

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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

Том 21, № 4' 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,
AfanasyevSG@oncology.tomsk.ru

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

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

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

Редакторы:

В.С. Сумарокова, Е.В. Лукина

Верстка:



Дата выхода 31.08.2022 г.

Формат 60x84^{1/8}.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.

Гарнитура Times New Roman Cyr

Печ. л. 21,5; усл. печ. л. 20,5; уч.-изд. л. 21,15.

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, № 4 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. Моисеев, 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: 31.08.2022
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, № 4 2022

Editor-in-Chief:

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

Associate Editors:

V.E. Goldberg, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)
N.V. Cherdyntseva, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)
V.I. Chernov, MD, Professor (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. Состояние онкологической помощи в России: рак тонкой кишки (С17). Заболеваемость, смертность, достоверность учета, погодичная летальность (популяционное исследование на уровне федерального округа). Часть I	5
---	---

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гаас М.Я., Каприн А.Д., Воробьев Н.В., Калпинский А.С., Козлов В.В., Иноземцев Р.О. Предикторы местного рецидива рака почки. Наш опыт (на англ.)	16
Чичеватов Д.А., Калентьев В.В., Глухов А.Е. Изолированная резекция вены в хирургическом лечении протоковой карциномы поджелудочной железы как фактор резектабельности (на англ.)	25
Кит О.И., Златник Е.Ю., Новикова И.А., Ульянова Е.П., Демидова А.А., Колесников Е.Н., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Снежко А.В. Общая выживаемость больных раком ободочной кишки с различным уровнем циркулирующих опухолевых клеток и возможности повышения его прогностической значимости	32
Макконен К.Ф., Агарков Н.М., Станоевич У.С., Титов А.А., Митихина М.С., Москалева Е.А. Аллостатическая нагрузка у пациенток с раком молочной железы	40

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тихомирова М.В., Бармин В.В., Топчу Ю.А., Мазитова А.М., Ратнер Е.Ю., Сабиров А.Г., Абрамова З.И., Денека А.Я. Экспрессия поддерживающего белка NEDD9 как негативный прогностический маркер при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ)	47
Синянский Л.Е., Крахмаль Н.В., Наумов С.С., Паталяк С.В., Афанасьев С.Г., Вторушин С.В. Связь экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода с клинико-морфологическими параметрами рака толстой кишки	56
Башмакова Е.Е., Панамарев Н.С., Кудрявцев А.Н., Черняев Д.В., Слепов Е.В., Зуков Р.А., Франк Л.А. Анализ связи полиморфизма -31G/C (rs9904341) в гене <i>BIRC5</i> с риском возникновения рака мочевого пузыря	64
Гервас П.А., Молоков А.Ю., Зарубин А.А., Иванова А.А., Тихонов Д.Г., Киприянова Н.С., Егоров А.Н., Жуйкова Л.Д., Шефер Н.А., Топольницкий Е.Б., Беляевская В.А., Писарева Л.Ф., Чойнзонов Е.Л., Чердынцева Н.В. Новая мутация в гене <i>PALB2</i> , ассоциированная с наследственным раком молочной железы у молодой пациентки, принадлежащей к якутской этнической группе (на англ.)	72
Бакина О.В., Ложкомоев А.С., Казанцев С.О., Августиневич А.В., Афанасьев С.Г., Спирина Л.В. Влияние содержания Fe_3O_4 в наночастицах Fe_3O_4 -Fe со структурой ядро-оболочка на их противоопухолевую активность <i>in vitro</i>	80

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

Гордеев С.С., Сейдинович А., Нагуслаева А.А., Поликарпова С.Б., Мамедли З.З. Роль химиолучевой терапии в лечении нейроэндокринного рака прямой кишки: серия клинических наблюдений	90
---	----

ОБЗОРЫ

Мустафин Р.Н. Атипичные формы и гено-фенотипические корреляции нейрофиброматоза 1-го типа	98
Куканов К.К., Воробьева О.М., Забродская Ю.М., Потёмкина Е.Г., Ушанов В.В., Тастанбеков М.М., Иванова Н.Е. Интракраниальные менингиомы: клинико-интраскопические и патоморфологические причины рецидивирования с учетом современных методов лечения (обзор литературы)	110
Федоров А.А., Ермак Н.А., Геращенко Т.С., Топольницкий Е.Б., Шефер Н.А., Родионов Е.О., Стахеева М.Н. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции	124
Золотухина Н.С., Гуляева Л.Ф. Прогностическое значение ангиогенных маркеров рака эндометрия (обзор литературы)	137
Хланта Д.А., Генс Г.П. Особенности ведения пациентов с первично-множественными злокачественными опухолями в практике современного онколога. Клинический пример и обзор литературы	147

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Фесик Е.А., Иванова А.А., Юнусова Н.В., Чуруксаева О.Н. Клинический случай повторного применения PARP-ингибиторов у больной с <i>mBRCA</i> -ассоциированным раком яичников	156
Bahadoram M., Barahman M., Davoodi M., Hassanzadeh S. Острый холецистит как первое проявление первичного плоскоклеточного рака желчного пузыря: клинический случай (на англ.)	165

ЮБИЛЕИ. ХРОНИКА. ИНФОРМАЦИЯ

Профессор В.Е. Гольдберг (к 65-летию со дня рождения)	170
---	-----

CONTENTS

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Merabishvili V.M. The state of cancer care in Russia: cancer of the small intestine (C17). Morbidity, mortality, index of accuracy, annual mortality (Population study at the federal district level). Part I	5
--	---

CLINICAL STUDIES

Gaas M.Y., Kaprin A.D., Vorobyev N.V., Kalpinsky A.S., Kozlov V.V., Inozemtsev R.O. Predictors of local recurrence of renal cell cancer. Our experience	16
Chichevatov D.A., Kalentjev V.V., Glukhov A.E. Single vein resection in surgery for pancreatic ductal carcinoma as a criterion of resectability	25
Kit O.I., Zlatnik E.Y., Novikova I.A., Ulianova E.P., Demidova A.A., Kolesnikov E.N., Gevorkyan Yu.A., Soldatkina N.V., Snezhko A.V. Overall survival in colon cancer patients with different levels of circulating tumor cells and feasibility of enhancing its prognostic value	32
Makkonen K.F., Agarkov N.M., Stanoevich U.S., Titov A.A., Mitikhina M.S., Moskaleva E.A. Allostatic load in patients with breast cancer	40

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

Tikhomirova M.V., Barmin V.V., Topchu Yu.A., Mazitova A.M., Ratner E.Yu., Sabirov A.G., Abramova Z.I., Deneka A.Ya. NEDD9 scaffolding protein expression as a negative prediction marker in non-small cell lung cancer (NSCLC)	47
Sinyanskiy L.E., Krakhmal N.V., Naumov S.S., Patalyak S.V., Afanasyev S.G., Vtorushin S.V. Relationship of the epithelial-mesenchymal transition expression markers with clinical and morphological parameters of colon cancer	56
Bashmakova E.E., Panamarev N.S., Kudryavtsev A.N., Chernyaev D.V., Slepov E.V., Zukov R.A., Frank L.A. Relationship of -31G/C (rs9904341) polymorphism in the survivin gene <i>BIRC5</i> and the risk of bladder cancer	64
Gervas P.A., Molokov A.Yu., Zarubin A.A., Ivanova A.A., Tikhonov D.G., Kipriyanova N.S., Egorov A.N., Zhuikova L.D., Shefer N.A., Topolnitskiy E.B., Belyavskaya V.A., Pisareva L.F., Choynzonov E.L., Cherdyntseva N.V. A novel germline mutation of the <i>PALB2</i> gene in a young yakut breast cancer woman	72
Bakina O.V., Lozhkomoev A.S., Kazantsev S.O., Avgustinovich A.V., Afanasyev S.G., Spirina L.V. Role of the Fe_3O_4 mass ratio in Fe_3O_4 -Fe nanoparticles with the core-shell structure on their anticancer activity <i>in vitro</i>	80

PRACTICE OF ONCOLOGY

Gordeev S.S., Seidovich A., Naguslayeva A.A., Polikarpova S.B., Mamedli Z.Z. The role of chemoradiotherapy in the treatment of neuroendocrine rectal cancer: case reports	90
--	----

REVIEWS

Mustafin R.N. Atypical clinical manifestations and genotype-phenotype correlations of neurofibromatosis type 1	98
Kukanov K.K., Vorobeva O.M., Zabrodskaya Yu.M., Potemkina E.G., Ushanov V.V., Tastanbekov M.M., Ivanova N.E. Intracranial meningiomas: clinical, intrascope and pathomorphological causes of recurrence (literature review)	110
Fedorov A.A., Ermak N.A., Gerashchenko T.S., Topolnitskiy E.B., Shefer N.A., Rodionov E.O., Stakheyeva M.N. Polarization of macrophages: mechanisms, markers and factors of induction	124
Zolotukhina N.S., Gulyaeva L.F. Prognostic value of angiogenic markers of endometrial cancer (literature review)	137
Khianta D.A., Gens G.P. Management of patients with multiple primary cancer in the practice of a modern oncologist. Case report and literature review	147

CASE REPORTS

Villert A.B., Kolomiets L.A., Fesik Y.A., Ivanova A.A., Yunusova N.V., Churuksaeva O.N. A clinical case of repeat use of PARP inhibitors in a patient with <i>mBRCA</i> -associated ovarian cancer	156
Bahadoram M., Barahman M., Davoodi M., Hassanzadeh Sh. Acute cholecystitis as the first manifestation of primary pure squamous cell carcinoma of the gallbladder. A case report	165

CHRONICLE. INFORMATION. ANNIVERSARIES

Professor V.E. Goldberg (on his 65th birthday)	170
--	-----

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-5-15
УДК: 616.341-006.6:312.1

Для цитирования: Мерабишвили В.М. Состояние онкологической помощи в России: рак тонкой кишки (C17). Заболеваемость, смертность, достоверность учета, погодичная летальность (популяционное исследование на уровне федерального округа). Часть I. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 5–15. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-5-15
For citation: Merabishvili V.M. The state of cancer care in Russia: cancer of the small intestine (C17). morbidity, mortality, index of accuracy, annual mortality (population study at the federal district level). Part I. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 5–15. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-5-15

СОСТОЯНИЕ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ В РОССИИ: РАК ТОНКОЙ КИШКИ (C17). ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ, СМЕРТНОСТЬ, ДОСТОВЕРНОСТЬ УЧЕТА, ПОГОДИЧНАЯ ЛЕТАЛЬНОСТЬ (ПОПУЛЯЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА УРОВНЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА). ЧАСТЬ I

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

Актуальность. Рак тонкой кишки (РТК) среди населения России встречается крайне редко – меньше 1 случая на 100 тыс. населения. В 2019 г. в России учтено 1 643 случая РТК, в т. ч. среди мужского населения 750 случаев, среди женского – 893. Государственная статистика только с 2011 г. предусматривает включение в государственный отчет Ф. № 7 учет первичных случаев РТК отдельной строкой. В 2019 г. на четырех административных территориях России не было зарегистрировано ни одного случая РТК, а на 13 среди женского населения – только по одному случаю. В Северо-Западном федеральном округе (СЗФО) РФ в 2019 г. учтено 187 первичных случаев РТК, стандартизованный показатель заболеваемости составил для мужчин 0,91, для женщин – 0,57 0/0000 – показатели, близкие к среднеевропейским. В России ежегодно погибает более 1 200 больных РТК, в СЗФО РФ – около 130. Стандартизованные показатели смертности населения по России и СЗФО РФ для мужчин и женщин близки и составляют соответственно: для мужчин 0,54 и 0,58 (на 100 000 мужчин), для женщин – 0,33 и 0,37 (на 100 000 женщин). **Цель исследования** – изучить характер динамики заболеваемости, смертности населения России от РТК, проанализировать качество учета и погодичную летальность больных РТК на популяционном уровне. **Материал и методы.** Материалом исследования явились статистические сборники МАИР, МНИОИ им. П.А. Герцена, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова и созданная база данных (БД) популяционного ракового регистра (ПРР) СЗФО РФ. Используются стандартные методы онкологической статистики. **Результаты.** Проведенное исследование впервые в России позволило установить особенности распространенности РТК, который в России встречается значительно реже, чем США и ряде других экономически развитых стран. **Заключение.** Выявлено существенное снижение стандартизованных показателей смертности от РТК среди женского населения и практически неизменным остался его уровень среди мужского. Заметно уменьшилась величина индекса достоверности учета (ИДУ), что свидетельствует о повышении качества первичного учета больных РТК, установлена положительная динамика показателей погодичной летальности, особенно на первом году наблюдения.

Ключевые слова: рак тонкой кишки, эпидемиология, заболеваемость, смертность, достоверность учета, погодичная летальность, ПРР СЗФО РФ, Россия.

THE STATE OF CANCER CARE IN RUSSIA: CANCER

 Мерабишвили Вахтанг Михайлович, mvm@niioncologii.ru

OF THE SMALL INTESTINE (C17). MORBIDITY, MORTALITY, INDEX OF ACCURACY, ANNUAL MORTALITY (POPULATION STUDY AT THE FEDERAL DISTRICT LEVEL). PART I

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

Relevance. Small intestine cancer is extremely rare cancer among the Russian population with the incidence of less than 1 per 100,000 populations. In 2019, 1,643 cases of small intestine cancer were recorded in Russia, including 750 cases among the male population, and 893 among the female population. Only since 2011 state statistics provides for the inclusion of primary cases of small intestine in a separate line in the state report form № 7. In 2019, none of the small intestine cancer cases was registered in four administrative territories of Russia, and only one case was registered in 13 territories among the female population. In the North-Western Federal District (NWFD) of the Russian Federation, 187 primary cases of small intestine cancer were diagnosed in 2019; the standardized incidence rates were 0.91 and 0.57 0/0000 for men and women, respectively. More than 1,200 people die from small intestine cancer annually in Russia, and approximately 130 people die from this cancer in the Northwestern Federal District of the Russian Federation. The standardized mortality rates among the population of Russia and the Northwestern Federal District of the Russian Federation for men and women are 54 and 0.58 per 100,000 and 0.33 and 0.37 per 100,000, respectively. **The purpose of the study** was to analyze small intestine cancer incidence and mortality rates in the population of Russia. **Material and Methods.** The population-based cancer registries of IARC, P.A. Herzen Institute of Oncology, N.N. Petrov Research Institute of Oncology as well as the population-based cancer registries of the Northwestern Federal District of the Russian Federation were used. Standard methods of oncology statistics were used. **Results.** The study, for the first time in Russia, made it possible to estimate the prevalence of small intestine cancer, which is much less common in Russia than in the USA and in other economically developed countries. **Conclusion.** In females, a significant decrease in standardized mortality rates of small intestine cancer was revealed. In males, this rate remained almost unchanged. A positive dynamics of annual mortality rates, especially within the first year of follow-up, was found.

Key words: small intestine cancer, epidemiology, incidence, mortality, annual mortality rates, the Northwestern Federal District of the Russian Federation, Russia.

Рак тонкой кишки (РТК) в соответствии с Международной классификацией болезни (МКБ-10) относится к рубрике C17 [1]. В феврале 2019 г. нами был создан Популяционный раковый регистр Северо-Западного федерального округа Российской Федерации (СЗФО РФ), объединивший базы данных (БД) всех ее 11 административных территорий. Это позволило начать комплекс исследований по изучению закономерностей распространенности и эффективности проводимых противораковых мероприятий по редко встречающимся ЗНО, таким как ЗНО сердца, глаза, тимуса и других [2, 3]. В настоящем исследовании мы из БД отобрали материалы для изучения распространенности РТК, в следующей работе планируем обобщить материалы по выживаемости данной категории больных на уровне федерального округа.

Расчет аналитических показателей деятельности онкологической службы должен осуществляться только на основе БД раковых регистров в соответствии с рекомендациями МАИР, а не

нанизыванием табличных материалов (даже в электронном виде), как это делается в настоящее время [4–9]. Учитывая, что в России на всех административных территориях созданы раковые регистры, большинство наших коллег и особенно чиновников полагают, что формирование государственной отчетности (2 часть ф. № 7) осуществляется на основе БД этих регистров, что технически невозможно (представить итоги деятельности службы к 20 января). Все зарубежные раковые регистры обобщают итоги года не ранее чем через 1,5–2 года.

Заболеваемость

В 2019 г. в России было зарегистрировано 1 643 случая РТК, в т. ч. среди мужского населения 750 случаев, среди женского – 893. На 100 тыс. населения приходится 1,12 первичных случая РТК, на мужское – 1,1, на женское – 1,14. О том, кто чаще болеет – мужчины или женщины, можно судить только по величинам стандартизованных

коэффициентов, устраняющих различие возрастного состава сравниваемых групп населения. В России эти показатели равны 0,75 ‰ для мужчин и 0,54 ‰ для женщин. В СЗФО РФ уровень стандартизованных показателей заболеваемости равен соответственно для мужчин 0,91 и 0,57 ‰ для женщин [10].

В соответствии с последними (2021) опубликованными материалами МАИР «Рак на пяти континентах», том XI [11–13], максимальные уровни

стандартизованных показателей для мужского населения зафиксированы в Норвегии – 2,0 ‰, США – 1,7 ‰, Бельгии, Швейцарии и Канаде – 1,6 ‰, минимальные – в Индии, Алжире и Зимбабве – 0,3 ‰. Для женского населения максимальные показатели отмечены в Бельгии – 3,0 ‰ и Болгарии – 2,0 ‰, минимальные – в Индии, Турции и Зимбабве – 0,3 ‰.

На рис. 1, 2 представлено ранговое распределение стандартизованных показателей заболеваемости

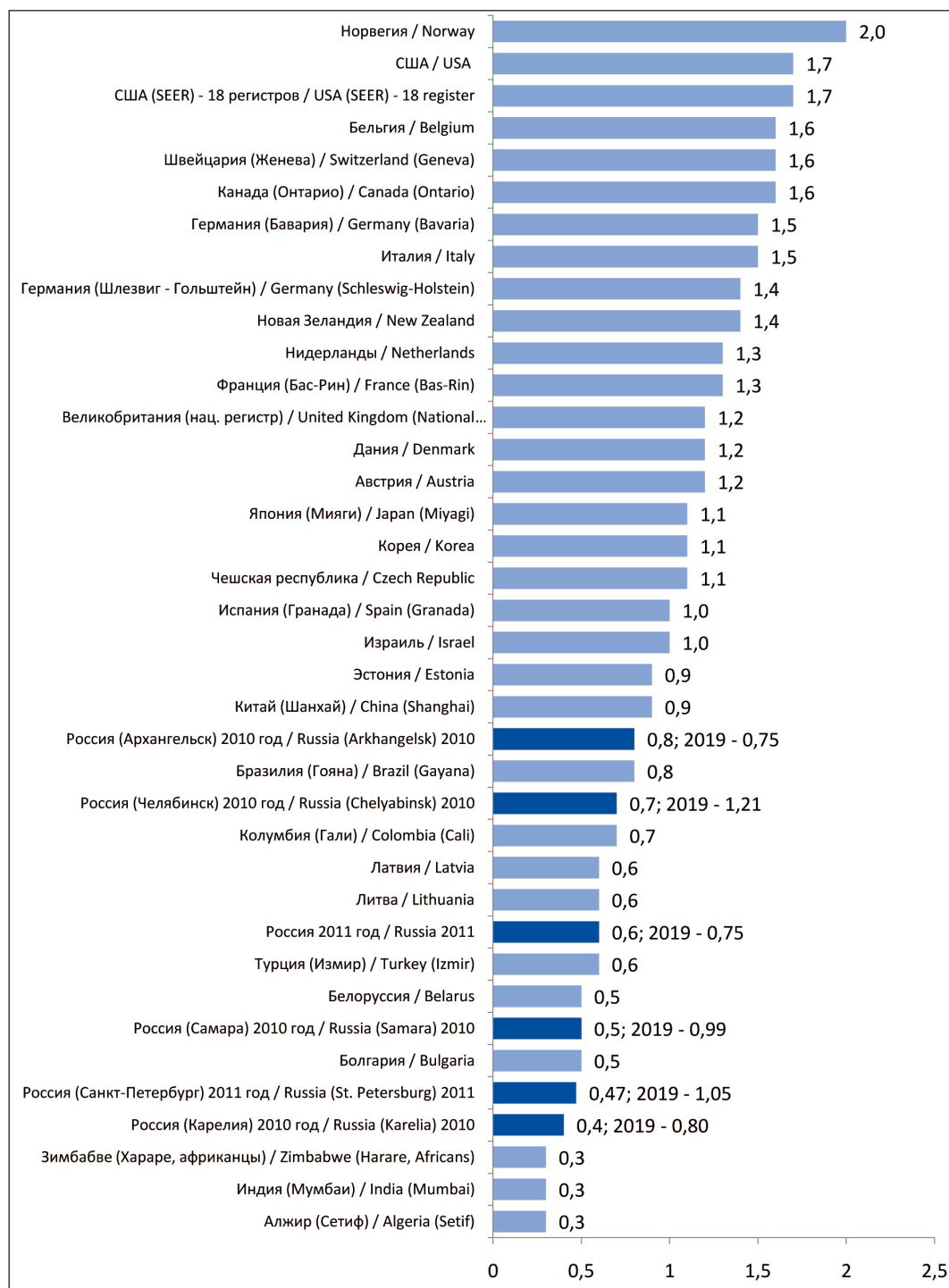


Рис. 1 Злокачественные новообразования в некоторых странах мира. Рак тонкой кишки (C17). Мужчины. 2008–12 гг. [5, 15]
Fig. 1. Malignant tumors in different countries. Small intestine cancer (C17). Male population. 2008–12. [5, 15]

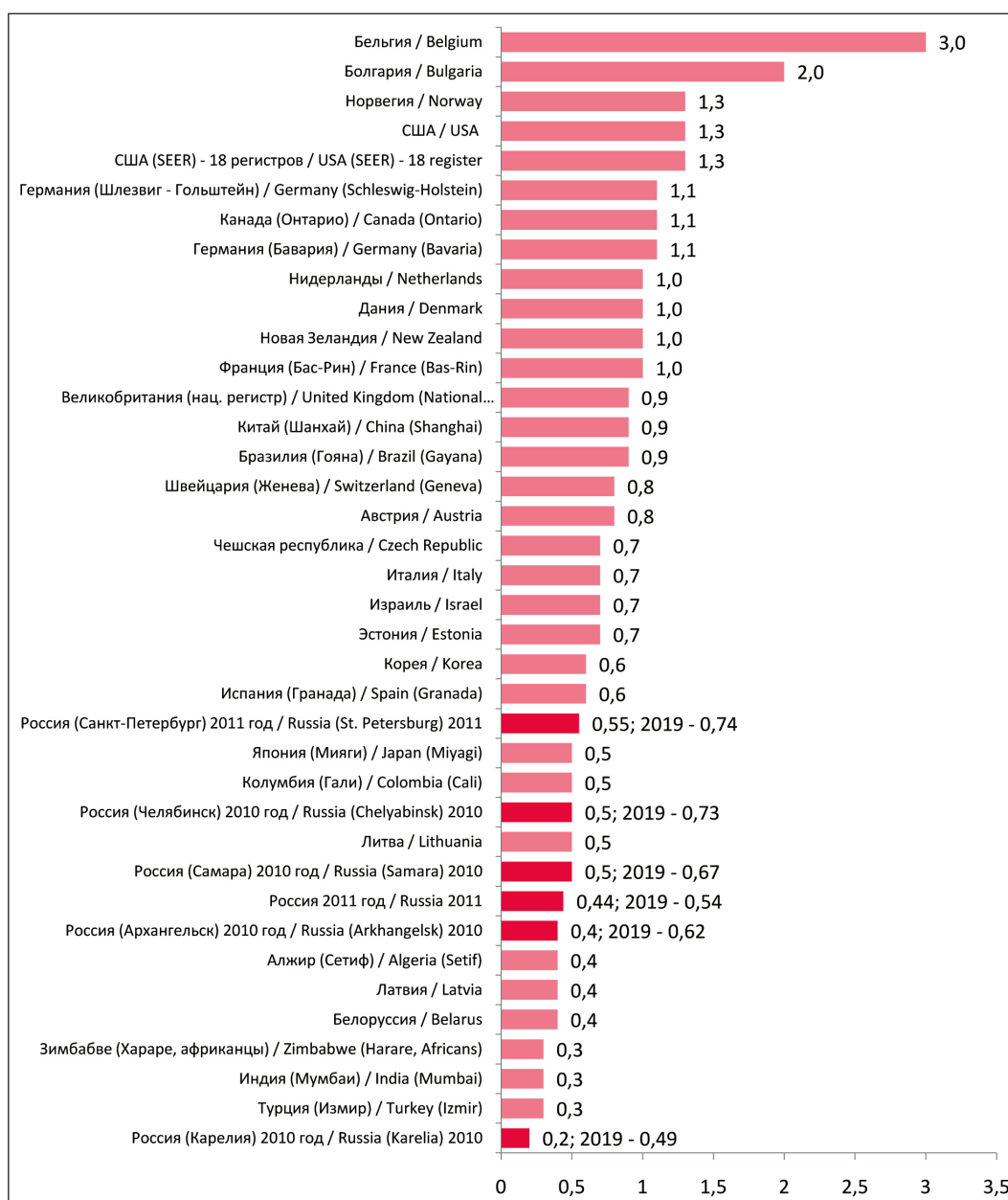


Рис. 2. Злокачественные новообразования в некоторых странах мира. Рак тонкой кишки (C17). Женщины. 2008–12 гг. [5, 15]
Fig. 2. Malignant tumors in different countries. Small intestine cancer (C17). Female population. 2008–12. [5, 15]

мости населения некоторых стран РТК, в т. ч. 4 административные территории России, впервые включенные в это издание МАИР. Подготовка материала осуществлялась с нашим участием. Данные по России и Санкт-Петербургу взяты из справочника, подготовленного сотрудниками МНИОН им. П.А. Герцена и НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова [5, 10, 14]. Уровни заболеваемости по России и отдельным российским административным территориям занимают нижнюю треть графика. Отмеченный в Карелии минимальный уровень – $0,2 \text{ } \frac{\text{о}}{\text{оооо}}$, к 2019 г. возрос до $0,49 \text{ } \frac{\text{о}}{\text{оооо}}$.

Уровни стандартизованных показателей заболеваемости РТК среди мужского и женского населения не имеют существенных различий, но

все-таки чаще РТК выявляется среди мужского населения. Учитывая редкость выявляемости РТК, единичные учтенные случаи могут оказать сильное влияние на величину показателя.

Имеется возможность сравнить уровни по возрастных показателей заболеваемости мужчин и женщин в США, России и Белоруссии (рис. 3, 4). Очевидно наличие более высоких показателей заболеваемости РТК мужчин и женщин в США, особенно в старших возрастных группах [11, 15].

В табл. 1 представлена динамика абсолютных чисел, грубых и стандартизованных показателей заболеваемости населения России и СЗФО РФ РТК [5, 10, 16–18]. На рис. 5 представлена динамика стандартизованных показателей заболеваемости

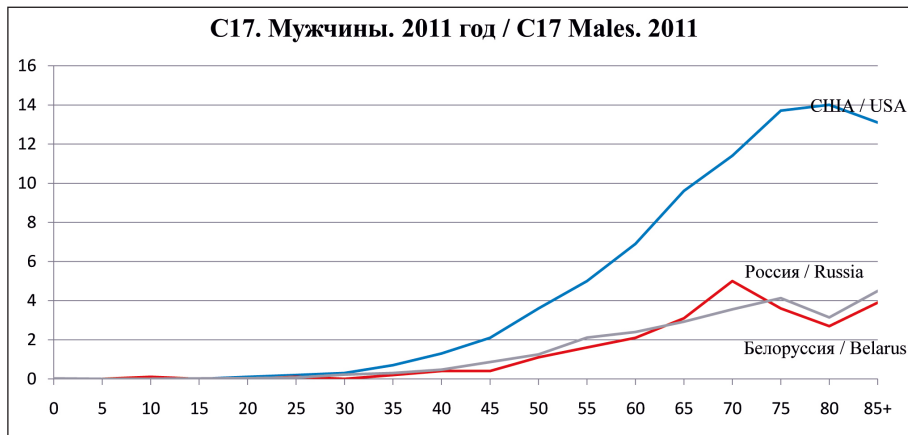


Рис. 3. Уровни повозрастных показателей заболеваемости мужского населения в России, США и Белоруссии раком тонкой кишки [11, 15]
Fig. 3. Age-specific small intestine cancer incidence rates among the male population in Russia, USA and Belarus [11, 15]

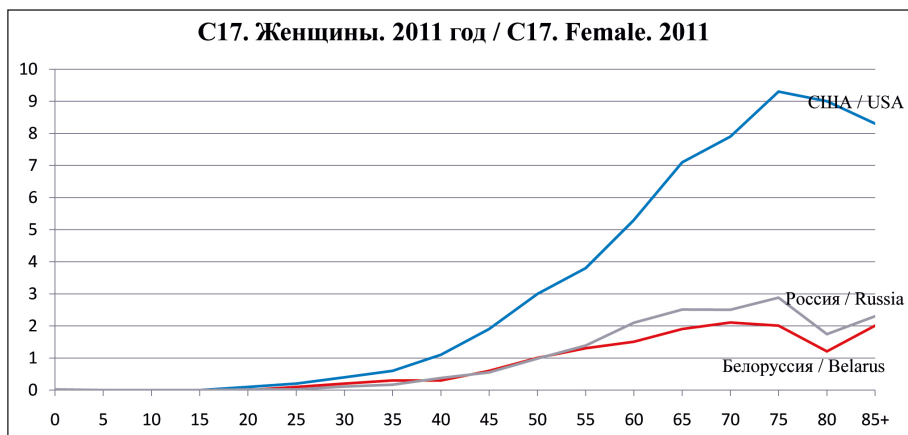


Рис. 4. Уровни повозрастных показателей заболеваемости женского населения в России, США и Белоруссии раком тонкой кишки [11, 15]
Fig. 4. Levels of age-related morbidity rates of the female population in Russia, USA and Belarus with small intestine cancer [11, 15]

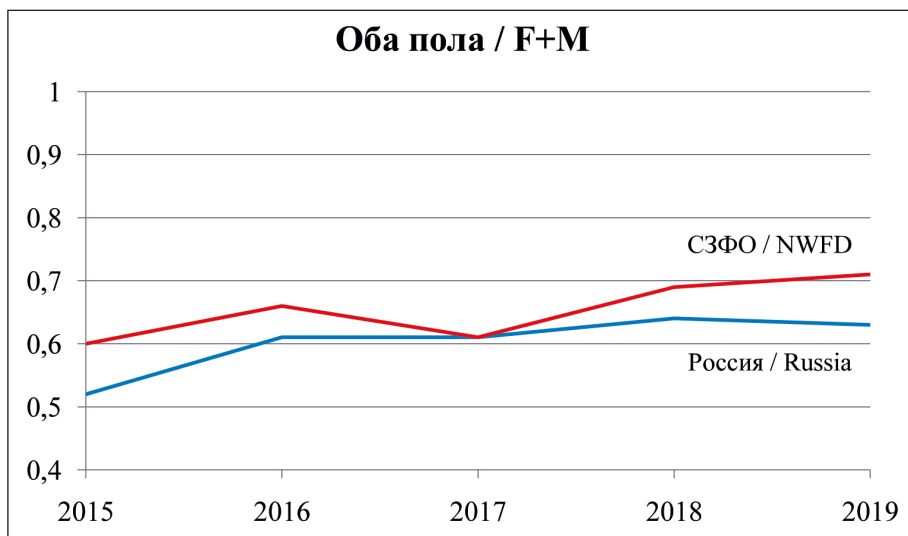


Рис. 5. Заболеваемость населения России и СЗФО РФ раком тонкой кишки (C17) [5, 10, 16–18]
Fig. 5. Small intestine cancer incidence (C17) of the population of Russia and the Northwestern Federal District of the Russian Federation [5, 10, 16–18]

населения России и СЗФО РФ РТК [5, 10, 16–18]. Везде наблюдается рост заболеваемости.

В 2020 г., в связи с пандемией коронавируса, был ограничен доступ больных ЗНО в ЛПУ России, что привело к снижению заболеваемости (выявляемости) на 13 % (недоучтено около 85 000 больных). Практически по всем локализациям ЗНО зарегистрирован отрицательный прирост первичных случаев новообразований (от -3 до -28 %), кроме РТК (C17) (+4,46 %) и острого лимфолейкоза (C91.0) +4,24 %. Наибольшие потери отмечены

по локализациям с низким уровнем летальности [10, 14].

Достоверность учета

Достоверность учета определяется индексом достоверности учета (ИДУ) – отношением числа умерших к числу первично учтенных больных. По этому критерию МАИР определяет качество статистического материала, представленного в монографиях «Рак на пяти континентах». Величина ИДУ не может быть больше числа первично

Таблица 1/Table 1

Динамика заболеваемости. Рак тонкой кишки (C17). Россия, СЗФО РФ [10, 16–19]

Changes in the incidence rates for small intestine cancer (C17). Russia, Northwestern Federal District of the Russian Federation

Россия/Russia									
Год/ Year	Оба пола/M+F			Мужчины/Males			Женщины/Females		
	Абсолютное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)	Абсолютное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)	Абсолютное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)
2015	1293	0,88	0,52	596	0,88	0,63	697	0,89	0,46
2016	1527	1,04	0,61	687	1,01	0,71	840	1,07	0,54
2017	1567	1,07	0,61	729	1,07	0,74	838	1,06	0,52
2018	1679	1,14	0,64	758	1,11	0,75	921	1,17	0,58
2019	1643	1,12	0,63	750	1,10	0,75	893	1,14	0,54

СЗФО РФ									
Год/ Year	Оба пола/M+F			Мужчины/Males			Женщины/Females		
	Абсолютное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)	Абсолютное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)	Абсолютное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)
2015	150	1,08	0,60	76	1,19	0,84	74	0,99	0,45
2016	168	1,21	0,66	64	1,00	0,67	104	1,39	0,64
2017	155	1,11	0,61	70	1,09	0,75	70	1,13	0,53
2018	178	1,27	0,69	83	1,29	0,87	83	1,26	0,58
2019	187	1,34	0,71	85	1,32	0,91	102	1,35	0,57

Таблица 2/Table 2

Величина индекса достоверности учета в России и СЗФО РФ [10, 16–19]

Value of reliability index in Russia and NWFD of Russian Federation

Россия/Russia					
Год/Year	2015	2016	2017	2018	2019
Оба пола/M+F	0,95	0,80	0,74	0,72	0,74
Мужчины/Males	0,90	0,83	0,76	0,70	0,75
Женщины/Females	1,00	0,77	0,73	0,73	0,73

СЗФО/NWFD					
Год/Year	2015	2016	2017	2018	2019
Оба пола/M+F	1,12	0,84	0,82	0,71	0,72
Мужчины/Males	0,97	0,91	0,90	0,64	0,67
Женщины/Females	1,22	0,80	0,75	0,77	0,77

учтенных больных (число умерших > число заболевших). К сожалению, по ряду локализаций ЗНО в России величина ИДУ превышает 1,0 в некоторых административных территориях, особенно по локализациям с высоким уровнем летальности. В первую очередь, это злокачественные новообразования печени, поджелудочной железы, легких, желудка и др. [20–24].

Для локализаций с высоким уровнем летальности величина ИДУ не должна превышать 0,7. Из табл. 2 следует, что РТК относится именно к этой группе – группе локализаций с высоким уровнем летальности. В 2015 г. и в среднем по России, и в СЗФО РФ величина ИДУ значительно превышала 0,7. Вместе с тем следует обратить внимание на то, что после 2011 г., когда РТК был включен отдель-

ной строкой в государственный отчет Ф. № 7, качество учета больных с данной патологией заметно улучшилось, особенно среди женского населения (табл. 2). Вместе с тем для улучшения качества учета существуют еще большие резервы. В 2019 г. на 22 административных территориях ИДУ РТК превышал 1,0, а на трех – 2 и более (Сахалинская область – 4,1, Новгородская – 2,55, Амурская – 2,0). Кроме того, еще на 22 территориях его величина составляла 0,7 и более [10]. Из представленных материалов следует, что РТК относится к локализациям с высоким уровнем летальности, причем он фактически распространяется на все федеральные округа, а в СЗФО РФ смертность не только приблизилась к уровню заболеваемости, но и превышала ее величину. Методология оценки величины

индекса достоверности учета для локализаций с различным уровнем летальности изложена нами ранее в серии публикаций [16–25].

