер Диана Сергеевна: обзор материала, поиск и анализ источников литературы, составление черновика рукописи.

Финансирование

Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeniy O. Rodionov, MD, PhD, Senior Researcher, Thoracic Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science; Assistant of Oncology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): B-7280-2017. Author ID (Scopus): 57189622130. ORCID: 0000-0003-4980-8986.

Valentina A. Stolyarova, MD, PhD, Associate Professor, Department of Faculty Therapy with a Course in Clinical Pharmacology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0001-6966-1323.

Sergey V. Miller, MD, DSc, Leading Researcher, Thoracic Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8970-2012. Author-ID (Scopus): 56525429400. ORCID: 0000-0002-5365-9840.

Danil V. Podolko, MD, Oncologist, Thoracic Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7725-176X.

Sergey A. Tuzikov, MD, Professor, Head of Thoracic Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science; Professor of Oncology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-1176-2012. Author ID (Scopus): 6507842873. ORCID: 0000-0002-0884-1838.

Natalya V. Bezgodova, MD, Pathologist, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57200544954. ORCID: 0000-0003-4213-9345.

Alena A. Mokh, student, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0003-3888-0632.

Vitaliy A. Markovich, MD, Junior Researcher, Thoracic Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7599-1211.

Diana S. Miller, student, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). SPIN-code: 3384-4789. ORCID: 0000-0001-6015-7032.

AUTHOR CONTRIBUTION

Evgeniy O. Rodionov: study supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Valentina A. Stolyarova: study conception and design, scientific editing of the manuscript, drafting of the manuscript.

Sergey V. Miller: study conception and design, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, peer review.

Danil V. Podolko: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Sergey A. Tuzikov: design and concept of the study with the introduction of valuable intellectual content, peer review.

Natalya V. Bezgodova: morphological and immunohistochemical studies, submission of microimages.

Alena A. Mokh: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Vitaliy A. Markovich: critical revision with the introduction of valuable intellectual content, reviewing.

Diana S. Miller: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: *Рябченко Е.В.* Медуллярный рак щитовидной железы в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом после перенесенного COVID-19. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 168–173. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-168-173

For citation: *Ryabchenko E.V.* Medullary thyroid cancer in combination with autoimmune thyroiditis after COVID-19. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 168–173. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-168-173

МЕДУЛЛЯРНЫЙ РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В СОЧЕТАНИИ С АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19

Е.В. Рябченко

ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Минздрава Краснодарского края,
«Межтерриториальный центр эндокринной хирургии», г. Краснодар, Россия
Россия, 350012 г. Краснодар, ул. Красных партизан, 6/2. E-mail: rev7512@mail.ru

Аннотация

Актуальность. Коронавирусная болезнь 2019 г. (COVID-19) – пандемия нового тысячелетия. COVID-19 может вызвать как легочное, так и системное воспаление, потенциально определяя полиорганную дисфункцию. Данные о взаимосвязи между COVID-19 и щитовидной железой (ЩЖ) появляются с марта 2020 г. Щитовидная железа и вирусная инфекция, а также связанные с ней воспалительно-иммунные реакции находятся в сложном взаимодействии. Наиболее часто встречаемым аутоиммунным заболеванием ЩЖ является хронический аутоиммунный тиреоидит (АИТ) (хронический лимфоцитарный тиреоидит, тиреоидит Хашимото). Медуллярный рак щитовидной железы (МРЩЖ) обнаруживают в виде узелка щитовидной железы. На момент постановки диагноза часто выявляются шейные лимфатические узлы и отдаленные метастазы. Развитие аутоантител может быть частью более сложного защитного противоопухолевого механизма, целью которого является устранение предшественников будущих опухолевых клеток. **Цель исследования:** представлен клинический случай диагностики медуллярного рака щитовидной железы после перенесенного COVID-19. **Описание клинического случая.** Пациентка 43 лет, переболевшая коронавирусной пневмонией (COVID-19), на фоне которой отмечался повышенный уровень сывороточного прокальцитонина (ПК), что явилось основанием для дополнительного обследования. Из анамнеза: с 2020 г. наблюдается по поводу АИТ, который проявлялся узловым образованием щитовидной железы небольшого размера. При обследовании после выписки из COVID-стационара выполнено УЗИ ЩЖ, при котором выявлено увеличение размеров узла в левой доле до 15 мм, уровень кальцитонина – 681 пг/мл. При тонкоигольной аспирационной биопсии ЩЖ: подозрение на медуллярный рак ЩЖ. В плановом порядке выполнена тиреоидэктомия с центральной лимфаденэктомией (VI зона). При гистологическом исследовании операционного материала подтвержден медуллярный рак щитовидной железы. **Заключение.** В представленном клиническом случае медуллярный рак щитовидной железы выявлен после перенесенного COVID-19 с повышенным уровнем сывороточного прокальцитонина, что явилось основанием для диагностического поиска.

Ключевые слова: медуллярный рак щитовидной железы, кальцитонин, прокальцитонин, COVID-19, тиреоидэктомия, центральная лимфаденэктомия.

MEDULLARY THYROID CANCER IN COMBINATION WITH AUTOIMMUNE THYROIDITIS AFTER COVID-19

E.V. Ryabchenko

Krasnodar Regional Clinical Hospital № 2, Endocrine Surgery Center
6/2, Krasnykh partisan str., 350012, Krasnodar, Russia. E-mail: rev7512@mail.ru