Погодичная летальность

Погодичная летальность – летальность больных на каждом году наблюдения в группе пациентов, отобранных для исследования [22–24]. Для изучения порядка гибели больных и изучения динамики летальности больных на каждом году наблюдения отобрано 4 когорты больных РТК из БД ПРР СЗФО

РФ, в каждой из которых обобщены данные за пятилетний период. Общее число наблюдений составило 1 523 пациента. Первая когорта – больные РТК, учтенные с диагнозом ЗНО за период с 1995 по 1999 г. (235 человек) для прослеживания на протяжении 10-летнего срока. Вторая когорта (320 человек), – учтенные за период 2000–04 гг., для прослеживания на протяжении 10 лет (рис. 6, 7). Третья когорта – больные, учтенные за период с 2005–09 гг. (415 человек), для прослеживания на протяжении 7-летнего срока (рис. 8). Четвертая

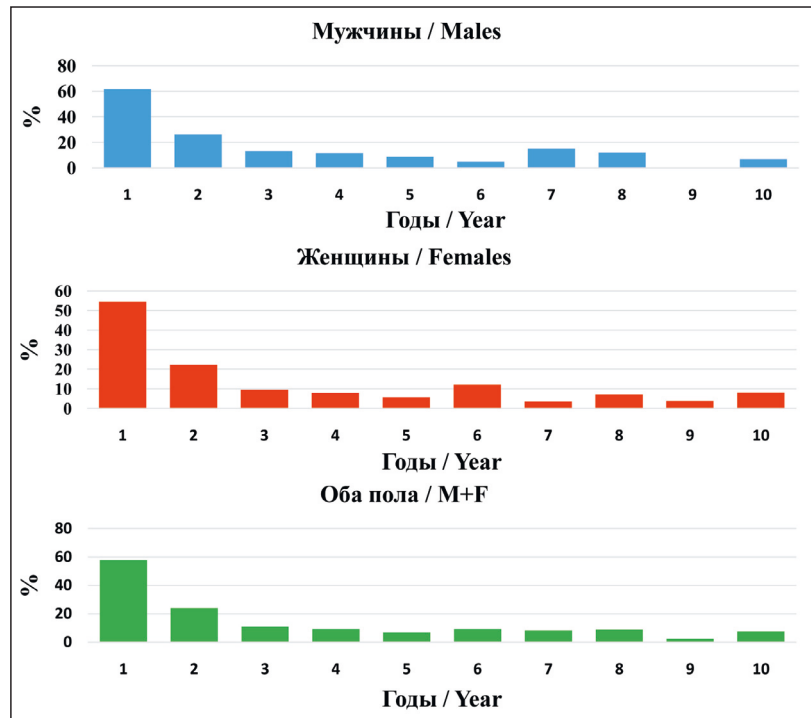


Рис. 6. Погодичная летальность больных РТК (C17) в СЗФО РФ 1995–99 гг. БД ПРР СЗФО РФ

Fig. 6. Annual mortality of patients with small intestine cancer (C17) in the Northwestern Federal District of the Russian Federation, 1995–99

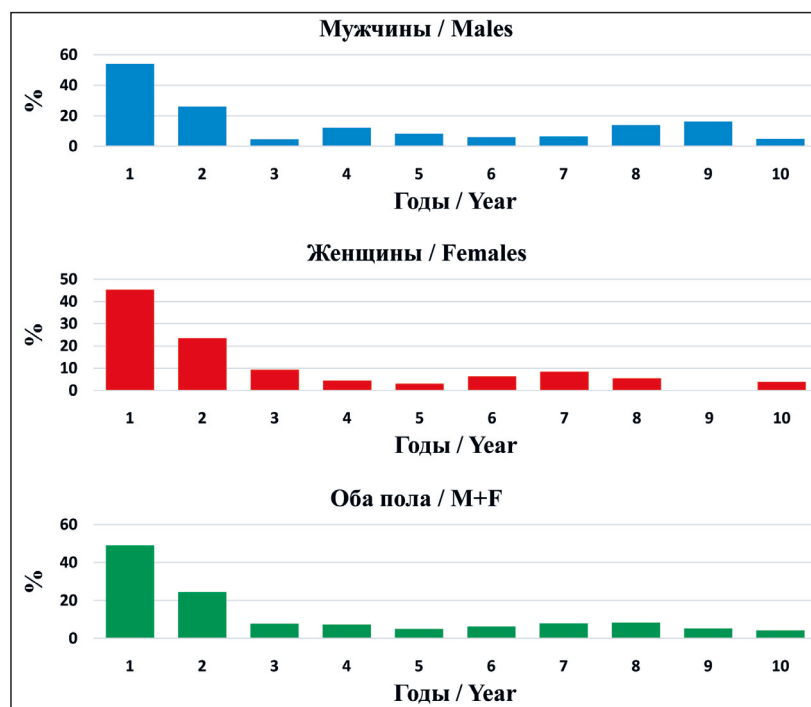


Рис. 7. Погодичная летальность больных РТК (C17) в СЗФО РФ 2000–04 гг. БД ПРР СЗФО РФ

Fig. 7. Annual mortality of patients with small intestine cancer (C17) in the NWFD 2000–04. DB PCR of the Northwestern Federal District of the Russian Federation

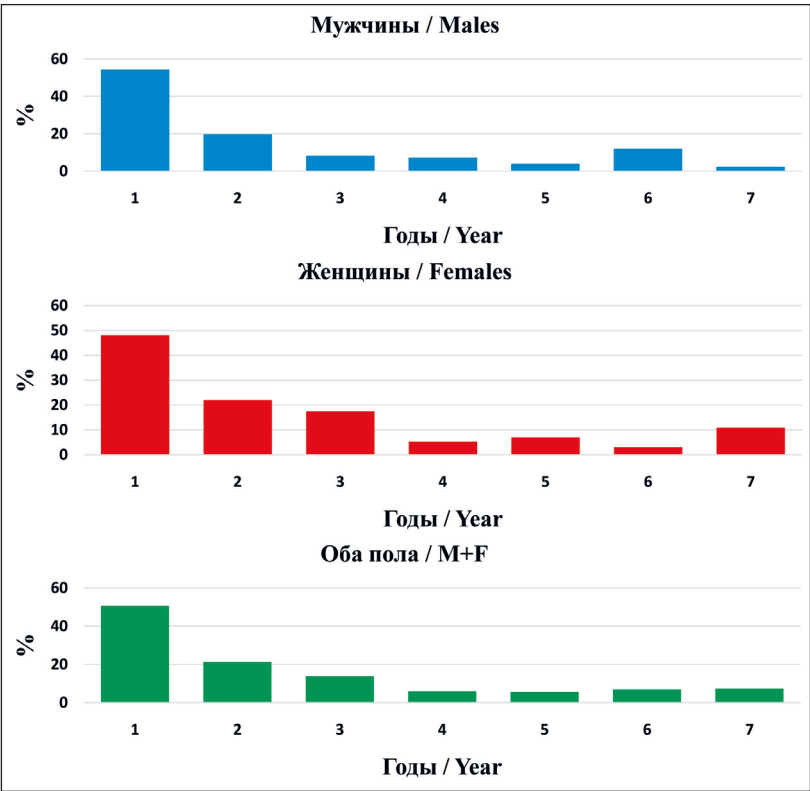


Рис. 8. Погодичная летальность больных РТК (C17) в СЗФО РФ 2005–09 гг.
БД ПРР СЗФО РФ

Fig. 8. Annual mortality of patients with small intestine cancer (C17) in the NWFD 2005–09. DB PCR of the Northwestern Federal District of the Russian Federation

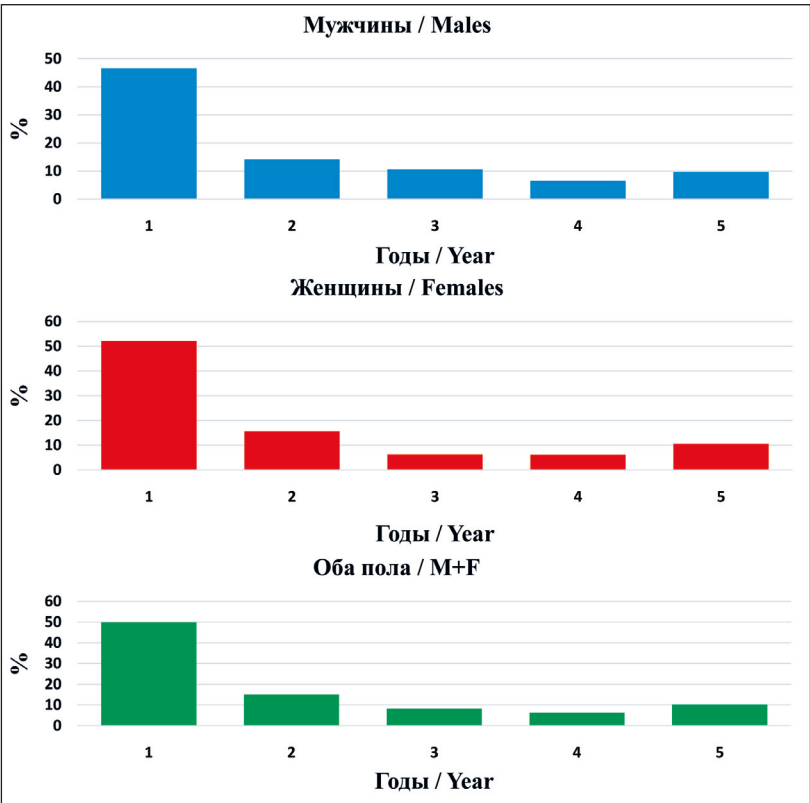


Рис. 9. Погодичная летальность больных РТК (C17) в СЗФО РФ 2010–14 гг.
БД ПРР СЗФО РФ.

Fig. 9. Annual mortality of patients with small intestine cancer (C17) in the NWFD 2010–14. DB PCR of the Northwestern Federal District of the Russian Federation

когорта – больные, учтенные за период 2010–14 гг., (553 человека) – прослеживание судеб этих больных осуществлялось на протяжении 5 лет (рис. 9). Прежде всего, обращает на себя внимание то, что с каждой последующей пятилеткой учтенных больных со ЗНО тонкой кишки становится больше – от 235 до

553 больных. Летальность больных (оба пола) на первом году наблюдения за 4 периода наблюдений снизилась с 57,9 до 49,9 %, или на 13,8 %, на пятом возросла с 6,9 до 10,2 %, или на 47,8 %, но за три периода наблюдения снизилась с 6,9 до 5,7 %. Такая неустойчивость уровня летальности может быть

Таблица 3/Table 3

Динамика смертности. Рак тонкой кишки (C17). Россия, СЗФО РФ [10, 16–19]
Mortality dynamics. Small intestine cancer (C17). Russia, NWFD [10, 16–19]

Россия/Russia									
Оба пола/M+F				Мужчины/Males			Женщины/Females		
Год/ Year	Абсолют- ное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)	Абсолют- ное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)	Абсолют- ное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)
2015	1232	0,84	0,45	534	0,79	0,55	698	0,89	0,39
2016	1220	0,83	0,45	573	0,84	0,58	647	0,82	0,36
2017	1161	0,79	0,42	551	0,81	0,56	610	0,77	0,33
2018	1201	0,82	0,42	528	0,78	0,51	673	0,85	0,36
2019	1211	0,83	0,41	562	0,83	0,54	649	0,83	0,33

СЗФО РФ/NWFD									
Оба пола/M+F				Мужчины/Males			Женщины/Females		
Год / Year	Абсолют- ное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)	Абсолют- ное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)	Абсолют- ное число/ Abs. no	«Грубый» показатель/ «Crude» rate	Стандарти- зованный показатель/ ASR (W)
2015	130	0,94	0,46	49	0,77	0,50	81	1,09	0,44
2016	141	1,02	0,51	58	0,91	0,61	83	1,11	0,45
2017	127	0,91	0,47	63	0,98	0,69	64	0,85	0,33
2018	126	0,90	0,43	53	0,82	0,54	73	0,97	0,39
2019	135	0,97	0,47	57	0,88	0,58	78	1,04	0,37

связана с различным возрастным составом отобранной когорты и состоянием их здоровья.

Важно обратить внимание на порядок гибели больных РТК на каждом году наблюдения. При общей закономерности уменьшения летальности населения со второго года наблюдения выявлено неадекватное возрастание летальности больных к шестому и седьмому году наблюдения и в другие периоды, что требует особого внимания и проведения углубленных, фундаментальных исследований. Из числа учтенных больных РТК осталось в живых в первой когорте – 17 %, во второй – 22,2 % (за 10 лет), в третьей к пятому году – 26,9 %, в четвертой к пятому году – 30,2 %. В целом динамика повозрастных показателей летальности больных РТК благоприятная, но процесс происходит очень медленно.

Смертность

Максимальные уровни стандартизованных показателей смертности населения от РТК среди мужского населения выявлены в Смоленской, Мурманской областях (1,13 ‰) и Ленинградской области – 1,06 ‰. Среди женского населения наивысший показатель установлен в Томской области – 0,93 ‰, Мордовии – 0,81 ‰, а также в Костромской – 0,78 ‰ и Ивановской – 0,75 ‰ областях.

В табл. 3 представлены динамические ряды абсолютных чисел, грубых показателей смертности населения России и СЗФО РФ РТК. В России ежегодно погибает более 1 200 больных с диагнозом РТК (1 211 в 2019 г.), в т. ч. 562 больных среди мужского населения и 649 – среди женского. В СЗФО РФ регистрируется ежегодно 135 умерших от этой причины, в т. ч. 57 мужчин и 78 женщин (2019). Уровни стандартизованных показателей смертности населения России от РТК составили среди мужского населения 0,54, среди женского – 0,33 ‰, в СЗФО РФ эти показатели были равны соответственно 0,58 и 0,37 ‰.

С 2000 по 2009 г. стандартизованный показатель смертности населения России снизился с 0,65 до 0,33 на 100 000 населения [10, 16–19], снизился он и на многих административных территориях России. Важно отметить, что в 2019 г. на 7 территориях не зарегистрировано ни одного случая смерти от РТК, а на 13 среди женского населения зафиксировано только по одному случаю, что еще раз подтверждает необходимость формировать раковые регистры нового типа на уровне федеральных округов, придав им особый статус для углубленного изучения закономерностей распространенности редко встречающихся ЗНО и определения эффективности проводимых противоопухолевых мероприятий.

Таким образом, проведение исследований позволило впервые в России изучить особенности распространенности РТК и характер динамики таких объективных показателей, как достоверность учета, летальность больных на каждом году наблюдения. Заметное снижение величины

индекса достоверности учета свидетельствует о повышении качества первичного учета больных РТК. Установлена положительная динамика показателей годичной летальности больных РТК, особенно на первом году наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10)*. ВОЗ. Женева, 1995. 698 с. [*International statistical classification of diseases and health-related problems (ICD-10)*. WHO. Geneva, 1995. 698 p. (in Russian)].
2. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования сердца – редко встречающаяся, но опасная опухоль (на материалах Северо-Западного федерального округа России). *Формулы фармазии*. 2020. 2(3): 30–9. [Merabishvili V.M. Malignant tumors of the heart – a rare but dangerous tumor (based on the materials of the North-Western Federal District of Russia). *Formulas of Formation*. 2020. 2(3): 30–9. (in Russian)].
3. Мерабишвили В.М., Мерабишвили Э.Н. Распространенность злокачественных новообразований глаза и его придаточного аппарата (С69). *Офтальмология*. 2020; (3): 495–501. [Merabishvili V.M., Merabishvili E.N. The Prevalence of Malignant Tumors of the Eye and Adnexa (C69). *Ophthalmology*. 2020; (3): 495–501. (in Russian)].
4. Альбом А., Норелл С. Введение в современную эпидемиологию. Таллинн, 1996. 122 с. [Albom A., Norell S. Introduction to modern epidemiology. Tallinn, 1996. 122 p. (in Russian)].
5. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования в Северо-Западном федеральном округе России (заболеваемость, смертность, достоверность учета, выживаемость больных). *Экспресс-информация*. Выпуск пятый. СПб., 2020. 236 с. [Merabishvili V.M. Malignant tumors in the North-West Federal Region of Russia (morbidity, mortality, index accuracy, survival). *Express-information*. Fifth Issue. St. Petersburg, 2020. 236 p. (in Russian)].
6. *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)].
7. *Характеристика и методы расчета статистических показателей, применяемых в онкологии*. Практическое пособие. М., 2005. 43 с. [Characteristics and methods of calculating statistical rates used in oncology. Practical guide. M., 2005. 43 p. (in Russian)].
8. *Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность)*. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2020. 214 с. [Malignant tumors in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprina, V.V. Starinskogo, G.V. Petrovoi. Moscow, 2020. 214 p. (in Russian)].
9. *Cancer Incidence in Five Continents*. Volume XI. IARC. Cancer-Base. № 14. Lyon, 2018.
10. *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)].
11. *Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность)*. М., 2012. 260 с. [Malignant tumors in Russia in 2010 (morbidity and mortality). Moscow, 2012. 260 p. (in Russian)].

12. *Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность)*. М., 2016. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2015 (morbidity and mortality). Moscow, 2016. 250 p. (in Russian)].
13. *Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность)*. М., 2017. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2016 (morbidity and mortality). Moscow, 2017. 250 p. (in Russian)].
14. *Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность)*. М., 2018. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Moscow, 2018. 250 p. (in Russian)].
15. *Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность)*. М., 2019. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2018 (morbidity and mortality). Moscow, 2019. 250 p. (in Russian)].
16. Мерабишвили В.М. Аналитические показатели индекса достоверности учет. *Вопросы онкологии*. 2018. 64(3): 445–52. [Merabishvili V.M. Analytical indicators of index of accuracy. *Problems in Oncology*. 2018. 64(3): 445–52. (in Russian)].
17. Мерабишвили В.М. Индекс достоверности учета – важнейший критерий объективной оценки деятельности онкологической службы для всех локализаций злокачественных новообразований, независимо от уровня летальности больных. *Вопросы онкологии*. 2019. 65(4): 510–5. [Merabishvili V.M. Index of accuracy – the main criteria for an objective assessment of the activity of the oncological service for all localities of malignant tumors, regardless of the level of lethality of patients. *Problems in Oncology*. 2019. 65(4): 510–5. (in Russian)].
18. Мерабишвили В.М. Онкологическая статистика (традиционные методы, новые информационные технологии): руководство для врачей. Часть I. СПб., 2011. 221 с. [Merabishvili V.M. Oncology statistics (traditional methods, new information technologies): a guide for doctors. Part I. St. Petersburg, 2011. 221 p. (in Russian)].
19. *Регистрация рака*. Принципы и методы. Таллинн, 1997. 95 с. [Cancer registration. Principles and methods. Tallinn, 1997. 95 c. (in Russian)].
20. *Демографический ежегодник России*. 2005. М., 2005. 595 с. [Demographic yearbook of Russia. 2005: Moscow, 2005. 595 p. (in Russian)].
21. *Демографический ежегодник России*. 2015. М., 2015. 264 с. [Demographic yearbook of Russia. 2015. Moscow, 2015. 264 p. (in Russian)].
22. *Здравоохранение в России*, 2015. М., 2007. 174 с. [Healthcare in Russia, 2015. Moscow, 2007. 174 p. (in Russian)].
23. *Демографический ежегодник России*. 2016. М., 2016. [Demographic yearbook of Russia. 2016. Moscow, 2016. (in Russian)].
24. *Cancer incidence in the USSR*. № 48. Second Revised Edition. Lyon: IARC, 1983.
25. *Segi M. Cancer mortality for selected sites in 24 countries (1950–1957)*. Japan: Department of Public Health, Tohoku University of Medicine, 1960.

Поступила/Received 25.04.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 06.07.2022

Принята к публикации/Accepted 25.07.2022

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 ПРР 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: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-16-24
УДК: 616.61-006.6-037

Для цитирования: Гаас М.Я., Каприн А.Д., Воробьев Н.В., Калпинский А.С., Козлов В.В., Иноземцев Р.О. Предикторы местного рецидива рака почки. Наш опыт. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 16–24. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-16-24
For citation: Gaas M.Y., Kaprin A.D., Vorobyev N.V., Kalpinsky A.S., Kozlov V.V., Inozemtsev R.O. Predictors of local recurrence of renal cell cancer. Our experience. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 16–24. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-16-24

PREDICTORS OF LOCAL RECURRENCE OF RENAL CELL CANCER. OUR EXPERIENCE

M.Y. Gaas¹, A.D. Kaprin^{1,2,3}, N.V. Vorobyev^{3,4}, A.S. Kalpinsky³, V.V. Kozlov⁴,
R.O. Inozemtsev¹

RUDN University, Moscow, Russia¹

6, Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia. E-mail: rita.gaas@mail.ru¹

National Medical Research Center of Radiology, Obninsk, Russia²

4, Koroleva St., 249036, Obninsk, Russia²

Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center
of Radiology, Moscow, Russia³

3, 2nd Botkinsky Dr., 125284, Moscow, Russia³

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia,
Moscow, Russia⁴

8/2, Trubetskaya St., 119991, Moscow, Russia⁴

Abstract

Risk factors for renal cell cancer (RCC) recurrence, including its local form, include stage and high Fuhrman grading system score, regional lymph node involvement, microvascular invasion, tumor necrosis, positive surgical margin, and sarcomatoid or rhabdoid tumor differentiation. **Objective.** The study analyzes data from Moscow Research Oncological Institute named by PA Herzen to determine the predictors of local recurrence of kidney cancer based on the data from surgically treated patients with local recurrent RCC. **Material and Methods.** We analyzed retrospectively data from 87 patients who were divided into 2 groups: 1-st, patients with detected local recurrence of kidney cancer (n=43), and 2-nd, control group (n=44). The following predictors were evaluated: tumor size, tumor histotype, tumor stage, Fuhrman grading system, surgical margin status, tumor necrosis, sarcomatoid and rhabdoid changes, microvascular invasion, hemorrhage and invasion of collecting system components (CSS), renal capsule, and perirenal cellular tissue and primary treatment. **Results.** The risk of local recurrence was higher in the primary tumor, over 40 mm in diameter (OR=5.8, p<0.001), as well as microvascular invasion and focal hemorrhage (OR=15.1, p=0.001 and OR=3.3, p=0.008, respectively). Both univariate and multivariate analyses showed a negative effect on the risk of local RCC recurrence only for tumor necrosis (OR=15.4, p<0.001 and OR=53.6, p=0.002, respectively) and high Fuhrman grade (OR=10.9, p=0.042 and OR=5.7, p=0.032, respectively). The most significant predictors of local renal cancer recurrence are tumor necrosis (p<0.001), microvascular invasion (p=0.019), positive surgical margin (p=0.009), and high Fuhrman grade (p=0.04). High Fuhrman grade (3–4) of malignancy (HR=1.9, p=0.042), tumor diameter (HR=1.0, p=0.054), positive surgical margin (HR=3.5, p=0.001), and tumor necrosis (HR=2.3, p=0.029) were found to be the most significant factors influencing 5-year local recurrence-free survival rate. **Conclusion.** The course of renal cell cancer is determined by multiple interrelated and independent prognostic factors.

Key words: renal cell carcinoma, local recurrence, predictors of local recurrence; risk factors of local recurrence; prognostic factors of local recurrence; predisposing factors of local recurrence; local recurrence-free survival rate.

ПРЕДИКТОРЫ МЕСТНОГО РЕЦИДИВА РАКА ПОЧКИ. НАШ ОПЫТ

М.Я. Гаас¹, А.Д. Каприн^{1,2,3}, Н.В. Воробьев^{3,4}, А.С. Калпинский³,
В.В. Козлов⁴, Р.О. Иноземцев¹

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия¹

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6. E-mail: rita.gaas@mail.ru¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России,
г. Обнинск, Россия²

Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4²

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ
«Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России,
г. Москва, Россия³

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, 3³

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России, г. Москва, Россия⁴

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2⁴

Аннотация

К факторам риска рецидива почечно-клеточного рака (ПКР), в том числе его локальной формы, относят стадию и высокую степень злокачественности по Фурману, поражение регионарных лимфатических узлов, микрососудистую инвазию, некроз опухоли, положительный хирургический край, а также саркоматоидную или рабдоидную дифференцировку опухоли. **Целью исследования** является определение предикторов местного рецидива рака почки на основании анализа данных пациентов, перенесших хирургическое лечение по поводу местного рецидива ПКР на базе МНИОИ им. П.А. Герцена. **Материал и методы.** Нами был проведен ретроспективный анализ данных 87 пациентов, которые были разделены на 2 группы: 1 – пациенты с местным рецидивом рака почки (n=43), 2 – контрольная группа с безрецидивным течением заболевания (n=44). Были оценены следующие характеристики: размер опухоли, гистотип опухоли, стадия заболевания, степень злокачественности опухоли по Фурману, состояние хирургического края, некроз опухоли, саркоматоидные и рабдоидные изменения, микроваскулярная инвазия (МВИ), кровоизлияния и инвазия компонентов собирательной системы (КСС), капсулы почки и околопочечной клетчатки, а также характер первичной операции. **Результаты.** Вероятность возникновения местного рецидива была выше в группе пациентов с диаметром первичной опухоли более 40 мм (OR=5,8, p<0,001), а также при наличии МВИ и участков кровоизлияния (OR=15,1, p=0,001 и OR=3,3, p=0,008 соответственно). В ходе как однофакторного, так и многофакторного анализа был доказан негативный эффект риска местного рецидива ПКР только у таких показателей, как некроз опухоли (OR=15,4, p<0,001 и OR=53,6, p=0,002 соответственно) и высокая степень злокачественности по Фурману (OR=10,9, p=0,042 и OR=5,7, p=0,032 соответственно). Наиболее значимыми предикторами местного рецидива рака почки являются некроз опухоли (p<0,001), МВИ (p=0,019), положительный хирургический край (ПХК) (p=0,009) и высокая степень злокачественности по Фурману (p=0,04). Высокая степень злокачественности по Фурману (3–4-я степень) (HR=1,9, p=0,042), диаметр опухоли (HR=1,0, p=0,054), ПХК (HR=3,5, p=0,001) и некроз опухоли (HR=2,3, p=0,029) являются наиболее значимыми факторами, влияющими на 5-летнюю локальную безрецидивную выживаемость. **Выводы.** Течение почечно-клеточного рака определяется множеством взаимосвязанных между собой, а также рядом независимых друг от друга прогностических факторов.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак; местный рецидив; предикторы местного рецидива; факторы риска местного рецидива; прогностические факторы местного рецидива; предрасполагающие факторы местного рецидива; локальная безрецидивная выживаемость.

Introduction

Risk factors for renal cell cancer (RCC) recurrence, including its local form, include stage and high Fuhrman grading system score, regional lymph node involvement, microvascular invasion, tumor necrosis, positive surgical margin, and sarcomatoid or rhabdoid tumor differentiation [1]. Several studies have attempted to prove that tumor histotype is an independent predictor of disease outcome; but all histological variants of kidney cancer have been able to behave aggressively [2–4].

Objective. The study analyzes data from Moscow Research Oncological Institute named by PA Herzen to determine the predictors of local recurrence of kidney cancer based on the data from surgically treated patients with local recurrent RCC.

Material and Methods

We analyzed retrospectively data from 87 patients who underwent nephrectomy or kidney resection for RCC between 1999 and 2018. Patients of both sexes were included in the study and divided into 2 groups:

1, patients with detected local recurrence of kidney cancer (n=43), and 2, control group of patients with relapse-free disease (n=44).

In the main group, most patients (74.4 %) underwent the first operation outside the inpatient department of Moscow Research Oncological Institute, named by PA Herzen. The finished histological slides were reviewed by a pathomorphologist from the institute to determine several indices: tumor histotype, tumor stage, Fuhrman grading system, surgical margin status, tumor necrosis, sarcomatoid and rhabdoid changes, microvascular invasion, hemorrhage and invasion of collecting system components (CSS), renal capsule, and perirenal cellular tissue. Tumor size and the nature of the primary surgery were also important criteria for assessing the likelihood of local recurrence. The main instrumental method of diagnosing local RCC recurrence was multispiral computed tomography with intravenous contrast, analyzed also by a single specialist.

None of the patients received pre- or postoperative therapy. We defined local recurrence as a tumor nodule detected after radical removal of a primary tumor of the same histological type in the bed of the removed tumor after renal resection [5]. A tumor mass in the renal bed [6], as well as involvement of regional lymph nodes and ipsilateral adrenal gland were taken as local recurrence after nephrectomy [7].

Univariate and multivariate Cox regression models were used to identify predictors of recurrence. The $p < 0.05$ was significant. For statistical analysis, local recurrence-free survival (L-RFS) was calculated as the time from surgery to setting of local recurrence of kidney cancer. Statistical analysis was performed using IBM SPSS v.26.0 software. L-RFS was estimated using the Kaplan-Meier method.

Results

We analyzed data from 87 patients operated for renal cell cancer between 2000 and 2018. Table 1 presents the clinical and pathomorphological characteristics of the patients. The study included patients of both sexes. The mean age was 57.6 years (26 to 76 years). The average follow-up period was 8 years (9 months to 20 years). For the underlying disease, patients underwent both surgical and non-surgical treatment. The mean primary tumor size was 56.3 mm (range 10–130 mm). The major histotype was the clear cell RCC in both groups.

In the first group local recurrence was mainly represented in the grades 3 and 4 malignancy patients (69.8 %). In the local relapsed RCC group, the signs of tumor necrosis, microvascular invasion, sarcomatoid and rhabdoid features, hemorrhage and positive surgical margin were more common. On average, the local recurrence of kidney cancer was diagnosed 32.7 months (2.7 years) after surgery.

Table 2 presents the most frequent locations of local recurrence after major surgery in patients with

established local recurrence. In 5 patients undergone radiofrequency ablation for a tumor, 100 % local recurrence occurred in the previously performed ablation, in the tumor itself.

In the study, we also evaluated the effect of the above-described indices on the likelihood of local RCC recurrence. A univariate analysis identified the most likely risk factors for local RCC recurrence. The risk of local recurrence was higher in the primary tumor, over 40 mm in diameter ($OR=5.8$, $p < 0.001$), as well as the pathomorphological features of microvascular invasion and focal hemorrhage in tumor tissue ($OR=15.1$, $p=0.001$ and $OR=3.3$, $p=0.008$, respectively). Both single-factor and multivariate analyses showed a negative effect on the risk of local RCC recurrence only for tumor necrosis ($OR=15.4$, $p < 0.001$ and $OR=53.6$, $p=0.002$, respectively) and high Fuhrman grade ($OR=10.9$, $p=0.042$ and $OR=5.7$, $p=0.032$, respectively). Table 3 presents the results of the comparative analysis.

Stepwise logistic regression algorithm showed the most significant factors for the probability of local RCC recurrence (Table 4). Based on these data, the most significant predictors of local renal cancer recurrence are tumor necrosis ($p < 0.001$), microvascular invasion ($p=0.019$), positive surgical margin ($p=0.009$), and high Fuhrman grade ($p=0.04$).

Based on these results, we created a prognostic model (Fig. 1) and found a significant effect of the above criteria on the probability of local recurrence of kidney cancer ($AUC=0.947$). Logistic regression was performed with stepwise inclusion of predictors. Model parameters: Sensitivity 83.7 %, Specificity 90.9 %, $R^2=0.656$. The significance of the model is $p < 0.001$, $\chi^2 = 58\,922$.

The next step was to assess the effect of the criteria on the 5-year local recurrence-free survival (L-RFS)

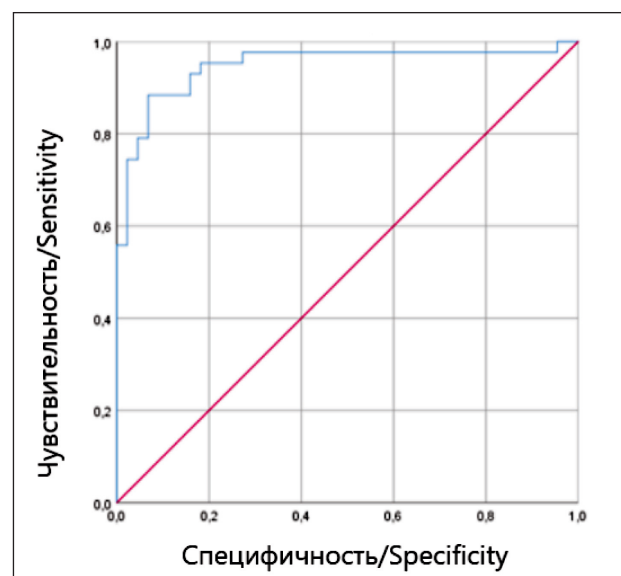


Fig. 1. ROC-curve
Рис. 1. ROC-кривая

Table 1/Таблица 1

The clinical and pathomorphological characteristics
Клинические и патоморфологические данные пациентов

Variables/Показатель		Number of cases/ Число случаев	1st group/ 1-я группа (n=43)	2nd group/ 2-я группа (n=44)
Sex/Пол	Male/Мужчины	45 (51.7 %)	24 (55.8 %)	21 (47.7 %)
	Female/Женщины	42 (48.3 %)	19 (44.2 %)	23 (52.3 %)
Age, years/Возраст, лет	Mean/Среднее значение	57.6	59.2	56.3
BMI/ИМТ	Mean/Среднее значение	29.3	30.5	28.7
Clinical T-stage/ Клиническая T-стадия	cT1a/1b	54 (62.1 %)	18 (41.9 %)	36 (81.8 %)
	cT2a/2b	20 (23 %)	14 (32.5 %)	5 (11.4 %)
	cT3a/3b/3c	11 (12.6 %)	9 (20.9 %)	3 (6.8 %)
	cT4	2 (2.3 %)	2 (4.7 %)	–
Treatment/ Лечение	Partial nephrectomy/ Резекция почки	49 (56.3 %)	15 (34.9 %)	34 (77.3 %)
	Radical nephrectomy/ Нефрэктомия	33 (38 %)	23 (53.5 %)	10 (22.7 %)
	RFA/ РЧТА	5 (5.7 %)	5 (11.6 %)	–
Tumor size, mm/ Размер опухоли, мм	≤40	40 (46 %)	10 (23.3 %)	30 (68.2 %)
	≥40	47 (54 %)	33 (76.7 %)	14 (31.8 %)
Histological type/ Гистотип опухоли	ccRCC	76 (87.4 %)	37 (85.9 %)	39 (88.6 %)
	Papillary/	5 (5.7 %)	2 (4.7 %)	3 (6.8 %)
	Chromophobe/	4 (4.6 %)	2 (4.7 %)	2 (4.6 %)
	Other/	2 (2.3 %)	2 (4.7 %)	–
Fuhrman grade/ Степень злокачественности по Фурману	1–2	49 (56.3 %)	13 (30.2 %)	36 (81.8 %)
	3–4	38 (43.7 %)	30 (69.8 %)	8 (18.2 %)
Kidney capsule invasion/ Инвазия капсулы почки	Yes/Да	51 (58.6 %)	23 (53.5 %)	28 (63.6 %)
	No/Нет	36 (41.4 %)	20 (46.5 %)	16 (36.4 %)
Tumor necrosis/ Некроз опухоли	Yes/Да	39 (44.8 %)	32 (74.4 %)	7 (15.9 %)
	No/Нет	48 (55.2 %)	11 (25.6 %)	37 (84.1 %)
Microvascular invasion/ Микроваскулярная инвазия	Yes/Да	22 (25.3 %)	20 (46.5 %)	2 (4.5 %)
	No/Нет	65 (74.7 %)	23 (53.5 %)	42 (95.5 %)
Sarcomatoid and rhabdoid features/ Саркоматоидные и рабдоидные изменения	Yes/Да	15 (17.2 %)	15 (34.9 %)	–
	No/Нет	72 (82.8 %)	28 (65.1 %)	44 (100 %)
Tumor hemorrhage/ Кровоизлияние в опухоли	Yes/Да	39 (44.8 %)	25 (58.1 %)	14 (31.8 %)
	No/Нет	48 (55.2 %)	18 (41.9 %)	30 (68.2 %)
UCS invasion/ Инвазия КСС	Yes/Да	6 (6.9 %)	3 (7 %)	3 (6.8 %)
	No/Нет	81 (93.1 %)	40 (93 %)	41 (93.2 %)
Perirenal fat invasion/ Инвазия паранефральной клетчатки	Yes/Да	12 (13.8 %)	6 (14 %)	6 (13.6 %)
	No/Нет	75 (86.2 %)	37 (86 %)	38 (86.4 %)
Surgical margin/ Хирургический край	PSM/ПХК	16	14 (32.6 %)	2 (4.5 %)
	NSM/НХК	71	29 (67.4 %)	42 (95.5 %)
Time to recurrence/ Время до рецидива	≤12 months (continued tumor growth)/ ≤12 мес (продолженный рост)	–	21 (48.8 %)	–
	≥12 months (true recurrence)/ ≥12 мес (истинный рецидив)	–	22 (51.2 %)	–

Note: BMI – body mass index; RFTA – radiofrequency thermoablation; ccRCC – clear cell renal cell carcinoma; CCC – collecting system components; PSM – positive surgical margin; NSM – negative surgical margin.

Примечания: ИМТ – индекс массы тела; РЧТА – радиочастотная термоабляция; скПКР – светлоклеточный почечно-клеточный рак; КСС – компоненты собирательной системы; ПХК – положительный хирургический край; НХК – негативный хирургический край.

Table 2/Таблица 2

The most frequent locations of local recurrence
Наиболее частая локализация местных рецидивов

Localization/Локализация	Detection frequency/ Частота рецидива
Tumor bed/Ложе опухоли	19 (44 %)
Kidney bed/Ложе почки	18 (41.9 %)
Lymph nodes/Лимфатические узлы	8 (18.6 %)
Ipsilateral adrenal gland/Ипсилатеральный надпочечник	4 (9.3 %)
Renal pedicle/Почечная ножка	6 (14 %)
Vena cava inferior/Нижняя полая вена	2 (4.7 %)
Surrounding organs (liver, mesentery of the colon, spleen)/ Окружающие органы (печень, брыжейка, селезенка)	10 (23.3 %)

Table 3/Таблица 3

The effect on the risk of local RCC recurrence
Влияние на риск местного рецидива ПКР

Variables/Показатель		Univariate analysis/ Однофакторный анализ				Multivariate analysis/ Многофакторный анализ			
		OR	95 % CI	P-Value	χ^2	OR	95 % CI	P-Value	χ^2
Sex/Пол	M/M	1,4	0,6–3,2	0,451	0,57	1,4	0,6–3,2	0,762	0,09
	F/Ж	0,7	0,3–1,7	0,451	0,57	0,7	0,3–1,7	0,762	0,09
Age/ Возраст	<45	0,2	0,0–13,8	0,462	2,45	0,2	0,0–13,8	0,462	0,54
	>45	4,8	0,1–323,3	0,462	2,45	4,8	0,1–323,3	0,462	0,54
BMI/ ИМТ	<25	0,6	0,2–2,0	0,425	0,64	0,2	0,0–6,8	0,372	0,80
	>25	1,6	0,5–4,9	0,425	0,53	5,0	0,1–169,9	0,372	0,80
Treatment/ Лечение	PN	<0,001	–	0,999	0	–	–	0,999	0
	RN	<0,001	–	0,999	0	–	–	0,999	0
	RFA	–	–	–	11,38	–	–	–	0,03
Tumor size, mm/ Размер опухоли, мм	<40	0,2	0,1–0,4	<0,001	12,19	0,2	0,0–3,2	0,257	1,29
	>40	5,8	2,3–14,7	<0,001	13,46	5,0	0,3–79,5	0,257	1,29
Histological type/ Гистотип опухоли	ccRCC	0,7	0,2–2,3	0,508	0,44	0,6	0,0–12,4	0,733	0,12
	other	1,5	0,4–5,2	0,508	0,44	1,7	0,1–35,9	0,733	0,12
Fuhrman grade/ Степень злокачественности по Фурману	G1,2	1,7	0,2–16,4	0,667	1,87	5,7	1,2–27,7	0,032	0,11
	G3,4	10,9	1,1–108,6	0,042	1,98				
Kidney capsule invasion/ Инвазия капсулы почки		0,8	0,3–1,9	0,600	0,28	0,2	0,0–2,4	0,189	1,72
Tumor necrosis/Некроз опухоли		15,4	5,3–44,3	<0,001	25,57	53,6	4,3–671,1	0,002	9,52
Microvascular invasion/ Микроваскулярная инвазия		15,1	3,2–70,7	0,001	11,91	12,1	0,8–179,8	0,070	3,28
Tumor hemorrhage/ Кровоизлияние опухоли		3,3	1,4–7,9	0,008	6,97	0,7	0,0–12,7	0,794	0,07
UCS invasion/Инвазия КСС		1,4	0,3–6,7	0,671	0,18	0	0,0–1,2	0,062	3,48
Perirenal fat invasion/Инвазия паранефральной клетчатки		1,5	0,5–4,6	0,530	0,40	8,4	0,4–169,0	0,166	1,92
PSM/ПХК		10,1	2,1–48,0	0,004	7,44	20,8	2,1–202,6	0,009	6,82

Note: BMI – body mass index; PN – partial nephrectomy; RN – radical nephrectomy; RFA – radio frequent ablation; ccRCC – clear cell renal cell carcinoma; UCS – urinary collecting system; PSM – positive surgical margin.

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; РП – резекция почки; НЭ – нефрэктомия; РЧТА – радиочастотная термоабляция; скПКР – светло-клеточный почечно-клеточный рак; КСС – компоненты собирательной системы; ПХК – положительный хирургический край.

Table 4/Таблица 4

The most significant factors for the probability of local RCC recurrence
Наиболее значимые факторы, определяющие вероятность развития местного рецидива ПКР

Variables/Показатель	OR	95 % CI	P-Value	χ^2
Tumor necrosis/Некроз опухоли	10.6	2.9–39.5	<0.001	12.43
Microvascular invasion/ Микроваскулярная инвазия	9.1	1.4–56.7	0.019	5.54
PSM/ПХК	20.8	2.1–202.6	0.009	6.82
Fuhrman grade/ Степень злокачественности по Фурману	6.1	1.8–21.2	0.004	8.19

Note: PSM – positive surgical margin.

Примечание: ПХК – положительный хирургический край.

Table 5/Таблица 5

Influence of factors on 5-year local recurrence-free survival rate
Влияние показателей на 5-летнюю локальную безрецидивную выживаемость

Variables/Показатель	Results/Результаты		
	HR	95 % CI	P-Value
Sex/Пол	0.9	0.5–1.8	0.799
BMI/ИМТ	0.9	0.9–1.0	0.011
Tumor size/Размер опухоли	1.0	1.0–1.0	0.054
Treatment/ Лечение	RN/НЭ	–	1.000
	PN/РП	0.4	0.1–1.2
	RFA/РЧТА	23.5	4.7–117.3
Histological type/Гистотип опухоли	0.9	0.5–1.5	0.599
Fuhrman grade/Степень злокачественности по Фурману	1.9	1.0–3.7	0.042
Kidney capsule invasion/Инвазия капсулы почки	0.4	0.2–0.9	0.033
Tumor necrosis/Некроз опухоли	2.3	1.1–4.7	0.029
Microvascular invasion/Микроваскулярная инвазия	2.0	0.7–5.9	0.207
Sarcomatoid and rhabdoid features/ Саркоматоидные и рабдоидные изменения	1.8	0.7–4.4	0.189
Tumor hemorrhage/Кровоизлияние опухоли	1.0	0.4–2.4	0.969
UCS invasion/Инвазия КСС	1.0	0.3–3.4	0.955
Perirenal fat invasion/Инвазия паранефральной клетчатки	2.0	0.8–5.1	0.133
PSM/ПХК	3.5	1.7–7.3	0.001

Note: BMI – body mass index; PN – partial nephrectomy; RN – radical nephrectomy; RFA – radio frequent ablation; UCS – urinary collecting system; PSM – positive surgical margin.