Abstract

Background. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a pandemic of the new millennium. COVID-19 can cause both pulmonary and systemic inflammation, and can rapidly progress to multiple organ failure. Data on the relationship between COVID-19 and the thyroid gland have been available since March 2020. The thyroid gland and viral infection as well as associated inflammatory-immune reactions participate in a complex interaction. The most common autoimmune disease is chronic autoimmune thyroiditis (chronic lymphocytic thyroiditis, Hashimoto thyroiditis). The majority of medullary thyroid cancers present as a thyroid nodule. Cervical lymph nodes and distant metastases are often detected at the time of diagnosis. The development of autoantibodies may be part of a more complex protective antitumor mechanism, the purpose of which is to eliminate the precursors of future tumor cells. **The purpose of the study** was to describe a clinical case of diagnosing medullary thyroid cancer in the patient who had COVID-19. **Case description.** We present the case of a 43-year-old woman who had coronavirus pneumonia (COVID-19), which was accompanied by an increase in serum procalcitonin (PC) level, which required additional examination. Since 2020, she had been observed for autoimmune thyroiditis, which was manifested by a thyroid nodular of a small size. After discharge from the COVID hospital, an ultrasound examination of the thyroid gland revealed an increase in the left lobe thyroid nodule up to 15 mm. The level of calcitonin was 681 pg/ml. Fine needle aspiration (FNA) biopsy of the thyroid gland showed suspicion for medullary thyroid cancer. Thyroidectomy with central lymph node dissection (level VI) was performed. A planned histological examination of the surgical specimen confirmed medullary thyroid cancer. **Conclusion.** In the present clinical case, medullary thyroid cancer was detected in the patient who had COVID-19 with elevated PC level, which was the basis for a diagnostic search.

Key words: medullary thyroid cancer, calcitonin, procalcitonin, COVID-19, thyroidectomy, central lymphadenectomy.

Введение

Коронавирусная болезнь 2019 г. (COVID-19) является высокотрансмиссивным инфекционным заболеванием, вызванным вирусом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2), одноцепочечным РНК-вирусом с наличием оболочки, принадлежащим к бета-коронавирусам [1, 2]. Среди других биомаркеров с тяжестью заболевания и смертностью связаны сывороточный прокальцитонин (ПКТ), С-реактивный белок (СРБ), ферритин, D-димер, интерлейкин-6 и лактатдегидрогеназа (ЛДГ). Широко признано, что повышение уровня ПКТ указывает на начало критической фазы вирусной инфекции [3]. У госпитализированных пациентов с коронавирусной болезнью 2019 г. (COVID-19) повышенные уровни ПКТ ($\geq 0,10$ нг/мл) и СРБ были независимыми факторами риска смертности с коэффициентами риска 52,68 и 5,47 соответственно [4]. Напротив, соотношение нейтрофилов к лимфоцитам ($\geq 3,59$) не признано независимым фактором риска смерти. ПКТ как генный продукт, связанный с кальцитонином, является предшественником кальцитонина, экспрессируемым эпителиальными клетками человека во время тяжелого системного воспаления, инфекции и сепсиса. Тем не менее ПКТ также является прогормоном кальцитонина и совместно секретируется с кальцитонином парафолликулярными клетками ЩЖ. ПКТ недавно стал биомаркером МРЩЖ [5, 6]. Измерение уровня кальцитонина в сыворотке крови отражает количество и активность нормальных парафолликулярных и клеток МРЩЖ. Концентрация кальцитонина в сыворотке крови у пациентов с узлами щитовидной железы может привести к ранней диагностике МРЩЖ.

На долю МРЩЖ приходится около 5 % всех злокачественных новообразований ЩЖ [7]. Раково-эмбриональный антиген (РЭА) является менее специфическим биомаркером для МРЩЖ, чем кальцитонин и ПКТ, но может быть полезен при оценке распространения и прогноза заболевания. После операции удвоение времени кальцитонина и уровня РЭА в сыворотке крови предполагают как выживаемость без рецидивов, так и общую выживаемость [8]. Наблюдение за пациентами с неопределяемыми опухолевыми маркерами включает ежегодные измерения уровня кальцитонина и ПКТ в сыворотке крови [9].

Цель исследования – демонстрация клинического случая диагностики медуллярного рака щитовидной железы после перенесенного COVID-19.

Описание клинического случая

Пациентка, 43 лет, госпитализирована в отделение Краевой клинической больницы в августе 2021 г. с жалобами на сухой кашель, тошноту и мышечные боли. ПЦР и антигенные тесты подтвердили инфекцию SARS-CoV-2.

Из анамнеза: в 2020 г. при плановом УЗИ щитовидной железы обнаружен одиночный гипозоногенный узел, диаметром до 10 мм. При тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ): данные за аутоиммунный тиреоидит с умеренно выраженной пролиферацией эпителия. Всем пациентам, независимо от структуры узла мы назначаем анализ на кальцитонин. Уровень кальцитонина в сыворотке крови составлял – 2 пг/мл, антитела к пероксидазе – 250 МЕ/мл. Больной рекомендовано динамическое наблюдение с УЗИ-контролем ЩЖ через год.

На момент поступления при физикальном обследовании выявлена крепитация в правом легком, температура тела до 36,7 °С, насыщение O_2 – 97–99%. При госпитализации СРБ составлял 5,2 мг/л (референсный диапазон <5,0 мг/л), ПКТ – 5,4 нг/мл (референсный диапазон <0,50 нг/мл). Остальные лабораторные показатели крови – в норме. При СКТ органов грудной клетки выявлены затемнения неправильной формы в нижней доле правого легкого; паренхиматозное поражение легких – 5 %. Начато противовирусное лечение: фавипиравир по 1,6 г 2 раза в сут в 1-й день, затем по 600 мг 2 раза в сут в течение 5 дней, кроме того, больная получала низкомолекулярный гепарин для профилактики тромбоэмболии. Показаний для проведения оксигенотерапии не было. Уровень СРБ оставался низким – 3,6 мг/л на следующий день после госпитализации, снижения уровня ПКТ не отмечено – 6,06 нг/мл. Стабильно нормальный уровень СРБ с постоянно высокими значениями ПКТ не объяснялся взаимосвязью с инфекцией. После выписки из коронавирусного отделения больной рекомендовано амбулаторное обследование с консультацией эндокринолога.