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; РП – резекция почки; НЭ – нефрэктомия; РЧТА – радиочастотная термоабляция; КСС – компоненты собирательной системы; ПХК – положительный хирургический край.

of patients treated for RCC (Table 5). In a stepwise analysis, high Fuhrman grade (3–4) of malignancy (HR=1.9, $p=0.042$), tumor diameter (HR=1.0, $p=0.054$), positive surgical margin (HR=3.5, $p=0.001$), and tumor necrosis (HR=2.3, $p=0.029$) were found to be the most significant factors influencing 5-year local recurrence-free survival rate. The nature of the primary treatment was also found to determine the timing of local recurrence-free survival. Thus, radiofrequency ablation affected the index negatively (HR=23.5, $p<0.001$).

Discussion

Researchers consider the likelihood of local recurrence of kidney cancer after primary treatment

of RCC mainly in terms of overall recurrence-free survival. Unfortunately, only a few studies have addressed the impact of the above clinical and pathomorphologic parameters on the likelihood of developing a directly local RCC recurrence. In 2019, a team from Spain showed, in a retrospective multivariate analysis of 153 patients, the influence of histological factors such as microvascular invasion ($p=0.001$) and tumor necrosis ($p=0.0001$) on the likelihood of developing local recurrence. Therefore, the indices were identified as independent predictors of local renal tumor recurrence [8].

A Mayo Clinic study confirmed the tumor size as an anatomical factor in local RCC recurrence. The authors state that each centimeter of tumor size increases the

likelihood of local recurrence ($p < 0.05$). After several calculations, they concluded that a primary tumor sized 4 cm compared to that sized 1 cm has a 2.52 times higher risk of local recurrence [9].

In evaluating the effect of treatment on the rate of local RCC recurrence, a meta-analysis published by an American group shown higher survival without local recurrence for surgical treatment of kidney cancer compared with thermoablation (98.9 % vs 93.0 %). However, the authors make some clarification: When multiple thermoablation sessions were performed, the differences for surgical and ablative techniques were not significant [7]. A study from the Mayo Clinic proved the equivalence of these therapies in the treatment of local RCC recurrence. In renal cancer of cT1a stage, the 5-year local recurrence-free survival rates were 97.7 % (96.7–98.6), 95.9 % (92.3–99.6) and 95.9 % (92.3–99.6) for renal resection, RFA, and cryoablation, respectively. For cT1b stage RCC, the rates for kidney resection and cryoablation were 91.6 % (88.2–95.1) and 92.7 % (83.5–100), respectively [10].

The most studied and controversial marker of local recurrence of renal cell cancer is the condition of the surgical margin. A recent meta-analysis showed for cT1-T2 stage tumors that enucleation is at least as good as the standard renal resection in terms of PSM and local recurrence at 24 months follow-up [11]. The authors also stressed lack of accepted definition of «positive surgical margin» and «tumor recurrence», which markedly reduces the significance of the results. Bernhard et al. analyzed the results of 809 kidney resections performed in 8 European and American centers. During the follow-up (mean 27 months), 26 patients (3.2 %) experienced local tumor recurrence. Researchers found a direct effect of PSM on the risk of local RCC recurrence ($p < 0.01$) [12]. In 2016, Shah confirmed these findings in a retrospective multicenter study including data from 1240 kidney resections and stressed PSM as a reliable predictor of recurrence (95 % CI 2.75–20.34, $p < 0.001$) only in highly aggressive (pT2–3a or Fuhrman grade 3–4) tumors with no effect on localization of recurrence (local/remote) [13]. A group from Argentina studied a role of Fuhrman grade along with surgical margin status on the likelihood of local RCC recurrence. In a multivariate analysis, PSM and high grade of renal cancer malignancy (Fuhrman grade 3 or 4) were identified as independent predictors of local RCC recurrence (HR=12.9, 95 % CI 1.8–94, $p = 0.011$ /HR=38.3, 95 % CI 3.1–467, $p = 0.004$, respectively) [14].

In 2017, an Israeli team proved a direct effect of surgical margin status on the likelihood of locoregional cancer recurrence after nephrectomy for primary kidney cancer [15]. From 612 patients, a local RCC recurrence developed in 50 during the follow-up (average, 65 months). PSM was found to determine the lowest 5-year survival without local recurrence (93 % vs 45 %; $p < 0.001$). Multivariate analysis confirmed these results: PSM was associated with a

significantly increased risk of local tumor recurrence (HR 4.8; 95 % CI 2–11.6; $p = 0.01$).

In contrast to these results, an American group in a retrospective analysis of 1994 cases confirmed the relative importance of surgical margin status on the development of true local recurrence. They detected clinically local recurrence of kidney cancer in 30 patients, with 9 cases (0.5 %) of true primary tumor recurrence, with only one patient with PSM. Several reasons can explain the local recurrence against a negative surgical margin. One is the so-called «false negative surgical margin», that is, malignant tissue outside the tumor boundaries defined during surgery, such as within the peritumoral vessels, which leads to incomplete resection [16]. X.S. Chen et al. described foci of tumor tissue extending 3 mm beyond the tumor pseudo-capsule [17]. The researchers concluded that the histological nature and tumor malignancy, as well as its sarcomatoid and rhabdoid changes, have greater prognostic value for local tumor recurrence than the surgical margin status [11,16, 18].

The course of renal cell cancer is determined by multiple interrelated and independent prognostic factors, which are included in many prognostic models. A comparative analysis of the most popular and widely used predictive models presented in a recent prospective collaborative study by a group of scientists from USA and Canada [19]. To reduce the probability of local postoperative recurrence of the disease, a thorough preoperative examination is of primary importance. To improve the effectiveness of primary treatment and the recurrence-free survival, oncurologists should personalize the search and evaluation of predisposing factors for the development of local recurrence and then select the best treatment. Precise search of morphological, immunohistochemical, and biochemical markers in the surgical material can improve the early postoperative management of the patients in the future. For example, one can determine the need for adjuvant therapy to reduce the risk of local RCC recurrence. Currently clinicians rely on retrospective prediction tools to guide patient care and clinical trial selection. But as shown in a study by a group from USA and Canada, using prospectively collected adjuvant trial data, existing RCC prediction models were validated and demonstrated a sharp decrease in the predictive ability of all models compared with their previous retrospective validations. So they recommend prospective validation of any predictive model before implementing it into clinical practice and clinical trial design [19].

Conclusion

The literature considers the development of the local recurrence of kidney cancer in the aspect of the general recurrence-free survival rate. This is the main problem for revealing and the complete analysis of the predisposing factors. We believe the new search for markers specific for local RCC recurrence is important for optimization of RCC treatment.

We plan to develop an accessible multiparametric prognostic model including objective clinical, laboratory-instrumental, and pathomorphological data to predict the local RCC recurrence. The nomogram will be of great practical value for optimization of

both treatment and postoperative management of RCC patients. The latter includes the decision to provide adjuvant therapy to a group of patients selected by the nomogram.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Shuch B.M., Lam J.S., Belldgrun A.S., Figlin R.A. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *Semin Oncol.* 2006; 33(5): 563–75. doi: 10.1053/j.seminoncol.2006.06.006.
2. Nguyen D.P., Vertosick E.A., Corradi R.B., Vilaseca A., Benfante N.E., Touijer K.A., Sjöberg D.D., Russo P. Histological subtype of renal cell carcinoma significantly affects survival in the era of partial nephrectomy. *Urol Oncol.* 2016; 34(6). doi: 10.1016/j.urolonc.2016.01.005.
3. Patard J.J., Leray E., Rioux-Leclercq N., Cindolo L., Ficarra V., Zisman A., De La Taille A., Tostain J., Artibani W., Abbou C.C., Lobel B., Guille F., Chopin D.K., Mulders P.F., Wood C.G., Swanson D.A., Figlin R.A., Belldgrun A.S., Pantuck A.J. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol.* 2005; 23(12): 2763–71. doi: 10.1200/JCO.2005.07.055.
4. Leibovich B.C., Lohse C.M., Crispin P.L., Boorjian S.A., Thompson R.H., Blute M.L., Cheville J.C. Histological subtype is an independent predictor of outcome for patients with renal cell carcinoma. *J Urol.* 2010; 183(4): 1309–15. doi: 10.1016/j.juro.2009.12.035.
5. Wood E.L., Adibi M., Qiao W., Brandt J., Zhang M., Tamboli P., Matin S.F., Wood C.G., Karam J.A. Local Tumor Bed Recurrence Following Partial Nephrectomy in Patients with Small Renal Masses. *J Urol.* 2018; 199(2): 393–400. doi: 10.1016/j.juro.2017.09.072.
6. Kriegmair M.C., Bertolo R., Karakiewicz P.I., Leibovich B.C., Ljungberg B., Mir M.C., Ouzaid I., Salagierski M., Staehler M., van Poppel H., Wood C.C., Capitanio U.; Young Academic Urologists Kidney Cancer working group of the European Association of Urology. Systematic Review of the Management of Local Kidney Cancer Relapse. *Eur Urol Oncol.* 2018; 1(6): 512–23. doi: 10.1016/j.euo.2018.06.007.
7. Margulis V., McDonald M., Tamboli P., Swanson D.A., Wood C.G. Predictors of oncological outcome after resection of locally recurrent renal cell carcinoma. *J Urol.* 2009; 181(5): 2044–51. doi: 10.1016/j.juro.2009.01.043.
8. Barbas Bernardos G., Herranz Amo F., Caño Velasco J., Cancho Gil M.J., Mayor de Castro J., Aragón Chamizo J., Polanco Pujol L., Hernández Fernández C. Influence of venous tumour extension on local and remote recurrence of stage pT3a pN0 cM0 kidney tumours. *Actas Urol Esp (Engl Ed).* 2019; 43(2): 77–83. doi: 10.1016/j.acuro.2018.06.007.
9. Crispin P.L., Boorjian S.A., Lohse C.M., Sebo T.S., Cheville J.C., Blute M.L., Leibovich B.C. Outcomes following partial nephrectomy by tumor size. *J Urol.* 2008; 180(5): 1912–7. doi: 10.1016/j.juro.2008.07.047.
10. Andrews J.R., Atwell T., Schmit G., Lohse C.M., Kurup A.N., Weisbrod A., Callstrom M.R., Cheville J.C., Boorjian S.A., Leibovich B.C., Thompson R.H. Oncologic Outcomes Following Partial Nephrectomy and Percutaneous Ablation for cT1 Renal Masses. *Eur Urol.* 2019; 76(2): 244–51. doi: 10.1016/j.eururo.2019.04.026.
11. Minervini A., Campi R., Sessa F., Derweesh I., Kaouk J.H., Mari A., Rha K.H., Sessa M., Volpe A., Carini M., Uzzo R.G. Positive surgical margins and local recurrence after simple enucleation and standard partial nephrectomy for malignant renal tumors: systematic review of the literature and meta-analysis of prevalence. *Minerva Urol Nefrol.* 2017; 69(6): 523–38. doi: 10.23736/S0393-2249.17.02864-8.
12. Bernhard J.C., Pantuck A.J., Wallerand H., Crepel M., Ferrière J.M., Bellec L., Maurice-Tison S., Robert G., Albouy B., Pasticier G., Soulie M., Lopes D., Lacroix B., Bensalah K., Pfister C., Thuret R., Tostain J., De La Taille A., Salomon L., Abbou C., Colombel M., Belldgrun A.S., Patard J.J. Predictive factors for ipsilateral recurrence after nephron-sparing surgery in renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2010; 57(6): 1080–6. doi: 10.1016/j.eururo.2010.02.019.
13. Shah P.H., Moreira D.M., Okhunov Z., Patel V.R., Chopra S., Razmaria A.A., Alom M., George A.K., Yaskiv O., Schwartz M.J., Desai M., Vira M.A., Richstone L., Landman J., Shalhav A.L., Gill I., Kavoussi L.R. Positive Surgical Margins Increase Risk of Recurrence after Partial Nephrectomy for High Risk Renal Tumors. *J Urol.* 2016; 196(2): 327–34. doi: 10.1016/j.juro.2016.02.075.
14. Marchiñena P.G., Tirapegui S., Gonzalez I.T., Jurado A., Gueglio G. Positive surgical margins are predictors of local recurrence in conservative kidney surgery for pT1 tumors. *Int Braz J Urol.* 2018; 44(3): 475–82. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2017.0039.
15. Abu-Ghanem Y., Ramon J., Berger R., Kaver I., Fridman E., Leibowitz-Amit R., Dotan Z.A. Positive surgical margin following radical nephrectomy is an independent predictor of local recurrence and disease-specific survival. *World J Surg Onc* 15. 2017. doi: 10.1186/s12957-017-1257-6.
16. Bertolo R., Nicolas M., Garisto J., Magi-Galluzzi C., McKenney J.K., Kaouk J. Low Rate of Cancer Events After Partial Nephrectomy for Renal Cell Carcinoma: Clinicopathologic Analysis of 1994 Cases with Emphasis on Definition of «Recurrence». *Clin Genitourin Cancer.* 2019; 17(3): 209–215. doi: 10.1016/j.clgc.2019.03.004.
17. Chen X.S., Zhang Z.T., Du J., Bi X.C., Sun G., Yao X. Optimal surgical margin in nephron-sparing surgery for T1b renal cell carcinoma. *Urology.* 2012; 79(4): 836–9. doi: 10.1016/j.jurology.2011.11.023.
18. Oh J.J., Byun S.S., Lee S.E., Hong S.K., Lee E.S., Kim H.H., Kwak C., Ku J.H., Jeong C.W., Kim Y.J., Kang S.H., Hong S.H. Partial nephrectomy versus radical nephrectomy for non-metastatic pathological T3a renal cell carcinoma: a multi-institutional comparative analysis. *Int J Urol.* 2014; 21(4): 352–7. doi: 10.1111/iju.12283.
19. Correa A.F., Jegede O., Haas N.B., Flaherty K.T., Pins M.R., Messing E.M., Manola J., Wood C.G., Kane C.J., Jewett M.A.S., Dutcher J.P., DiPaola R.S., Carducci M.A., Uzzo R.G. Predicting Renal Cancer Recurrence: Defining Limitations of Existing Prognostic Models With Prospective Trial-Based Validation. *J Clin Oncol.* 2019; 37(23): 2062–71. doi: 10.1200/JCO.19.00107.

Поступила/Received 31.03.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 25.07.2022

Принята к публикации/Accepted 11.08.2022

ABOUT THE AUTHORS

Margarita Y. Gaas, MD, Postgraduate, Department of Urology and Operative Nephrology with the course of oncurology, RUDN University (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AGH-3315-2022. Author ID (Scopus): 57204283122. ORCID: 0000-0001-6284-3845.

Andrey D. Kaprin, MD, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Honored Physician of the Russian Federation, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, General Director, National Medical Research Center of Radiology (Obninsk, Russia); Director, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology; Head of the Department of Urology and Operative Nephrology with the course of oncurology of the faculty of medicine, RUDN University (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): K-1445-2014. Author ID (Scopus): 6602709853. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

Nikolay V. Vorobyev, MD, PhD, Head of Urology Department, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology; Urologist, Associate Professor of Department of Oncology, Radiotherapy and Plastic Surgery, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5597-9533.

Aleksey S. Kalpinsky, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Tumors of the Reproductive and Urinary Organs, Moscow P.A. Herten Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): E-9698-2014. Author ID (Scopus): 57192806201. ORCID: 0000-0002-2209-3020.

Vasily V. Kozlov, MD, PhD, Associate Professor of the Public Health and Health Care Organization Department named after N.A. Semashko, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): B-2647-2017. Author ID (Scopus): 57191536076. ORCID: 0000-0002-2389-3820.

Roman O. Inozemtsev, MD, Resident of Department Urology and Operative Nephrology with the course of oncurology, RUDN University (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-7231-6093.

AUTHOR CONTRIBUTION

Margarita Y. Gaas: conception and design, drafting of the manuscript, supervision, acquisition data.

Andrey D. Kaprin: conception and design, supervision.

Nikolay V. Vorobyev: conception and design, supervision.

Aleksey S. Kalpinsky: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Vasiliy V. Kozlov: statistical analysis.

Roman O. Inozemtsev: acquisition data.

Funding

Dr. Gaas is funded by the P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гаас Маргарита Яковлевна, аспирант кафедры урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AGH-3315-2022. Author ID (Scopus): 57204283122. ORCID: 0000-0001-6284-3845.

Каприн Андрей Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заслуженный врач РФ, член-корр. РАО, генеральный директор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия); директор, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; заведующий кафедрой урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии медицинского факультета, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1759-8101. Researcher ID (WOS): K-1445-2014. Author ID (Scopus): 6602709853. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

Воробьев Николай Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением онкоурологии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; врач-уролог, доцент кафедры онкологии, радиотерапии и пластической хирургии, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3426-9843. ORCID: 0000-0001-5597-9533.

Калпинский Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, врач-уролог отдела опухолей репродуктивных и мочевыводящих органов, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7253-9356. Researcher ID (WOS): E-9698-2014. Author ID (Scopus): 57192806201. ORCID: 0000-0002-2209-3020.

Козлов Василий Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры общественного здоровья и здравоохранения имени Н.А. Семашко, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7703-0013. Researcher ID (WOS): B-2647-2017. Author ID (Scopus): 57191536076. ORCID: 0000-0002-2389-3820.

Иноземцев Роман Олегович, ординатор кафедры урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-7231-6093.

ВКЛАД АВТОРОВ

Гаас Маргарита Яковлевна: концепция и дизайн исследования, написание текста, наблюдение, сбор данных.

Каприн Андрей Дмитриевич: концепция и дизайн исследования, контроль исследования.

Воробьев Николай Владимирович: концепция и дизайн исследования, контроль исследования.

Калпинский Алексей Сергеевич: критическая оценка текста на предмет содержания.

Козлов Василий Владимирович: статистическая обработка данных.

Иноземцев Роман Олегович: сбор данных.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Чичеватов Д.А., Калентьев В.В., Глухов А.Е. Изолированная резекция вены в хирургическом лечении протоковой карциномы поджелудочной железы как фактор резектабельности. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 25–31. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-25-31

For citation: Chichevatov D.A., Kalentjev V.V., Glukhov A.E. Single vein resection in surgery for pancreatic ductal carcinoma as a criterion of resectability. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 25–31. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-25-31

SINGLE VEIN RESECTION IN SURGERY FOR PANCREATIC DUCTAL CARCINOMA AS A CRITERION OF RESECTABILITY

D.A. Chichevatov¹, V.V. Kalentjev², A.E. Glukhov¹

Penza State University, Penza, Russia. E-mail: chichevatov69@mail.ru¹

40, Krasnaya St., 440026, Penza, Russia¹

Penza Regional Oncology Hospital, Penza, Russia²

37 a, Prospect Stroiteley, 440066, Penza, Russia²

Abstract

Background. Pancreatic ductal carcinoma (PDC) with involvement of the superior mesenteric vein (SMV) or/and portal vein (PV) remains a discussible subject. We have evaluated vein invasion as a criterion of borderline resectability and long-term outcome. **Material and Methods.** In our center, 68 patients underwent either 65 standard pancreatoduodenal resections or 3 pancreatoduodenectomies for PDC. Resection of SMV/PV was performed in 18 cases (26.5 %). Three patients received neoadjuvant chemotherapy (NACT), and adjuvant chemotherapy (ACT) was assigned to 37 patients (54.4 %). **Results.** Morbidity (42.0 vs 50.0 %, $p=0.590$) and mortality rates (4.0 vs 16.7 %, $p=0.111$) had no significant differences in groups of standard and angioplasty operations respectively. ACT was completed in 10 (16.7 %) patients only. There was true vein invasion in 12 of 18 patients with vein resection. $pN+$ ($p=0.012$) and angioplasty by itself ($p<0.001$) were found out as independent predictors of overall survival (OS). The median OS was 9.4 mo in patients with vein resection. In the group of standard operations, the median OS was 26.9 mo ($p<0.001$). The median OS in patients with vein resection and complete chemotherapy was 17.7 mo in contrast to 8.9 mo in those who did not receive chemotherapy ($p=0.439$). **Conclusions.** PDR with vein resection and incomplete chemotherapy cannot be regarded as a reasonable procedure. PDR with vein resection may be appropriate after efficient NACT.

Key words: carcinoma, pancreatic ductal, portal vein, angioplasty.

ИЗОЛИРОВАННАЯ РЕЗЕКЦИЯ ВЕНЫ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПРОТОВОКОЙ КАРЦИНОМЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КАК ФАКТОР РЕЗЕКТАБЕЛЬНОСТИ

Д.А. Чичеватов¹, В.В. Калентьев², А.Е. Глухов¹

ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», г. Пенза, Россия.

E-mail: chichevatov69@mail.ru¹

Россия, 440026, г. Пенза, ул. Красная, 40¹

ГБУЗ «Областной онкологический диспансер», г. Пенза, Россия²

Россия, 440066, г. Пенза, пр. Строителей, 37А²

Аннотация

Лечение протоковой карциномы поджелудочной железы (ПКПЖ) с вовлечением верхней брыжеечной и/или воротной вены остается предметом дискуссий. Мы оценили венозную инвазию как критерий пограничной резектабельности и отдаленного прогноза заболевания. **Материал и методы.** В нашем центре 68 пациентов оперированы в объеме стандартной панкреатодуоденальной резекции ($n=65$) или панкреатодуоденэктомии ($n=3$) по поводу ПКПЖ. В 18 (26,5 %) наблюдениях выполнена резекция верхней брыжеечной и/или воротной вены. Неoadъювантную химиотерапию (НАХТ) получили 3 пациента, адъювантная химиотерапия (АХТ) начата у 37 (54,4 %) пациентов. **Результаты.** Частота

послеоперационных осложнений в группе стандартных операций и ангиопластических операций (42,0 против 50,0 %, $p=0,590$), частота летальных исходов (4 против 16,7 %, $p=0,111$) значимо не отличались. АХТ закончена полностью у 10 (16,7 %) пациентов. Истинная инвазия опухоли отмечена у 12 из 18 пациентов с резекцией вены. Независимыми предикторами общей выживаемости (ОВ) были $pN+$ ($p=0,012$) и наличие ангиопластики ($p=0,000$). У пациентов с резекцией вены медиана ОВ составила 9,4 мес. В группе стандартных ПДР медиана ОВ была 26,9 мес ($p=0,000$). У пациентов с резекцией вены медиана ОВ при законченной химиотерапии составила 17,7 мес, без химиотерапии – 8,9 мес ($p=0,439$). **Заключение.** ПДР с резекцией вены и отсутствием или незавершенной химиотерапией может рассматриваться как неоправданная операция. Данную операцию целесообразно выполнять после эффективной НАХТ.

Ключевые слова: карцинома, панкреатическая протоковая, воротная вена, ангиопластика.

Introduction

So far treatment of pancreatic ductal carcinoma (PDC) has been discussible [1, 2]. While the best results have been shown in patients undergoing surgery with chemotherapy, the choice of the adjuvant (ACT) or neoadjuvant (NACT) regime remains unclear. Many investigators demonstrate advantages of NACT such as marginal but significant improvement of the overall survival and increased rate of R0, N0 resections [3–5]. On the other hand, according to several reports these benefits have been achieved in “per protocol” analyses only, whereas there were no significant differences in the frame of the “intention-to-treat” concept. It could be because up to 27 % of patients did not enter the surgical protocol due to either tumor progression against the background of chemotherapy or intolerable adverse effects [1, 6, 7]. Nevertheless, the latter evidence cannot be a reason for “up-front” surgery since as few as 55–57 % of patients who underwent the “surgery first” protocol obtain complete ACT due to early progression, postsurgical complications, and deaths [8, 9]. Besides, current meta-analyses focused on this problem do not avoid biases most of the time and their authors accentuate high difficulty in retrieving data that strictly meet inclusion criteria [1, 10, 11].

Assessment of the tumor extent is another important aspect that affects the choice of treatment. While either primary resectable or locally advanced tumors are believed to be quite determined groups, the so-called borderline resectable malignancies cannot be defined properly. Anderson's criteria proposed in 2009 are based on radiological findings only. Some authors mention the uncertainty of borderline resectability which can depend not only on anatomical but also on subjective and technical predictors (surgical modality, experience, equipment, etc.) [12, 13]. All this provides “migration” of potentially resectable tumors to the group of unresectable locally advanced ones, thus surgical exploration as a final diagnostic procedure becomes warranted [13, 14].

Nowadays “up-front” surgery is regarded as an acceptable procedure in case of isolated involvement of the vein [2, 15]. Necessity and availability of arterial resection are expected to be utterly rare in pancreatic surgery [16]. On the other hand, we believe that isolated vein involvement should not be a contraindication

to surgery at any stage of treatment. The present paper is a retrospective analysis of immediate and follow-up results of PDC treatment which required vein resection on account of surgically proven vein involvement.

Material and Methods

In our department, 120 patients underwent pancreatoduodenal resection (PDR) or pancreatoduodenectomy (PDE) within a period from 2014 to 2021. According to inclusion criteria we picked up patients with PDC only who underwent PDR or PDE with/without resection of the superior mesenteric or/and portal vein. All arterial resections were excluded. Finally, the total investigated group included 68 patients, 34 males and 34 females (50.0 %). The age range was 43–79 years with an average of 63.3 ± 8.1 years. $pT1$ tumor was observed in 5 patients (7.4 %), $pT2$ – in 2 (2.9 %) and $pT3$ – in 61 (89.7 %). Regional lymph node metastases ($pN+$) were found in 29 cases (42.6 %), all of them were $N1$. There was the following stage distribution: IA – 5 (7.4 %), IB – 1 (1.5 %), IIA – 33 (48.5 %), IIB – 23 (33.8 %), III – 1 (1.5 %), IV – 5 (7.4 %). Stage IV was determined by paraaortic metastases in 3 patients and by the solitary liver metastases – in 2 ones.

PDR and PDE were performed as a standard procedure with lymph node dissection including groups 3b, 4d, 5, 6, 8, 9, 12V, 12P, 12D, 13, 14V, 14A, 17 according to the modified classification of Japanese Research Society for Gastric Cancer (1962). Paraaortic lymph nodes (group 16) were excised in case of proven metastases only (3 patients). The restoring stage of the surgery was executed by pancreatojejunostomy, hepaticojejunostomy, and gastrojejunostomy in this sequence using the single intestinal loop.

In the case of the dilated pancreatic duct, we performed two-layer anastomosis by sewing the duct up separately with interrupted sutures (polypropylene 6–0 or 7–0). Such a technique was employed in 55 patients (80.9 %). In the case of the non-dilated pancreatic duct, we performed sleeve-like pancreatojejunostomy without a separate connection of the duct (14.7 % of patients). There were three PDEs. Hepaticojejunostomy was accomplished by running suture (polypropylene 5–0 or 6–0). One metastasectomy and one S2,3-liver

resection were concomitants in two patients with stage IV, respectively.

Patients with superior mesenteric (SMV) or/and portal (PV) vein involvement were considered to be candidates for vein resection if it did not require multiple vascular anastomoses of SMV confluent. PV resection was performable most of the time. Lateral SMV/PV resection with closing the defect by running suture (polypropylene 6–0) was made in 4 patients. Sleeve SMV/PV resection (Fig. 1) with direct suturing of vein cuffs was made in 7 patients and with prosthesis replacement (Fig. 2) in 6 cases. Closure of the vein defect with a patch (Fig. 3) was performed in one patient. There were 18 (26.5 %) vascular resections altogether. In all cases, we used polytetrafluoroethylene prostheses and the running suture (polypropylene 6–0).

The performance status of patients was assessed according to the ECOG scale. Postoperative pancreatic fistulas were defined in accordance with International Study Group for Pancreatic Surgery (ISGPS) classification, 2016. Data were processed and calculated with the statistical package SPSS Statistics v. 17.0. Descriptive statistics, cross-tabulation, two-tailed Fisher's exact test, Cox regression analysis, Kaplan-Meier analysis were employed.

Results

Postsurgical complications were observed in 30 (44.1 %) patients. There were 19 (27.9 %) compli-

cations in grade II, 5 (7.4 %) – in grade IIIb, 1 IV (1.5 %) – in grade, and 5 – in grade V (7.4 %) according to the Clavien–Dindo classification (Table 1). Causes of death were as diverse as the myocardial infarction (1), the pancreonecrosis (2), the pancreatic fistula type C (1), intestinal anastomosis leakage with the consequent peritonitis (1).

Postsurgical complications were registered in 21 (42.0 %) patients after standard PDR and in 9 of 18 (50.0 %) cases after angioplasty PDR/PDE. This difference was not significant (two-tailed Fisher's exact test, $p=0.590$). The post-surgical mortality rate was 4.0 % (2 of 50) in the standard group and 16.7 % (3 of 18) in the angioplasty group. This difference was not significant either (two-tailed Fisher's exact test, $p=0.111$). It should be noted we have not observed specific vascular complications which ended up with death.

There were only 12 of 18 cases of true vein invasion according to pathologists' reports. 40 (58.8 %) patients received chemotherapy. NACT was assigned in 3 (4.4 %) patients and ACT in 37 (54.4 %) ones. The following regimes were applied as preoperative or postoperative modalities: FOLFIRINOX, GEMOX, GEM, GEMCAP, XELOX, FOLFOX, FOLFIRI, capecitabine, and 5-fluorouracil as monotherapy.

Twenty-three patients did not receive ACT for the following reasons: early tumor progression (4), post-surgical complications (5), PS ECOG \geq 3 (4), patient's refusal (10). All patients completed NACT. Only 10 (16.7 %) of the remaining 60 patients received appro-

Table 1/Таблица 1

Postsurgical complications Послеоперационные осложнения

Complications/Осложнения	Rate/Частота
DGE grade A/Гастростаз степень А*	12 (17.6 %)
DGE grade C/Гастростаз степень С	1 (1.5 %)
Stomach bleeding/Желудочное кровотечение	2 (2.9 %)
Myocardial infarction/Инфаркт миокарда	1 (1.5 %)
Bile anastomosis leakage/Несостоятельность гепатикоюноанастомоза	1 (1.5 %)
Intestinal anastomosis leakage/Несостоятельность колоэнтероанастомоза**	1 (1.5 %)
Pancreatitis/Панкреатит	1 (1.5 %)
Pancreonecrosis/Панкреонекроз	2 (2.9 %)
Liver failure/Печеночная недостаточность	1 (1.5 %)
Pneumonia/Пневмония	1 (1.5 %)
Biochemical leak/«Биохимическая несостоятельность»*	1 (1.5 %)
Pancreatic fistula type B/Панкреатическая фистула тип В*	2 (2.9 %)
Pancreatic fistula type C/Панкреатическая фистула тип С*	3 (4.4 %)
Stomach ulcer/Язва желудка	1 (1.5 %)
Total/Всего	68 (100.0 %)

Note: * – in accordance with the current International Study Group for Pancreatic Surgery (ISGPS) classification. DGE, delayed gastric emptying; ** – the patient has undergone PDE with right-sided hemicolectomy.

Примечание: * – в соответствии с текущей классификацией International Study Group for Pancreatic Surgery (ISGPS); ** – пациенту выполнена ПДЭ с правосторонней гемиколэктомией.

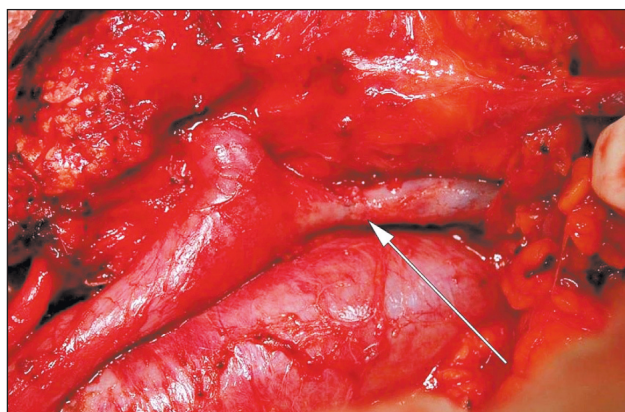


Fig. 1. Sleeve SMV/PV resection with direct suturing of vein cuffs.
The arrow points at the vascular anastomosis
Рис. 1. Циркулярная резекция ВВВ/ВВ с формированием
прямого анастомоза. Анастомоз указан стрелкой

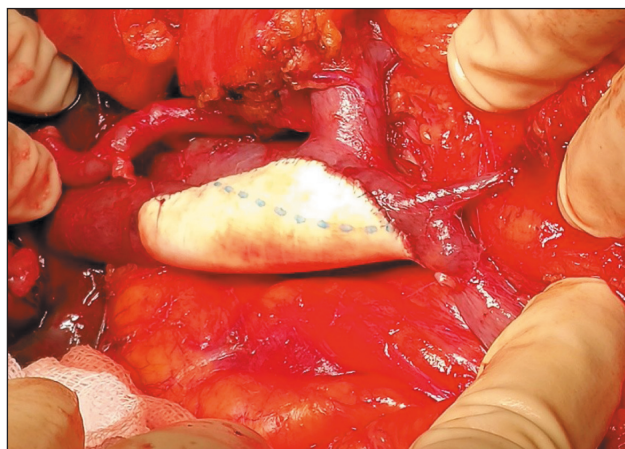


Figure 3. SMV/PV defect has been closed with a patch
Рис. 3. Замещение дефекта ВВВ/ВВ заплатой

priate adjuvant treatment. ACT was terminated in 27 patients due to developed intolerable toxicity (adverse effects) or worsening of PS ECOG ≥ 3 .

Long-term results were assessed as standard modalities of disease-free survival (DFS) and overall survival (OS). Among three patients who underwent surgery after NACT, two died in 5.2 and 17.9 months, respectively, due to tumor progression. The third one has been alive for 16.8 months without recurrence of the tumor.

We have assessed independent predictors of DFS and OS based on the Cox regression analysis. The following variables were regarded as potential predictors: 1) age, 2) gender, 3) TNM-T, 4) pN+ (yes, no), 5) true invasion of the vein (yes, no), 6) complete NACT or ≥ 6 courses of ACT (yes, no), 7) postsurgical complications (yes, no), 8) tumor stage, 9) vein resection (yes, no).

The tumor stage IB (HR=80.5; 95 % CI, 2.9–2207.4; $p=0.009$), stage IIA (HR=10.5; 95 % CI, 1.3–87.3; $p=0.030$), stage IIB (HR=18.8; 95 % CI, 2.1–164.1; $p=0.008$), stage IV (HR=125.7; 95 %

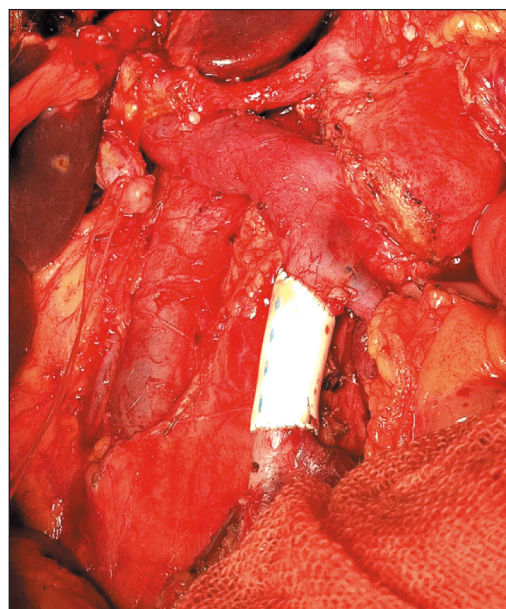


Fig. 2. SMV resection with prosthesis replacement
Рис. 2. Резекция ВВВ с протезированием

CI, 10.1–1571.7; $p<0.001$) and the presence of post-surgical complications (HR=0.3; 95 % CI, 0.1–0.8; $p=0.010$) were significant predictors of DFS (the model $\chi^2=29.4$; $p<0.001$). pN+ (HR=2.4; 95 % CI, 1.2–4.9; $p=0.012$) and vein resection performed (HR=6.9; 95 % CI, 2.7–17.4; $p<0.001$) were the only predictors of OS (the model $\chi^2=24.5$; $p<0.001$).

In the group of vein resection, the median of OS was 9.4 mo (95 % CI, 5.3–13.5). Even 2-year survival has not been obtained and the maximum follow-up period was 17.9 mo. In the group of standard operations, the median of OS was 26.9 mo (95 % CI, 17.2–36.6), the 5-year survival was 29.4 ± 10.1 %. This difference was significant (Log Rank test, $\chi^2=18.7$, $p<0.001$). Plots of OS are given in Fig. 4.

Although NACT/ACT has not been revealed as an independent predictor of survival we evaluated OS of patients who underwent vein resection combined or not combined with complete NACT or 6 or more courses of ACT (NACT/6ACT). We limited ACT with 6 or more courses because our patients were assigned different regimes of chemotherapy due to diverse objectives, thus stratification of patients in accordance with particular anticancer agents was thought to be inappropriate statistically. Among patients without vein resection, the median of OS was 26.9 vs 29.9 mo in the group of NACT/6ACT and no chemotherapy, respectively (Log Rank test, $\chi^2=0.36$, $p=0.546$). Among patients with vein resection, analogous figures were 17.7 vs. 8.9 mo, respectively (Log Rank test, $\chi^2=0.60$, $p=0.439$) (Fig. 5).

Discussion

In the present investigation, we attempted to answer the question of whether vein invasion and, consequent

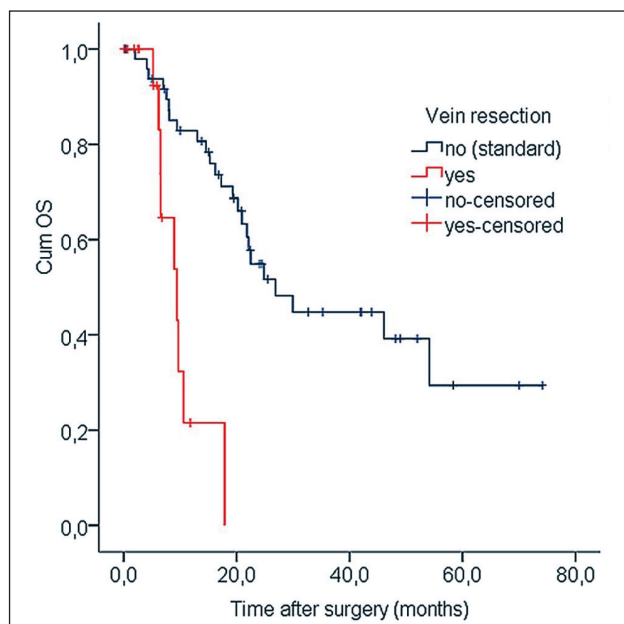


Fig. 4. Kaplan–Meier curves of OS depended on vein resection
Рис. 4. Показатели общей выживаемости по Kaplan–Meier в зависимости от наличия резекции вены

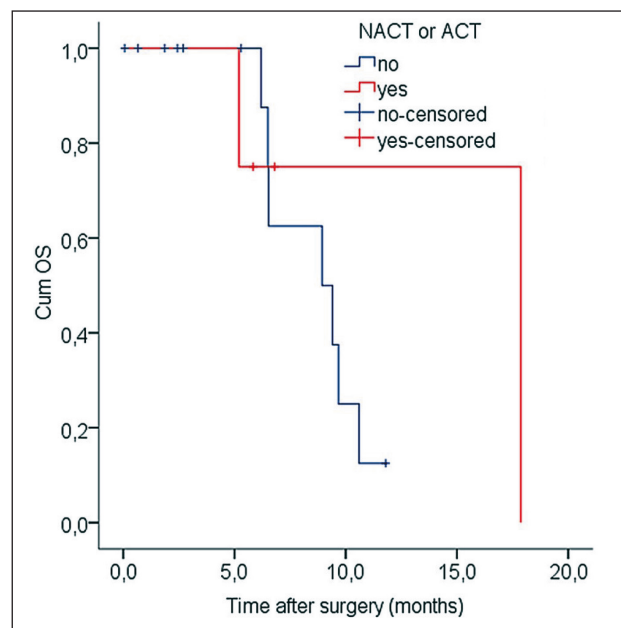


Fig. 5. Kaplan–Meier curves of OS depending on NACT/6ACT in the angioplasty group
Рис. 5. Показатели общей выживаемости по Kaplan–Meier в зависимости от НАХТ/6АХТ в группе ангиопластик

or mere, vein resection can be regarded as a reliable and essential criterion of borderline resectability. On the one hand, some authors [2, 3, 11, 15] believe that vein resection has become a safe standard procedure and survival in this group is similar to that in the group of standard operations. On the other hand, after successful vein resection, the tumor is considered to be resectable as well as it becomes unresectable locally advanced in the case of failed angioplasty. The problem of borderline resectability is of interest nowadays [17]. Nevertheless, vein invasion can affect survival, this fact has not been reflected in the 8th edition of the TNM classification yet. Thereafter we analyzed only complete vein resections taking into account two aspects: 1) immediate results (safety of the procedure) and 2) survival in the group of accomplished angioplasty PDR/PDE compared to standard ones. In addition, we intended to make our investigation as close to “intention-to-treat” principles as possible but in the group of patients who can undergo complete surgery combined with NACT and/or ACT.

In a technical sense our conception of resectability, variants of angioplasty are determined perfectly well and in general, coincide with current classifications proposed [18].

While the relatively high rate of post-surgical complications is evident in our series, vein resection did not increase this rate significantly. Specific complications consequent to angioplasty were not registered at all. Besides, 2/3 of all complications were controlled and not life-threatening according to the Clavien–Dindo classification. M. Park et al. report analogous results with the rate of morbidity from 28.6 % to 38.6 %

[19]. Postsurgical mortality rate was 7.4 % but non-significantly higher ($p=0.111$) in the group of vein resections. All three cases of death in this group have not been connected with vein resection, in our opinion. Therefore, we believe that vein resection may be regarded as a safe enough procedure which does not worsen a surgical outcome.

Some authors [20] consider true vein invasion to be a negative predictor of long-term outcomes. We have found out true vein invasion only in 12 of 18 patients with vein resection. In our series, true vein invasion did not affect DFS whereas the procedure of vein resection by itself appeared as a significant but unfavorable predictor of OS. Thereafter vein resection may be approved as a technical demand only. According to current meta-analyses, NACT increases OS significantly but marginally in patients with PDC [4]. This was a reason for recommending it as a preferable treatment in many clinical guidelines. Unfortunately, in our series only 4.4 % of patients received NACT. Such a small amount of cases can be explained by the insufficiency of preoperative biopsies and our reserved attitude due to some controversial reports [7, 10]. M. Assifi et al. [6], S. Gillen et al. [7] informed on lack of significant efficacy of NACT, intolerable adverse effects, and failed tumor response, hence they lost over 20 % of patients.

In our investigation ACT was assigned to only 54.4 % of patients, which cannot be a satisfactory indicator. Approximately 65 % or more of patients end up ACT according to current reports. Besides, the majority of patients in our series could not undergo a complete course of ACT for reasons beyond

control. Only 10 (16.7 %) patients have received six or more courses of ACT. We consider the treatment protocol to be complete in 13 of 68 (19.1 %) patients. Such outcome cannot be satisfactory and reveals no advantages of ACT.

A tumor stage, postsurgical complications, pN+, vein resection were independent significant predictors of DFS and OS, respectively, in the frame of the Cox regression analysis. Conclusions concerning a stage, postsurgical complications, and regional metastases are trivial and do not need to be discussed, in our opinion.

The negative influence of vein resection and angioplasty on OS may be explained by a higher rate of occult metastases consequent to true vein invasion and bulky tumor extent [11]. This suspicion is thought to be a reason for providing further prospective investigations to change TNM-T similar to arterial invasion. We heard controversial reports on how vein involvement affects OS [15]. Although vein resection seems to be as safe as the standard PDR procedure, it should not be excluded from the criteria of borderline resectability because it discriminates PDC into different groups with diverse survival. Nevertheless, OS in the group of vein resections is expected to be much higher if NACN/ACT is complete. Although there was no significant difference of OS curvatures in our series ($p=0.439$), in the vein resection group with/without chemotherapy the effect size in patients with complete NACT/ACT was approximately twice as high (the median of OS

17.7 mo vs. 8.9 mo). We believe that the absence of statistical significance may be consequent to lack of cases and different efficacy of chemotherapeutic regimes. The median of OS after R0 PDR with vein resection and concomitant complete chemotherapy is expected to be as high as the median in the group of standard resections. This tendency has appeared.

Conclusion

Borderline resectable tumors are a fictitious heterogeneous group of PDCs. In a pure surgical sense resection and plastic of a vein have become a safe and common procedure, hence PDC with vein involvement may be regarded as a resectable tumor. On the other hand, vein involvement decreases survival significantly, i.e. it is an oncological but not surgical criterion which cannot be ignored despite the advances in surgical technique. This question requires further studying with possible consequent changes in the TNM-T classification and the PDC stratification.

PDR with vein resection and failed chemotherapy cannot be regarded as a reasonable procedure because its long-term outcomes are comparable to the situation with no surgery at all. Whereas a lot of patients do not receive complete ACT, PDR with vein resection may be appropriate only after efficient NACT. Finally, in the oncology sense, borderline resectable tumors are as challenging as locally advanced ones, that should determine a treatment strategy.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Versteijne E., Suker M., Groothuis K., Akkermans-Vogelaar J.M., Besselink M.G., Bonsing B.A., Buijsen J., Busch O.R., Creemers G.M., van Dam R.M., Eskens F.A.L.M., Festen S., de Groot J.W.B., Groot Koerkamp B., de Hingh I.H., Homs M.Y.V., van Hooft J.E., Kerver E.D., Luelmo S.A.C., Neelis K.J., Nuytens J., Paardekooper G.M.R.M., Patijn G.A., van der Sagen M.J.C., de Vos-Geelen J., Wilmink J.W., Zwinderman A.H., Punt C.J., van Eijck C.H., van Tienhoven G.; Dutch Pancreatic Cancer Group. Preoperative Chemoradiotherapy Versus Immediate Surgery for Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer: Results of the Dutch Randomized Phase III PREOPANC Trial. *J Clin Oncol*. 2020; 38(16): 1763–73. doi: 10.1200/JCO.19.02274.
2. Klaber U., Hackert T. Conversion Surgery for Pancreatic Cancer-The Impact of Neoadjuvant Treatment. *Front Oncol*. 2020; 9: 1501. doi: 10.3389/fonc.2019.01501.
3. Tang K., Lu W., Qin W., Wu Y. Neoadjuvant therapy for patients with borderline resectable pancreatic cancer: A systematic review and meta-analysis of response and resection percentages. *Pancreatol*. 2016; 16(1): 28–37. doi: 10.1016/j.pan.2015.11.007.
4. Oba A., Ho F., Bao Q.R., Al-Musawi M.H., Schulick R.D., Del Chiaro M. Neoadjuvant Treatment in Pancreatic Cancer. *Front Oncol*. 2020; 10: 245. doi: 10.3389/fonc.2020.00245.
5. Schorn S., Demir I.E., Reyes C.M., Saricaoglu C., Samm N., Schirren R., Tieftrunk E., Hartmann D., Friess H., Ceyhan G.O. The impact of neoadjuvant therapy on the histopathological features of pancreatic ductal adenocarcinoma – A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2017; 55: 96–106. doi: 10.1016/j.ctrv.2017.03.003.
6. Assifi M.M., Lu X., Eibl G., Reber H.A., Li G., Hines O.J. Neoadjuvant therapy in pancreatic adenocarcinoma: a meta-analysis of phase II trials. *Surgery*. 2011; 150(3): 466–73. doi: 10.1016/j.surg.2011.07.006.
7. Gillen S., Schuster T., Meyer Zum Büschenfelde C., Friess H., Kleeff J. Preoperative/neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of response and resection percentages. *PLoS Med*. 2010; 7(4). doi: 10.1371/journal.pmed.1000267.
8. Casolino R., Braconi C., Malleo G., Paiella S., Bassi C., Milella M., Dreyer S.B., Froeling F.E.M., Chang D.K., Biankin A.V., Golan T. Reshaping preoperative treatment of pancreatic cancer in the era of precision medicine. *Ann Oncol*. 2021; 32(2): 183–96. doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.013.
9. Dumont R., Puleo F., Collignon J., Meurisse N., Chavez M., Seidel L., Gast P., Polus M., Loly C., Delvenne P., Meunier P., Hustinx R., Deroover A., Detry O., Louis E., Martinive P., Van Daele D. A single center experience in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma: the limitations of the surgery-first approach. Critical review of the literature and proposals for practice update. *Acta Gastroenterol Belg*. 2017; 80(4): 451–61. Erratum in: *Acta Gastroenterol Belg*. 2018; 81(2): 358.
10. Rahman S.H., Urquhart R., Molinari M. Neoadjuvant therapy for resectable pancreatic cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2017; 9(12): 457–65. doi: 10.4251/wjgo.v9.i12.457.
11. Delpero J.R., Sauvanet A. Vascular Resection for Pancreatic Cancer: 2019 French Recommendations Based on a Literature Review From 2008 to 6-2019. *Front Oncol*. 2020; 10: 40. doi: 10.3389/fonc.2020.00040.
12. Ferrone C.R., Marchegiani G., Hong T.S., Ryan D.P., Deshpande V., McDonnell E.I., Sabbatino F., Santos D.D., Allen J.N., Blaszkowsky L.S., Clark J.W., Faris J.E., Goyal L., Kwak E.L., Murphy J.E., Ting D.T., Wo J.Y., Zhu A.X., Warshaw A.L., Lillemoe K.D., Fernández-del Castillo C. Radiological and surgical implications of neoadjuvant treatment with FOLFIRINOX for locally advanced and borderline resectable pancreatic cancer. *Ann Surg*. 2015; 261(1): 12–7. doi: 10.1097/SLA.0000000000000867.
13. Wittel U.A., Lubgan D., Ghadimi M., Belyaev O., Uhl W., Bechstein W.O., Grützmann R., Hohenberger W.M., Schmid A., Jacobasch L., Croner R.S., Reinacher-Schick A., Hopt U.T., Pirk A., Oettle H., Fietkau R., Golcher H. Consensus in determining the resectability of locally progressed pancreatic ductal adenocarcinoma - results of the Conko-007 multicenter trial. *BMC Cancer*. 2019; 19(1): 979. doi: 10.1186/s12885-019-6148-5.
14. Katz M.H., Pisters P.W., Evans D.B., Sun C.C., Lee J.E., Fleming J.B., Vauthey J.N., Abdalla E.K., Crane C.H., Wolff R.A., Varadhachary G.R., Hwang R.F. Borderline resectable pancreatic cancer: the importance of this emerging stage of disease. *J Am Coll Surg*. 2008; 206(5): 833–46. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.12.020.
15. Wang X., Demir I.E., Schorn S., Jäger C., Scheufele F., Friess H., Ceyhan G.O. Venous resection during pancreatotomy for pancreatic cancer: a systematic review. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2019; 4: 46. doi: 10.21037/tgh.2019.06.01.
16. Bockhorn M., Uzunoglu F.G., Adham M., Imrie C., Milicevic M., Sandberg A.A., Asbun H.J., Bassi C., Büchler M., Charnley R.M., Conlon K., Cruz L.F., Dervenis C., Fingerhut A., Friess H., Gouma D.J., Hartwig W.

Lillemoe K.D., Montorsi M., Neoptolemos J.P., Shrikhande S.V., Takaori K., Traverso W., Vashist Y.K., Vollmer C., Yeo C.J., Izbicki J.R.; International Study Group of Pancreatic Surgery. Borderline resectable pancreatic cancer: a consensus statement by the International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS). *Surgery*. 2014; 155(6): 977–88. doi: 10.1016/j.surg.2014.02.001.

17. Lopez N.E., Prendergast C., Lowy A.M. Borderline resectable pancreatic cancer: definitions and management. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(31): 10740–51. doi: 10.3748/wjg.v20.i31.10740.

18. Nakao A. Selection and outcome of portal vein resection in pancreatic cancer. *Cancers (Basel)*. 2010; 2(4): 1990–2000. doi: 10.3390/cancers2041990.

19. Park M.Y., Lee W., Kwon J., Song K.B., Hwang D.W., Lee J.H., Kim S.C. Comparison of perioperative outcomes in pancreatic head cancer patients following either a laparoscopic or open pancreaticoduodenectomy with a superior mesenteric artery first approach. *Ann Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2021; 25(3): 358–65. doi: 10.14701/ahbps.2021.25.3.358.

20. Kishi Y., Nara S., Esaki M., Hiraoka N., Shimada K. Feasibility of resecting the portal vein only when necessary during pancreaticoduodenectomy for pancreatic cancer. *BJS Open*. 2019; 3(3): 327–35. doi: 10.1002/bjs.5.50130.

Поступила/Received 17.04.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 05.07.2022

Принята к публикации/Accepted 27.07.2022

ABOUT THE AUTHORS

Dmitry A. Chichevatov, MD, Professor, Department of Surgery, Penza State University (Penza, Russia). E-mail: chichevatov69@mail.ru. Researcher ID (WOS): Q-3647-2017.

Vyacheslav V. Kalentjev, MD, Surgeon, Department of Surgery, Penza Regional Oncology Hospital (Penza, Russia).

Artem E. Glukhov, MD, Department of Surgery, Penza State University (Penza, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Dmitry A. Chichevatov: the conception and design of the study, acquisition of data, analysis and interpretation of data, final approval of the version to be submitted.

Vyacheslav V. Kalentjev: drafting the article and revising it critically for important intellectual content, final approval of the version to be submitted.

Artem E. Glukhov: drafting the article and revising it critically for important intellectual content, final approval of the version to be submitted.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Чичеватов Дмитрий Андреевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии, ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» (г. Пенза, Россия). E-mail: chichevatov69@mail.ru. Researcher ID: Q-3647-2017.

Калентьев Вячеслав Викторович, врач хирургического отделения № 2, ГБУЗ «Областной онкологический диспансер» (г. Пенза, Россия). SPIN-код: 3235-6383.

Глухов Артем Евгеньевич, ассистент кафедры хирургии, ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» (г. Пенза, Россия). SPIN-код: 9136-7827.

ВКЛАД АВТОРОВ

Чичеватов Дмитрий Андреевич: существенный вклад в разработку концепции, планирование научной работы, анализ и интерпретация данной работы.

Калентьев Вячеслав Викторович: составление черновика рукописи и его критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Глухов Артем Евгеньевич: составление черновика рукописи и его 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., Златник Е.Ю., Новикова И.А., Ульянова Е.П., Демидова А.А., Колесников Е.Н., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Снежко А.В. Общая выживаемость больных раком ободочной кишки с различным уровнем циркулирующих опухолевых клеток и возможности повышения его прогностической значимости. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 32–39. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-32-39

For citation: Kit O.I., Zlatnik E.Y., Novikova I.A., Ulianova E.P., Demidova A.A., Kolesnikov E.N., Gevorkyan Yu.A., Soldatkina N.V., Snezhko A.V. Overall survival in colon cancer patients with different levels of circulating tumor cells and feasibility of enhancing its prognostic value. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 32–39. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-32-39

ОБЩАЯ ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ РАКОМ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК И ВОЗМОЖНОСТИ ПОВЫШЕНИЯ ЕГО ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ

О.И. Кит¹, Е.Ю. Златник¹, И.А. Новикова¹, Е.П. Ульянова¹, А.А. Демидова^{1,2}, Е.Н. Колесников¹, Ю.А. Геворкян¹, Н.В. Солдаткина¹, А.В. Снежко¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия¹

Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63. E-mail: elena-zlatnik@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия²

Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29²

Аннотация

Разработка персонализированных подходов к диагностике, лечению и прогнозированию рака ободочной кишки является актуальной проблемой современной онкологии. Уровни циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) и опухолевых стволовых клеток (ОСК) рассматриваются как многообещающие неинвазивные прогностические факторы. **Цель исследования** – оценка общей выживаемости (ОВ) больных раком ободочной кишки II–IV стадий с различным уровнем ЦОК и изучение возможности повышения его прогностической значимости путем дополнительного определения уровня ОСК CD44+ в опухоли.

Материал и методы. В исследование включено 299 больных раком ободочной кишки II–IV стадий. Выполнялось хирургическое лечение, после чего больные II–III стадий получали адъювантную химиотерапию (FOLFOX). Больным IV стадии с резектабельными метастазами в печень одновременно с удалением первичной опухоли выполнялась операция на печени, затем – химиотерапия (FOLFOX). До операции у больных определяли ЦОК методом Veridex CellSearch™, в удаленной опухоли – экспрессию маркера ОСК CD44+ иммуногистохимическим методом. Изучали ОВ больных с различным уровнем ЦОК, кумулятивную ОВ определяли методом Каплана–Мейера. Для построения прогностической модели использовали метод логистического регрессионного анализа, для оценки влияния изучаемых параметров на ОВ больных – регрессионный анализ Кокса. **Результаты.** Наблюдается более низкая ОВ при более высоких уровнях ЦОК, разделенных на ранги: 0, 1–3, 4–9, ≥10; ($\chi^2=11,59$, $p=0,009$), что позволяет использовать данный тест как фактор прогноза. Его прогностическую значимость можно повысить при определении в ткани опухоли процента CD44+ опухолевых клеток. Выявлено статистически значимое сопряжение рангов ЦОК и CD44+ с ОВ больных. Повышение концентрации ЦОК в крови на один ранг сопровождалось повышением риска развития летального исхода в 1,58 раза ($p=0,002$); при дополнительном увеличении экспрессии CD44+ ≥10 % – в 7,2 раза ($p<0,001$). Для индивидуальной оценки риска разработана модель расчета прогностического коэффициента К с высокой диагностической чувствительностью и специфичностью, предложено ее математическое выражение. Значение $K\geq 0,411$ говорит о высоком риске неблагоприятного исхода. **Заключение.** Разработан прогностический алгоритм для оценки риска неблагоприятного исхода рака ободочной кишки по уровню ЦОК в крови и CD44+ ОСК в ткани опухоли.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, опухолевые стволовые клетки, рак ободочной кишки, выживаемость, прогноз, логистическая регрессия.

OVERALL SURVIVAL IN COLON CANCER PATIENTS WITH DIFFERENT LEVELS OF CIRCULATING TUMOR CELLS AND FEASIBILITY OF ENHANCING ITS PROGNOSTIC VALUE

O.I. Kit¹, E.Y. Zlatnik¹, I.A. Novikova¹, E.P. Ulianova¹, A.A. Demidova^{1,2}, E.N. Kolesnikov¹, Yu.A. Gevorkyan¹, N.V. Soldatkina¹, A.V. Snezhko¹

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Russia, Rostov-on-Don, Russia¹

63, 14 Line St., 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: elena-zlatnik@mail.ru¹

Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia²

29, Nakhichevan Ln., 344022, Rostov-on-Don, Russia²

Abstract

Development of personalized approaches to diagnosis, treatment and prognosis of colon cancer (CC) still remains challenging. Levels of circulating tumor (CTC) and cancer stem cells (CSC) are promising non-invasive prognostic factors. **Our aim** was to assess the overall survival (OS) of patients with stage II–IV CC with different levels of CTCs as well as to enhance their prognostic value by additionally determining the level of CD44+ CSCs. **Material and Methods.** The study included 299 patients with stage II–IV CC. All patients underwent surgery followed by adjuvant chemotherapy (FOLFOX). Patients with stage IV CC with resectable liver metastases underwent simultaneous resection of the primary tumor and liver metastases, followed by FOLFOX chemotherapy. The proportion of CTCs was evaluated before surgery using Veridex CellSearch™, and the level of CD44+ CSCs was determined in the tissue of the removed tumor by the IHC method. OS was studied in patients with different CTC levels, cumulative OS was calculated by Kaplan–Meier's method. Prognostic algorithm was designed by logistic regression analysis and Cox proportional hazards model. **Results.** OS was found to be lower in patients with higher CTC levels divided into ranges: 0, 1–3, 4–9, ≥10 ($\chi^2=11.59$, $p=0.009$); thus enabling us to use it for prognosis. Its prognostic value is enhanced by estimation of CD44+ CSC in tumor. Statistically significant conjugation between CTC and CD44+ ranges was found. An increase in CTC level by 1 range resulted in the increase in the risk of fatal outcome by 1.58 times ($p=0.002$); the additive increase in CD44+ expression ≥10 % resulted in the increase in the risk of fatal outcome by 7.2 times ($p<0.001$). For individual risk assessment, a model for calculating the prognostic coefficient K with high diagnostic sensitivity and specificity was developed, and its mathematical expression was proposed. The value of $K \geq 0.411$ indicates a high risk of adverse outcome. **Conclusion.** The prognostic algorithm for the risk of unfavorable outcome of patients with CC, based on the assessment of CTC and CD44+ CSC levels, was developed.

Key words: circulating tumor cells (CTC), cancer stem cells (CSC), colon cancer (CC), overall surviving (OS), prognosis, logistic regression analysis.

Введение

Разработка и изучение эффективности новых методов диагностики и лечения рака ободочной кишки, который является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности онкологических больных, представляют собой актуальную проблему современной онкологии. Особое место занимает прогнозирование течения этого заболевания, для чего следует учитывать его гетерогенность. Известны его молекулярно-генетические подтипы, отличающиеся по клиническому течению, лабораторным характеристикам, чувствительности к химио- и иммунотерапии и прогнозу [1–4]. Как показано в последние годы, эти опухоли неоднородны даже в пределах одной стадии по такому показателю, как уровень циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) [5]. Количество ЦОК при раке ободочной кишки имеет прямую связь с риском метастазирования и продолжительностью жизни больных [6, 7]. Другие исследования, напротив,

характеризуют диссеминацию опухолевых клеток как их транзитное выделение [8, 9].

Методы определения ЦОК разнообразны, и количественный результат не в последнюю очередь зависит от их выбора. Для наиболее распространенного метода определения уровня ЦОК CellSearch критическим значением при раке ободочной кишки считается уровень ЦОК выше 3 в 7,5 мл, при превышении которого прогнозируются метастазирование опухоли и низкая общая и бессобытийная продолжительность жизни больных. При этом в литературе описано, что частота метастазирования после операции оказалась в 8 раз выше у больных с уровнем ЦОК ≥ 5 [10]. В некоторых работах при распространенном раке ободочной кишки в качестве прогностически значимого предлагается уровень ЦОК ≥ 10 [11], а по данным авторов, изучавших уровни ЦОК у больных II–III стадий, в большинстве случаев их не удалось определить [12]. Таким образом, данные литературы противоречивы в

плане определения нижней прогностически неблагоприятной границы ЦОК.

По оптимальному сроку определения ЦОК также высказываются разные мнения. Если одни авторы считают ЦОК достаточно эффективным независимым фактором прогноза при предоперационном обследовании больных [13], то, по мнению других, уровень ЦОК имеет прогностическое значение только при определении на послеоперационном этапе [14]. В некоторых работах уровень ЦОК рассматривается как вспомогательный прогностический фактор [15] и указывается на то, что выявление новых маркеров ЦОК является важной, но не решенной проблемой [16]. Итак, во многих работах подчеркивается недостаточность исследования только уровня ЦОК, тем более, что роль низких показателей остается неясной, вследствие чего следует применять комплексную оценку этого фактора.

Целью исследования явились оценка общей выживаемости больных раком ободочной кишки II–IV стадий с различным уровнем ЦОК и изучение возможности повышения его прогностической значимости путем дополнительного определения уровня ОСК CD44+ в опухоли.

Материал и методы

Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии». Обязательным условием включения в исследование являлось наличие подписанного добровольного информированного согласия всех больных. В исследование включены 299 больных раком ободочной кишки в возрасте от 42 до 86 лет (средний возраст – 64,2 года), находившихся на лечении в ФГБУ НМИЦ онкологии с 2012 по 2016 г. Распределение больных по стадиям заболевания проводили в соответствии с Международной классификацией злокачественных опухолей по системе TNM (AJCC/UICC 8th ed., 2017). Распределение больных по полу, стадии заболевания, гистологическому строению и степени дифференцировки опухоли представлено в табл. 1; распределение по этим показателям внутри стадий заболевания было сопоставимым. Наиболее часто опухоль располагалась в левой половине ободочной кишки – у 139 (46,5 %) больных, в поперечно-ободочной кишке – у 93 (31,1 %), в правой половине ободочной кишки – у 67 (22,4 %) пациентов.

Всем больным первым этапом выполнялось хирургическое лечение, после чего больные II–III стадий получали адъювантную химиотерапию по схеме FOLFOX. Больным IV стадии с резектабельными метастазами в печень одновременно с удалением первичной опухоли выполнялась операция на печени, с адъювантной химиотерапией по схеме FOLFOX. Больных наблюдали в течение 5–7,5 лет после операции. При прогрессировании лечение проводили по общепринятым стандартам. Для оценки общей кумулятивной выживаемо-

сти фиксировали факт и сроки летального исхода, связанного с прогрессированием основного заболевания.

Детекцию ЦОК проводили до операции с использованием системы Veridex CellSearch™ (JanssenDiagnostics, LLC) с антителами к маркерам адгезии эпителиальных клеток ЕpCAM, CD45 и цитокератинам 8,18,19. К ЦОК относили клетки, положительно меченные по ЕpCAM, цитокератинам и отрицательные по CD45. Общее число выявленных опухолевых клеток в 7,5 мл крови являлось конечным результатом.

Уровень опухолевых клеток, экспрессирующих CD44, определяли в ткани удаленной опухоли ИГХ-методом с антителами к CD44 (Termo scientific, клон 156-3C11, разведение 1:2500), подсчитывали процент окрашенных клеток под микроскопом «AxioLab.A1» (Германия) при $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. Для проведения регрессионного анализа Кокса выделяли четыре ранга уровней ЦОК: 0 (ранг 0), 1–3 (ранг 1), 4–9 (ранг 2), ≥ 10 клеток (ранг 3) в 7,5 мл крови, и два ранга экспрессии CD44+ в опухолевой ткани: ниже 10 % (ранг 0) и ≥ 10 % (ранг 1).

Статистический анализ проведен с использованием программы Statistica 13,0 (StatSoft, США). Анализ кумулятивной общей выживаемости, связанной с основным заболеванием, проводили с использованием метода множительной оценки Каплана–Мейера. Множественное сравнение динамики кумулятивной выживаемости пациентов в четырех подгруппах в зависимости от ранга ЦОК осуществлено по критерию Пирсона χ^2 . Для построения модели использовали логистический регрессионный анализ. Оценку прогностической значимости коэффициента разработанной модели осуществляли путем ROC-анализа, расчета разделительной точки cut-off и соответствующей ей диагностической чувствительности и специфичности. С помощью регрессионного анализа Кокса проведена оценка влияния изменений изучаемых параметров на выживаемость больных.

Результаты

Общая выживаемость (ОВ) больных оказалась ниже у больных с более высоким предоперационным уровнем ЦОК. Медиана ОВ при ЦОК 0 составляла 53,5 мес (LQ 44,7 UQ 62,8), при ЦОК 1–3 – 46,0 мес (LQ 35,9 UQ 55,6), при ЦОК 4–9 – 32,2 мес (LQ 27,4 UQ 39,1), при ЦОК ≥ 10 – 12,4 мес. (LQ 9,3 UQ 15,7). За пятилетний срок наблюдения кумулятивная выживаемость среди пациентов, у которых ЦОК в крови отсутствовали, составила 63,3 %, при ЦОК 1–3 – 56,5 %, при ЦОК 4–9 – 50 % и при ЦОК 10 и выше – 16,4 % (табл. 2). Различия показателей выживаемости пациентов четырех подгрупп в зависимости от числа ЦОК было статистически значимым ($\chi^2=11,59$, $p=0,009$).

Усилить прогностическую значимость уровня ЦОК оказалось возможным при одновременном

Таблица 1/Table 1

Клинико-патологическая характеристика больных
Clinical and pathologic characteristics of the patients

Показатели/ Indices		Количество больных/ Number of patients
Пол/Sex	Мужчины/Men	155 (51,8 %)
	Женщины/Women	144 (48,2 %)
Стадия/Stage	II	110 (36,8 %)
	III	88 (29,4 %)
	IV	101 (33,8 %)
Гистологическое строение/ Histology	Аденокарцинома/Adenocarcinoma	242 (80,9 %)
	Муцинозная аденокарцинома/ Mucinous adenocarcinoma	45 (15,1 %)
	Перстневидно-клеточный рак/ Signet cell carcinoma	12 (4,0 %)
Степень дифференцировки/ Grade	G1	46 (15,4 %)
	G2	165 (53,2 %)
	G3	88 (29,4 %)
Всего/Total		299 (100 %)

Таблица 2/Table 2

Динамика послеоперационной кумулятивной выживаемости больных с различным уровнем ЦОК
Dynamics of postsurgical cumulative survival rate of the patients with different CTC levels

Период, мес/ Period, months	Уровни ЦОК/CTC levels			
	0	1–3	4–9	10 и выше >10
0,9	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %
10,2	100,0 %	90,1 %	71,4 %	63,6 %
19,5	88,9 %	80,1 %	57,1 %	45,5 %
28,8	77,8 %	67,6 %	50,0 %	36,4 %
38,2	69,4 %	62,6 %	50,0 %	27,3 %
47,5	66,6 %	59,9 %	50,0 %	27,3 %
56,8	63,3 %	56,5 %	50,0 %	16,4 %
66,1	63,3 %	56,5 %	50,0 %	16,4 %
75,4	63,3 %	56,5 %	50,0 %	16,4 %
84,8	63,3 %	56,5 %	50,0 %	16,4 %

$$\chi^2=11,59, p=0,009$$

Таблица 3/Table 3

Параметры регрессионного анализа Кокса по оценке изолированного и совместного с экспрессией CD44+ влияния ЦОК на ОВ больных
Parameters of Cox regression analysis for the assessment of single and mutual with CD44+ expression impact of CTC on patients' overall survival

Показатель/ Index	β-стандартный коэффициент регрессии/ β-standard regression coefficient	Стандартная ошибка β/ Standard error β	Критерий Вальда/ Wald criterion	p	Отношение шансов/ OR
ЦОК/CTC	0,454	0,146	9,729	0,002	1,575
ЦОК и CD44+/ CTC and CD44+	2,795	0,364	18,758	0,0001	7,213

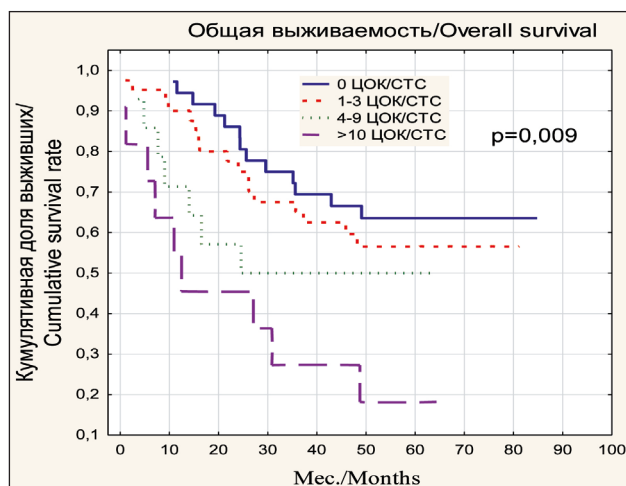


Рис.1. Общая выживаемость после операции больных раком ободочной кишки с различным уровнем ЦОК
Fig. 1. Postsurgical overall survival of the patients with different CTC levels

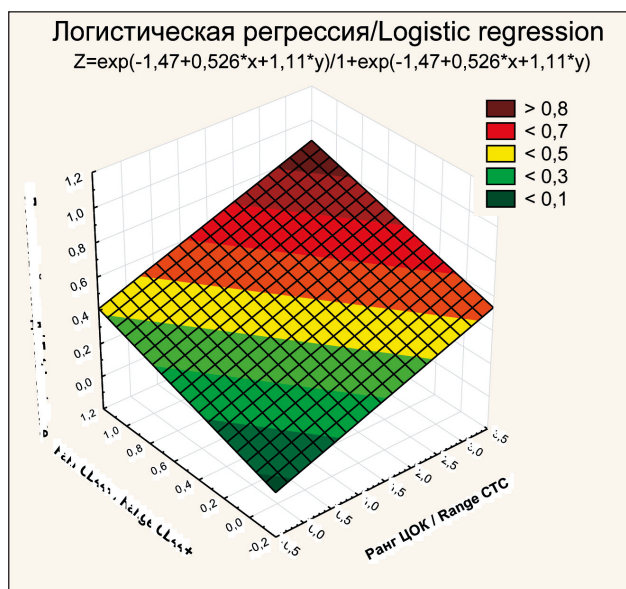


Рис.2. Графическая зависимость величины K от ранга ЦОК и ранга экспрессии CD44
Fig. 2. Plotting K value versus CTC range and CD44 expression range

определении в ткани удаленной опухоли доли опухолевых клеток, экспрессирующих маркер ОСК CD44. Применение регрессионного анализа Кокса позволило доказать значимое сопряжение ранга ЦОК совместно с рангом экспрессии CD44+ на опухолевых клетках с ОВ больных (табл. 3). При этом как один показатель изолированно (ЦОК), так и два показателя (ЦОК и CD44+) независимо от стадии значимо влияли на общую выживаемость. Поправка на стадию заболевания у 299 больных нашей выборки при регрессионном анализе Кокса позволила доказать независимость использования двух предикторов.

С более высокой концентрацией ЦОК в крови больных была ассоциирована более низкая вы-

живаемость в послеоперационном периоде, о чем свидетельствовали высокие значения β -стандартизованного коэффициента регрессии, критерия Вальда и соответствующий $p=0,002$. Повышение концентрации ЦОК в крови на один ранг сопровождалось повышением риска развития летального исхода в 1,58 раза ($p=0,002$). Одновременный учет экспрессии маркера ОСК CD44+ и концентрации ЦОК в крови расширил прогностические возможности использования такого сочетания: при повышении концентрации ЦОК в крови на один ранг и увеличении экспрессии CD44+ $\geq 10\%$ риск развития летального исхода возрастал в 7,2 раза ($p<0,001$).

Для индивидуальной оценки риска неблагоприятного исхода заболевания была разработана модель расчета прогностического коэффициента K, учитывающая ранжирование ЦОК и CD44+.

Математическое выражение модели:

$$K = \exp(z) / (1 + \exp(z)), \\ Z = 0,526 \times \text{ранг ЦОК} + 1,11 \times \text{ранг CD44+} - 1,46.$$

Методом ROC-анализа была найдена дифференциальная разделительная точка для вынесения заключения о риске летального исхода. По его результатам при $K \geq 0,411$ можно сформировать заключение о высоком риске с чувствительностью 81,2 % и специфичностью 80,8 %, а при $K < 0,411$ – о низком риске неблагоприятного (летального) исхода. Статистическую значимость модели оценивали по критерию Пирсона: $\chi^2=12,5$, соответствующая доверительная вероятность $p=0,0019$, т.е. модель статистически значима. На рис. 2 представлена графическая зависимость величины K от ранга ЦОК и ранга экспрессии CD44. При этом коэффициент K может оказаться ниже критического значения и при высоком ранге ЦОК, если экспрессия CD44+ ниже 10 % (ранг 0), что подтверждает прогностическую значимость уровня CD44+.

Обсуждение

Определение уровня ЦОК при раке ободочной кишки считается многообещающим методом прогноза течения заболевания, однако данные о ценности этого теста разноречивы. Авторы, использовавшие различные методы, признают, что установление нижней границы уровня ЦОК для клинически значимого прогноза является нерешенной задачей [18] и полагают, что этот тест должен оцениваться в комплексе с другими.

Нами по данным исследования 299 больных раком ободочной кишки проведено изучение уровней ЦОК и ОСК и их прогностической значимости с разделением полученных значений на ранги. Отмечены более низкие значения ОВ больных при более высоких уровнях ЦОК в области от 0 до 10. Хотя различие выживаемости больных четырех подгрупп, разделенных на основании уровня ЦОК, было статистически значимым ($\chi^2=11,59$, $p=0,009$),

тест, по-видимому, имеет ряд ограничений. Например, отсутствие ЦОК не говорит об отсутствии возможности метастазирования, т.к. у 36,7 % больных, первоначально отрицательных по этому показателю и радикально прооперированных, за период наблюдения наступил летальный исход, связанный с прогрессированием основного заболевания. Вероятно, у них метастазирование происходило преимущественно лимфогенным путем или ограничение чувствительности метода CellSearch не позволило выявить ЦОК на предоперационном этапе. То же можно сказать и о больных с уровнем ЦОК 1–3, который, согласно примененному методу, приравнивается к отрицательному: у них летальный исход отмечен в 43,5 % случаев.

Дополнительная оценка уровня клеток, экспрессирующих маркер ОСК CD44, была обоснована тем, что в ряде исследований прослеживаются связь уровня ЦОК в крови и ОСК в ткани опухоли и, кроме того, общие характеристики этих клеток [17]. О частичной принадлежности ЦОК к опухолевым стволовым клеткам говорят данные литературы [18], подчеркивающие наличие генетических маркеров ОСК у ЦОК при раке ободочной

кишки [19], а также мембранных, среди которых CD44, при некоторых других опухолях [20]. На наш взгляд, именно поэтому дополнительное определение экспрессии CD44 в опухолевой ткани привело к существенному повышению прогностической значимости уровня ЦОК, а учет обоих показателей позволил разработать тест индивидуальной оценки риска неблагоприятного исхода у больных раком ободочной кишки.