На этом этапе диагностики, по данным лабораторных анализов уровень кальцитонина в сыворотке крови составлял 681,0 пг/мл (референсный диапазон 2–11,0 пг/мл). Выполнено УЗИ шеи, при

котором размеры ЩЖ соответствовали норме, в левой доле обнаружен гипоехогенный узел, диаметром до 15 мм; в правой доле – ячеистый узел, диаметром до 5 мм; единичные паратрахеальные лимфатические узлы слева гипоехогенного характера, диаметром до 10 мм. При компьютерной томографии – очаговое образование левой доли ЩЖ, умеренное проявление шейной лимфаденопатии слева, в грудной клетке объемных образований не обнаружено. Выполнена пункционная биопсия ЩЖ: подозрение на медуллярный рак. Биопсию из лимфоузлов шеи не выполняли, т.к. данных за их поражение не было. В плановом порядке выполнена тиреоидэктомия с центральной лимфаденэктомией (VI зона) с обеих сторон под контролем возвратных нервов с использованием переменного нейромониторинга. Гистологическое исследование операционного материала: левая доля – медуллярная карцинома размером 15 мм (pT1b) ISD-O-code 8345/3; перешеек и правая доля – аутоиммунный тиреоидит; клетчатка и лимфоузлы VI зоны шеи – 2 лимфатических узла без опухолевого роста. Диагноз подтвержден при иммуногистохимическом исследовании (рис. 1). По классификации TNM процесс соответствовал pT1a(m)N0M0 [9].

Через 1 нед после операции лабораторные показатели были следующими: кальцитонин сыворот-

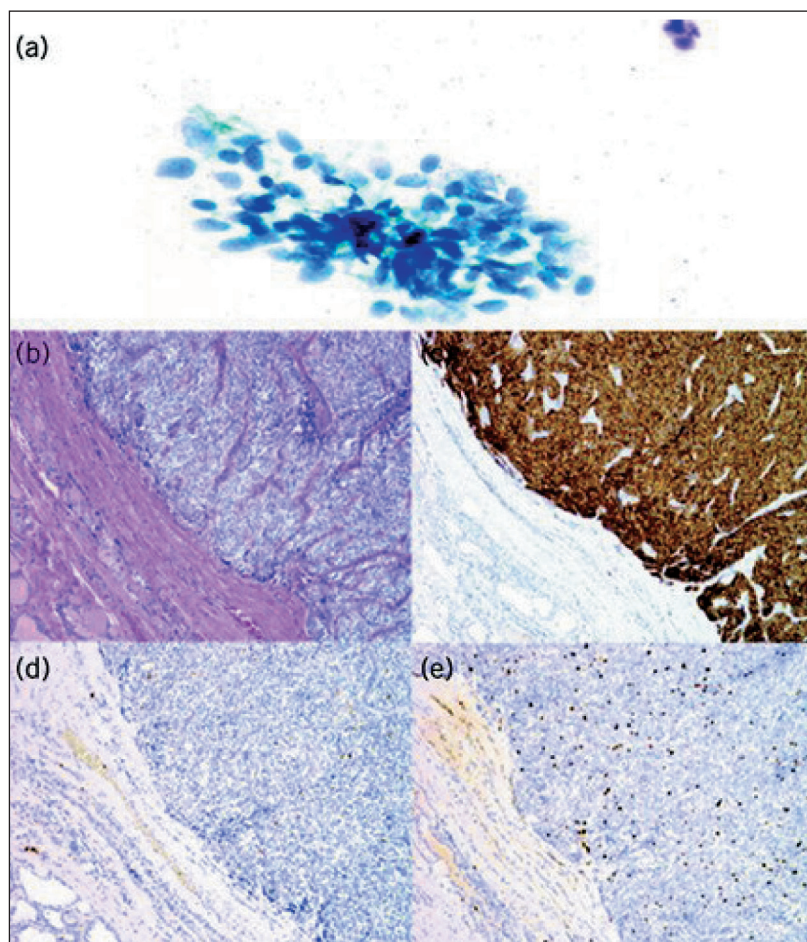


Рис. 1. Микрофото. Морфологическое исследование объемного образования щитовидной железы: а) цитогическое исследование тонкоигольного аспирата: подозрение на медуллярную карциному щитовидной железы, определяются веретенообразные клетки с пятнистым хроматином, расположенные в плохо сплоченных группах, $\times 10$; б) гистологическое исследование: медуллярная карцинома щитовидной железы, островки опухолевых клеток с круглыми или овальными ядрами и пестрым хроматином, окраска гематоксилином и эозином, $\times 10$; в) ИГХ-исследование с синаптофизин, $\times 10$; д) ИГХ-исследование, отсутствие окрашивания для раково-эмбрионального антигена, $\times 10$; е) ИГХ-исследование с Ki67: 8,4 % опухолевых клеток являются Ki67-положительными, $\times 10$

Fig.1. Microphoto. Morphological examination of a thyroid nodule: a) fine-needle aspiration cytology: suspicion of medullary thyroid carcinoma, spindle-shaped cells with speckled chromatin, located in poorly cohesive clusters, $\times 10$; b) histological examination: medullary thyroid carcinoma, tumor cells with round or oval nuclei and fine stippled chromatin, stained with hematoxylin and eosin, $\times 10$; c) IHC assay with synaptophysin, $\times 10$; d) IHC assay, no staining for carcino-embryonic antigen, $\times 10$; e) IHC assay with Ki67: 8.4% of tumor cells are Ki67-positive, $\times 10$

Таблица/Table

Хронология диагностики и лечения пациентки
Chronology of diagnosis and treatment of the patient

08.08.2021	Госпитализация и подтверждение SARS-CoV-2; высокий уровень СРБ, прокальцитонина/ Hospitalization and confirmation of SARS-CoV-2, high CRP, procalcitonin
08.08.2021	КТ-грудной клетки/CT scan of the chest
11.08.2021	Повышенный уровень прокальцитонина, СРБ – норма/ Elevated procalcitonin, CRP – the norm
15.08.2021	Выписка из стационара/Discharge from the hospital
16.08.2021	КТ шеи, УЗИ ЩЖ, ТАБ ЩЖ, анализ на кальцитонин/ CT of the neck, ultrasound of the thyroid gland, FNA of the thyroid gland, calcitonin analysis
18.08.2021	Госпитализация, тиреоидэктомия, центральная лимфаденэктомия/ Hospitalization, thyroidectomy, central lymphadenectomy
21.08.2021	Исключение семейного анамнеза (RET-антиген)/ Exclusion of family history (RET-antigen)