Заключение

ЦОК рассматривается как перспективный прогностический маркер риска прогрессирования рака ободочной кишки. Нами по данным обследования 299 больных II–IV стадий показана более низкая ОВ при более высоких уровнях ЦОК, включая область их значений от 0 до 10. Дополнительное определение в удаленной опухоли экспрессии CD44 позволяет значительно повысить прогностическую значимость теста и, используя метод логистической регрессии, дать индивидуальную формулу прогноза для больных с различным уровнем ЦОК в крови и ОСК в ткани.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- McGranahan N., Swanton C. Clonal Heterogeneity and Tumor Evolution: Past, Present, and the Future. *Cell*. 2017; 168(4): 613–28. doi: 10.1016/j.cell.2017.01.018.
- De Smedt L., Palmans S., Sagaert X. Tumour budding in colorectal cancer: what do we know and what can we do? *Virchows Arch*. 2016; 468(4): 397–408. doi: 10.1007/s00428-015-1886-5.
- Синянский Л.Е., Вторушин С.В., Паталяк С.В., Афанасьев С.Г. Прогностическая роль молекулярных подтипов рака толстой кишки. Современный взгляд на проблему. *Сибирский онкологический журнал*. 2021; 20(3): 107–114. [For citation: Sinyansky L.E., Vtorushin S.V., Patalyak S.V., Afanasyev S.G. Prognostic role of molecular subtypes of colon cancer. A current view on the problem. *Siberian Journal of Oncology*. 2021; 20(3): 107–114. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-107-114.
- Сагакянц А.Б. Объединенный иммунологический форум: современные направления развития фундаментальной и прикладной онкоиммунологии (Новосибирск, 2019). *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020; 1(2): 36–45. [Saakanyan A.B. United immunological forum: current trends in the development of fundamental and applied oncoimmunology (Novosibirsk, 2019). *South Russian Journal of Cancer*. 2020; 1(2): 36–45. (in Russian)]. doi: 10.37748/2687-0533-2020-1-2-5.
- Tan Y., Wu H. The significant prognostic value of circulating tumor cells in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Curr Probl Cancer*. 2018; 42(1): 95–106. doi: 10.1016/j.cuprocancer.2017.11.002.
- Непомнящая Е.М., Кит О.И., Нистратова О.В., Новикова И.А., Никителова Е.А., Бахтин А.В., Ульянова Е.П., Вострикова Ж.И., Селютин О.Н. Циркулирующие опухолевые клетки и некоторые морфо-иммуногистохимические показатели при колоректальном раке. Современные проблемы науки и образования. 2016; 2: 140. [Nepomnyashchaya E.M., Kit O.I., Nistratova O.V., Novikova I.A., Nikitelova E.A., Bahtin A.V., Ulyanova E.P., Vostrikova Zh.I., Selyutina O.N. Circulating tumor cells and some morpho-immunohistochemical parameters in colorectal cancer. *Modern Problems of Science and Education*. 2016; 2: 140. (in Russian)].
- Veyrune L., Naumann D.N., Christou N. Circulating Tumour Cells as Prognostic Biomarkers in Colorectal Cancer: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(8): 3437. doi: 10.3390/ijms22083437.
- Nanduri L.K., Hissa B., Weitz J., Schölch S., Bork U. The prognostic role of circulating tumor cells in colorectal cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2019; 19(12): 1077–88. doi: 10.1080/14737140.2019.1699065.
- Hinz S., Hendricks A., Wittig A., Schafmayer C., Tepel J., Kalthoff H., Becker T., Röder C. Detection of circulating tumor cells with CK20 RT-PCR is an independent negative prognostic marker in colon cancer patients – a prospective study. *BMC Cancer*. 2017; 17(1): 53. doi: 10.1186/s12885-016-3035-1.
- Tsai W.S., Chen J.S., Shao H.J., Wu J.C., Lai J.M., Lu S.H., Hung T.F., Chiu Y.C., You J.F., Hsieh P.S., Yeh C.Y., Hung H.Y., Chiang S.F., Lin G.P., Tang R., Chang Y.C. Circulating Tumor Cell Count Correlates with Colorectal Neoplasm Progression and Is a Prognostic Marker for Distant Metastasis in Non-Metastatic Patients. *Sci Rep*. 2016; 6: 24517. doi: 10.1038/srep24517.
- Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Новикова И.А., Водлазский Д.И., Шуликов П.Б. Способ прогнозирования метастазирования при раке ободочной кишки. Патент РФ № 2613142. Оpubl. 15.03.2017. [Kit O.I., Gevorgyan YU.A., Soldatkina N.V., Novikova I.A., Vodolazhskij D.I., Shulikov P.B. Method for predicting metastasis in colon cancer. The patent of the Russian Federation № 2613142. 15.03.2017. (in Russian)].
- Rothé F., Maetens M., Rouas G., Paesmans M., Van den Eynde M., Van Laethem J.L., Vergauwe P., Deboever G., Bareche Y., Vandeputte C., Ignatiadis M., Hendlitz A. CTCs as a prognostic and predictive biomarker for stage II/III Colon Cancer: a companion study to the PePiTA trial. *BMC Cancer*. 2019; 19(1): 304. doi: 10.1186/s12885-019-5528-1.
- Abdalla T.S.A., Meiners J., Riethdorf S., König A., Melling N., Gorges T., Karstens K.F., Izbicki J.R., Pantel K., Reeh M. Prognostic value of preoperative circulating tumor cells counts in patients with UICC stage I-IV colorectal cancer. *PLoS One*. 2021; 16(6). doi: 10.1371/journal.pone.0252897.
- Yang C., Shi D., Wang S., Wei C., Zhang C., Xiong B. Prognostic value of pre- and post-operative circulating tumor cells detection in colorectal cancer patients treated with curative resection: a prospective cohort study based on ISET device. *Cancer Manag Res*. 2018; 10: 4135–44. doi: 10.2147/CMAR.S176575.
- Pan R.J., Hong H.J., Sun J., Yu C.R., Liu H.S., Li P.Y., Zheng M.H. Detection and Clinical Value of Circulating Tumor Cells as an Assisted Prognostic Marker in Colorectal Cancer Patients. *Cancer Manag Res*. 2021; 13: 4567–78. doi: 10.2147/CMAR.S300554.
- Baek D.H., Kim G.H., Song G.A., Han I.S., Park E.Y., Kim H.S., Jo H.J., Ko S.H., Park D.Y., Cho Y.K. Clinical Potential of Circulating Tumor Cells in Colorectal Cancer: A Prospective Study. *Clin Transl Gastroenterol*. 2019; 10(7): e00055. doi: 10.14309/ctg.0000000000000055.
- Grillet F., Bayer E., Villeronce O., Zappia L., Lagerqvist E.L., Lunke S., Charafe-Jauffret E., Pham K., Molck C., Rolland N., Bourgaux J.F., Prudhomme M., Philippe C., Bravo S., Boyer J.C., Canterel-Thouennon L., Taylor G.R., Hsu A., Pascucci J.M., Hollande F., Pannequin J. Circulating tumour cells from patients with colorectal cancer have cancer stem cell hallmarks in ex vivo culture. *Gut*. 2017; 66(10): 1802–10. doi: 10.1136/gutjnl-2016-311447.
- 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.

19. Katoh S., Goi T., Naruse T., Ueda Y., Kurebayashi H., Nakazawa T., Kimura Y., Hirano Y., Yamaguchi A. Cancer stem cell marker in circulating tumor cells: expression of CD44 variant exon 9 is strongly correlated to treatment refractoriness, recurrence and prognosis of human colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2015; 35(1): 239–44.

20. Hensler M., Vančurová I., Becht E., Palata O., Strnad P., Tesařová P., Čabiňáková M., Švec D., Kubista M., Bartůňková J., Špišek R., Sojka L.

Gene expression profiling of circulating tumor cells and peripheral blood mononuclear cells from breast cancer patients. *Oncoimmunology.* 2015; 5(4): e1102827. doi: 10.1080/2162402X.2015.1102827.

Поступила/Received 20.06.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 17.08.2022

Принята к публикации/Accepted 23.08.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

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

Златник Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: elena-zlatnik@mail.ru. SPIN-код: 4137-7410. Author ID (Scopus): 6603160432. ORCID: 0000-0002-1410-122X.

Новикова Инна Арнольдовна, кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4810-2424. Researcher ID (WOS): E-7710-2018. Author ID (Scopus): 7005153343. ORCID: 0000-0002-6496-9641.

Ульянова Елена Петровна, научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1243-9475. Author ID (Scopus): 57203357998. ORCID: 0000-0001-5226-0152.

Демидова Александра Александровна, кандидат медицинских наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России; доцент, заведующая кафедрой медицинской и биологической физики ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4014-8502. Researcher ID (WOS): O-9155-2016. Author ID (Scopus): 7006838349. ORCID: 0000-0003-3545-9359.

Колесников Евгений Николаевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 1 с группой рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-9979-4095.

Геворкян Юрий Артушевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0003-1957-7363.

Солдаткина Наталья Васильевна, доктор медицинских наук, врач-онколог отделения абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-0118-4935.

Снежко Александр Владимирович, доктор медицинских наук, врач-хирург отделения абдоминальной онкологии № 1 с группой рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 2913-3744. ORCID: 0000-0003-3998-8004.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кит Олег Иванович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, утверждение окончательной версии рукописи.

Златник Елена Юрьевна: разработка концепции научной работы, поиск литературы, написание рукописи.

Новикова Инна Арнольдовна: анализ научной работы, составление черновика рукописи, ведение электронной базы данных.

Ульянова Елена Петровна: проведение научной работы и статистическая обработка данных.

Демидова Александра Александровна: статистическая обработка и анализ данных.

Колесников Евгений Николаевич: набор клинического материала.

Геворкян Юрий Артушевич: набор клинического материала.

Солдаткина Наталья Васильевна: набор клинического материала.

Снежко Александр Владимирович: набор клинического материала.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (№ 121031100251-9).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

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

Elena Yu. Zlatnik, MD, Professor, Chief Researcher, Laboratory for Immunophenotyping of Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: elena-zlatnik@mail.ru. Author ID (Scopus): 6603160432. ORCID: 0000-0002-1410-122X.

Inna A. Novikova, MD, PhD, Deputy General Director for Science, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): E-7710-2018. Author ID (Scopus): 7005153343. ORCID: 0000-0002-6496-9641.

Elena P. Ulyanova, Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57203357998. ORCID: 0000-0001-5226-0152.

Aleksandra A. Demidova, MD, PhD, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia; Associate Professor, Head of the Department of Medical and Biological Physics, Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): O-9155-2016. Author ID (Scopus): 7006838349. ORCID: 0000-0003-3545-9359.

Evgeny N. Kolesnikov, MD, DSc, Head of the Department of Abdominal Oncology № 1 with a group of X-ray endovascular methods of diagnosis and treatment, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-9979-4095.

Yuri A. Gevorkyan, MD, Professor, Head of the Department of Abdominal Oncology № 2, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-1957-7363.

Natalya V. Soldatkina, MD, DSc, Oncologist, Department of Abdominal Oncology № 2, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-0118-4935.

Alexander V. Snezhko, MD, DSc, Surgeon of the Department of Abdominal Oncology № 1 with a group of X-ray endovascular methods of diagnosis and treatment, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-3998-8004.

AUTHOR CONTRIBUTION

Oleg I. Kit: critical review and introduction of valuable intellectual content, approval of the final version of the manuscript

Elena Yu. Zlatnik: study conception and design, data collection and interpretation, writing of the manuscript

Inna A. Novikova: analysis of the results, writing of the draft, maintaining an electronic database

Elena P. Ulyanova: conducting of the research, statistical data processing

Aleksandra A. Demidova: statistical data processing and analysis

Evgeny N. Kolesnikov: data collection and analysis

Yuri A. Gevorkyan: data collection and analysis

Natalya V. Soldatkina: data collection and analysis

Alexander V. Snezhko: data collection and analysis

Funding

The study was conducted within the framework of the state assignment of National Medical Research Centre for Oncology (No. 121031100251-9).

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests

Для цитирования: Макконен К.Ф., Агарков Н.М., Станоевич У.С., Титов А.А., Митихина М.С., Москалева Е.А. Аллостатическая нагрузка у пациенток с раком молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 40–46. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-40-46

For citation: Makkonen K.F., Agarkov N.M., Stanoevich U.S., Titov A.A., Mitikhina M.S., Moskaleva E.A. Allostatic load in patients with breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 40–46. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-40-46

АЛЛОСТАТИЧЕСКАЯ НАГРУЗКА У ПАЦИЕНТОК С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

К.Ф. Макконен¹, Н.М. Агарков^{1,2}, У.С. Станоевич³, А.А. Титов²,
М.С. Митихина², Е.А. Москалева¹

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Минобрнауки России, г. Белгород, Россия¹

Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85. E-mail: vitalaxen@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет» Минобрнауки России, г. Курск, Россия²
Россия, 305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94²

ОБУЗ «Курский онкологический научно-клинический центр им. Г.Е. Островерхова»
комитета здравоохранения Курской области, г. Курск, Россия³
Россия, 305524, Курский район, х. Кислино, ул. Елисеева, 1³

Аннотация

Рак молочной железы является ведущей формой новообразований среди женщин трудоспособного и пожилого возраста. Однако у пациенток с данной патологией недостаточно изучена аллостатическая нагрузка. **Цель исследования** – изучение аллостатической нагрузки у пациенток среднего и пожилого возраста с раком молочной железы. **Материал и методы.** Проведено обследование 65 пациенток среднего и 60 пациенток пожилого возраста с диагностированным гистологически раком молочной железы и 45 пациенток в возрасте 60–74 лет с отсутствием рака молочной железы. Аллостатическая нагрузка изучена в названных трех группах по уровню систолического и диастолического артериального давления, общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов высокой и низкой плотности, глюкозы, альбуминов и величине окружности талии. **Результаты.** Установлена статистически значимо превышающая величина аллостатической нагрузки у пациенток пожилого возраста с раком молочной железы ($4,3 \pm 0,3$ балла) по сравнению с пациентками среднего возраста с раком молочной железы ($2,9 \pm 0,2$ балла) ($p < 0,01$). Кроме того, величина аллостатической нагрузки у пациенток среднего возраста с диагностированным раком молочной железы достоверно выше ($2,7 \pm 0,2$ балла), чем среди пациенток того же возраста без новообразования – $1,6 \pm 0,1$ балла. Аналогичная закономерность установлена и в группе пациенток пожилого возраста, среди которых показатель аллостатической нагрузки существенно выше у пациенток с наличием рака молочной железы ($4,3 \pm 0,3$ балла), чем при его отсутствии – $2,9 \pm 0,2$ балла ($p < 0,001$). Наиболее существенно пациентки 60–74 лет с раком молочной железы отличаются от возрастного контроля по таким показателям аллостатической нагрузки, как уровень общего холестерина – $5,8 \pm 1,3$ ммоль/л против $4,0 \pm 0,8$ ммоль/л, альбуминов $45,1 \pm 7,4$ % против $61,4 \pm 7,6$ % соответственно. Статистически значимые различия у пациенток пожилого возраста с раком молочной железы по сравнению с возрастным контролем (без рака молочной железы) выявлены также по таким биомаркерам аллостатической нагрузки, как систолическое артериальное давление, диастолическое артериальное давление, уровень в крови триглицеридов и глюкозы, окружность талии. Содержание триглицеридов в крови пациенток 60–74 лет с раком молочной железы в 1,8 раза выше, чем у пациенток аналогичного возраста с отсутствием новообразования ($p < 0,001$). Уровень глюкозы в крови в сравниваемых группах пациенток достоверно выше у пациенток с раком молочной железы, он составляет $5,8 \pm 1,2$ г/л против $4,4 \pm 1,1$ г/л в возрастном контроле ($p < 0,01$). **Выводы.** Аллостатическую нагрузку и ее показатели следует использовать в качестве биомаркеров повышенного риска развития рака молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, аллостатическая нагрузка, пожилые.

ALLOSTATIC LOAD IN PATIENTS WITH BREAST CANCER

K.F. Makkonen¹, N.M. Agarkov^{1,2}, U.S. Stanoevich³, A.A. Titov²,
M.S. Mitikhina², E.A. Moskaleva¹

Belgorod State National Research University of the Ministry of Education and Science of Russia,
Belgorod, Russia¹

85, Pobedy St., 308015, Belgorod, Russia. E-mail: vitalaxen@mail.ru¹

South-Western State University of the Ministry of Education and Science of Russia, Kursk, Russia²

94, 50 years of October St., 305040, Kursk, Russia²

Kursk Oncology Research and Clinical Center named after G.E. Ostroverkhov
of the Health Committee of the Kursk region, Kursk, Russia³

1, Eliseeva St., 305524, Kursk, Russia³

Abstract

Breast cancer is the most common cancer in women worldwide. However, the allostatic load in breast cancer patients has not been sufficiently studied. **Objective:** To study the allostatic load in middle-aged and elderly patients with breast cancer. **Material and Methods.** The study included 65 middle-aged and 60 elderly patients with histologically confirmed breast cancer and 45 people aged 60-74 years, who had no breast cancer. The allostatic load was studied in these three groups according to the level: systolic and diastolic blood pressure, total cholesterol, triglycerides, high and low density lipoproteins, glucose, albumins and waist circumference. **Results.** The allostatic load score was significantly higher in elderly breast cancer patients than in middle-aged breast cancer patients (4.3 ± 0.3 points versus 2.9 ± 0.2 points, $p < 0.01$). In addition, the allostatic load score in the middle-aged patients with breast cancer was significantly higher (2.7 ± 0.2 points) than in people of the same age, who had no breast cancer (1.6 ± 0.1 points). In elderly patients, the allostatic load score was also significantly higher in patients with breast cancer than in people without breast cancer (4.3 ± 0.3 points and 2.9 ± 0.2 points, respectively; $p < 0.001$). Significant differences in the allostatic load parameters, such as the levels of total cholesterol (5.8 ± 1.3 mmol/l versus 4.0 ± 0.8 mmol/l), and albumin (45.1 ± 7.4 % versus 61.4 ± 7.6 %) were found between breast cancer patients aged 60-74 years and people of an identical age, who had no breast cancer. Statistically significant differences in allostatic load biomarkers, such as systolic blood pressure, diastolic blood pressure, blood levels of triglycerides and glucose, and waist circumference were found between elderly patients with breast cancer and age controls (without breast cancer). The content of triglycerides in the blood of patients aged 60-74 years with breast cancer was 1.8 times higher than that in patients of the same age with no breast cancer ($p < 0.001$). The blood glucose level was significantly higher in patients with breast cancer than in the age controls (5.8 ± 1.2 g/l versus 4.4 ± 1.1 g/l, $p < 0.01$). **Conclusion.** The allostatic load and its variables should be used as biomarkers of increased risk of breast cancer.

Key words: breast cancer, allostatic load, elderly.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенной злокачественной опухолью у женщин во всем мире, представляя собой серьезную проблему общественного здравоохранения [1–3]. Ежегодно выявляется около 1 384 155 новых случаев РМЖ и почти 459 000 больных умирает от этого заболевания [4, 5]. В то время как показатели заболеваемости РМЖ выше в популяциях с высоким социально-экономическим статусом, смертность выше в популяциях с низким социально-экономическим статусом, и, следовательно, существуют различия в этих показателях между различными регионами и странами [1].

Максимальная заболеваемость РМЖ по стандартизованным показателям наблюдается в Бельгии, составляя 110,8 случая на 100 000 женщин, и несколько ниже в Италии – 102,1 и во Франции – 100,2 случая на 100 000 женщин [6]. Несмотря на прогресс в диагностике РМЖ, остаются нерешенные вопросы его выявления, особенно у женщин

пожилого возраста. Некоторые исследователи предлагают использовать аллостатическую нагрузку и ее составляющие у пациенток с подозрением на РМЖ [7, 8]. В недавнем метаанализе [9], включающем 4 исследования по оценке аллостатической нагрузки у темнокожих пациенток с раком молочной железы, авторы отметили, что имеется множество ограничений, а именно существует неоднородность в расчете аллостатической нагрузки, что затрудняет сравнение результатов из разных источников. Более того, ни один из использованных расчетов аллостатической нагрузки не был подтвержден для пациенток с РМЖ и не был воспроизведен в других исследованиях. Поскольку эти данные получены из вторичных источников, биомаркеры, используемые для аллостатической нагрузки, ограничены изначально включенными переменными. В связи с этим представленные в метаанализе результаты по аллостатической нагрузке у темнокожих пациенток с раком молочной железы требуют дальнейшего исследования [9]. Кроме того, исследований, по-

Таблица 1/Table 1

Основные клинико-демографические данные пациенток сравниваемых групп
The main clinical and demographic data of patients of the compared groups

Критерий/Criteria	Пациентки пожилого возраста с раком молочной железы/ Elderly patients with breast cancer	Пациентки пожилого возраста без рака молочной железы/ Elderly patients without breast cancer
Средний возраст, лет/Middle age	70,2 ± 1,3	69,1 ± 1,1
Длительность заболевания, лет/ Duration of the disease, years	4,8 ± 0,5	—
Городские жители/Urban residents	62,5 ± 4,8 %	55,9 ± 4,2 %
Сельские жители/ Rural residents	37,5 ± 4,8 %	44,1 ± 4,2 %
Замужем/Married	60,2 ± 3,3 %	78,4 ± 3,1 %
Курение/Smoking	15,4 ± 1,8 %	9,6 ± 1,1 %

священных изучению аллостатической нагрузки у пожилых пациенток с раком молочной железы, проведено недостаточно.

Цель исследования – изучение аллостатической нагрузки у пациенток среднего и пожилого возраста с раком молочной железы.

Материал и методы

Гипотезой являлось положение о том, что высокая аллостатическая нагрузка способствует раку молочной железы. Обследовано 65 пациенток среднего и 60 пациенток пожилого возраста с раком молочной железы. Диагноз был установлен по результатам комплексного клинического, ультразвукового исследования и подтвержден цитологическим методом. В исследование также включено 45 пациенток пожилого возраста без РМЖ в качестве группы сравнения. Критерии включения пациенток в исследование: возраст 60–74 года, рак молочной железы, письменное согласие пациенток. К критериям исключения относились: возраст менее 60 и более 74 лет, перенесенные за последние полгода инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, метаболический синдром, сахарный диабет I и II типа, системный атеросклероз, другие злокачественные новообразования, туберкулез, острый воспалительный процесс любой локализации, короновирусная инфекция. В исследование и последующий анализ включались пациентки, давшие письменное информированное согласие на участие. Основные клинико-демографические данные сравниваемых групп представлены в табл. 1.

Среди показателей аллостатической нагрузки изучены: систолическое артериальное давление; диастолическое артериальное давление; общий холестерин в крови; липопротеиды высокой плотности; липопротеиды низкой плотности; уровень глюкозы в крови; содержание альбуминов в крови; окружность талии. Выбор этих показателей в качестве биомаркеров аллостатической нагрузки у пациенток с РМЖ обусловлен тем, что, по данным литературы, нарушения липидного, углеводного

обмена, ожирение, приводящее к метаболическим нарушениям, сердечно-сосудистой патологии в виде повышения артериального давления, связаны с развитием рака молочной железы [10, 11].

При отклонении вышеуказанных показателей аллостатической нагрузки выше 75-го перцентиля данному биомаркеру присваивался 1 балл. Максимально возможное количество баллов, которое могла набрать одна пациентка с раком молочной железы, составляло 9 баллов, т. к. изучалось 9 биомаркеров. В последующем рассчитывалось среднее значение аллостатической нагрузки для каждой пациентки и группы в целом. Полученные результаты представлялись в виде средних арифметических величин (М) и их ошибок (m), а для биомаркеров – в виде средних величин (М) и стандартных отклонений (SD). При статистическом анализе и сравнении изученных показателей использовался критерий Краскела–Уоллиса с поправкой Бонферрони.

Результаты

Оценка аллостатической нагрузки среди пациенток с раком молочной железы и отсутствием данной нозологии новообразования в среднем возрасте свидетельствует о значимом различии исследуемого показателя (рис. 1). Оказалось, что величина аллостатической нагрузки у больных РМЖ в возрасте 45–59 лет значимо превышает аналогичный показатель в группе контроля ($p < 0,01$).

Степень дисрегуляции, отражаемая аллостатической нагрузкой, значительно превосходит рассмотренные ранее показатели аллостатической нагрузки у пациенток среднего возраста и значимо больше в пожилом возрасте у пациенток с раком молочной железы. Аллостатическая нагрузка у пожилых пациенток с РМЖ значимо выше, как и в группе лиц среднего возраста, имеющих рак молочной железы, по сравнению с пациентками такого же возраста без РМЖ ($p < 0,001$). Также значимо различается величина аллостатической нагрузки между пациентками среднего и пожилого возраста с РМЖ, которая значительно больше

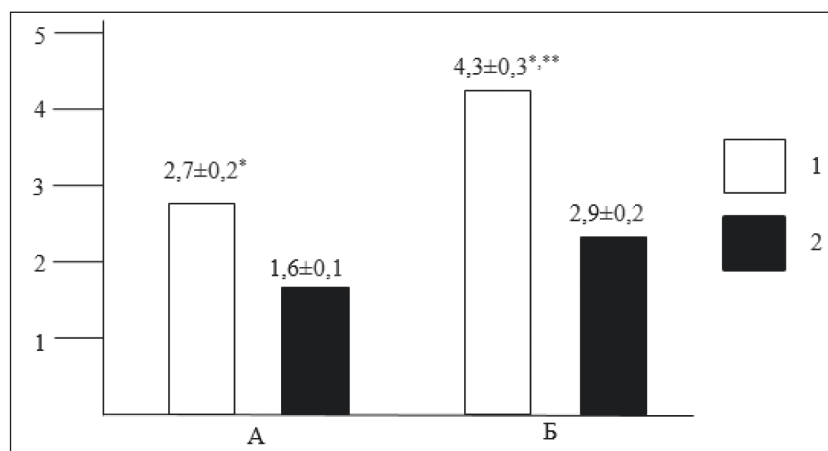


Рис. 1. Величина аллостатической нагрузки у пациенток среднего (А) и пожилого (Б) возраста с раком молочной железы ($M \pm m$, баллы). По оси абсцисс представлены группы пациенток среднего и пожилого возраста с раком молочной железы и контрольной группы, по оси ординат – показатель аллостатической нагрузки. Примечание: 1 – больные раком молочной железы; 2 – женщины без рака молочной железы; * – различия между пациентками основной и контрольной группы среднего и пожилого возраста статистически значимые, ** – различия между пациентками среднего и пожилого возраста с раком молочной железы статистически значимые

Fig. 1. The value of allostatic load in middle-aged (A) and elderly (B) patients with breast cancer ($M \pm m$, points). The abscissa axis represents groups of middle-aged and elderly patients with breast cancer and the control group, the ordinate axis shows the indicator of allostatic load. Note: 1 – patients with breast cancer,

2 – patients without breast cancer; * – statistically significant difference between patients of the main and control groups of middle and elderly age, ** – statistically significant difference between middle-aged and elderly patients with breast cancer

среди больных пожилого возраста. Следовательно, величина аллостатической нагрузки значимо выше у больных РМЖ среднего и пожилого возраста, что указывает на то, что величина аллостатической нагрузки может отражать степень риска развития РМЖ, которую необходимо учитывать при скрининговом обследовании данной категории пациенток.

В связи с тем, что величина аллостатической нагрузки оказалась значимо выше среди пациенток пожилого возраста, в данной подгруппе были изучены биологические маркеры аллостатической нагрузки (табл. 2). Установлены значимые различия между пациентками пожилого возраста с раком молочной железы и аналогичного возраста без РМЖ по 7 из 9 изученным биологическим маркерам. Оказалось, что систолическое артериальное давление у пожилых пациенток с раком молочной железы значимо выше, чем в группе контроля. При этом систолическое артериальное давление у пожилых пациенток в основной группе превышало референсные границы, а у пациенток контрольной группы соответствовало границам нормы. Вместе с тем, диастолическое артериальное давление в обеих группах находилось в референсном диапазоне, но было значимо выше у пациенток пожилого возраста с РМЖ. Аналогичная закономерность выявлена и для уровня общего холестерина в сыворотке крови, содержание которого оказалось выше у пожилых пациенток с раком молочной железы. Содержание триглицеридов в сыворотке крови имело более высокий уровень среди пациенток с раком молочной железы в возрасте 60–74 года со значимыми различиями по сравнению с лицами

60–74 года без РМЖ. В уровне других фракций липидтранспортной системы значимых различий в сравниваемых группах не обнаружено. Однако уровень глюкозы в сыворотке крови пожилых пациенток с раком молочной железы статистически оказался значимо выше, чем в группе контроля. Содержание альбуминов в крови пациенток с раком молочной железы было ниже референсного уровня и по отношению к группе контроля. Окружность талии у пациенток пожилого возраста с РМЖ была значимо выше, чем в группе контроля.

Выявленные отклонения биомаркеров аллостатической нагрузки у пациенток 60–74 года с раком молочной железы свидетельствуют о напряжении организма по всем показателям аллостатической нагрузки, кроме диастолического артериального давления, липопротеидов высокой и низкой плотности. Биологические маркеры у пациенток пожилого возраста с раком молочной железы свидетельствуют об ухудшении адаптационных способностей и более существенных проявлениях дисрегуляции при исследовании рассматриваемых биомаркеров.

Обсуждение

Диагноз и симптомы рака молочной железы вызывают сильный стресс [12]. Стрессовые расстройства встречаются при раке молочной железы с частотой 22 % через 6 мес после постановки диагноза. Некоторые методы лечения, например операция, также повышают уровень стресса. Известно, что стресс, вызванный хирургическим вмешательством при раке, оказывает системный эффект, включая воспаление, ишемию

Таблица 2/Table 2

Биологические маркеры аллостатической нагрузки у пациенток пожилого возраста с раком молочной железы

Biological markers of allostatic load in elderly patients with breast cancer

Биологический маркер/ Biological marker	Пациентки пожилого возраста с раком молочной железы/ Elderly patients with breast cancer	Пациентки пожилого возраста без рака молочной железы/ Elderly patients without breast cancer	p
Систолическое артериальное давление, мм рт.ст./ Systolic blood pressure, mmHg	141,3 ± 8,5	130,5 ± 7,2	<0,01
Диастолическое артериальное давление, мм рт.ст./ Diastolic blood pressure, mmHg	89,7 ± 4,4	78,2 ± 3,2	<0,001
Общий холестерин, ммоль/л/ Total cholesterol, mmol/l	5,8 ± 1,3	4,0 ± 0,8	<0,001
Триглицериды, ммоль/л/ Triglycerides, mmol/l	2,4 ± 0,5	1,3 ± 0,3	<0,001
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л/ High-density lipoproteins, mmol/l	0,9 ± 0,3	0,8 ± 0,4	>0,05
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л/ Low-density lipoproteins, mmol/l	5,0 ± 0,8	4,3 ± 0,9	>0,05
Глюкоза, г/л/Glucose, g/l	5,8 ± 1,2	4,4 ± 1,1	<0,05
Альбумин, %/Albumin, %	45,1 ± 7,4	61,4 ± 7,6	<0,001
Окружность талии, см/ Waist circumference, cm	104,8 ± 12,5	92,4 ± 8,6	<0,05

ческие реперфузионные повреждения, активацию симпатической нервной системы, повышенное высвобождение цитокинов [13] и изменение аллостатической нагрузки.

Аллостатическая нагрузка (АН) описывает физиологическую нагрузку кумулятивного стресса на биологические системы, участвующие в адаптации к воздействиям окружающей среды [7]. В некоторых исследованиях при оценке непосредственной связи между АН и уровнем онкологической смертности у населения США показано, что более высокая аллостатическая нагрузка связана с повышенным риском смертности независимо от вида злокачественной опухоли. Индекс массы тела, часто используемый при оценке аллостатической нагрузки, считается хорошо документированным фактором риска смертности, в том числе и от рака, так как способствует хроническому воспалению и другим метаболическим изменениям, которые являются компонентами АН [7].

В общенациональной проспективной когорте чернокожие имели значительно более высокие исходные баллы аллостатической нагрузки, чем представители европейской расы. При этом независимо от возрастной группы средний балл АН с учетом индекса массы тела среди чернокожих был неизменно выше по сравнению с европейской

расой [13]. Нами показано, что аллостатическая нагрузка значительно повышается у пациенток пожилого возраста с раком молочной железы по сравнению с лицами среднего возраста с таким же онкологическим заболеванием. В другом исследовании выявлена ассоциация для смертности от всех причин с индексом массы тела и возрастными категориями, а также для смертности от рака среди лиц в возрасте 65 лет и старше. Кроме того, учитывая связь ожирения, сопутствующих заболеваний и воспаления с раком молочной железы, эти показатели следует принимать во внимание при оценке аллостатической нагрузки у больных РМЖ [2].

Закключение

У больных раком молочной железы величина аллостатического индекса значительно выше как в среднем, так и в пожилом возрасте. Используемые показатели аллостатической нагрузки, особенно уровень альбуминов и общего холестерина, могут применяться в качестве скрининговых маркеров, ассоциированных с риском развития рака молочной железы. Указанные биомаркеры также характеризуют состояние физиологического резерва пожилых пациенток с раком молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Fares M.Y., Salhab H.A., Khachfe H.H., Khachfe H.M. Breast Cancer Epidemiology among Lebanese Women: An 11-Year Analysis. *Medicina* (Kaunas). 2019; 55(8): 463. doi: 10.3390/medicina55080463.
2. Liu F.C., Lin H.T., Kuo C.F., See L.C., Chiou M.J., Yu H.P. Epidemiology and survival outcome of breast cancer in a nationwide study. *Oncotarget*. 2017; 8(10): 16939–50. doi: 10.18632/oncotarget.15207.
3. Балмаганбетова Ф.К., Нурғалиева Р.Е., Тухватшин Р.Р., Жексенова А.Н., Калдыбаева А.Т., Аманжолқызы А., Булекова З.С. Современные аспекты эпидемиологии рака молочной железы: обзор литературы. *West Kazakhstan Medical Journal*. 2020; 2: 125–33 [Bal-maganbetova F.K., Nurgaliyeva R.E., Tukhvatshin R.R., Zheksenova A.N., Kaldybaeva A.T., Amanzholkysy A., Bulekova Z.S. Modern aspects of breast cancer epidemiology: literature review. *West Kazakhstan Medical Journal*. 2020; 2: 125–33. (in Russian)].
4. Zavala V.A., Serrano-Gomez S.J., Dutil J., Fejerman L. Genetic Epidemiology of Breast Cancer in Latin America. *Genes* (Basel). 2019; 10(2): 153. doi: 10.3390/genes10020153.
5. Momenimovahed Z., Salehiniya H. Epidemiological characteristics of risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer* (Dove Med Press). 2019; 11: 151–64. doi: 10.2147/BCTT.S176070.
6. Семглазов В.Ф., Мерабишвили В.М., Семглазов В.В., Комяхов А.В., Демин Е.В., Апрощенко А.В., Харитонов М.В. Эпидемиология и скрининг рака молочной железы. *Вопросы онкологии*. 2017; 63(3): 375–84. [Semiglazov V.F., Merabishvili V.M., Semiglazov V.V., Komya-khov A.V., Demin E.V., Atroshchenko A.V., Kharitonov M.M. Epidemiology and screening for breast cancer. *Problems in Oncology*. 2017; 63(3): 375–84. (in Russian)]. doi: 10.37469/0507-3758-2017-63-3-375-384.
7. Akinyemiju T., Wilson L.E., Deveaux A., Aslibekyan S., Cushman M., Gilchrist S., Safford M., Judd S., Howard V. Association of Allostatic Load with All-Cause and Cancer Mortality by Race and Body Mass Index in the REGARDS Cohort. *Cancers* (Basel). 2020; 12(6): 1695. doi: 10.3390/cancers12061695.
8. Mathew A., Doorenbos A.Z., Li H., Jang M.K., Park C.G., Bronas U.G. Allostatic Load in Cancer: A Systematic Review and Mini Meta-Analysis. *Biol Res Nurs*. 2021; 23(3): 341–61. doi: 10.1177/1099800420969898.
9. Chen J., Douglass J., Prasath V., Neace M., Archian S., Manjili M.H., Shokouhi S., Habibi M. The microbiome and breast cancer: a review. *Breast Cancer Res Treat*. 2019; 178(3): 493–6. doi: 10.1007/s10549-019-05407-5.
10. Rose D.P., Vona-Davis L. Biochemical and molecular mechanisms for the association between obesity, chronic inflammation, and breast cancer. *Biofactors*. 2014; 40(1): 1–12. doi: 10.1002/biof.1109.
11. Pierce B.L., Ballard-Barbash R., Bernstein L., Baumgartner R.N., Neuhauser M.L., Wener M.H., Baumgartner K.B., Gilliland F.D., Sorensen B.E., McTiernan A., Ulrich C.M. Elevated biomarkers of inflammation are associated with reduced survival among breast cancer patients. *J Clin Oncol*. 2009; 27(21): 3437–44. doi: 10.1200/JCO.2008.18.9068.
12. Rhee E.J. Being Metabolically Healthy, the Most Responsible Factor for Vascular Health. *Diabetes Metab J*. 2018; 42(1): 19–25. doi: 10.4093/dmj.2018.42.1.19.
13. Xing C.Y., Dooze M., Qin B., Lin Y., Carson T.L., Plascak J.J., Demissie K., Hong C.C., Bandera E.V., Llanos A.A.M. Pre-diagnostic al-lostatic load and health-related quality of life in a cohort of Black breast cancer survivors. *Breast Cancer Res Treat*. 2020; 184(3): 901–14. doi: 10.1007/s10549-020-05901-1.

Поступила/Received 20.05.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 27.06.2022

Принята к публикации/Accepted 15.07.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Макконен Кристина Феликсовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры факультетской терапии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки России (г. Белгород, Россия). SPIN-код: 1282-5565. ORCID: 0000-0002-4190-8651.

Агарков Николай Михайлович, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник клиники «Проблемы старения», ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки России (г. Белгород, Россия); профессор кафедры биомедицинской инженерии, ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет» Минобрнауки России (г. Курск, Россия). SPIN-код: 8921-6603. ORCID: 0000-0002-4821-3692.

Станоевич Угелша Спасоевич, доктор медицинских наук, главный врач, ОБУЗ «Курский онкологический научно-клинический центр им. Г.Е. Островерхова» (г. Курск, Россия). SPIN-код: 8988-3420.

Титов Антон Андреевич, студент, ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет» Минобрнауки России (г. Курск, Россия). ORCID: 0000-0003-4209-3930.

Митихина Мария Сергеевна, студентка, ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет» Минобрнауки России (г. Курск, Россия). ORCID: 0000-0002-9937-228X.

Москалева Екатерина Олеговна, студентка, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки России (г. Белгород, Россия). ORCID: 0000-0003-4196-0713.

ВКЛАД АВТОРОВ

Макконен Кристина Феликсовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания

Агарков Николай Михайлович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания

Станоевич Угелша Спасоевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания

Титов Антон Андреевич: сбор данных, поиск литературы.

Митихина Мария Сергеевна: сбор данных, поиск литературы.

Москалева Екатерина Олеговна: сбор данных, поиск литературы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Kristina F. Makkonen, MD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Faculty Therapy, Belgorod State National Research University of the Ministry of Education and Science of Russia (Belgorod, Russia). ORCID: 0000-0002-4190-8651.

Nikolai M. Agarkov, MD, DSc, Senior Researcher at the Clinic “Problems of Aging”, Belgorod State National Research University Ministry of Education and Science of Russia (Belgorod, Russia); Professor of the Department of Biomedical Engineering, South-Western State University of the Ministry of Education and Science of Russia (Kursk, Russia). ORCID: 0000-0002-4821-3692.

Uglesha S. Stanoevich, MD, DSc, Chief Physician of the Kursk Oncology Research and Clinical Center named after G.E. Ostroverkhov (Kursk, Russia).

Anton A. Titov, Student, South-Western State University of the Ministry of Education and Science of Russia (Kursk, Russia). ORCID: 0000-0003-4209-3930.

Maria S. Mitikhina, Student, South-Western State University of the Ministry of Education and Science of Russia (Kursk, Russia). ORCID: 0000-0002-9937-228X.

Ekaterina O. Moskaleva, Student, Belgorod State National Research University of the Ministry of Education and Science of Russia (Belgorod, Russia). ORCID: 0000-0003-4196-0713.

AUTHOR CONTRIBUTION

Kristina F. Makkonen: research supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Nikolai M. Agarkov: research supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Uglesha S. Stanoevich: research supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Anton A. Titov: data collection, literature search.

Maria S. Mitikhina: data collection, literature search.

Ekaterina O. Moskaleva: data collection, literature search.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-47-55
УДК: 616.24-006.6:577.112

Для цитирования: Тихомирова М.В., Бармин В.В., Топчу Ю.А., Мазитова А.М., Ратнер Е.Ю., Сабиров А.Г., Абрамова З.И., Денека А.Я. Экспрессия поддерживающего белка NEDD9 как негативный прогностический маркер при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 47–55. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-47-55

For citation: Tikhomirova M.V., Barmin V.V., Topchu Yu.A., Mazitova A.M., Ratner E.Yu., Sabirov A.G., Abramova Z.I., Deneka A.Ya. NEDD9 scaffolding protein expression as a negative prediction marker in non-small cell lung cancer (NSCLC). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 47–55. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-47-55

ЭКСПРЕССИЯ ПОДДЕРЖИВАЮЩЕГО БЕЛКА NEDD9 КАК НЕГАТИВНЫЙ ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО (НМРЛ)

М.В. Тихомирова¹, В.В. Бармин², Ю.А. Топчу¹, А.М. Мазитова¹, Е.Ю. Ратнер³,
А.Г. Сабиров³, З.И. Абрамова¹, А.Я. Денека¹

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия¹

Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18. E-mail: denekaalex@gmail.com¹

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия²

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3²

ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Татарстан им. проф. М.З. Сигала, г. Казань, Россия³

Россия, 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 29³

Аннотация

Цель исследования. Оценка прогностической значимости поддерживающего белка NEDD9 у пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). NEDD9 (Neural precursor cell Expressed, Developmentally Down-regulated 9) является поддерживающим белком во множестве внутриклеточных белковых каскадов, таких как PI3K-AKT-mTOR, Ras-ERK, играющих ключевые роли при прогрессировании опухолей. В литературе охарактеризована регуляторная роль NEDD9 во множестве солидных опухолей, в т. ч. и НМРЛ, однако детального анализа с целью оценки значимости NEDD9 как предиктивного маркера прогрессирования немелкоклеточного рака легкого ранее проведено не было. **Материал и методы.** Проведены Log-rank анализ (тест логарифмического ранга) между клинико-патологическими параметрами когорты пациентов с НМРЛ (n=16) и ИГХ-экспрессии NEDD9, оцененной с помощью метода количественной оценки h-score, в гистологических образцах пациентов, а также корреляционное исследование между показателями течения заболевания, такими как общая (ОВ) и беспрогрессивная выживаемость (БПВ), и экспрессией NEDD9. Полученные данные были валидированы в более обширной когорте данных РНК-секвенирования TCGA (n=566). **Результаты.** Показана достоверная разница (p<0,05) между экспрессией NEDD9 на третьей стадии заболевания в сравнении со второй и четвертой. Уровень экспрессии был аппроксимирован на высокий и низкий (по усредненному значению h-score=56.14) и был обнаружен положительный корреляционный тренд между сниженной экспрессией NEDD9 и снижением общей (ОВ) и беспрогрессивной выживаемостью (БПВ) пациентов. Анализ когорты пациентов из TCGA позволил обнаружить статистически достоверную положительную зависимость между экспрессией NEDD9 и ОВ (p=0,05). **Заключение.** Экспрессия поддерживающего белка NEDD9 как на белковом, так и РНК уровне положительно коррелирует с негативным прогнозом при НМРЛ. Для более детального понимания роли NEDD9 в развитии и метастазировании НМРЛ необходимы фундаментальные и клинические исследования с использованием более обширных когорт пациентов.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, общая выживаемость, беспрогрессивная выживаемость, поддерживающие белки, NEDD9, маркеры-предикторы.

NEDD9 SCAFFOLDING PROTEIN EXPRESSION AS A NEGATIVE PREDICTION MARKER IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER (NSCLC)

M.V. Tikhomirova¹, V.V. Barmin², Yu.A. Topchu¹, A.M. Mazitova¹,
E.Yu. Ratner³, A.G. Sabirov³, Z.I. Abramova¹, A.Ya. Deneka¹

Kazan (Privolzhsky) Federal University, Kazan, Russia¹

18, Kremlyevskaya Street, 420008, Kazan, Russia. E-mail: denekaalex@gmail.com¹

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical
Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia²
3, 2-nd Botkinsky proezd, 25284, Moscow, Russia²

M. Sigal Republic Clinical Cancer Center, Kazan, Russia³

29, Sibirskiy Trakt, 420029, Kazan, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to assess the prognostic significance of a scaffolding NEDD9 protein in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). NEDD9 (Neural Precursor Cell Expressed, Developmentally Down-regulated 9) is a scaffolding protein in many intracellular protein cascades, such as PI3K-AKT-mTOR, Ras-ERK, which play key roles in tumor progression. Several studies define the regulatory role of NEDD9 in progression of several solid cancers, including non-small cell lung cancer (NSCLC), however its role as a prediction biomarker is minimally assessed. **Materials and Methods.** In the current study quantitative immunohistochemical (IHC) approach was utilized to characterize NEDD9 expression in a cohort of NSCLC primary tumor samples (n=16), and correlative statistical analysis was performed between NEDD9 expression and a set of patients' clinical and pathological characteristics. Results of the IHC analysis were validated using broader TCGA RNAseq dataset (n=566). **Results.** The study demonstrated significant difference between the expression of NEDD9 in stage III tumors versus stages II and IV ($p<0.05$). Next, NEDD9 expression level was approximated to high and low (based on median h-score=56.14) and statistical survival analysis revealed a positive correlative trend between the decreased expression of NEDD9 and the decrease in the overall (OS) and progression-free survival (PFS) of the patients. Analysis of TCGA dataset harboring RNA seq data confirmed statistically significant correlation ($p=0.05$) between low NEDD9 expression and decreased OS. **Conclusion.** This study suggests that the expression of the scaffolding protein NEDD9, both at the protein and RNA levels, positively correlates with a negative prognosis in NSCLC, suggesting that it can potentially be used as a novel biomarker of disease progression. Further basic and clinical research defining the role of NEDD9 in the progression and metastasis of NSCLC are strongly warranted.

Key words: Non-small cell lung cancer, overall survival, scaffolding proteins, NEDD9, prediction markers.

Введение

В настоящее время смертность от немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) занимает лидирующее место среди всех онкологических заболеваний [1]. Несмотря на то, что в последнее время увеличивается количество пациентов, для которых заболевание выявляется на ранних стадиях, большинство больных обращаются за лечением с распространенным НМРЛ, когда прогноз становится неблагоприятным, особенно при наличии рефрактерного к лечению метастатического поражения [2]. Поэтому важную роль для совершенствования методов лечения НМРЛ играют не только разработка новых препаратов и терапевтических подходов, более эффективных на поздних стадиях, но также улучшение адъювантной терапии, а также поиск новых прогностических биомаркеров НМРЛ.

Одним из новых и потенциально значимых биомаркеров является NEDD9. Этот белок является поддерживающим медиатором в множестве

внутриклеточных сигнальных каскадов, таких как PI3K-AKT-mTOR, Ras-ERK, и интегринов, играющих ключевые роли в росте и прогрессировании множества опухолей, в т. ч. и НМРЛ [3–6], а также активатором тирозинкиназ семейства SRC, повышенная экспрессия которых ассоциируется с процессами эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) – одного из ключевых биологических механизмов, лежащих в основе метастазирования НМРЛ [7–10]. В литературе показано, что повышенная экспрессия NEDD9 в опухолевых клетках ассоциируется с увеличением метастатического потенциала за счет приобретения клетками более мезенхимального фенотипа и увеличения миграционной способности клеток [11–14]. Важно отметить данные о том, что изменение уровней экспрессии NEDD9 в солидных опухолях ассоциируется с метастазированием и сниженной выживаемостью пациентов [15, 16], однако этот вопрос в контексте НМРЛ изучен недостаточно

досконально: детального анализа корреляции экспрессии NEDD9 с клиническими показателями выживаемости и прогрессированием заболевания проведено не было.

Целью исследования явилась оценка прогностической значимости белка NEDD9 у пациентов с НМРЛ.

Материал и методы

В данном ретроспективном исследовании нами были изучены образцы первичных опухолей от 16 пациентов с НМРЛ, фиксированные в парафине, полученные из базы данных образцов пациентов, проходивших лечение в Республиканском клиническом онкологическом диспансере (РКОД) г. Казань, Республики Татарстан. Исследование одобрено этическим комитетом РКОД и Казанского федерального университета, протокол № 8 от 13.02.18. У каждого пациента на момент проведения забора материала с целью гистологической верификации, а также перед хирургическим лечением было взято письменное согласие на последующую анонимизированную обработку. Все образцы были анонимизированы, аннотированы.

Ткани первичной опухоли легкого были зафиксированы формальдегидом и погружены в парафин. Парафиновый блок, содержащий образцы тканей, нарезают, толщиной 3–5 мкм и фиксируют их на предметном стекле. ИГХ-окрашивание выполняли по следующей методике: срезы с целью депарафинизации трижды погружали в 100 % ксилен на 5 мин. Затем срезы дегидратировались в серии растворов этанола (100, 70, 50 %) при погружении на 3 мин в каждый. Затем проводилась термическая демаскировка эпитопов в 0,01М цитратном буфере (pH 6.0). ИГХ окрашивание производилось с использованием первичных антител к NEDD9 в концентрации 5 мкг/мл (2G9, Abcam, Бостон, США) и набора вторичных антител против мыши HRP/DAV IHC Detection kit–Micro-polymer (Abcam ab236466, Бостон, США). В качестве негативного контроля окрашивания вместо первичного антитела к NEDD9 использовалось мышиное IgG антитело. После ИГХ-окрашивания производилось дополнительное окрашивание гематоксилином. В конце срезы были повторно дегидратированы с помощью погружения в серию растворов этанола (70, 96, 100 %) и ксилена на 3 мин в каждый. Покрытые стекла фиксировались с помощью раствора Histomount (HS-103, National Diagnostics, Атланта, США).

Окрашенные препараты сканировались на рабочей станции Leica Aperio CS2 (Leica Biosystems, Сан-Диего, США). Оценку ИГХ-экспрессии NEDD9 проводили с использованием полуколичественного метода h-score в программном обеспечении QPath (QuPath: <https://qupath.github.io/>) [17], при котором уровень экспрессии определяется по формуле

$$[1 \times (\% \text{ клеток } 1+) + 2 \times (\% \text{ клеток } 2+) + 3 \times (\% \text{ клеток } 3+)]$$

и варьируется от 0 до 300 баллов [18].

Для корреляционного анализа РНК экспрессии NEDD9 и клинико-прогностических показателей пациентов с НМРЛ использовались материалы общедоступных баз данных Атласа геномных данных опухолей (TCGA) пациентов с аденокарциномой легкого, находящиеся на портале <http://www.cbioportal.org> (ноябрь 2021). Использовался доступный онлайн набор инструментов визуализации и обработки данных [19].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (Сан-Диего, США), а также инструментов статистического анализа, доступных на сайте <http://www.cbioportal.org>. Для сравнения количественного показателя h-score на разных стадиях НМРЛ использовался непараметрический тест Манна–Уитни. Корреляция клинико-патологических показателей и экспрессии NEDD9 была оценена методом log-rank test. Кривые выживаемости были построены с использованием метода Каплана–Мейера для оценки БПВ и ОБ.

Результаты

В исследовании анализировалась когорта из 16 пациентов, из них 69 % мужчин, 31 % женщин (табл. 1). Медиана возраста – 57 лет, средний возраст – 57,3 года, стандартное отклонение – 7,4 года; диапазон от 38 до 68 лет. Четверем (25 %) пациентам был поставлен диагноз НМРЛ II стадии, 6 и 6 пациентам – НМРЛ III и IV стадии (по 37,5 % соответственно). Больным проведено лечение в соответствии с текущими клиническими рекомендациями; ни один из пациентов не участвовал в клинических исследованиях. Химио- и таргетная терапия проводилась в адъювантном режиме. Образцы опухолевой ткани были получены перед началом лечения. Пациентам с IV стадией НМРЛ была выполнена расширенная лобэктомия или пневмонэктомия с паллиативной целью. Данных за ассоциацию между клинико-патологическими характеристиками, такими как возраст, пол, стадия заболевания, и общей (ОБ) или бесспрогрессивной (БПВ) выживаемостью не обнаружено ($p > 0,05$) (табл. 2).

На первом этапе исследования нами была проведена оценка уровней экспрессии белка NEDD9 с использованием метода ИГХ окрашивания и анализа h-score. Обнаружено, что при НМРЛ III стадии отмечается значимое снижение уровня белка NEDD9 по сравнению с НМРЛ II стадии (усредненный h-score 31,5 против 52,1; $p = 0,04$), с дальнейшим повышением при НМРЛ IV стадии (усредненный h-score 31,5 против 76,05; $p = 0,006$) (рис. 1А, Б). Для подтверждения полученных данных в более широкой выборке была произведена оценка экспрессии РНК NEDD9 в базе данных

Таблица 1/Table 1

**Клиническая характеристика исследуемой
когорты больных НМРЛ**

**Clinical characteristics of the cohort of NSCLC
patients**

Показатель/Parameter	
Пол/Gender	
Мужской/Males	69 %
Женский/Females	31 %
Возраст на момент постановки диагноза, лет / Age at diagnosis, years	
Средний/Medium	57,3
Мин/Min	38
Макс/Max	68
Ст. отклонения/Standard deviation	7,4
Гистологический тип опухоли/Histological type of tumor	
Аденокарцинома/Adenocarcinoma	43,8 %
Плоскоклеточный рак/ Squamous cell carcinoma	31,1 %
Папиллярная аденокарцинома/ Papillary adenocarcinoma/	6,3 %
Аденосквамозная карцинома/ Adenosquamous carcinoma	12,5%
Бронхиоло-альвеолярный рак/ Bronchioalveolar carcinoma	6,3 %
Стадия/Stage	
IIA	12,5 %
IIB	12,5 %
IIIA	31,3 %
IIIB	6,3 %
IVA	12,5 %
IVB	24,9 %
T стадия/Stage T	
x	6 %
2	81 %
4	13 %
N стадия/Stage N	
0	13 %
1	44 %
2	25 %
3	6 %
x	13 %
M стадия/Stage M	
0	81 %
1	19 %
Курение/Smoking	
Курильщик/Smoker	63 %
Не курил(а)/Non-smoker	37 %
Лечение на стадиях I–III/Treatment for stages I–III	
Химиотерапия/Chemotherapy	10 %
Хирургическое лечение/Surgery	90 %
Лечение на IV стадии/Treatment for stage IV	
Таргетная и химиотерапия/ Targeted therapy and chemotherapy	16,6 %
Химиотерапия/Chemotherapy	50 %
Хирургическое лечение/Surgery	33,4 %

пациентов TCGA_PanCancer (n=566). Вариабельности экспрессии NEDD9, сходной с таковой, обнаруженной ранее, подтверждено не было (рис. 1 В), однако отмечался тренд к повышению экспрессии NEDD9 при НМРЛ IV стадии.

Для оценки прогностической значимости экспрессии NEDD9 нами проведен корреляционный анализ между уровнями экспрессии NEDD9 (как белка, так и РНК) и общей выживаемостью (ОВ), а также беспрогрессивной выживаемостью (БПВ) пациентов с НМРЛ. На первом этапе анализ проводился в когорте образцов РКОД. Значимой корреляции между экспрессией NEDD9 (дихотомическое распределение по усредненному значению h-score=56,14) и ОВ и БПВ у пациентов на стадиях заболевания не обнаружено (ОВ – $p=0,31$; БПВ – $p=0,33$; рис. 2А, Б), однако отмечался тренд между низким уровнем экспрессии NEDD9 и снижением показателей ОВ и БПВ.

Поскольку одним из ограничений данного исследования является небольшой размер выборки, для верификации полученных данных на следующем этапе был проведен аналогичный анализ с использованием более обширной когорты TCGA_PanCancer. Обнаружено, что снижение экспрессии РНК NEDD9 (нижний квартиль диапазона экспрессии) в первичных опухолях НМРЛ значимо коррелирует со снижением ОВ ($p=0,05$; рис. 2 В), но не с БПВ ($p=0,45$; рис. 2Г), по сравнению с повышенной (верхний квартиль) экспрессией NEDD9.

Обсуждение

Совершенствование методов хирургического лечения и системной терапии не всегда приводит к существенному улучшению отдаленных результатов, но внедрение таргетной терапии в адъювантном режиме позволяет значительно снизить частоту рецидивов и отдаленных метастазов (исследование ADAURA) [20]. Поэтому поиск новых предиктивных биомаркеров, позволяющих оценить риски прогрессирования НМРЛ, является чрезвычайно актуальным [21, 22].

В данном исследовании обнаружено, что при НМРЛ III стадии отмечается значимое снижение экспрессии белка NEDD9. Однако по данным анализа выживаемости, проведенного с использованием расширенной выборки пациентов (566 образцов), именно сниженная экспрессия РНК NEDD9 являлась негативным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости пациентов. Поскольку экспрессия белков, участвующих во внутриклеточных сигнальных каскадах, связанных с пролиферативной и миграционной активностью опухолевых клеток, в которых NEDD9 играет важную роль, в значительной степени регулируется посттрансляционно [23], на основании полученных данных сделан вывод о том, что стабильная экспрессия РНК NEDD9 не всегда коррелирует с уровнями белка в клетках. Это позволяет, с одной

Таблица 2/Table 2

Log-rank анализ между клинико-патологическими параметрами пациентов НМРЛ
с общей и беспрогрессивной выживаемостью

Log-rank analysis of clinicopathological parameters of the NSCLC patient with overall or progression-free survival

Показатель/Parameter		Общая выживаемость, мес, ДИ 95 %/ Overall survival, months, 95 % CI	Log-rank	p-value	Беспрогрессивная выживаемость, мес, ДИ 95 %/ Progression- free survival, months, 95 % CI	Log-rank	p-value
Возраст, лет/Age (years)							
< медиана/ median	7 (43,7 %)	16,0 (13,8–18,2)	0,64	0,43	7,0 (6,0–8,0)	2,13	0,14
> медиана / median	9 (56,3 %)	22,0 (13,2–30,8)			9,0 (8,1–9,9)		
Ст. откл./ Standard deviation	7,4						
Пол/Sex							
Муж/ Male	11 (69 %)	15,0 (6,4–23,6)	0,05	0,82	7,0 (3,9–10,1)	0,53	0,47
Жен/Female	5 (31 %)	18,0 (15,8–20,2)			8,0 (6,3–9,7)		
Стадия/ Stage							
II	4 (25 %)	19,0 (13,9–24,1)	3,62	0,16	9,0 (7,8–10,2)	1,04	0,6
III	6 (37.5 %)	19,0 (15,3–22,7)			7,0 (5,2–8,8)		
IV	6 (37,5 %)	12,0 (3,3–20,7)			4,0 (2,5–5,5)		
Всего/ Total	16 (100 %)						

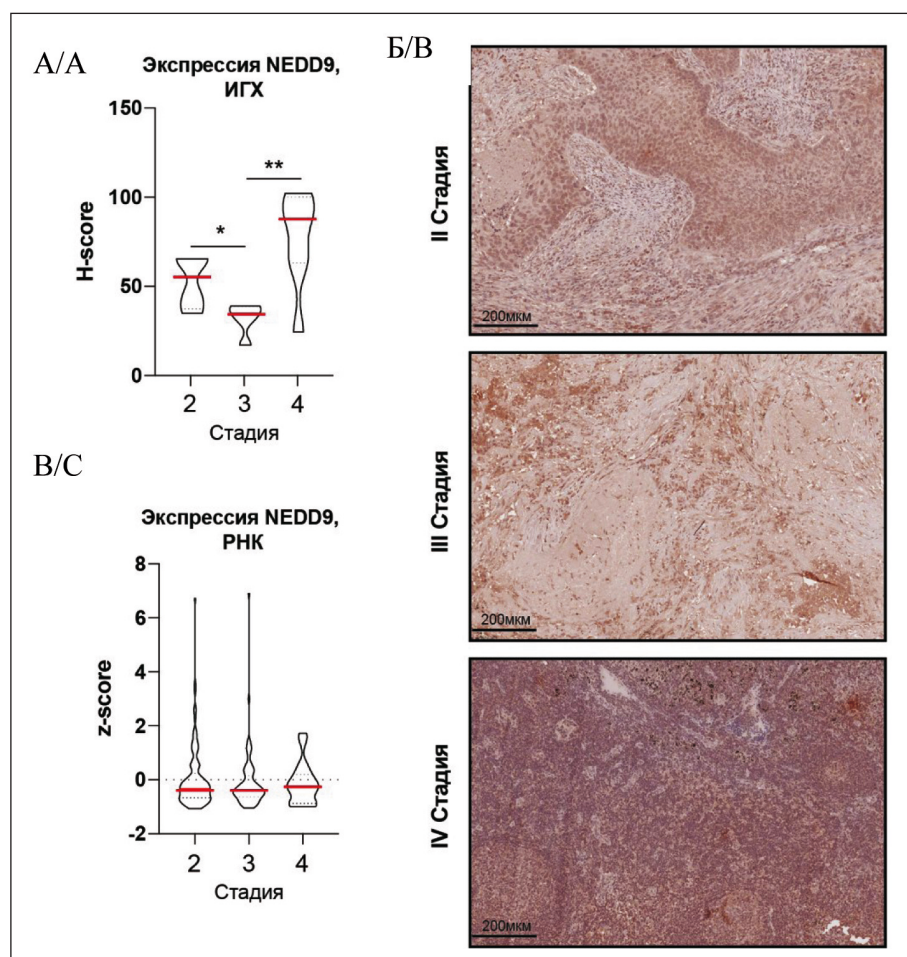


Рис. 1. Разделение уровней экспрессии NEDD9 у больных НМРЛ разных стадий: А) уровни белка NEDD9 в образцах когорты РКВД, установленные с помощью анализа h-score данных ИГХ, а также репрезентативные микрофотографии (Б); В) уровни мРНК NEDD9 (относительные z-score), установленные по данным анализа РНК-секвенирования доступных в базе данных TCGA-PanCan на <http://www.cbioportal.org>. На графиках: * – p<0,05; ** – p<0,01. Шкала: 200 мкм

Fig. 1. Segregation of NEDD9 expression levels of patients with NSCLC at different stages of the disease: А) NEDD9 protein levels in samples from the RCOD cohort as determined by h-score analysis of IHC data, and representative photo-micrographs (Б); С) NEDD9 mRNA levels (relative z-score) determined from TCGA-PanCan RNAseq dataset available at <http://www.cbioportal.org>. All graphs: * – p<0.05; ** – p<0.01. Scale: 200 μm

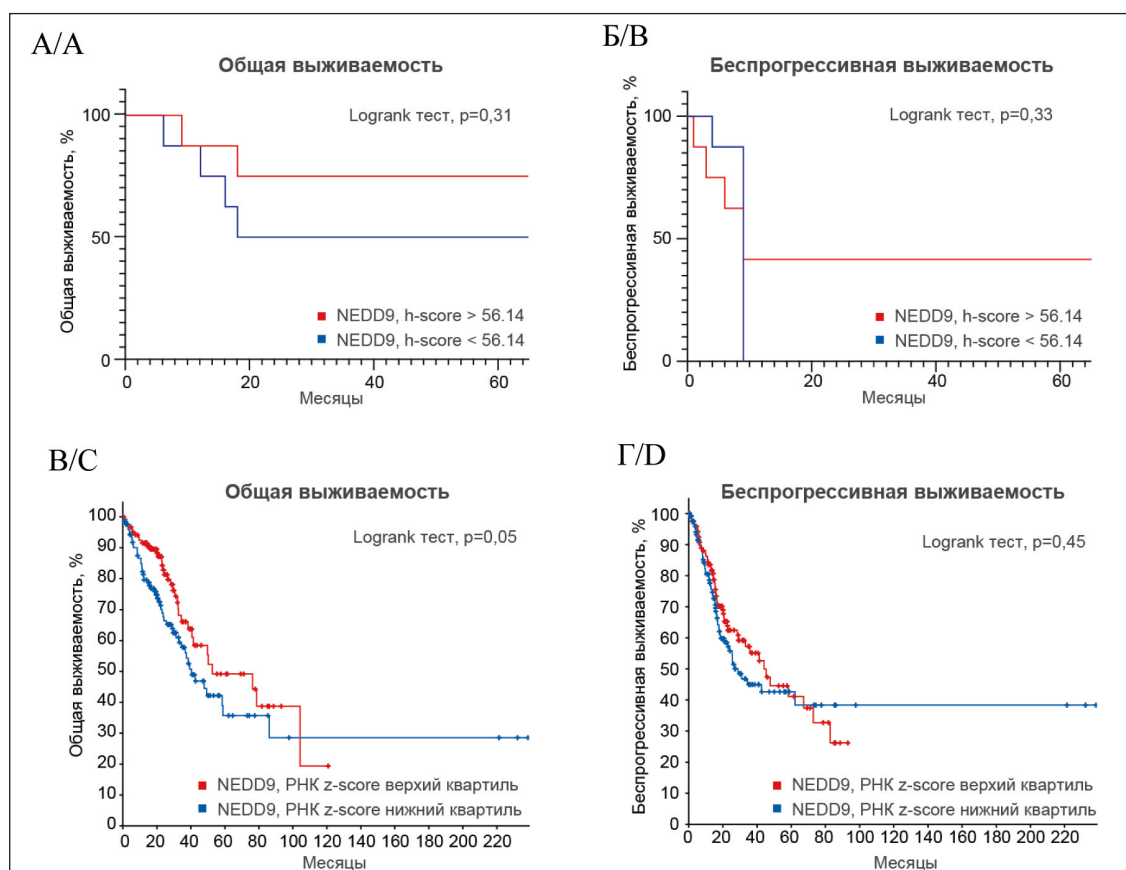


Рис. 2. Корреляция экспрессии NEDD9 в исследуемых когортах НМРЛ с ОВ и БПВ. Кривые общей (ОВ) и бесспрогрессивной (БПВ) выживаемости по методу Каплана–Мейера на основе данных h-score экспрессии белка NEDD9 в образцах когорты РКОД (А, Б) и значений z-score мРНК *NEDD9*, доступных в базе данных TCGA-PanCan на <http://www.cbioportal.org> (В, Г)
Fig. 2. Correlation of NEDD9 expression with OS and PFS in the NSCLC cohorts. Overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) curves plotted using the Kaplan–Meier method, based on h-score data of NEDD9 protein expression in RCO cohort samples (А, В) and *NEDD9* mRNA z-score data available in the TCGA-PanCan dataset at <http://www.cbioportal.org> (С, Д)

стороны, объяснить различия между экспрессией белка (оцененной с помощью ИГХ) и РНК (РНК-секвенирование) NEDD9 на различных стадиях. С другой стороны, эта разница может указывать на то, что на разных этапах прогрессирования НМРЛ в опухолевых клетках активируются биологические механизмы, зависящие поэтапно от уровней РНК и белка NEDD9.

Полученные нами данные, а также анализ литературы позволяют потенциально номинировать NEDD9 в качестве нового прогностического маркера течения заболевания у пациентов с НМРЛ II–III стадий. Одним из достоинств данного исследования является то, что для оценки экспрессии NEDD9 использован метод ИГХ, рутинно применяющийся в клинической практике, в отличие от РНК-секвенирования, которое пока не получило широкого распространения. Достоинствами последнего являются возможность аннотирования профилей экспрессии большой панели генов, обнаружение новых сигнатур экспрессии, специфичных для отдельных групп клеток, однако, учитывая наличие опухолевой гетерогенности, метод ИГХ

позволяет провести качественную оценку большей опухолевой поверхности и может служить дополнительным верификационным критерием результатов РНК-секвенирования [24]. Несмотря на ограниченный размер выборки образцов ИГХ, нами был обнаружен тренд к снижению выживаемости пациентов со сниженным уровнем экспрессии белка NEDD9, что, несомненно, указывает на необходимость проведения последующих ИГХ-исследований с использованием расширенных когорт образцов.

Заключение

На основании результатов исследования можно сделать вывод о том, что измерение уровня экспрессии поддерживающего белка NEDD9 у пациентов с НМРЛ может быть использовано в качестве нового прогностического маркера течения заболевания на ранних стадиях. Дальнейшие исследования значимости этого белка с использованием более широкой экспериментальной выборки представляют значительный интерес.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA Cancer J Clin. 2019; 69(1): 7–34. doi: 10.3322/caac.21551.
2. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2016. National Cancer Institute. Bethesda, MD.
3. Law S.F., Estojak J., Wang B., Mysliwiec T., Kruh G., Golemis E.A. Human enhancer of filamentation 1, a novel p130cas-like docking protein, associates with focal adhesion kinase and induces pseudohyphal growth in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol Cell Biol. 1996; 16(7): 3327–37. doi: 10.1128/MCB.16.7.3327.
4. Minegishi M., Tachibana K., Sato T., Iwata S., Nojima Y., Morimoto C. Structure and function of Cas-L, a 105-kD Crk-associated substrate-related protein that is involved in beta 1 integrin-mediated signaling in lymphocytes. J Exp Med. 1996; 184(4): 1365–75. doi: 10.1084/jem.184.4.1365.
5. van Seventer G.A., Salmen H.J., Law S.F., O'Neill G.M., Mullen M.M., Franz A.M., Kanner S.B., Golemis E.A., van Seventer J.M. Focal adhesion kinase regulates beta1 integrin-dependent T cell migration through an HGF1 effector pathway. Eur J Immunol. 2001; 31(5): 1417–27. doi: 10.1002/1521-4141(200105)31:5<1417::AID-IMMU1417>3.0.CO;2-C.
6. Bui L.C., Tomkiewicz C., Chevallier A., Pierre S., Bats A.S., Mota S., Raingeaud J., Pierre J., Diry M., Transy C., Garlatti M., Barouki R., Coumoul X. Nedd9/Hef1/Cas-L mediates the effects of environmental pollutants on cell migration and plasticity. Oncogene. 2009; 28(41): 3642–51. doi: 10.1038/onc.2009.224.
7. Kim L.C., Song L., Haura E.B. Src kinases as therapeutic targets for cancer. Nat Rev Clin Oncol. 2009; 6(10): 587–95. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.129.
8. Ombrato L., Malanchi I. The EMT universe: space between cancer cell dissemination and metastasis initiation. Crit Rev Oncog. 2014; 19(5): 349–61. doi: 10.1615/critrevoncog.2014011802.
9. Singh A., Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. Oncogene. 2010; 29(34): 4741–51. doi: 10.1038/onc.2010.215.
10. Smith B.N., Bhowmick N.A. Role of EMT in Metastasis and Therapy Resistance. J Clin Med. 2016; 5(2):17. doi: 10.3390/jcm5020017.
11. Morimoto K., Tanaka T., Nitta Y., Ohnishi K., Kawashima H., Nakatani T. NEDD9 crucially regulates TGF- β -triggered epithelial-mesenchymal transition and cell invasion in prostate cancer cells: involvement in cancer progressiveness. Prostate. 2014; 74(8): 901–10. doi: 10.1002/pros.22809.
12. Feng J., Zhao J., Xie H., Yin Y., Luo G., Zhang J., Feng Y., Li Z. Involvement of NEDD9 in the invasion and migration of gastric cancer. Tumour Biol. 2015; 36(5): 3621–8. doi: 10.1007/s13277-014-2999-1.
13. Miao Y., Li A.L., Wang L., Fan C.F., Zhang X.P., Xu H.T., Yang L.H., Liu Y., Wang E.H. Overexpression of NEDD9 is associated with altered expression of E-Cadherin, β -Catenin and N-Cadherin and predictive of poor prognosis in non-small cell lung cancer. Pathol Oncol Res. 2013; 19(2): 281–6. doi: 10.1007/s12253-012-9580-2.
14. Topchu Y.A., Mazitova A.M., Tikhomirova M.V., Abramova Z.I., Deneka A.Y. Nedd9 Regulates Metastasis of Non-Small Cell Lung Cancer through Activation of Epithelial-Mesenchymal Transition and Tumor Cells Migration. Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki. 2020. 162(1): 123–33.
15. Deneka A.Y., Kopp M.C., Nikonova A.S., Gaponova A.V., Kiseleva A.A., Hensley H.H., Flieder D.B., Serebriiskii I.G., Golemis E.A. Nedd9 Restrains Autophagy to Limit Growth of Early Stage Non-Small Cell Lung Cancer. Cancer Res. 2021; 81(13): 3717–26. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-3626.
16. Shagisultanova E., Gaponova A.V., Gabbasov R., Nicolas E., Golemis E.A. Preclinical and clinical studies of the NEDD9 scaffold protein in cancer and other diseases. Gene. 2015; 567(1): 1–11. doi: 10.1016/j.gene.2015.04.086.
17. Bankhead P., Loughrey M.B., Fernández J.A., Dombrowski Y., McArt D.G., Dunne P.D., McQuaid S., Gray R.T., Murray L.J., Coleman H.G., James J.A., Salto-Tellez M., Hamilton P.W. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. Sci Rep. 2017; 7(1): 16878. doi: 10.1038/s41598-017-17204-5.
18. Hirsch F.R., Varela-Garcia M., Bunn P.A. Jr., Di Maria M.V., Veve R., Bremmes R.M., Barón A.E., Zeng C., Franklin W.A. Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. J Clin Oncol. 2003; 21(20): 3798–807. doi: 10.1200/JCO.2003.11.069.
19. Gao J., Aksoy B.A., Dogrusoz U., Dresdner G., Gross B., Sumer S.O., Sun Y., Jacobsen A., Sinha R., Larsson E., Cerami E., Sander C., Schultz N. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. Sci Signal. 2013; 6(269). doi: 10.1126/scisignal.2004088.
20. Wu Y.L., John T., Grohe C., Majem M., Goldman J.W., Kim S.W., Kato T., Laktionov K., Vu H.V., Wang Z., Lu S., Lee K.Y., Akewanlop C., Yu C.J., de Marinis F., Bonanno L., Domine M., Shepherd F.A., Zeng L., Atasoy A., Herbst R.S., Tsuboi M. Postoperative Chemotherapy Use and Outcomes From ADAURA: Osimertinib as Adjuvant Therapy for Resected EGFR-Mutated NSCLC. J Thorac Oncol. 2022; 17(3): 423–33. doi: 10.1016/j.jtho.2021.10.014.
21. Tian Y., Xu J., Chu Q., Duan J., Zhang J., Bai H., Yang Z., Fang W., Cai L., Wan R., Fei K., He J., Gao S., Zhang L., Wang Z., Wang J. A novel tumor mutational burden estimation model as a predictive and prognostic biomarker in NSCLC patients. BMC Med. 2020; 18(1): 232. doi: 10.1186/s12916-020-01694-8.
22. Camidge D.R., Doebele R.C., Kerr K.M. Comparing and contrasting predictive biomarkers for immunotherapy and targeted therapy of NSCLC. Nat Rev Clin Oncol. 2019; 16(6): 341–55. doi: 10.1038/s41571-019-0173-9.
23. Kudinov A.E., Karanickolas J., Golemis E.A., Bumber Y. Musashi RNA-Binding Proteins as Cancer Drivers and Novel Therapeutic Targets. Clin Cancer Res. 2017; 23(9): 2143–53. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2728.
24. Byron S.A., Van Keuren-Jensen K.R., Engelthaler D.M., Carpten J.D., Craig D.W. Translating RNA sequencing into clinical diagnostics: opportunities and challenges. Nat Rev Genet. 2016; 17(5): 257–71. doi: 10.1038/nrg.2016.10.

Поступила/Received 23.04.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 27.06.2022

Принята к публикации/Accepted 19.07.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тихомирова Мария Владимировна, младший научный сотрудник НИЛ «Молекулярные основы патогенеза и терапии опухолевых заболеваний», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 4208-9021. Researcher ID (WOS): AAF-8922-2019. Author ID (Scopus): 57218905317. ORCID: 0000-0001-9357-3649.

Бармин Виталий Валерьевич, кандидат медицинских наук, врач-торакальный хирург, 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. Researcher ID (WOS): ABF-2617-2020. Author ID (Scopus): 55460197600.

Топчу Юлия Алексеевна, младший научный сотрудник НИЛ «Молекулярные основы патогенеза и терапии опухолевых заболеваний», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 5669-3336. Researcher ID (WOS): M-5368-2014. Author ID (Scopus): 57221785324. ORCID: 0000-0001-9105-5207.

Мазитова Александра Маратовна, младший научный сотрудник НИЛ «Молекулярные основы патогенеза и терапии опухолевых заболеваний», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 1746-3371. Researcher ID (WOS): B-8410-2019. Author ID (Scopus): 57003759900. ORCID: 0000-0002-9523-0698.

Ратнер Екатерина Юрьевна, врач-онколог отделения химиотерапии №1, ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Татарстан им. проф. М.З. Сигала (г. Казань, Россия). SPIN-код: 3593-9228. Author ID (Scopus): 57221997470.

Сабиров Алексей Германович, кандидат медицинских наук, заведующий патологоанатомическим отделением, ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Татарстан им. проф. М.З. Сигала (г. Казань, Россия). Author ID (Scopus): 57219981849.

Абрамова Зинаида Ивановна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник НИЛ «Молекулярные основы патогенеза и терапии опухолевых заболеваний», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 5293-9741. Researcher ID (WOS): N-6976-2013. Author ID (Scopus): 24833015100. ORCID: 0000-0003-3749-3411.

Денека Александр Ярославович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Молекулярные основы патогенеза и терапии опухолевых заболеваний», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (г. Казань, Россия). E-mail: denekaalex@gmail.com. SPIN-код: 6142-1215. Researcher ID (WOS): Q-7273-2017. Author ID (Scopus): 56703288700. ORCID: 0000-0003-2448-5156.

ВКЛАД АВТОРОВ

Тихомирова Мария Владимировна: подбор материалов исследования, экспериментальная работа, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Бармин Виталий Валерьевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, редактирование черновика рукописи.

Топчу Юлия Алексеевна: подбор материалов исследования, экспериментальная работа, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Мазитова Александра Маратовна: подбор материалов исследования, экспериментальная работа, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Ратнер Екатерина Юрьевна: подбор материалов исследования, экспериментальная работа, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Сабиров Алексей Германович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, редактирование черновика рукописи.

Абрамова Зинаида Ивановна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, редактирование черновика рукописи.

Денека Александр Ярославович: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, редактирование черновика рукописи.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 18-75-00104. Часть работы выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Maria V. Tikhomirova, Junior Researcher, Research Laboratory "Molecular Foundations of the Pathogenesis and Therapy of Tumor Diseases", Kazan (Privolzhsky) Federal University (Kazan, Russia). Researcher ID (WOS): AAF-8922-2019. Author ID (Scopus): 57218905317. ORCID: 0000-0001-9357-3649.

Vitaliy V. Barmin, MD, PhD, Thoracic Surgeon, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): ABF-2617-2020. Author ID (Scopus): 55460197600.

Yuliya A. Topchu, Junior Researcher, Scientific Research Laboratory "Molecular Foundations of the Pathogenesis and Therapy of Tumor Diseases", Kazan (Privolzhsky) Federal University (Kazan, Russia). Researcher ID (WOS): M-5368-2014. Author ID (Scopus): 57221785324. ORCID: 0000-0001-9105-5207.

Alexandra M. Mazitova, Junior Researcher, Scientific Research Laboratory "Molecular Foundations of the Pathogenesis and Therapy of Tumor Diseases", Kazan (Privolzhsky) Federal University (Kazan, Russia). Researcher ID (WOS): B-8410-2019. Author ID (Scopus): 57003759900. ORCID: 0000-0002-9523-0698.

Ekaterina Yu. Ratner, MD, Oncologist, Department of Chemotherapy No. 1, M. Sigal Republic Clinical Cancer Center (Kazan, Russia). Author ID (Scopus): 57221997470.

Aleksey G. Sabirov, MD, PhD, M. Sigal Republic Clinical Cancer Center (Kazan, Russia). Author ID (Scopus): 57219981849.

Zinaida I. Abramova, DSc, Chief Researcher of the Research Laboratory "Molecular Foundations of the Pathogenesis and Therapy of Tumor Diseases", Kazan (Privolzhsky) Federal University (Kazan, Russia). Researcher ID (WOS): N-6976-2013. Author ID (Scopus): 24833015100. ORCID: 0000-0003-3749-3411.

Alexander Ya. Deneka, PhD, Senior Researcher, Scientific Research Laboratory "Molecular Foundations of the Pathogenesis and Therapy of Tumor Diseases", Kazan (Privolzhsky) Federal University (Kazan, Russia). E-mail: denekaalex@gmail.com. Researcher ID (WOS): Q-7273-2017. Author ID (Scopus): 56703288700. ORCID: 0000-0003-2448-5156.