ки – 1,0 пг/мл (референсный диапазон <11,0 пг/мл), ПКТ – 0,28 мг/л (референсный диапазон <0,50 мг/л), общий кальций – 2,3 ммоль/л (референсный диапазон 2,10–2,60 ммоль/л), фосфат – 1,05 ммоль/л (референсный диапазон 0,8–1,45 ммоль/л). При приеме 150 мкг левотироксина тиреотропный гормон – 0,5 мЕд/л (референсный диапазон 0,30–4,2 мЕд/л). Назначено клиническое обследование для исключения MEN-2 синдрома, включавшее определение уровня метанефринов мочи, кальция сыворотки, ионизированного кальция и паратормона. Исключен семейный анамнез для компонентов МРЩЖ и MEN-2. Перестроенный во время трансфекции (RET) не выявил мутаций в кодонах Cys609, Cys611, Cys618, Cys620 и Cys 634.

Обсуждение

В представленном клиническом случае при госпитализации у больной с легкой формой COVID-19 выявленное высокое значение ПКТ привело к случайному обнаружению высокого уровня кальцитонина после выписки пациентки из стационара. В день поступления лечащим врачом оказался эндокринолог, который проводил лечение в отделении, учитывая перепрофилирование под инфекционный госпиталь COVID-19, необычное сочетание высокого уровня ПКТ и почти нормального СРБ, привлекло его внимание, так как причиной повышенного ПКТ может быть МРЩЖ, с учетом отягощенного анамнеза (аутоиммунный тиреоидит с узлообразованием). Своевременная диагностика и рекомендации эндокринолога после выписки пациентки из госпиталя явились залогом успеха в лечении МРЩЖ, поскольку от момента поступления в стационар до выполнения операции прошло достаточно немного времени (таблица). Компьютерная томография грудной клетки была частью обследования при поступлении по поводу COVID-19. Дополнительные обследования, в т.ч. КТ и УЗИ шеи, рекомендовано выполнить при

выписке из стационара. Одним из отрицательных моментов в данной ситуации является то, что невозможно определить уровень ПКТ при выявлении МРЩЖ у пациентов с COVID-19. Кроме того, в литературе нет данных относительно уровня кальцитонина в сыворотке крови, исключающего МРЩЖ. В отличие от 10-минутной пробы полувыведения кальцитонина, ПКТ имеет референс полувыведения 22–35 ч [10]. Ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) и трансмембранная протеаза серии 2 (TMPRSS2) участвуют в интернализации SARS-CoV-2, играя важную роль в патогенезе COVID-19 [11]. Эти рецепторы расположены на разных органах. Самые высокие уровни экспрессии и активности ACE2 обнаружены в тонкой кишке, почках, сердце, слюнных железах, яичках и щитовидной железе, тогда как более низкие уровни наблюдались в мозге, коже, гипофизе и скелетных мышцах [12, 13]. Фолликулярные клетки щитовидной железы экспрессируют ACE2, как показал прямой молекулярный анализ образцов ткани ЩЖ после операции [14], приводя к тому, что железа становится восприимчивой к SARS-CoV-2. Известно, что интегрин $\alpha(v)\beta3$ распознает и связывает мотивы Arg-Gly-Asp и Lys-Gly-Asp, локализованные в молекулярной структуре как ACE2, так и шипах белка SARS-CoV и SARS-CoV-2, возможно, играя роль в антагонизации связывания SARS-CoV-2 с ACE2 и, следовательно, уменьшая проникновение SARS-CoV-2 в клетки-хозяев [15]. Поскольку SARS-CoV-2 может альтернативно взаимодействовать с интегрином $\alpha(v)\beta3$, предполагают, что этот процесс может способствовать интернализации SARS-CoV-2 в клетки-хозяев в качестве альтернативного пути, соответствующего ACE2 [16]. Согласно этой точке зрения, может быть рассмотрен другой патофизиологический сценарий. Гормоны ЩЖ могут связывать рецепторы интегрин на поверхности клетки, активируя сигнальные пути внутри клетки и регулируя транскрипцию генов,

участвующих в антиапоптотических, ангиогенетических свойствах и, в конечном счете, поддерживая пролиферацию клеток [17]. Имеются данные о том, что левотироксин может способствовать хемо- и радиорезистентности и прогрессированию некоторых злокачественных новообразований ЩЖ путем активации второго пути через интегрин $\alpha(v)\beta3$ [18, 19]. Кроме того, левотироксин может увеличивать экспрессию интегрин $\alpha(v)\beta3$ на поверхности клеток; следовательно, Т4 может усиливать в большей степени интернализацию SARS-CoV-2, возможно, ухудшая прогноз в случае COVID-19 [19].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579(7798): 270–3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
2. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020; 5(4): 536–44. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.
3. Ahmed S., Jafri L., Hoodbhoy Z., Siddiqui I. Prognostic Value of Serum Procalcitonin in COVID-19 Patients: A Systematic Review. *Indian J Crit Care Med*. 2021; 25(1): 77–84. doi: 10.5005/jp-journals-10071-23706.
4. Xu J.B., Xu C., Zhang R.B., Wu M., Pan C.K., Li X.J., Wang Q., Zeng F.F., Zhu S. Associations of procalcitonin, C-reaction protein and neutrophil-to-lymphocyte ratio with mortality in hospitalized COVID-19 patients in China. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 15058. doi: 10.1038/s41598-020-72164-7.
5. Algeciras-Schimmich A., Preissner C.M., Theobald J.P., Finseth M.S., Grebe S.K. Procalcitonin: a marker for the diagnosis and follow-up of patients with medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94(3): 861–8. doi: 10.1210/jc.2008-1862.
6. Karagiannis A.K., Giritio-Fragkoulakis C., Nakouti T. Procalcitonin: A New Biomarker for Medullary Thyroid Cancer? A Systematic Review. *Anticancer Res*. 2016; 36(8): 3803–10.
7. Pacini F., Castagna M.G., Cipri C., Schlumberger M. Medullary thyroid carcinoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2010; 22(6): 475–85. doi: 10.1016/j.clon.2010.05.002.
8. Meijer J.A., le Cessie S., van den Hout W.B., Kievit J., Schoones J.W., Romijn J.A., Smit J.W. Calcitonin and carcinoembryonic antigen doubling times as prognostic factors in medullary thyroid carcinoma: a structured meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010; 72(4): 534–42. doi: 10.1111/j.1365-2265.2009.03666.x.
9. Cabanillas M.E., Hu M.I., Jimenez C., Grubbs E.G., Cote G.J. Treating medullary thyroid cancer in the age of targeted therapy. *Int J Endocr Oncol*. 2014; 1(2): 203–16. doi: 10.2217/ije.14.26.
10. Gianotti L., D'Agnano S., Pettiti G., Tassone F., Giraudo G., Lauro C., Lauria G., Del Bono V., Borretta G. Persistence of Elevated Procalcitonin in a Patient with Coronavirus Disease 2019 Uncovered a

Закключение

SARS-CoV-2 может затрагивать любой орган во время вирусной атаки. Рядом исследований показано, что ЩЖ может быть органом-мишенью COVID-19. Вовлечение этого органа в COVID-19 проявляется в виде изменений в ЩЖ и гормональных нарушений. Тяжесть COVID-19, по-видимому, является основным фактором, определяющим тип изменений, доминирующих при поражении ЩЖ. В представленном случае инфекция SARS-CoV-2 и непропорционально высокий уровень ПКТ по сравнению с С-реактивным белком способствовали быстрому выявлению МРЩЖ.

Diagnosis of Medullary Thyroid Carcinoma. *AACE Clin Case Rep*. 2021; 7(5): 288–92. doi: 10.1016/j.aace.2021.05.001.

11. Lam S.D., Bordin N., Waman V.P., Scholes H.M., Ashford P., Sen N., van Dorp L., Rauer C., Dawson N.L., Pang C.S.M., Abbasian M., Sillitoe I., Edwards S.J.L., Fraternali F., Lees J.G., Santini J.M., Orenco C.A. SARS-CoV-2 spike protein predicted to form complexes with host receptor protein orthologues from a broad range of mammals. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 16471. doi: 10.1038/s41598-020-71936-5.
12. Han T., Kang J., Li G., Ge J., Gu J. Analysis of 2019-nCoV receptor ACE2 expression in different tissues and its significance study. *Ann Transl Med*. 2020; 8(17): 1077. doi: 10.21037/atm-20-4281.
13. Lazartigues E., Qadir M.M.F., Mauvais-Jarvis F. Endocrine Significance of SARS-CoV-2's Reliance on ACE2. *Endocrinology*. 2020; 161(9). doi: 10.1210/endo/bqaa108.
14. Rotondi M., Coperchini F., Ricci G., Denegri M., Croce L., Ngniteju S.T., Villani L., Magri F., Latrofa F., Chiovato L. Detection of SARS-CoV-2 receptor ACE-2 mRNA in thyroid cells: a clue for COVID-19-related subacute thyroiditis. *J Endocrinol Invest*. 2021; 44(5): 1085–90. doi: 10.1007/s40618-020-01436-w.
15. Sigrist C.J., Bridge A., Le Mercier P. A potential role for integrins in host cell entry by SARS-CoV-2. *Antiviral Res*. 2020; 177. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104759.
16. Davis P.J., Mousa S.A., Lin H.Y. Nongenomic Actions of Thyroid Hormone: The Integrin Component. *Physiol Rev*. 2021; 101(1): 319–52. doi: 10.1152/physrev.00038.2019.
17. Schmohl K.A., Mueller A.M., Dohmann M., Spellerberg R., Urnauer S., Schwenk N., Ziegler S.I., Bartenstein P., Nelson P.J., Spitzweg C. Integrin $\alpha v \beta 3$ -Mediated Effects of Thyroid Hormones on Mesenchymal Stem Cells in Tumor Angiogenesis. *Thyroid*. 2019; 29(12): 1843–57. doi: 10.1089/thy.2019.0413.
18. Davis P.J., Lin H.Y., Herbergs A., Mousa S.A. Actions of L-thyroxine (T4) and Tetraiodothyroacetic Acid (Tetrac) on Gene Expression in Thyroid Cancer Cells. *Genes (Basel)*. 2020; 11(7): 755. doi: 10.3390/genes11070755.
19. Davis P.J., Lin H.Y., Herbergs A., Keating K.A., Mousa S.A. Coronaviruses and Integrin $\alpha v \beta 3$: Does Thyroid Hormone Modify the Relationship? *Endocr Res*. 2020; 45(3): 210–5. doi: 10.1080/07435800.2020.1767127.

Поступила/Received 28.03.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 21.04.2022

Принята к публикации/Accepted 11.05.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Рябенко Евгений Викторович, кандидат медицинских наук, заведующий хирургическим отделением № 2, ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Минздрава Краснодарского края, «Межтерриториальный центр эндокринной хирургии» (г. Краснодар, Россия). ORCID: 0000-0003-4045-5053.

Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований «Краевой клинической больницы № 2». Финансовой поддержки со стороны компаний – производителей лекарственных препаратов автор не получал.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Этические аспекты

Исследование одобрено этическим комитетом «Межтерриториального центра эндокринной хирургии» ГБУЗ «Краевой клинической больницы № 2» г. Краснодара.

ABOUT THE AUTHOR

Evgenii V. Ryabchenko, MD, PhD, Head of the Surgical Department № 2, Krasnodar Regional Clinical Hospital № 2, Endocrine Surgery Center (Krasnodar, Russia). ORCID: 0000-0003-4045-5053.

Financing

The study was carried out in accordance with the plan of scientific research of the Regional Clinical Hospital No. 2. The author did not receive financial support from drug manufacturing companies.

Conflict of Interest

The author states that there is no conflict of interest.