AUTHOR CONTRIBUTION

Maria V. Tikhomirova: data collection, experimental work, statistical processing, drafting of the manuscript.

Vitaliy V. Barmin: analysis of the scientific work, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, editing the draft of the manuscript.

Julia A. Topchu: selection of research materials, experimental work, statistical processing, drafting of the manuscript.

Alexandra M. Mazitova: selection of research materials, experimental work, statistical processing, drafting of the manuscript.

Ekaterina Yu. Ratner: selection of research materials, experimental work, statistical processing, drafting of the manuscript.

Aleksey G. Sabirov: analysis of the scientific work, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, editing of the draft manuscript.

Zinaida I. Abramova: analysis of the scientific work, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, editing the draft of the manuscript.

Alexander Ya. Deneka: development of the concept of scientific work, statistical processing, editing the draft of the manuscript.

Funding

This research was funded by a Russian Science Foundation project 18-75-00104 and by the Russian Government Program for Competitive Growth of Kazan Federal University.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Синянский Л.Е., Крахмаль Н.В., Наумов С.С., Паталяк С.В., Афанасьев С.Г., Вторушин С.В. Связь экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода с клинико-морфологическими параметрами рака толстой кишки. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 56–63. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-56-63

For citation: Sinyanskiy L.E., Krakhmal N.V., Naumov S.S., Patalyak S.V., Afanasyev S.G., Vtorushin S.V. Relationship of the epithelial-mesenchymal transition expression markers with clinical and morphological parameters of colon cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 56–63. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-56-63

СВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

Л.Е. Синянский^{1,2}, Н.В. Крахмаль^{1,2}, С.С. Наумов², С.В. Паталяк^{1,2},
С.Г. Афанасьев¹, С.В. Вторушин^{1,2}

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

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: dr.sinyanskii@gmail.com¹

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

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

Аннотация

Актуальной проблемой современной онкологии являются опухоли толстой кишки с мезенхимально-подобным подтипом, который определяет неблагоприятное клиническое течение заболевания. **Цель исследования** – изучить клинико-морфологические характеристики рака толстой кишки в зависимости от экспрессии маркеров FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 в ткани первичной опухоли. **Материал и методы.** Проведен совокупный анализ экспрессии FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 с патоморфологическими критериями у 100 больных раком толстой кишки T1–4bN0–2bM0. Результаты. Опухоли с выраженными мезенхимными признаками характеризуются большим размером первичной опухоли, низкой степенью дифференцировки, поражением регионарных лимфатических узлов и, как следствие, большей стадией заболевания. Обнаружена зависимость частоты и уровня экспрессии FRMD6, ZEB1 и HTR2B в отношении степени дифференцировки аденокарциномы кишки, показано, что при наличии позитивной экспрессии и высоких значениях процента экспрессии данных белков в ткани новообразования повышается степень морфологической анаплазии опухоли. **Заключение.** Исследование позволило обнаружить связь иммуногистохимических маркеров FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 с характеристиками опухоли, определяющими течение онкологического процесса. Изученные маркеры в дальнейшем могут иметь прогностическое и предиктивное значение при раке толстой кишки.

Ключевые слова: рак толстой кишки, эпителиально-мезенхимальный переход, FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2.

RELATIONSHIP OF THE EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION EXPRESSION MARKERS WITH CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF COLON CANCER

L.E. Sinyanskiy^{1,2}, N.V. Krakhmal^{1,2}, S.S. Naumov², S.V. Patalyak^{1,2},
S.G. Afanasyev¹, 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: dr.sinyanskii@gmail.com¹

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

2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia²

Abstract

The treatment of colon cancer with a mesenchymal-like phenotype poses a great challenge. **Purpose of the study:** to research expression of FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 in the primary tumor tissue with relation of the clinical and pathological features of colon cancer. **Material and Methods.** A combined analysis of the expression of FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 with pathological criteria was performed in 100 patients with T1–4bN0–2bM0 colon cancer. Results of the study show that tumors with mesenchymal signs are characterized by a large size of the primary tumor, a high grade of differentiation, regional metastases, and eventually advanced stage of the disease. The frequency and expression levels of FRMD6, ZEB1 and HTR2B are depended of grade of adenocarcinoma. In cases with positive expression and a high percentage of expression of these proteins in the cancer cells, the degree of tumor morphological anaplasia increases. **Conclusion.** The study made it possible to reveal the relationship of IHC markers (FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2) with tumor characteristics that determine the outcome. The studied markers may have prognostic and predictive value in treatment approaches of colon cancer.

Key words: colon cancer, epithelial-mesenchymal transition, FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2.

Введение

Рак толстой кишки (РТК) является 4-м наиболее часто диагностируемым злокачественным новообразованием и занимает 5-е место среди причин онкологической смертности во всем мире [1]. Несмотря на то, что скрининг колоректального рака увеличил частоту выявления его ранних форм и улучшил показатели выживаемости больных, в 48,7 % случаев РТК диагностируется на поздней стадии (III–IV). В 2019 г. летальность в первый год с момента постановки диагноза РТК составила 24,1 % [2, 3].

В настоящее время при многих злокачественных опухолях доказана роль эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) в процессах инвазии, миграции и метастазирования клеток, что, в свою очередь, и определяет развитие метастатической болезни и выживаемость пациентов [4–6]. Многочисленные исследования подтвердили, что запуск ЭМП опосредован большим количеством различных сигнальных путей, включающих трансформирующий фактор роста- β /Smads [4], Wnt/ β -катенин, PI3K/Akt [7], Notch [8], HT-5/RAS, IL-6/STAT и сигнальный путь HIF1 α , индуцированный гипоксией [9]. Установлена роль нескольких ключевых факторов транскрипции ЭМП, участвующих в мезенхимальной трансформации при метастазировании опухолей, среди которых Snail, Slug (Snai2), ZEB1/2 и Twist [10–14]. Данные факторы транскрипции действуют в различных комбинациях, подавляя уровень эпителиального маркера Е-кадгерина, одновременно активируя мезенхимальные сигнатуры, такие как N-кадгерин, виментин и фибронектин, тем самым способствуя склонности злокачественно измененных опухолевых клеток к мезенхимальному фенотипу [15].

С позиции молекулярной биологии опухоли и прогноза РТК является крайне гетерогенным заболеванием. Наиболее агрессивным клиническим течением характеризуются карциномы, имеющие мезенхимально-подобный молекулярный профиль и выделенные в отдельный подтип в соответствии

с Международным консенсусом от 2015 г. [16]. Новообразования данного подтипа свойственны повышенная активация ЭМП, ангиогенез, выраженная стромальная инфильтрация, высокий риск отдаленных и перитонеальных метастазов, а также резистентность к стандартной химиотерапии и более низкие показатели безрецидивной и общей выживаемости [17].

Субтипирование РТК на данный момент является нерешенной проблемой для применения в реальной практике в связи с недоступностью методов и дороговизной генетических исследований. Существуют работы, посвященные поиску решения данной проблемы [18], в них были выделены перспективные иммуногистохимические маркеры. Так, F. Wang et al. показано, что увеличение количества ZEB1 в клетках колоректального рака способствовало пролиферации, миграции и инвазии клеток, т.е. был индуцирован ЭМП [19]. Еще одним маркером, обладающим высокими показателями экспрессии в мезенхимальных опухолях, является рецептор серотонина HTR2B [20]. Серотонин посредством стимуляции HTR1B и HTR2B активирует сигнальный путь ERK, являющийся ключевым в системе митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) [21], что приводит к пролиферации опухолевых клеток. Кроме того, путь МАРК/ЕРК участвует в процессах ЭМП, миграции и инвазии [22]. Ингибитором ЭМП выступает фактор транскрипции эпителиальных клеток кишечника CDX2, который посредством трансаактивации PTEN подавляет Snail и стабилизирует β -катенин [23]. FRMD6 (FERM domain containing 6) представляет собой важный адаптерный протеин сигнального пути Hippo, способный связывать ассоциированные с плазматической мембраной белки цитоскелета [24] и имеющий высокий уровень экспрессии в мезенхимально-подобных опухолях [25].

Несмотря на большое количество исследований, посвященных биологии РТК, остается актуальным изучение молекулярных предикторов, ассоциированных с клинико-патологическими проявлениями

заболевания и потенциально обладающих прогностическим значением.

Цель исследования – изучить клинико-морфологические характеристики рака толстой кишки в зависимости от экспрессии маркеров FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 в ткани первичной опухоли.

Материал и методы

В исследование были включены 100 больных с первично-операбельным РТК стадии T1–4bN0–2bM0, проходивших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Критерием включения в исследование был гистологически подтвержденный РТК. В группе исследования в 87 случаях гистотип опухоли соответствовал аденокарциноме NOS (not otherwise specified), в 13 случаях – муцинозной аденокарциноме. Критериями исключения явились РТК IV стадии и факт проведения предоперационной химиотерапии. Средний возраст больных составил $62,2 \pm 12,9$ года, 46 пациентов – мужчины (средний возраст – $63,1 \pm 10,5$ года) и 54 женщины (средний возраст – $63,5 \pm 14,7$ года). Распространенность РТК определялась согласно международной классификации TNM (8-е издание): Па стадия была диагностирована у 22 (22 %) пациентов, Пб стадия – у 23 (23 %), Пс стадия – у 22 (22 %), IIIa стадия – у 4 (4 %), IIIб стадия – у 21 (21 %), IIIс стадия – у 8 (8 %) больных. Хирургическое лечение было выполнено всем пациентам в объеме гемиколонэктомии или радикальной резекции кишки.

Морфологически исследовался операционный материал. В качестве параметров оценивалась макроскопическая форма опухоли, глубина инвазии, состояние краев резекции, проводилась оценка всех лимфатических узлов. Микроскопическое исследование осуществлялось с помощью светового микроскопа «AxioScore A1» фирмы Carl Zeiss. Диагноз новообразования устанавливался согласно «Гистологической классификации опухолей желудочно-кишечного тракта» (ВОЗ, 2020). На светоптическом уровне анализировали следующие параметры: степень дифференцировки карциномы, стромальный и паренхиматозный компоненты по их процентному соотношению в первичной опухоли, инфильтрацию стромы иммунными клетками (при $\times 400$ в 10 полях зрения). Результаты количественной оценки переведены в балльную шкалу (1 балл – слабо выраженная инфильтрация, до 300 иммунных клеток; 2 балла – умеренно выраженная инфильтрация, 300–600 клеток; 3 балла – резко выраженная, более 600 клеток).

Изучение молекулярных параметров проводили на парафиновых срезах образцов опухолевой ткани иммуногистохимическим способом. Исследование выполнялось на автоматическом иммуногистостейнере Bond RX (Leica Biosystem) с использованием антител к CDX2 (clone AMT28, RTU, DiagnosticBiosystem), HTR2B (polyclonal an-

tibody, разведение 1:100, Invitrogen USA), FRMD6 (polyclonal antibody, разведение 1:100, Invitrogen USA), ZEB1 (polyclonal antibody, разведение 1:100, Invitrogen USA). Экспрессию исследуемых маркеров оценивали по следующим параметрам: наличию (позитивное иммунное окрашивание) или отсутствию (негативное окрашивание) экспрессии; проценту опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркера (в 10 полях зрения на 1 000 клеток при $\times 400$).

Статистический анализ проведен с помощью программы Statistica 10.0. Количественные признаки, распределение которых отличалось от нормального, представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ($Q1 \div Q3$). Номинальные признаки описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Для сравнения независимых совокупностей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критериев χ^2 Пирсона и точного теста Фишера. Различия считались статистически значимыми при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты

Иммуногистохимическое исследование образцов ткани первичной опухоли у больных РТК показало довольно разнородную частоту встречаемости изученных молекулярно-биологических параметров. Так, экспрессия HTR2B наблюдалась у 24 пациентов, при этом медиана экспрессии составила 15 ($10 \div 36$). Позитивная экспрессия белков ZEB1 и FRMD6 наблюдалась у 39 и 37 пациентов соответственно. Медианы экспрессии ZEB1 и FRMD6 составили 0 ($0 \div 19$ и $0 \div 16$ соответственно). Иммуногистохимическое окрашивание опухолевых клеток к CDX2 отсутствовало в 4 случаях при позитивном внутреннем контроле, в 96 наблюдениях данный фактор транскрипции был позитивным, однако диапазон экспрессии отличался вариабельностью значений 57 ($18,0 \div 87,5$).

На первом этапе исследования нами был проведен сравнительный анализ частоты и процента экспрессии изучаемых молекулярно-биологических параметров в зависимости от основных клинико-патологических характеристик РТК. Было показано, что частота экспрессии иммуногистохимических маркеров существенно не различалась в зависимости от возраста, пола пациентов, стороны локализации первичной опухоли и макроскопической формы роста.

Анализ зависимости частоты экспрессии иммуногистохимических параметров и стадии заболевания показал, что наиболее значимые различия наблюдались для маркеров HTR2B ($\chi^2 = 14,91$; $p = 0,010$) и FRMD6 ($\chi^2 = 11,38$; $p = 0,044$). Экспрессия данных факторов характеризовалась наибольшей частотой выявления при распространенной стадии заболевания, у пациентов с IIIб и IIIс позитивная

экспрессия HTR2B определялась в 3 раза чаще, а FRMD6 – в 2 раза чаще. При оценке частоты позитивной экспрессии CDX2 и ZEB1 в зависимости от стадии заболевания подобных закономерностей выявлено не было. Однако при проведении подгруппового анализа наблюдалась отчетливая тенденция к большей частоте выявления IIIb стадии заболевания в зависимости от наличия факта позитивной экспрессии маркера ZEB1 в клетках опухоли ($p=0,063$).

Были обнаружены статистически значимые различия между размером первичной опухоли и наличием позитивной экспрессии HTR2B. В случаях отсутствия экспрессии размер новообразования составил 4 см ($3,0 \div 6,0$), при наличии экспрессии (позитивное иммунное окрашивание) указанного маркера данный показатель соответствовал значению 6,75 см ($4,25 \div 8,0$); $p=0,002$. В карциномах толстой кишки с отсутствием экспрессии ZEB1 размер опухоли составил 4 см ($3,0 \div 6,0$), в то время как наличие экспрессии ZEB1 в опухолевых клетках было сопряжено с наибольшими значениями исследуемого показателя – 6,0 см ($4,0 \div 8,0$), $p<0,001$. Аналогичного рода зависимость была обнаружена в отношении экспрессии FRMD6. Размер первичной опухоли составил 4,0 см ($3,0 \div 6,0$) в случаях с отсутствием экспрессии данного маркера, но при позитивном иммунном окрашивании исследуемый параметр соответствовал значению 6,0 см ($4,0 \div 8,0$), $p=0,018$. Анализ возможной взаимосвязи между экспрессией CDX2 и размером первичного очага выявил противоположную закономерность. Было показано, что при отсутствии в опухоли экспрессии транскрипционного фактора CDX2 размер неоплазии значимо превышал таковой по сравнению со случаями, в которых было зафиксировано наличие позитивной экспрессии маркера – 7,5 см ($6,5 \div 8,25$) и 4,5 см ($3,0 \div 7,0$) соответственно ($p=0,035$).

Глубина инвазии опухоли в стенку кишки имеет важное клиническое значение и определяет критерий T при стадировании онкологического процесса. В свою очередь, распространенность опухоли определяется инвазивными свойствами клеток, способностью к локомоции и деградации межклеточного матрикса. Проведен анализ частоты экспрессии изучаемых маркеров в зависимости от глубины прорастания опухолевой ткани в анатомические слои стенки толстой кишки. Статистически значимое различие было обнаружено в отношении экспрессии фактора HTR2B. При позитивной экспрессии данного маркера значимо чаще регистрировалась инвазия через все слои стенки кишки по сравнению с группой пациентов, у которых экспрессия отсутствовала, – 37,5 и 23,6 % ($\chi^2=7,51$; $p=0,051$) соответственно. Для других транскрипционных факторов подобных различий не выявлено.

Степень дифференцировки аденокарциномы толстой кишки на морфологическом уровне явля-

ется совокупным отражением глубины анаплазии опухолевых клеток, в основе которой лежат сложные молекулярные события, обусловленные, в том числе, экспрессией изучаемых нами факторов. При гистологической оценке данной характеристики опухоли учитываются как степень цитологической атипичности клеток, так и морфологические паттерны, которые они формируют. В основе гистологического разнообразия РТК лежат сложные биохимические процессы клеточной адгезии, межклеточной и стромальной интеграции, что обуславливает биологическое поведение опухоли и имеет клиническое значение. В связи с этим представляло интерес оценить сопряженность изучаемых факторов с гистологическим типом опухоли, степенью ее злокачественности и локализацией. В исследуемой группе больных частота встречаемости аденокарциномы NOS и муцинозной карциномы существенно не зависела от локализации опухоли в левой или правой гемиколон. Степень дифференцировки аденокарциномы NOS также не имела подобных различий. По рекомендациям ВОЗ степень дифференцировки не оценивается в муцинозных раках, по этой причине данные пациенты были исключены из статистического анализа ($n=13$).

При анализе сопряженности экспрессии маркера HTR2B и степени дифференцировки аденокарциномы было обнаружено, что позитивная экспрессия данного фактора статистически значимо чаще встречается в низкодифференцированных опухолях (Grade 3), при этом в карциномах с высокой степенью дифференцировки (Grade 1) экспрессия чаще негативная. Аналогичного рода связь была обнаружена между частотой иммунопозитивных опухолей к ZEB1 и FRMD6 и степенью злокачественности карцином толстой кишки. При наличии позитивного иммуногистохимического окрашивания маркера ZEB1 опухоли толстой кишки статистически значимо чаще имели высокую степень злокачественности (Grade 3), в новообразованиях с низкой степенью злокачественности (Grade 1) экспрессия данного белка выявлялась реже. Указанная закономерность была отмечена в отношении экспрессии маркера FRMD6 (табл. 1).

Распределение больных в зависимости от наличия в опухоли экспрессии транскрипционного фактора CDX2 показало более значимую сопряженность показателя со степенью дифференцировки новообразования. В случаях с высокой (Grade 1) и умеренной (Grade 2) степенью дифференцировки в опухолях всегда регистрировалась позитивная экспрессия CDX2. Лишь в 4 наблюдениях в опухолях отмечалась негативная экспрессия исследуемого маркера, при этом во всех случаях карциномы имели низкую степень дифференцировки (Grade 3) (табл. 1).

Обнаруженная зависимость между частотой экспрессии исследуемых факторов в опухоли и степенью ее дифференцировки была подтверждена

Таблица 1/Table 1

Частота позитивной и негативной экспрессии в опухолевой ткани маркеров HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 в зависимости от степени дифференцировки опухоли при раке толстой кишки

Frequency of positive and negative expression of markers HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 in tumor tissue depending on the degree of tumor differentiation in colon cancer

Степень дифференцировки опухоли/ Tumor grade	Частота позитивной и негативной экспрессии маркеров/ Frequency of positive and negative expression of markers							
	HTR2B		ZEB1		FRMD6		CDX2	
	Позитивная экспрессия/ Positive expression	Негативная экспрессия/ Negative expression	Позитивная экспрессия/ Positive expression	Негативная экспрессия/ Negative expression	Позитивная экспрессия/ Positive expression	Негативная экспрессия/ Negative expression	Позитивная экспрессия/ Positive expression	Негативная экспрессия/ Negative expression
Grade 1 (n=18)	4 (22,23 %)	14 (77,77 %)	7 (38,89 %)	11 (61,11 %)	6 (33,34 %)	12 (66,66 %)	18 (100 %)	0
Grade 2 (n=55)	8 (14,55 %)	47 (85,45 %)	18 (32,73 %)	37 (67,27 %)	17 (30,9 %)	38 (69,1 %)	55 (100 %)	0
Grade 3 (n=14)	12 (85,72 %)	2 (14,28 %)	11 (78,58 %)	3 (21,42 %)	12 (85,72 %)	2 (14,28 %)	10 (71,43 %)	4 (28,57 %)
Значимость различий/ Statistical significance	$\chi^2=28,6$; $p<0,001$		$\chi^2=9,7$; $p=0,007$		$\chi^2=14,38$; $p<0,001$		$\chi^2=21,86$; $p<0,001$	

Таблица 2/Table 2

Процент опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркеров HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 в зависимости от степени дифференцировки опухоли при раке толстой кишки

Percentage of tumor cells with positive expression of HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 markers depending on the degree of tumor differentiation in colon cancer

Степень дифференцировки опухоли/ The degree of tumor differentiation	Процент опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркеров/ Percentage of tumor cells with positive expression of HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 markers Me (Q1÷Q3)			
	HTR2B	ZEB1	FRMD6	CDX2
Grade 1 (n=18)	10 (10÷47)	0 (0÷19)	0 (0÷10)	46 (15÷77)
Grade 2 (n=55)	14 (10÷27)	0 (0÷16)	0 (0÷8)	69 (36÷94)
Grade 3 (n=14)	39 (18÷74)	39,5 (12÷84)	41 (16÷87)	14,5 (7÷24)
Значимость различий/ Statistical significance	$p=0,002$	$p=0,003$	$p<0,001$	$p<0,001$

при оценке уровня экспрессии маркеров (процент экспрессии). Выявлено, что при снижении степени дифференцировки в карциномах толстой кишки отмечается повышение доли опухолевых клеток, имеющих позитивную экспрессию HTR2B, ZEB1, FRMD6. При этом уровень экспрессии маркера CDX2 при снижении степени дифференцировки опухоли закономерно уменьшался и был минимальным в карциномах Grade 3 (табл. 2).

В результате исследования обнаружены различия в профилях изучаемых молекулярно-биологических факторов у больных с разными гистологическими типами РТК. Выявлены различия в показателях уровня экспрессии маркеров CDX2 и FRMD6 в муцинозных аденокарциномах и в аденокарциномах NOS толстой кишки. Опухоли с муцинозной морфологией имели значимо более высокий уровень экспрессии CDX2 – 100 (98÷100) %

и крайне низкие значения данного показателя в отношении экспрессии FRMD6 (0 (0÷0)). По количественной оценке экспрессии маркеров HTR2B и ZEB1 указанные гистологические варианты исследуемых карцином толстой кишки не имели статистически значимых различий ($p>0,112$).

Согласно данным исследования, частота регионарного метастазирования РТК в исследованной группе пациентов составила 33 %. Проведен анализ между экспрессионными показателями изучаемых молекулярно-биологических маркеров и нодальным статусом. Наличие позитивной экспрессии HTR2B в опухоли было сопряжено с наибольшей частотой метастатического поражения регионарных лимфатических узлов ($\chi^2=9,16$; $p=0,002$). Аналогичная закономерность была выявлена в отношении маркеров ZEB1 ($\chi^2=3,81$; $p=0,050$) и FRMD6 ($\chi^2=6,5$; $p=0,014$). Частота лимфогенного

метастазирования не имела значимых различий при оценке экспрессии в опухолях маркера CDX2 ($p=0,462$). Обнаружено нарастание уровня экспрессии HTR2B ($p=0,026$), ZEB1 ($p=0,031$), FRMD6 ($p=0,023$) при развитии метастатического поражения лимфатических коллекторов. В то же время при позитивном нодальном статусе уровень экспрессии CDX2 в опухоли был значимо ниже ($28,0 (16\div 67) \%$), чем при отсутствии регионарных метастазов ($66,0 (27\div 94) \%$), $p=0,004$ соответственно).

В настоящее время при РТК убедительно показана роль опухолевого микроокружения в прогнозе и течении заболевания. В связи с этим представляло интерес изучение частоты экспрессии исследуемых факторов в зависимости от соотношения стромального и паренхиматозного компонентов, а также от степени инфильтрации опухолевой стромы иммунокомпетентными клетками. Согласно полученным данным, частота экспрессии маркеров HTR2B, ZEB1, FRMD6 и CDX2 не имела значимых различий в зависимости от соотношения стромального и паренхиматозного компонентов опухоли ($p>0,359$). Анализ инфильтрации стромы опухоли иммунокомпетентными клетками и частоты экспрессии исследуемых маркеров также не выявил существенных статистически значимых различий ($p>0,551$).

Заключение

Таким образом, проведенный комплексный анализ экспрессионных характеристик показал, что частота экспрессии исследуемых белков не сопряжена с возрастом, полом пациентов и локализацией РТК. Однако были обнаружены статистически значимые зависимости между экспрессией маркеров HTR2B, ZEB1, FRMD6 и размером первичной опухоли, клинической стадией заболевания, а так-

же регионарной распространенностью процесса. Рост уровня экспрессии вышеобозначенных белков сопровождался увеличением размеров первичного опухолевого узла, поражением регионарных лимфатических узлов и, как следствие, большей стадией заболевания. Зависимость частоты и процента экспрессии HTR2B, ZEB1, FRMD6 обнаружена и в отношении степени дифференцировки. Было показано, что частота позитивной экспрессии данных белков и процент экспрессии ассоциированы со степенью морфологической анаплазии опухоли. Противоположная взаимосвязь была отмечена в отношении фактора CDX2. Частота позитивной экспрессии и процент экспрессии CDX2 были ниже в опухолях, имеющих Grade 3, при этом размер первичного новообразования был наибольшим. Нами были обнаружены различия в экспрессионном профиле изучаемых маркеров в случаях аденокарциномы NOS и муцинозного рака толстой кишки. Опухоли муцинозного типа характеризовались высоким процентом экспрессии CDX2 и низкими значениями данного показателя при оценке FRMD6. Анализ частоты и уровня экспрессии HTR2B, FRMD6, ZEB1, CDX2 не показал наличия каких-либо взаимосвязей с параметрами опухолевого микроокружения, выраженностью стромы и степенью инфильтрации иммунными клетками. Результаты проведенного исследования отчетливо показывают возможность определения на основании комплекса иммуногистохимических маркеров аденокарцином толстой кишки мезенхимально-подобного подтипа, отличающихся по своим клинико-патологическим характеристикам и прогнозу. Изученные характеристики представленных маркеров при раке толстой кишки в дальнейшем могут иметь прогностическое и предиктивное значение.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Parkin D.M., Piñeros M., Znaor A., Bray F. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*. 2021. doi: 10.1002/ijc.33588.
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М., 2020. С. 72–5. [The state of cancer care to the population of Russia in 2019. Moscow, 2020. P. 72–5. (in Russian)].
3. Одинова И.Н., Черемисина О.В., Писарева Л.Ф., Спивакова И.О., Вусик М.В. Эпидемиология колоректального рака в Томской области. *Сибирский онкологический журнал*. 2017; 16(4): 89–95. [Odintsova I.N., Cheremisinina O.V., Pisareva L.F., Spivakova I.O., Vusik M.V. Epidemiology of colorectal cancer in Tomsk region. *Siberian Journal of Oncology*. 2017; 16(4): 89–95. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-4-89-95.
4. Hao Y., Baker D., Ten Dijke P. TGF- β -Mediated Epithelial-Mesenchymal Transition and Cancer Metastasis. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(11): 2767. doi: 10.3390/ijms20112767.
5. Karlsson M.C., Gonzalez S.F., Welin J., Fuxe J. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis through the lymphatic system. *Mol Oncol*. 2017; 11(7): 781–91. doi: 10.1002/1878-0261.12092.
6. Erin N., Grahovac J., Brozovic A., Efferth T. Tumor microenvironment and epithelial mesenchymal transition as targets to overcome tumor multidrug resistance. *Drug Resist Updat*. 2020; 53. doi: 10.1016/j.drup.2020.100715.
7. Xu W., Yang Z., Lu N. A new role for the PI3K/Akt signaling pathway in the epithelial-mesenchymal transition. *Cell Adh Migr*. 2015; 9(4): 317–24. doi: 10.1080/19336918.2015.1016686.
8. Wilson M.M., Weinberg R.A., Lees J.A., Guen V.J. Emerging Mechanisms by which EMT Programs Control Stemness. *Trends Cancer*. 2020; 6(9): 775–80. doi: 10.1016/j.trecan.2020.03.011.
9. Hapke R.Y., Haake S.M. Hypoxia-induced epithelial to mesenchymal transition in cancer. *Cancer Lett*. 2020; 487: 10–20. doi: 10.1016/j.canlet.2020.05.012.
10. Goossens S., Vandamme N., Van Vlierberghe P., Berx G. EMT transcription factors in cancer development re-evaluated: Beyond EMT and MET. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2017; 1868(2): 584–91. doi: 10.1016/j.bbcan.2017.06.006.
11. Williams E.D., Gao D., Redfern A., Thompson E.W. Controversies around epithelial-mesenchymal plasticity in cancer metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2019; 19(12): 716–32. doi: 10.1038/s41568-019-0213-x.
12. Feng Y.L., Chen D.Q., Vaziri N.D., Guo Y., Zhao Y.Y. Small molecule inhibitors of epithelial-mesenchymal transition for the treatment of cancer and fibrosis. *Med Res Rev*. 2020; 40(1): 54–78. doi: 10.1002/med.21596.
13. Kumari N., Reabroi S., North B.J. Unraveling the Molecular Nexus between GPCRs, ERS, and EMT. *Mediators Inflamm*. 2021; 2021. doi: 10.1155/2021/6655417.
14. Lu Y., Ding Y., Wei J., He S., Liu X., Pan H., Yuan B., Liu Q., Zhang J. Anticancer effects of Traditional Chinese Medicine on epithelial-mesenchymal transition EMT in breast cancer: Cellular and molecular targets. *Eur J Pharmacol*. 2021; 907. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174275.
15. Dongre A., Weinberg R.A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019; 20(2): 69–84. doi: 10.1038/s41580-018-0080-4.

16. Valenzuela G., Canepa J., Simonetti C., Solo de Zaldivar L., Marcelain K., González-Montero J. Consensus molecular subtypes of colorectal cancer in clinical practice: A translational approach. *World J Clin Oncol*. 2021; 12(11): 1000–8. doi: 10.5306/wjco.v12.i11.1000.

17. Roseweir A.K., Kong C.Y., Park J.H., Bennett L., Powell A.G.M.T., Quinn J., van Wyk H.C., Horgan P.G., McMillan D.C., Edwards J., Roxburgh C.S. A novel tumor-based epithelial-to-mesenchymal transition score that associates with prognosis and metastasis in patients with Stage II/III colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2019; 144(1): 150–9. doi: 10.1002/ijc.31739.

18. Синянский Л.Е., Вторушин С.В., Паталяк С.В., Афанасьев С.Г. Прогностическая роль молекулярных подтипов рака толстой кишки. Современный взгляд на проблему. *Сибирский онкологический журнал*. 2021; 20(3): 107–14. [Sinyanskiy L.E., Vtorushin S.V., Patalyak S.V., Afanasyev S.G. Prognostic role of molecular subtypes of colon cancer. A current view on the problem. *Siberian Journal of Oncology*. 2021; 20(3): 107–14. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-107-114.

19. Wang F., Sun G., Peng C., Chen J., Quan J., Wu C., Lian X., Tang W., Xiang D. ZEB1 promotes colorectal cancer cell invasion and disease progression by enhanced LOXL2 transcription. *Int J Clin Exp Pathol*. 2021; 14(1): 9–23.

20. Soll C., Riener M.O., Oberkofler C.E., Hellerbrand C., Wild P.J., DeOliveira M.L., Clavien P.A. Expression of serotonin receptors in human hepatocellular cancer. *Clin Cancer Res*. 2012; 18(21): 5902–10. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1813.

21. Ebrahimkhani M.R., Oakley F., Murphy L.B., Mann J., Moles A., Perugorria M.J., Ellis E., Lakey A.F., Burt A.D., Douglass A., Wright M.C.,

White S.A., Jaffré F., Maroteaux L., Mann D.A. Stimulating healthy tissue regeneration by targeting the 5-HT_{2B} receptor in chronic liver disease. *Nat Med*. 2011; 17(12): 1668–73. doi: 10.1038/nm.2490.

22. Ye D., Xu H., Tang Q., Xia H., Zhang C., Bi F. The role of 5-HT metabolism in cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2021; 1876(2). doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188618.

23. Yu J., Li S., Xu Z., Guo J., Li X., Wu Y., Zheng J., Sun X. CDX2 inhibits epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer by modulation of Snail expression and β -catenin stabilisation via transactivation of PTEN expression. *Br J Cancer*. 2021; 124(1): 270–80. doi: 10.1038/s41416-020-01148-1.

24. Gunn-Moore F.J., Welsh G.I., Herron L.R., Brannigan F., Venkateswarlu K., Gillespie S., Brandwein-Gensler M., Madan R., Tavaré J.M., Brophy P.J., Prystowsky M.B., Guild S. A novel 4.1 ezrin radixin moesin (FERM)-containing protein, 'Willin'. *FEBS Lett*. 2005; 579(22): 5089–94. doi: 10.1016/j.febslet.2005.07.097.

25. De Sousa E., Melo F., Wang X., Jansen M., Fessler E., Trinh A., de Rooij L.P., de Jong J.H., de Boer O.J., van Leersum R., Bijlsma M.F., Rodermond H., van der Heijden M., van Noesel C.J., Tuijnman J.B., Dekker E., Markowitz F., Medema J.P., Vermeulen L. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions. *Nat Med*. 2013; 19(5): 614–8. doi: 10.1038/nm.3174.

Поступила/Received 26.04.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 18.05.2022

Принята к публикации/Accepted 21.05.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Синянский Лев Евгеньевич, 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: dr.sinyanskii@gmail.com. SPIN-код: 8190-9178. Researcher ID (WOS): AAY-9513-2020. ORCID: 0000-0003-0370-5201.

Крахмаля 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.

Наумов Сергей Сергеевич, аспирант кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5305-3001. Author ID (Scopus): 57200553050. ORCID: 0000-0003-3868-2310.

Паталяк Станислав Викторович, кандидат медицинских наук, заведующий онкологическим отделением дневного стационара, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент 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.

Афанасьев Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9206-3037. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 7005336732. ORCID: 0000-0002-4701-0375.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения 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

Синянский Лев Евгеньевич: разработка концепции научной работы, набор материала, проведение исследования, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Крахмаля Надежда Валерьевна: проведение иммуногистохимического исследования, критический пересмотр статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Наумов Сергей Сергеевич: обработка биологического материала, работа с научной литературой по проблеме исследования.

Паталяк Станислав Викторович: анализ статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Афанасьев Сергей Геннадьевич: анализ интеллектуального содержания статьи.

Вторушин Сергей Владимирович: внесение ценного интеллектуального содержания в основную концепцию, редактирование окончательного варианта статьи, утверждение рукописи для публикации.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315- 90027.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Lev E. Sinyanskiy, MD, Postgraduate, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia); Assistant, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). E-mail: dr.sinyanskii@gmail.com. Researcher ID (WOS): AAY-9513-2020. ORCID: 0000-0003-0370-5201.

Nadezhda V. Krakhmal, MD, PhD, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant of Professor, 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.

Sergey S. Naumov, MD, Postgraduate, Department of Pathology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57200553050. ORCID: 0000-0003-3868-2310.

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 of Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2358-2012. Author ID (Scopus): 56324415300. ORCID: 0000-0002-9468-1980.

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

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Professor, Head of Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor of 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

Lev E. Sinyanskii: concept development, statistical processing, writing of the manuscript.

Nadezhda V. Krakhmal: critical revision for the important intellectual content.

Sergey S. Naumov: processing of biological material and molecular analysis.

Stanislav V. Patalyak: analysis of the article, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Sergey G. Afanasyev: revision for the important intellectual content

Sergey V. Vtorushin: editing of the final version of the manuscript, critical revision for the important intellectual content.

Funding

The reported study was funded by RFBR, project number 20-315-90027.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Башмакова Е.Е., Панамарев Н.С., Кудрявцев А.Н., Черняев Д.В., Слепов Е.В., Зуков Р.А., Франк Л.А. Анализ связи полиморфизма -31G/C (rs9904341) в гене *BIRC5* с риском возникновения рака мочевого пузыря. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 64–71. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-64-71

For citation: Bashmakova E.E., Panamarev N.S., Kudryavtsev A.N., Chernyaev D.V., Slepov E.V., Zukov R.A., Frank L.A. Relationship of -31G/C (rs9904341) polymorphism in the survivin gene *BIRC5* and the risk of bladder cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 64–71. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-64-71

АНАЛИЗ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА -31G/C (rs9904341) В ГЕНЕ *BIRC5* С РИСКОМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Е.Е. Башмакова¹, Н.С. Панамарев^{1,2}, А.Н. Кудрявцев¹, Д.В. Черняев^{3,4},
Е.В. Слепов³, Р.А. Зуков^{3,4}, Л.А. Франк^{1,2}

ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»,
Красноярск, Россия¹

Россия, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/50. E-mail: lfrank@yandex.ru¹

ФГБАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия²

Россия, 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79²

КГБ УЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»,
Красноярск, Россия³

Россия, 660133, г. Красноярск, ул. 1-я Смоленская, 16³

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет

им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия⁴

Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1⁴

Аннотация

Цель исследования – изучить связь полиморфизма – 31G/C (rs9904341) в промоторной области гена белка сурвивина *BIRC5* с риском возникновения рака мочевого пузыря (РМП) у пациентов Красноярского края. **Материал и методы.** Аллельный состав исследуемого гена был определен в группе из 158 пациентов (128 мужчин и 30 женщин) с клинически установленным РМП, средний возраст – $65,6 \pm 10,7$ года (медиана: 66,5; $C_{25}-C_{75}$: 59–72), а также в контрольной группе из 117 здоровых доноров (90 мужчин и 27 женщин), средний возраст – $60,2 \pm 5,1$ года (медиана: 60; $C_{25}-C_{75}$: 57–63,25). Аллельный состав определяли биолуминесцентным способом, ранее разработанным авторами. В качестве контроля использовали образец с генотипом GC, подтвержденным секвенированием по Сэнгеру (ЦКП Геномика, Новосибирск, Россия). Для сравнения количественных данных использовали U-тест Манна–Уитни. Для сравнения частот вариантов гена среди контрольных образцов и случаев РМП применяли критерий χ^2 Пирсона. Исследуемая выборка находилась в равновесии Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Ассоциацию между вариантами rs9904341 и РМП оценивали по отношению шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ), с уровнем значимости $p < 0,05$. **Результаты.** Определен аллельный состав в генах пациентов и в контрольной группе: GG – 62 (39,2 %) vs 43 (36,8 %); GC – 82 (51,9 %) vs 54 (46,2 %); CC – 14 (8,9 %) vs 20 (17,15 %). Связь между наличием аллеля C и РМП оценивали по рецессивной модели наследования, объединив всех носителей – гетерозигот и гомозигот. Установлена частота встречаемости генотипов для пациентов и контрольной группы: GG + GC – 144 (91,1 %) vs 97 (82,9 %); CC – 14 (8,9 %) vs 20 (17,1 %). Носителей генотипа CC достоверно меньше в группе пациентов: ОШ (95 % ДИ) 0,47 (0,23–0,98), $p = 0,04$. Связь с инвазией опухоли не достоверна ($p = 0,08$). **Заключение.** По результатам исследования полиморфизма rs9904341(G/C) среди больных РМП в Красноярском крае обнаружен защитный эффект носительства генотипа CC ($p = 0,04$).

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, ген *BIRC5*, однонуклеотидный полиморфизм (SNP) rs9904341, сурвивин, биолуминесцентный анализ.