Ethical aspects

The study was approved by the ethics committee of the Interterritorial Center for Endocrine Surgery of the Regional Clinical Hospital No. 2 in Krasnodar.

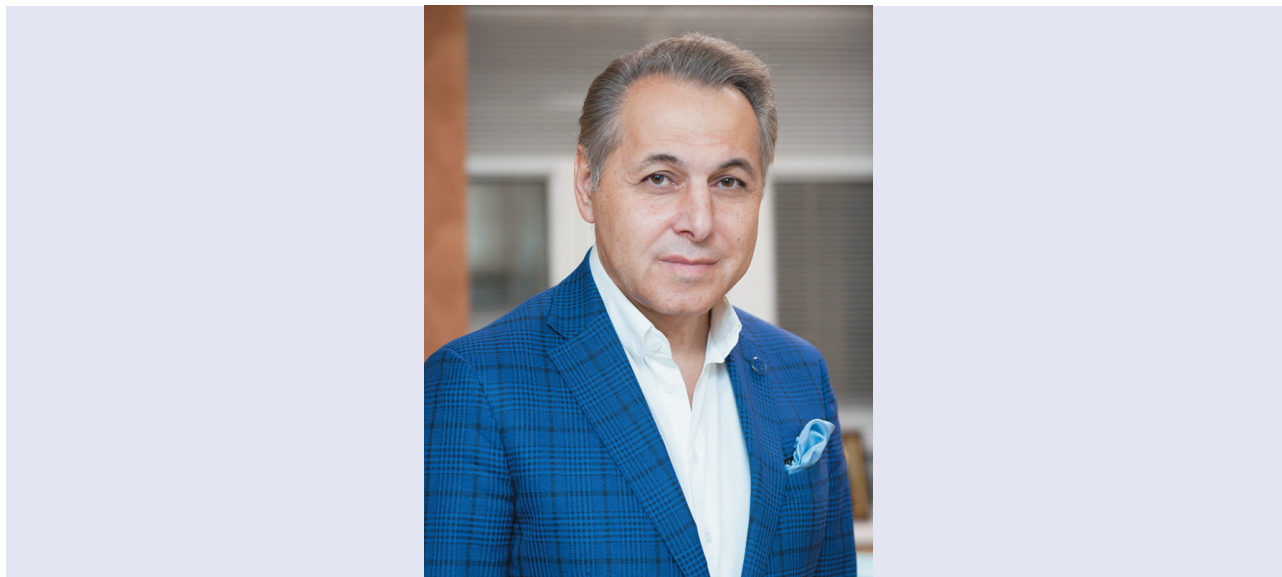
ВЛАДИМИР ИВАНОВИЧ ЧЕРНОВ ИЗБРАН ЧЛЕНОМ-КОРРЕСПОНДЕНТОМ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



Чернов Владимир Иванович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной и инновационной работе Томского НИМЦ, заведующий отделением радионуклидной диагностики НИИ онкологии избран членом-корреспондентом Российской академии наук

Коллектив НИИ онкологии Томского НИМЦ, редакционная коллегия «Сибирского онкологического журнала» поздравляют с заслуженным избранием. Примите искренние поздравления и самые добрые пожелания в связи с Вашим избранием членом-корреспондентом Российской академии наук. Этот факт свидетельствует не только о Ваших научных заслугах, но и о том, что они нашли должное признание у Ваших коллег.

АКАДЕМИК ЛЕВОН АНДРЕЕВИЧ АШРАФЯН (К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)



Левон Андреевич Ашрафян родился 12 июня 1952 г. в городе Батуми. В 1975 г. окончил лечебный факультет Ставропольского государственного медицинского института, затем в 1975–78 гг. – клиническую ординатуру по онкогинекологии при Московском научно-исследовательском онкологическом институте им. П.А. Герцена (МНИОИ им. П.А. Герцена). В 1978–1981 гг. – аспирантура при этом же институте, с последующей защитой кандидатской диссертации. В 1982–1986 гг. – младший научный сотрудник отделения онкогинекологии МНИОИ им. П.А. Герцена, с 1986 г. – старший научный сотрудник Московского научно-исследовательского рентгенорадиологического института МЗ РФ, где в 1989 году защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук по теме «Стандартизованная диагностика рака эндометрия». В 1995 г. организовал и возглавил отделение комбинированных методов лечения гинекологических заболеваний того же института (в последующем – Российский научный центр рентгенорадиологии Минздрава России, РНЦРР). Профессор. С 2008 г. заведующий отделом раннего канцерогенеза, профилактики, диагностики и комплексного лечения онкологических заболеваний женских репродуктивных органов этого центра. С 2017 г. заместитель директора ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России, где он организовал и возглавил первый в России Институт онкогинекологии и маммологии, входящий в структуру Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика

В.И. Кулакова. Член-корреспондент РАМН с 2011 г., член-корреспондент РАН с 2014 г., академик РАН с 2016 г.

Академик Л.А. Ашрафян – специалист в области онкогинекологии, занимается проблемами профилактики и ранней диагностики рака репродуктивных органов. Выполняет все виды хирургических операций по поводу гинекологических и онкогинекологических заболеваний, уделяет внимание возможностям проведения органосохраняющих операций при патологии женской половой сферы. Область научных интересов академика Л.А. Ашрафяна весьма обширна. Им обоснована концепция четырех патогенетических вариантов постменопаузы, что стало фундаментальным основанием понимания групп риска в онкологии. Его научные исследования касаются проблем профилактики, скрининга. Обоснованы и предложены технологии профилактики рака молочной железы с использованием препаратов мультитаргетного эффекта (препараты разработаны российскими учеными). Им доказана и предложена новая методология скрининга рака шейки матки (иммуноферментный анализ на белок E7). Одним из первых Л.А. Ашрафян предложил идею широкого использования неоадьювантной лекарственной терапии при местнораспространенных злокачественных процессах (рак шейки матки, рак яичников) с последующим применением комбинированных и расширенных хирургических вмешательств, что позволило увеличить 5-летнюю выживаемость с 20–30 % до 70 % и более.

В последние годы под его руководством развёрнуты исследования, касающиеся онкологических аспек-

тов постменопаузы и молекулярно-биологическим факторов канцерогенеза, патогенетической, таргетной профилактики рака репродуктивных органов. Тесное сотрудничество с биохимиками, генетиками, молекулярными биологами в значительной степени сформировало ряд ключевых позиций, касающихся раннего канцерогенеза первичной опухоли, механизма её прогрессии и развития «метастатической болезни», что принципиально изменило подходы в лечении и обозначило реальную первичную профилактику и предупреждение рецидивов. Более 20 лет им ведутся целенаправленные исследования по проблеме рака яичников – самого тяжелого заболевания в онкологии. Результатом этих исследований стала концепция двух патогенетических вариантов эпителиального злокачественного процесса, на основе которых разработаны принципы эффективной терапии, позволившие увеличить 5-летнюю выживаемость до 72 %.

В 2017 году Л.А. Ашрафян возглавил Институт онкогинекологии в НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова. В институте развернуты отделения патологии молочной железы, инновационной онкологии и гинекологии, отделение противоопухолевой лекарственной терапии. Готовится к открытию единственная специализированная клиника «Рак яичников». Коллектив уже 7 лет наращивает потенциал всего спектра хирургических вмешательств: органосохраняющие операции, малоинвазивные и лапароскопические операции, сохранение репродуктивной функции у молодых пациенток с онкологическим заболеванием, радикальные операции при поздних стадиях онкогинекологических процессов, организован междисциплинарный подход ведения беременности при различных локализациях рака. Эти инновации позволяют сохранить репродуктивную функцию у молодых пациенток, достичь быстрой реабилитации и эстетического эффекта. Тесная

научная и прикладная интеграция с акушерами-гинекологами, репродуктологами, неонатологами позволила на совершенно новом интеллектуальном уровне реализовывать проблемы «Рак и беременность», «Репродукция у онкологических пациентов». Внедрению новых разработок способствует созданное академиком Л.А. Ашрафяном Российское общество специалистов по профилактике и лечению опухолей репродуктивных органов (РОСОПР).

Л.А. Ашрафян – организатор многих конгрессов, конференций и симпозиумов. Л.А. Ашрафяном подготовлено 10 докторов и 40 кандидатов медицинских наук. Им опубликовано более 380 научных статей, 7 монографий, 13 глав в монографиях. Он один из соавторов Национального руководства «Онкогинекология» (2019). Л.А. Ашрафян входит в состав редакционных советов журналов: «Онкогинекология», «Опухоли женской репродуктивной системы», «Акушерство и гинекология», «Акушерство, гинекология, репродукция», «Медицинская визуализация». Член Диссертационного совета ФГБУ «РНЦПР» Минздрава России, член Диссертационного совета Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии Минздрава России, член Диссертационного совета при Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова. Член Ассоциации онкологов России, член Российской ассоциации акушеров-гинекологов, член Российской ассоциации рентгенологов-радиологов, член Российской ассоциации гинекологов-онкологов. С 2017 г. академик Л.А. Ашрафян – президент Российского общества специалистов по лечению опухолей женской репродуктивной системы (РАСОПР). Член Европейской ассоциации гинекологов-онкологов, член Американской ассоциации гинекологов-эндоскопистов. Заслуженный врач РФ. Неоднократно отмечен грамотами министра здравоохранения РФ. Имеет правительственные награды.

*Сотрудники Научно-исследовательского института онкологии,
редколлегия «Сибирского онкологического журнала»
сердечно поздравляют Левона Андреевича Ашрафяна с юбилеем.*

**ЧЛЕН-КОРРЕСПОНДЕНТ РАН, ПРОФЕССОР
ГЕОРГИЙ ЦЫРЕНОВИЧ ДАМБАЕВ
(К 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)**



18 июня 2022 г. исполнилось 80 лет Георгию Цыреновичу Дамбаеву – видному отечественному хирургу, доктору медицинских наук, профессору, члену-корреспонденту РАН.

Г.Ц. Дамбаев родился в с. Холой Кяхтинского района Бурят-Монгольской АССР. В 1959 г. поступил на лечебный факультет Читинского медицинского института, после окончания которого с 1965 по 1969 г. работал хирургом и главным врачом участковой больницы пос. Баляга Читинской области. С 1969 по 1971 г. обучался в клинической ординатуре на кафедре общей хирургии Томского медицинского института (ТМИ).

В 1973 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Механо-электрический метод регистрации моторики желудочно-кишечного тракта». В эти годы он активно занимается изучением моторики желудочно-кишечного тракта и ее автономной электростимуляцией, интенсивно изучает изменения тимуса у пациентов с прогрессирующей мышечной дистрофией.

После защиты в 1988 г. докторской диссертации «Хирургическая коррекция систем и органов у больных с прогрессирующей мышечной дистрофией» Георгий Цыренович Дамбаев избран заведующим кафедрой госпитальной хирургии с курсом онкологии ТМИ (1989 г.).

Г.Ц. Дамбаевым осуществлены крупные научные исследования в различных отраслях хирургии на стыке с иммунологией, реконструктивной хирургией, патофизиологией. Под его руководством проведены фундаментальные исследования поведения наноструктурного пористого никелида титана в биологических тканях и доказана возмож-

ность широкого его применения в качестве имплантата при различных хирургических операциях. Г.Ц. Дамбаев является одним из организаторов единственного в мире НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы, базирующегося в г. Томске, где ведутся высокотехнологичные разработки по созданию имплантатов с памятью формы. Эти разработки с успехом апробируются и внедряются в клиническую практику лечебных учреждений России, Монголии, Кореи, Великобритании и других стран. При участии Г.Ц. Дамбаева активно ведутся экспериментальные исследования в области трансплантации печени, почек с использованием сосудистых полубиологических протезов и по формированию устойчивой иммунологической толерантности. В эксперименте и клинике создаются способы лечения с помощью трансплантации клеточных и органных культур на пористых носителях из никелида титана при сахарном диабете, псориазе, иммунодефицитных состояниях, анемиях, бронхиальной астме, циррозе печени, прогрессирующей мышечной дистрофии.

Г.Ц. Дамбаев являлся председателем Общества хирургов Томской области (1998–2015 гг.), членом диссертационного совета при СибГМУ и Международной академии A-SME (Имплантаты с памятью формы), членом редакционной коллегии журналов: «Сибирский медицинский журнал», «Имплантаты с памятью формы», «Вопросы реконструктивной и пластической хирургии», «Медицина в Кузбассе». Георгий Цыренович автор 659 печатных работ, в том числе 22 монографий, 91 изобретения, под его руководством защищено 50 кандидатских и 23 докторских диссертации. Его ученики успешно ра-

ботаю в вузах, НИИ, учреждениях здравоохранения Российской Федерации, Германии, Монголии, в странах ближнего зарубежья.

За высокие научные достижения и научно-практические разработки Г.Ц. Дамбаев награжден медалью «За заслуги перед Отечеством» III степени (2000), медалью ВДНХ (1984), золотой медалью на международной выставке в Брюсселе (2000), медалью «Профессионал России» и орденом Гиппократ (2007), орденом «За профессиональную честь, достоинство и почетную деловую репутацию» II степени (2008), почетным знаком «Гордость Томска» (2017), орденом

«Томская слава» (2017). Ему присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Республики Бурятия» (2003), звание почетного профессора Монгольского медицинского университета (2006). Г.Ц. Дамбаев – победитель конкурса «Человек года – 2010 в Томской области» в номинации «Лидерство». В 2015 г. он удостоен звания «Заслуженный деятель науки РФ», в 2016 г. за выдающиеся достижения в научно-педагогической деятельности и значительный вклад в развитие науки и образования СибГМУ присвоено звание «Почетный профессор СибГМУ».

*Сотрудники Научно-исследовательского института онкологии, редколлегия
«Сибирского онкологического журнала» сердечно поздравляют
Георгия Цыреновича Дамбаева с юбилеем.
Здоровья Вам на долгие годы, благополучия и творческих успехов!*

ПАМЯТИ ПРОФЕССОРА ВИКТОРА КОНСТАНТИНОВИЧА КОСЁНКА



24 апреля 2022 г. ушел из жизни доктор медицинских наук, заведующий кафедрой онкологии, лучевой терапии ДПО Омского государственного медицинского университета Виктор Константинович Косёнок.

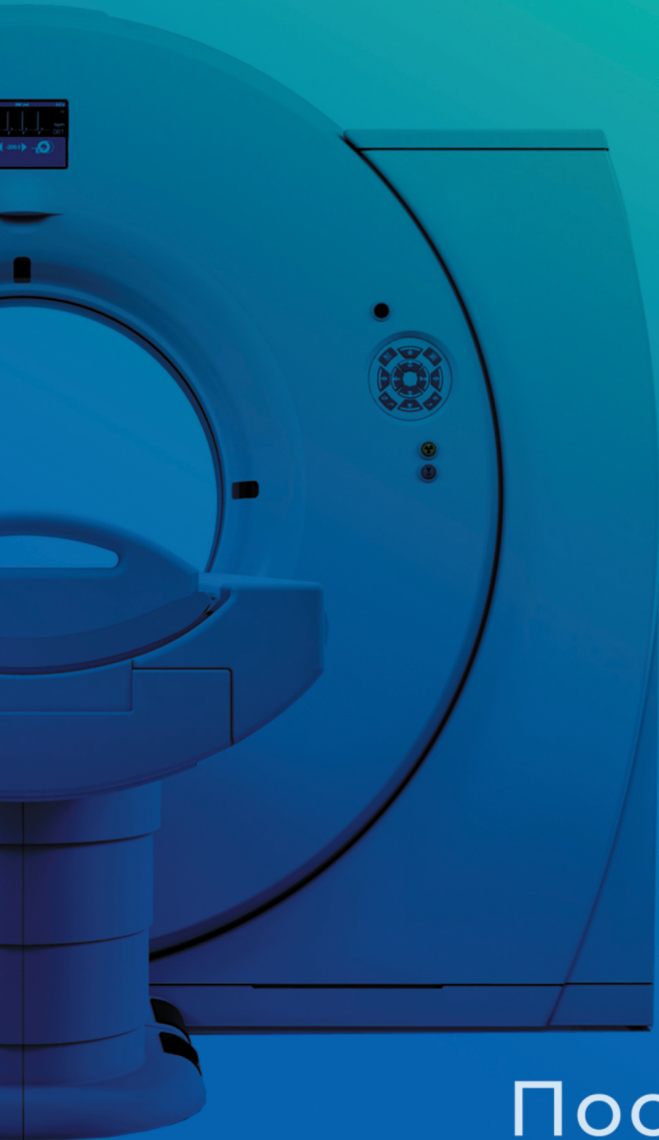
Виктор Константинович Косёнок окончил лечебный факультет Омского государственного медицинского института в 1979 г. С 1979 по 1980 г. проходил обучение в интернатуре по общей хирургии. В 1987 году защитил кандидатскую диссертацию по теме «Торакоскопическая ульт-

развуковая клеевая герметизация ран лёгкого при травматическом пневмотораксе». В 1998 году Виктор Константинович Косёнок защитил докторскую диссертацию по теме «Современные торакоскопические технологии в неотложной торакальной хирургии». В 2008 году ему присвоено учёное звание профессора по кафедре.

Около 10 лет Косенок В.К. являлся членом диссертационного совета 24.1.215.01 при НИИ онкологии Томского НИМЦ по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия.

Светлая память о Викторе Константиновиче будет жить в сердцах его коллег и друзей.

Редакция «Сибирского онкологического журнала» выражает искренние соболезнования родным и близким Виктора Константиновича.



NEOMED

Поставка
высокотехнологич-
ного медицинского
оборудования
и расходных материалов

Г. Томск, пр. Фрунзе, д.115, оф.413
+7 (3822) 60-99-32
neomed.tomsk.ru