RELATIONSHIP OF -31G/C (rs9904341) POLYMORPHISM IN THE SURVIVIN GENE *BIRC5* AND THE RISK OF BLADDER CANCER

E.E. Bashmakova¹, N.S. Panamarev^{1,2}, A.N. Kudryavtsev¹, D.V. Chernyaev^{3,4},
E.V. Slepov³, R.A. Zukov^{3,4}, L.A. Frank^{1,2}

Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia¹

50/50, Akademgorodok, 660035, Krasnoyarsk, Russia. E-mail: lfrank@yandex.ru¹

Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia²

79, Svobodny Ave., 660041, Krasnoyarsk, Russia²

Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovskiy, Krasnoyarsk, Russia³

16, Smolenskaya St., 660133, Krasnoyarsk, Russia³

State Medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of Russia,
Krasnoyarsk, Russia⁴

1, Partizana Zheleznyaka St., 660022, Krasnoyarsk, Russia⁴

Abstract

Purpose: To study the relationship between the -31G/C (rs9904341) polymorphism in the promoter region of the survivin protein gene and the predisposition to bladder cancer (BC) in patients of the Krasnoyarsk region.

Material and methods. The allelic composition of the studied gene was determined in a group of 158 BC patients, consisting of 30 women and 128 men (mean age 65.6 ± 10.7 , median: 66.5; C₂₅–C₇₅: 59–72). The control group included 117 healthy donors and consisted of 27 women and 90 men with an average age of 60.2 ± 5.1 (median: 60; C₂₅–C₇₅: 57–63.25). The allelic composition was determined using the bioluminescent method. A sample with the GC genotype confirmed by Sanger sequencing (Center for Collective Use "Genomika", Novosibirsk, Russia) was used as a control. The Mann–Whitney U test was used to compare quantitative data. The studied sample was in Hardy–Weinberg equilibrium ($p > 0.5$). The Pearson χ^2 test was used to compare the frequencies of gene variants among BC cases and control samples. The association between variants rs9904341 and BC was assessed in terms of odds ratio (OR) with a 95 % confidence interval (CI); p values < 0.05 were considered significant. **Results.** The allelic composition was determined for the genes of patients and control group participants: GG – 62 (39.2%) vs 43 (36.8%); GC – 82 (51.9%) vs 54 (46.2%); CC – 14 (8.9%) vs 20 (17.15%). The relationship between the presence of the C allele and BC was assessed using the recessive inheritance model, combining all carriers – heterozygotes and homozygotes. The frequency of occurrence of genotypes for patients and the control group was established: GG + GC – 144 (91.1%) vs 97 (82.9%); CC – 14 (8.9%) vs 20 (17.1%). Thus, carriers of the CC genotype were significantly less in patients: OR (95% CI) 0.47 (0.23–0.98), $p = 0.04$. The relationship with tumor invasion was not significant ($p = 0.08$). **Conclusion.** Based on the results of detecting the rs9904341 (G/C) polymorphism among BC patients of the Krasnoyarsk region, a protective effect of the carriage of the CC genotype was found. In order to study the allelic composition with the threat of recurrence of the disease, additional research is needed.

Key words: bladder cancer, single nucleotide polymorphism (SNP) rs9904341, survivin, bioluminescent analysis.

Введение

Доля рака мочевого пузыря (РМП) составляет 3–5 % всех злокачественных новообразований и около 40 % от опухолевых заболеваний мочеполовой системы [1, 2]. До 80 % случаев РМП составляет немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря (НМИ РМП), для которого характерна склонность к рецидивированию. Поиск диагностических и предикторных параметров, позволяющих предсказать течение заболевания, является актуальной проблемой. Принимая во внимание сложность и неоднозначность процессов онкогенеза, можно предположить, что наиболее успешным будет интегративный подход, сочетающий клинико-морфологические и молекулярно-генетические

параметры [3]. В ряде исследований были обнаружены факторы генетической предрасположенности к риску развития РМП и прогрессированию этого заболевания. В частности, была подтверждена взаимосвязь полиморфизма -31G/C, расположенного в промоторной области гена белка сурвивина, приводящего к изменению уровня мРНК этого белка, с риском развития рецидивирующего рака. Сурвивин – это одноцепочечный низкомолекулярный белок (м.м. 16,5 кДа), относящийся к группе белков-ингибиторов апоптоза (IAP), все члены которого имеют как минимум один бакуловирусный IAP повтор (BIR), состоящий примерно из 70 аминокислот. Данный повтор обеспечивает их взаимодействие с проапоптотическими белками

ми. Сурвивин – мультифункциональный белок, способный ингибировать апоптоз, регулировать деление клеток и способствовать ангиогенезу [4]. Практически во всех типах рака наблюдается сверхэкспрессия сурвивина [5, 6], что может объясняться нуклеотидными вариациями в регуляторной области гена этого белка. В частности, было показано, что полиморфизм -31G>C (rs9904341), расположенный в промоторной области гена сурвивина, коррелирует с экспрессией этого гена: аллель 31C проявляет существенно более высокую активность по сравнению с 31G [7]. По данным мета-анализа 2019 г., выполненного Moazeni-Roodi et al., наличие 31C аллеля коррелирует с риском возникновения большинства типов рака либо в целом, либо среди азиатского населения [8]. Для случая рака мочевого пузыря в азиатской популяции установлена ассоциация полиморфизма rs9904341 для рецессивной модели наследования (CC vs GG+GC, ОШ 1,8, 95 % ДИ 1,36–2,54 $p < 0,001$). В то же время этот генотип у европейской популяции был связан с защитой против рака полости рта, рака легких, уротелиального рака и опухоли Вильмса, а для таких типов рака, как гепатоцеллюлярная карцинома, карцинома пищевода, рак кожи и рак шейки матки, ассоциаций вообще не было выявлено. В работах [9–11] показана ассоциация полиморфизма rs9904341 с риском уротелиального рака. Исследования, демонстрирующие связь данного полиморфизма с риском возникновения РМП, немногочисленны, проведены только для азиатского населения [12–14]. Во всех публикациях отмечается необходимость дополнительных исследований данной ассоциации.

Целью нашего исследования было изучить связь между полиморфизмом -31G/C (rs9904341) в промоторной области гена белка сурвивина *BIRC5* и риском возникновения заболевания РМП у пациентов Красноярского края.

Материал и методы

Образцы крови пациентов с диагнозом РМП отобраны специалистами КГБУЗ «Красноярского краевого клинического онкологического диспансера им. А.И. Крыжановского». Исследование одобрено на заседании локального этического комитета, протокол № 27 от 02.07.2020. От всех пациентов, принявших участие в исследовании, получено информированное согласие. После клинического обследования и опроса у врача-онколога заболевание было охарактеризовано по клинико-морфологическим признакам, к которым относились: стадия, степень дифференцировки, прогрессирование заболевания и инвазия опухоли в стенку мочевого пузыря. Образцы венозной крови здоровых доноров получены от Красноярского краевого центра крови № 1.

Всего исследовали 158 образцов ДНК пациентов, среди них: 30 женщин и 128 мужчин (средний

возраст $65,6 \pm 10,7$ года, медиана: 66,5; $C_{25} - C_{75}$: 59 – 72). В контрольной группе были образцы ДНК 117 здоровых доноров, среди которых 27 женщин и 90 мужчин, средний возраст $60,2 \pm 5,1$ года (медиана: 60; $C_{25} - C_{75}$: 57 – 63,3). В группе пациентов и контрольной группе русские составляли 95,4 и 96,6 % соответственно.

ДНК выделяли набором «ExtractDNA Blood» (Евроген, Россия). Синтез участка, содержащего полиморфизм rs9904341, проводили с помощью ПЦР с использованием ДНК-полимеразы Hot Start Taq (Евроген, Россия) и праймеров, фланкирующих целевой участок: Up праймер – 5'- GAAGGCCGCGGGGGGTGGACC – 3'; Dn праймер – 5'- GCGGTGGTCCTTGAGAAA-GGGCTGCC – 3'.

Олигонуклеотиды, использованные в работе, синтезированы ООО Биосан (Россия).

Высокоочищенные препараты белков репортеров – мутантных вариантов Ca^{2+} -регулируемого фотопротеина обелина (OL) с разными характеристиками биолюминесценции, а также их конъюгатов: OL(W92F,H22E)-политимидилат (dT)₃₀ и OL(Y138F)-антитело к 6-карбоксифлуоресцеину (FAM), получали, как описано ранее [15].

Реакцию удлинения специфичных праймеров (РЕХТ) проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 1-кратный буфер SNPdetect (Евроген, Россия), по 2,5 мМ каждого dNTP, 2,5 мМ Bio-dUTP (Биосан, Россия), по 1 pmol праймеров PEXTG–FAM-CCATTAACCGCCAGATTTGAATCGCG и PEXT C – (A)₂₇-CCATTAACCGCCAGATTTGAATCGCC, 2 ед. акт. полимеразы SNPdetect (Евроген, Россия). Условия реакции: 95 °C в течение 5 мин; 3 цикла (95 °C – 15 сек, 60 °C – 15 сек, 72 °C – 15 сек); 95 °C в течение 5 мин.

Биолюминесцентный анализ продуктов реакции РЕХТ проводили, как описано ранее [15]. Кратко: в лунки планшета (Costar, США), активированные стрептавидином [16], вносили 47 мкл гибридизационного буфера и 3 мкл раствора продуктов РЕХТ-реакции или буфера (контрольные образцы), инкубировали 30 мин и промывали. Далее в лунки вносили по 50 мкл смеси конъюгатов OL(W92F,H22E)-(dT)₃₀ и OL(Y138F)-антитела к FAM, инкубировали, промывали и измеряли биолюминесценцию сформированных на поверхности комплексов с помощью планшетного люминометра Mithras LB 940 Multimode Reader (Berthold, Германия) сразу после впрыскивания 70 мкл 0,1 М $CaCl_2$ в 0,1 М Tris-HCl pH 8,8. Интегральные сигналы записывали по очереди: фиолетовый через оптический фильтр ФС6 (ЛенЗОС, Россия) в течение 1 с и далее зеленый через оптический фильтр ЖС17 (ЛенЗОС, Россия) – в течение 3 с. Все измерения проводили в 2 повторностях, учитывали сигналы от контрольных лунок. Генотип определяли по отношению величины зеленого сигнала к фиолетовому (дискриминационный фактор, D).

Последовательности трех образцов с генотипами GG, GC, CC дополнительно подтверждены секвенированием по Сэнгеру (ЦКП «Геномика» СО РАН, Россия). При генотипировании образец GC использовали как внутренний контроль.

Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica 12 (Statsoft, Россия) и Microsoft Excel для Windows 10. Для сравнения количественных данных использовали U-тест Манна–Уитни. Для качественных характеристик использовали тест χ^2 . Для сравнения частот вариантов гена среди контрольных образцов и случаев РМП применяли критерий χ^2 -Пирсона. Исследуемая выборка находилась в равновесии Харди–Вайнберга для контролей и для случаев ($p > 0,05$). Ассоциацию между вариантами rs9904341 и РМП оценивали по отношению шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ), с уровнем значимости $p < 0,05$.

Для вычисления отношения шансов использовали калькулятор расчета статистики в исследованиях «случай–контроль» на сайте «Ген Эксперт» <http://84.201.145.131/>.

Среднее значение величин указано с квадратичным отклонением.

Результаты

Для выявления аллельного состава ДНК использовали способ, разработанный и успешно протестированный нами ранее. Он реализуется в 3 этапа: а) синтез фрагмента, содержащего полиморфный сайт, с помощью реакции ПЦР; б) реакция удлинения аллель-специфичных праймеров, несущих разные метки (олиготимидилат либо анти- FAM антитело), в ходе которой в состав продукта включаются звенья биотинилированного уридина; в) твердофазный биолюминесцентный анализ полученных биотинилированных продуктов, схема которого приведена на рис. 1. Наличие

аллелей определяют по биолюминесцентному сигналу соответствующих репортеров: зеленый сигнал регистрируется при наличии аллеля G, фиолетовый – аллеля C. Отношение этих сигналов – дискриминационный фактор D – отражает аллельный состав образца ДНК. Данный способ был нами ранее успешно использован при исследовании полиморфизмов, связанных с предрасположенностью к возникновению меланомы кожи [17], нарушениями гемостаза [18], склонностью к развитию нейросенсорной тугоухости [19]. Надежность этого способа генотипирования обеспечивает существенная (около порядка) разница между значениями дискриминационного фактора D для каждого генотипа. Так, в нашем исследовании D принимал следующие значения: $6,52 \pm 2,13$ ($n=105$) генотип GG; $0,99 \pm 0,21$ ($n=136$) генотип GC; $0,06 \pm 0,04$ ($n=34$) генотип CC.

Полиморфизм rs9904341(G/C) определен для всех 275 образцов ДНК (табл. 1). Исследуемые генотипы и аллели находились в равновесии Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Между экспериментальной и контрольной группами не было выявлено статистически значимых различий при анализе распределения генотипов (табл. 1).

Анализ результатов генотипирования аллельных вариантов полиморфизма rs9904341(G/C) показал, что в исследуемой группе (пациенты плюс контроль) частота встречаемости аллелей G и C составила 0,629 и 0,371 соответственно. По данным о частоте исследуемых аллелей, представленным в базе NCBI результатов проекта 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), они сопоставимы с таковыми для европейской популяции: 0,693 и 0,306 для аллелей G и C соответственно.

Связь между наличием аллеля C и риском возникновения рака мочевого пузыря оценивали по рецессивной модели наследования, объединив всех носителей – гетерозигот и гомозигот (табл. 2).

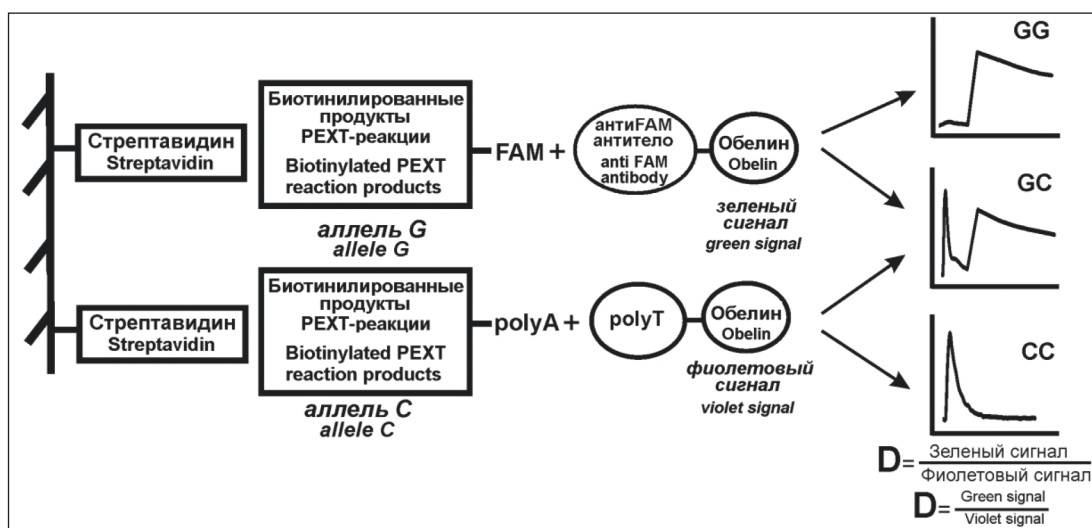


Рис. 1. Схема твердофазного биолюминесцентного анализа продуктов PEXT-реакции
Fig. 1. Scheme of the bioluminescent solid-phase analysis of the PEXT reaction products

Таблица 1/Table 1

Распределение частот генотипов полиморфного варианта среди пациентов и в контрольной группе
Distribution of genotype frequencies for polymorphic variant among patients and in the control group

Генотип/ Genotype	Сравниваемые группы/Study groups		ОШ (95% ДИ)/ OR (95% CI)	P
	Больные/Patients (n=58)	Контроль/Control (n=117)		
GG	62 (39,2 %)	43 (36,8 %)	1,11 (0,68–1,82 %)	0,12
GC	82 (51,9 %)	54 (46,2 %)	1,26 (0,78–2,03 %)	
CC	14 (8,9 %)	20 (17,1 %)	0,47 (0,23–0,98 %)	

Таблица 2/Table 2

Распределение генотипов по рецессивной модели наследования
Genotypes distribution according to the recessive inheritance model

Генотип/ Genotype	Сравниваемые группы/Study groups		ОШ (95% ДИ)/ OR (95% CI)	P
	Больные/Patients (n=58)	Контроль/Control (n=117)		
GG + GC	144 (91,1 %)	97 (82,9 %)	2,12 (1,02–4,4 %)	0,04
CC	14 (8,9 %)	20 (17,1 %)	0,47 (0,23–0,98 %)	

Таблица 3/Table 3

Распределение генотипов среди пациентов с разным типом инвазии РМП
Genotypes distribution among patients with different types of bladder cancer invasion

Генотип Genotype	Мышечно-инвазивный тип (T2-T4)/ Muscle-invasive type (T2-T4) (n=55)	Немышечно-инвазивный тип (Ta, Tis, T1)/ Non-muscle invasive type (Ta, Tis, T1) (n=103)	ОШ (95% ДИ %) OR (95% CI %)	P
GG	27 (49,1 %)	35 (34 %)	1,87 (0,96–3,65 %)	0,08
GC	26 (47,3 %)	56 (54,4 %)	0,75 (0,39–1,45 %)	
CC	2 (3,6 %)	12 (11,7 %)	0,29 (0,06–1,33 %)	

Можно видеть, что носителей генотипа CC достоверно меньше в группе пациентов: (8,9 % vs 17,1 %, $p=0,04$), т.е. риск развития рака мочевого пузыря у них почти в 2 раза меньше по сравнению с GG генотипом.

В табл. 3 приведены результаты исследования по распределению генотипов среди пациентов, имеющих мышечно-инвазивный (T2-T4) и неммышечно-инвазивный тип опухоли (Ta, Tis, T1).

Можно видеть, что носители генотипа CC в группе пациентов с мышечно-инвазивным типом опухоли встречались реже, чем в группе с неммышечно-инвазивным типом опухоли: 3,6 % vs 11,7 %, однако данное различие не было статистически значимым ($p>0,05$).

В исследуемой группе у 21 пациента наблюдалось прогрессирование заболевания (как для мышечно-инвазивного, так и для неммышечно-инвазивного типа), однако связи прогрессирования с генотипом не обнаружено.

Обсуждение

Обнаруженная нами связь свидетельствует о наличии защитного эффекта для носителей CC генотипа в отношении риска возникновения РМП. Этот факт отличается от опубликованных ранее данных о повышенном риске РМП [12–14], в которых носительство аллеля C связано с повышенным риском

возникновения рака. В то же время Srivastava et al. в своем метаанализе показали, что такая связь характерна только для азиатских популяций. То есть расхождения с опубликованными данными могут быть связаны с этническими различиями между изучаемыми группами населения [20]. При сравнении частот встречаемости этого аллеля среди европейского и азиатского населения и исследованной нами группы людей (275 человек) ее можно отнести к европейской популяции (табл. 1). К сожалению, данные о связи аллельного состава с риском РМП среди европейцев весьма немногочисленны. Единственное исследование на эту тему, проведенное в Европе (Сербия), обнаружило эффект повышенного риска уротелиального рака для носителей GG генотипа [11]. Защитный эффект носительства CC генотипа среди европейцев был показан для некоторых других видов рака [21].

Нельзя исключить, что наблюдаемый нами эффект связан с тем, что контрольная группа в целом моложе экспериментальной ($p<0,05$) (см. Материал и методы). Однако, поскольку точные сроки возникновения заболевания установить невозможно, более старший возраст в группе пациентов может быть связан с поздним обращением к врачу.

В литературе изложено несколько версий о механизме эффекта данного полиморфизма при изучении других видов опухолей. Так, Antonacopoulou

et al. в своем исследовании колоректального рака показали, что аллель -31C связан с повышенной экспрессией изоформ сурвивина. При этом у пациентов с генотипом GG худшая выживаемость по сравнению с носителями аллеля С [22]. Функции изоформ сурвивина еще не до конца изучены. Однако в ряде публикаций сообщается о проапоптотическом эффекте изоформ сурвивина 2β и 2α [23, 24]. Это связано с тем, что транслируемая область этих изоформ не содержит полную последовательность домена BIR, который отвечает за антиапоптотическую форму сурвивина: у сурвивина 2β домен BIR укорочен, а у сурвивина 2α он отсутствует. При этом изоформы сурвивина способны образовывать «молчащие» гетеродимеры с сурвибином дикого типа, блокируя его антиапоптотическую функцию, характерную для гомодимера дикого типа [25]. Andric et al. показали, что снижение экспрессии проапоптотических изоформ сурвивина у носителей генотипа GG может способствовать развитию опухоли [26].

Исследования на клеточных линиях СНО, HeLa показали намного более высокую транскрипционную активность аллеля С по сравнению с аллелем G, что приводит к повышенной экспрессии сурвивина [27]. Однако это не свидетельствует однозначно о плохом прогнозе и повышении шанса

возникновения рака для носителей аллеля С. Не менее важным показателем, кроме абсолютной экспрессии сурвивина, является соотношение экспрессии его изоформ и сурвивина дикого типа. Так, высокий уровень соотношения сурвивин 2β:сурвивин дикого типа коррелирует с благоприятным прогнозом и высокодифференцированным типом рака. Уменьшение этого соотношения ассоциируется с ростом злокачественности опухоли [28, 29].

Описанные выше механизмы не объясняют обратный эффект данного полиморфизма, показанного для азиатской популяции. Очевидно, здесь имеют место более глубокие процессы, связанные с пост-трансляционными модификациями [30], а также эпигенетическими регуляторными факторами.

Заключение

В рамках данного исследования по выявлению полиморфизма rs9904341(G/C) среди пациентов с заболеванием РМП нами обнаружен защитный эффект носительства генотипа СС. Обнаруженный эффект является основанием для проведения дополнительных исследований о связи данного полиморфизма с предрасположенностью к возникновению РМП.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Аксель Е.М., Матвеев В.Б. Статистика злокачественных новообразований мочевых и мужских половых органов в России и странах бывшего СССР. Онкоурология. 2019. 15(2): 15–24. [Axel E.M., Matveev V.B. Statistics of malignant tumors of urinary and male urogenital organs in Russia and the countries of the former USSR. Cancer Urology. 2019; 15(2): 15–24. (in Russian)]. doi: 10.17650/1726-9776-2019-15-2-15-24.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
3. Черняев Д.В., Слепов Е.В., Мазаев А.В., Сафонцев И.П., Зукров Р.А. Интегративные модели оценки риска развития рецидива немусечно-инвазивного рака мочевого пузыря. Эффективная фармакотерапия. 2021. 17(2): 38–42. [Chernyaev D.V., Slepov Ye.V., Mazayev A.V., Safontsev I.P., Zukov R.A. Assessing the recurrence risk of non-muscle-invasive bladder cancer by integrative models. Effective Pharmacotherapy. 2021; 17(2): 38–42. (in Russian)]. doi: 10.33978/2307-3586-2021-17-2-38-42.
4. Jaiswal P.K., Goel A., Mittal R.D. Survivin: A molecular biomarker in cancer. Indian J Med Res. 2015; 141(4): 389–97. doi: 10.4103/0971-5916.159250.
5. Martínez-García D., Manero-Rupérez N., Quesada R., Korrodi-Gregório L., Soto-Cerrato V. Therapeutic strategies involving survivin inhibition in cancer. Med Res Rev. 2019; 39(3): 887–909. doi: 10.1002/med.21547.
6. Слепов Е.В., Башмакова Е.Е., Панамарев Н.С., Франк Л.А., Зукров Р.А. Белок сурвивин как перспективный маркер диагностики и лечения злокачественных новообразований. Эффективная фармакотерапия. 2021. 17(2): 58–63. [Slepov Ye.V., Bashmakova Ye.Ye., Panamarev N.S., Frank L.A., Zukov R.A. The survivin protein as novel anti-cancer diagnosis and treatment marker. Effective Pharmacotherapy. 2021; 17(2): 58–63. (in Russian)]. doi: 10.33978/2307-3586-2021-17-2-58-63.
7. Xu Y, Fang F, Ludwig G., Jones G., Jones D. A mutation found in the promoter region of the human survivin gene is correlated to overexpression of survivin in cancer cells. DNA Cell Biol. 2004; 23(9): 527–37. doi: 10.1089/dna.2004.23.527.
8. Moazeni-Roodi A., Ghavami S., Hashemi M. Survivin rs9904341 polymorphism significantly increased the risk of cancer: evidence from an updated meta-analysis of case-control studies. Int J Clin Oncol. 2019; 24(4): 335–49. doi: 10.1007/s10147-019-01408-y.
9. Mazoochi T., Karimian M., Ehteram H., Karimian A. Survivin c.-31G>C (rs9904341) gene transversion and urinary system cancers risk: a systematic review and a meta-analysis. Per Med. 2019; 16(1): 67–78. doi: 10.2217/pme-2018-0053.
10. Lin Y.C., Hour T.C., Tsai Y.C., Huang S.P., Wu W.J., Chen C.H., Pu Y.S., Chung S.D., Huang C.Y. Preliminary evidence of polymorphisms of cell cycle regulatory genes and their roles in urinary tract urothelial cancer susceptibility and prognosis in a Taiwan population. Urol Oncol. 2017; 35(9). doi: 10.1016/j.urolonc.2016.08.001.
11. Bogdanovic L., Lazic M., Bogdanovic J., Soldatovic I., Nikolic N., Radunovic M., Radojevic-Skodic S., Milasin J., Basta-Jovanovic G. Polymorphisms of survivin-31 G/C gene are associated with risk of urothelial carcinoma in Serbian population. J BUON. 2017; 22(1): 270–7.
12. Kawata N., Tsuchiya N., Horikawa Y., Inoue T., Tsuruta H., Maita S., Satoh S., Mitobe Y., Narita S., Habuchi T. Two survivin polymorphisms are cooperatively associated with bladder cancer susceptibility. Int J Cancer. 2011; 129(8): 1872–80. doi: 10.1002/ijc.25850.
13. Jaiswal P.K., Goel A., Mandhani A., Mittal R.D. Functional polymorphisms in promoter survivin gene and its association with susceptibility to bladder cancer in North Indian cohort. Mol Biol Rep. 2012; 39(5): 5615–21. doi: 10.1007/s11033-011-1366-1.
14. Huang Z.M., Chiang Y.T., Tung M.C., Wu C.C., Chen K.C., Huang M.T., Wang Y.H., Shen C.H. Survivin promoter rs9904341 polymorphism is associated with tumor stage and grade in patients with bladder cancer. Adv Biosci Biotechnol. 2013; 4(1): 1–5. doi: 10.4236/abb.2013.41001.
15. Krasitskaya V.V., Kudryavtsev A.N., Shimomura O., Frank L.A. Obelin mutants as reporters in bioluminescent dual analyte binding assay. Anal Methods. 2013; 5(3): 636–40. doi: 10.1039/C2AY25976A.
16. Башмакова Е.Е., Кудрявцев А.Н., Франк Л.А. Разработка способа получения функционально активного рекомбинантного стрептавидина в клетках *Escherichia coli*. Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2020. 13(2): 218–29. [Bashmakova E.E., Kudryavtsev A.N., Frank L.A. Development of the method to produce functionally active recombinant streptavidin in *Escherichia coli* cells. J Sib Fed Univ. Biol. 2020; 13(2): 218–29. (in Russian)]. doi: 10.17516/1997-1389-0324.
17. Bashmakova E.E., Krasitskaya V.V., Bondar A.A., Eremina E.N., Slepov E.V., Zukov R.A., Frank L.A. Bioluminescent SNP genotyping technique: Development and application for detection of melanocortin 1 receptor gene polymorphisms. Talanta. 2018; 189: 111–5. doi: 10.1016/j.talanta.2018.06.057.

18. Bashmakova E.E., Krasitskaya V.V., Frank L.A. Simultaneous genotyping of four single nucleotide polymorphisms associated with risk factors of hemostasis disorders. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2015; 18(10): 930–6. doi: 10.2174/1386207318666150917100134.
19. Башмакова Е.Е., Крассицкая В.В., Юшкова А.Д., Добрецов К.Г., Франк Л.А. К вопросу о генетической предрасположенности к развитию хронической нейросенсорной тугоухости. *Вестник оториноларингологии*. 2021; 86(1): 15–9. [Bashmakova E.E., Krasitskaya V.V., Yushkova A.D., Dobrecov K.G., Frank L.A. To the question of genetic predisposition to the development of professional sensorineural hearing loss. *Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2021; 86(1): 15–9. (in Russian)]. doi: 10.17116/otorino20218601115.
20. Srivastava K., Srivastava A., Mittal B. Survivin promoter -31G/C (rs9904341) polymorphism and cancer susceptibility: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012; 39(2): 1509–16. doi: 10.1007/s11033-011-0889-9.
21. Andric M., Nikolic N., Boskovic M., Milicic B., Skodric S., Basta Jovanovic G., Milasin J. Survivin gene promoter polymorphism -31G/C as a risk factor for keratocystic odontogenic tumor development. *Eur J Oral Sci*. 2012; 120: 9–13. doi: 10.1111/j.1600-0722.2011.00919.x.
22. Antonacopoulou A.G., Floratou K., Bravou V., Kottorou A., Dimitrakopoulos F.I., Marousi S., Stavropoulos M., Koutras A.K., Scopa C.D., Kalofonos H.P. The survivin-31 snp in human colorectal cancer correlates with survivin splice variant expression and improved overall survival. *Anal Cell Pathol (Amst)*. 2010; 33(5): 177–89. doi: 10.3233/ACP-CLO-2010-0537. Erratum in: *Cell Oncol (Dordr)*. 2011; 34(4): 407–8.
23. Krieg A., Mahotka C., Krieg T., Grabsch H., Müller W., Takeno S., Suschek C.V., Heydthausen M., Gabbert H.E., Gerharz C.D. Expression of different survivin variants in gastric carcinomas: first clues to a role of survivin-2B in tumour progression. *Br J Cancer*. 2002; 86(5): 737–43. doi: 10.1038/sj.bjc.6600153.
24. Caldas H., Honsey L.E., Altura R.A. Survivin 2a: a novel survivin splice variant expressed in human malignancies. *Mol Cancer*. 2005; 4: 11. doi: 10.1186/1476-4598-4-11.
25. Pavlidou A., Kroupis C., Dimas K. Association of survivin splice variants with prognosis and treatment of breast cancer. *World J Clin Oncol*. 2014; 5(5): 883–94. doi: 10.5306/wjco.v5.i5.883.
26. Jang J.S., Kim K.M., Kang K.H., Choi J.E., Lee W.K., Kim C.H., Kang Y.M., Kam S., Kim I.S., Jun J.E., Jung T.H., Park J.Y. Polymorphisms in the survivin gene and the risk of lung cancer. *Lung Cancer*. 2008; 60(1): 31–9. doi: 10.1016/j.lungcan.2007.09.008.
27. Suga K., Yamamoto T., Yamada Y., Miyatake S., Nakagawa T., Tanigawa N. Correlation between transcriptional expression of survivin isoforms and clinicopathological findings in human colorectal carcinomas. *Oncol Rep*. 2005; 13(5): 891–7.
28. Koike H., Sekine Y., Kamiya M., Nakazato H., Suzuki K. Gene expression of survivin and its spliced isoforms associated with proliferation and aggressive phenotypes of prostate cancer. *Urology*. 2008; 72(6): 1229–33. doi: 10.1016/j.urolgy.2007.12.064.
29. Zhang M., Yang J., Li F. Transcriptional and post-transcriptional controls of survivin in cancer cells: novel approaches for cancer treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2006; 25(3): 391–402.

Поступила/Received 29.10.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 09.06.2022

Принята к публикации/Accepted 30.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Башмакова Евгения Евгеньевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биолуминесцентных и экологических технологий, ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН» (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 1701-0350. Researcher ID (WOS): J-7833-2017. Author ID (Scopus): 56626153500. ORCID: 0000-0002-8951-8599.

Панамарев Никита Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории биолуминесцентных и экологических технологий, ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»; магистрант, ФГБАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» (г. Красноярск, Россия). ORCID: 0000-0001-6954-7280.

Кудрявцев Александр Николаевич, младший научный сотрудник лаборатории биолуминесцентных и экологических технологий, ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН» (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 2241-2382. Researcher ID (WOS): AAF-4880-2020. Author ID (Scopus): 54397467200. ORCID: 0000-0003-0034-1879.

Черняев Денис Владимирович, врач-онколог, КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»; ассистент кафедры онкологии и лучевой терапии с курсом ПО, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 5046-3349. ORCID: 0000-0002-4625-9531.

Слепов Евгений Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий отделом прогностических и молекулярных методов, КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского» (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 2097-0304. Researcher ID (WOS): AAN-1481-2020. ORCID: 0000-0002-3787-3126.

Зуков Руслан Александрович, доктор медицинских наук, главный врач, КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»; заведующий кафедрой онкологии и лучевой терапии с курсом ПО, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 3632-8415.

Франк Людмила Алексеевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории биолуминесцентных и экологических технологий, ФГБУН «Институт биофизики» СО РАН, ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»; профессор, ФГБАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» (г. Красноярск, Россия). E-mail: lfrank@yandex.ru. SPIN-код: 6139-0436. Researcher ID (WOS): P-8560-2015. Author ID (Scopus): 7201908479. ORCID: 0000-0003-4462-1944.

ВКЛАД АВТОРОВ

Башмакова Евгения Евгеньевна: разработка дизайна исследования, получение, анализ и интерпретация результатов.

Панамарев Никита Сергеевич: получение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов.

Кудрявцев Александр Николаевич: получение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов.

Черняев Денис Владимирович: получение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов.

Слепов Евгений Владимирович: получение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов.

Зуков Руслан Александрович: разработка концепции и планирование научной работы, критический пересмотр текста рукописи.

Франк Людмила Алексеевна: разработка концепции, планирование и корректирование хода научной работы, подготовка рукописи для публикации.

Финансирование

Исследование выполнено при финансировании Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности. Договор № 241 от 28.04.2021.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Eugenia E. Bashmakova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): J-7833-2017. Author ID (Scopus): 56626153500. ORCID: 0000-0002-8951-8599.

Nikita S. Panamarev, Junior Researcher, Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; graduate student, Siberian Federal University (Krasnoyarsk, Russia). ORCID: 0000-0001-6954-7280.

Alexander N. Kudryavtsev, Junior Researcher, Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAP-4880-2020. Author ID (Scopus): 54397467200. ORCID: 0000-0003-0034-1879.

Denis V. Chernyaev, MD, Oncologist, Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky; Assistant, Department of Oncology and Radiation Therapy, State Medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of Russia (Krasnoyarsk, Russia). ORCID: 0000-0002-4625-9531.

Eugene V. Slepov, PhD, Head of Department of Prognostic and Molecular Methods, Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAN-1481-2020. ORCID: 0000-0002-3787-3126.

Ruslan A. Zukov, MD, DSc, Chief Physician, Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky; Head of the Department of Oncology and Radiation Therapy, State Medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of Russia (Krasnoyarsk, Russia).

Ludmila A. Frank, DSc, Chief Researcher. Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Professor, Siberian Federal University (Krasnoyarsk, Russia). E-mail: lfrank@yandex.ru. Researcher ID (WOS): P-8560-2015. Author ID (Scopus): 7201908479. ORCID: 0000-0003-4462-1944.

AUTHOR CONTRIBUTION

Eugenia E. Bashmakova: drafting of the manuscript, data collection and interpretation.

Nikita S. Panamarev: experimental studies; analysis and interpretation of the results obtained.

Alexander N. Kudryavtsev: experimental studies; analysis and interpretation of the results obtained.

Denis V. Chernyaev: experimental studies; analysis and interpretation of the results obtained.

Eugene V. Slepov: experimental studies; analysis and interpretation of the results obtained.

Ruslan A. Zukov: study conception and design, critical; revision for important intellectual content.

Ludmila A. Frank: study conception, drafting of the manuscript.

Funding

The study was carried out with the support of the Krasnoyarsk Regional Fund for the Support of Scientific and Scientific and Technical Activities, Contract No. 241 (April 28, 2021).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Гervas П.А., Молоков А.Ю., Зарубин А.А., Иванова А.А., Тихонов Д.Г., Киприянова Н.С., Егоров А.Н., Жуйкова Л.Д., Шефер Н.А., Топольницкий Е.Б., Белявская В.А., Писарева Л.Ф., Чойнзоннов Е.Л., Чердынцева Н.В. Новая мутация в гене *PALB2*, ассоциированная с наследственным раком молочной железы у молодой пациентки, принадлежащей к якутской этнической группе. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 72–79. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-72-79

For citation: Gervas P.A., Molokov A.Yu., Zarubin A.A., Ivanova A.A., Tikhonov D.G., Kipriyanova N.S., Egorov A.N., Zhuikova L.D., Shefer N.A., Topolnitskiy E.B., Belyavskaya V.A., Pisareva L.F., Choyznzonov E.L., Cherdyntseva N.V. A novel germline mutation of the *PALB2* gene in a young yakut breast cancer woman. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 72–79. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-72-79

A NOVEL GERMLINE MUTATION OF THE *PALB2* GENE IN A YOUNG YAKUT BREAST CANCER WOMAN

P.A. Gervas¹, A.Yu. Molokov¹, A.A. Zarubin², A.A. Ivanova¹, D.G. Tikhonov³,
N.S. Kipriyanova³, A.N. Egorov³, L.D. Zhuikova¹, N.A. Shefer^{4,5},
E.B. Topolnitskiy⁵, V.A. Belyavskaya⁶, L.F. Pisareva¹, E.L. Choyznzonov^{1,5},
N.V. Cherdyntseva^{1,5}

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

5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia. E-mail: pgervas@yandex.ru¹

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia²

10, Nab. Ushaiki, 634050, Tomsk, Russia²

M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia³

42, Kulakovskiy St., 677007, Yakutsk, Russia³

Tomsk Regional Oncological Dispensary, Tomsk, Russia⁴

115, Lenina Ave., 634050, Tomsk, Russia⁴

Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia⁵

2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia⁵

Research Center of Virology and Biotechnology, Vector, Koltsovo, Novosibirsk, Russia⁶
630559, Koltsovo, Novosibirsk, Russia⁶

Abstract

Background. Breast cancer (BC) is the most common female malignancy worldwide. Partner And Localizer of *BRCA2* gene (*PALB2*) is directly involved in DNA damage response. Germline mutation in *PALB2* has been identified in breast cancer and familial pancreatic cancer cases, accounting for approximately 1–2% and 3–4%, respectively. The goal of this report was to describe new *PALB2* mutation in a young Yakut breast cancer patient with family history of cancer. **Material and Methods.** Genomic DNA were isolated from blood samples and used to prepare libraries using a capture-based target enrichment kit, Hereditary Cancer Solution™ (SOPHiA GENETICS, Switzerland), covering 27 genes (*ATM*, *APC*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *FAM175A*, *MLH1*, *MRE11A*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PALB2*, *PIK3CA*, *PMS2*, *PMS2CL*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *TP53* and *XRCC2*). Paired-end sequencing (2 × 150 bp) was conducted using NextSeq 500 system (Illumina, USA). **Results.** Here we describe a case of a never-before-reported mutation in the *PALB2* gene that led to the early onset breast cancer. We report the case of a 39-year-old breast cancer Yakut woman with a family history of pancreatic cancer. Bioinformatics analysis of the NGS data revealed the presence of the new *PALB2* gene germinal frameshift deletion (NM_024675:exon1:c.47delA:p.K16fs). In accordance with dbPubMed ClinVar, new mutation is located in codon of the *PALB2* gene, where the likely pathogenic donor splice site mutation (NM_024675.3:c.48+1delG) associated with hereditary cancer-predisposing syndrome has been earlier described. **Conclusion.** We found a new never-before-reported mutation in *PALB2* gene, which probably associated with early onset breast cancer in Yakut indigenous women with a family history of pancreatic cancer.

Key words: germline mutation, breast cancer, Asian ancestry ethnic groups in Russia, Yakut, *PALB2*.

НОВАЯ МУТАЦИЯ В ГЕНЕ *PALB2*, АССОЦИИРОВАННАЯ С НАСЛЕДСТВЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МОЛОДОЙ ПАЦИЕНТКИ, ПРИНАДЛЕЖАЩЕЙ К ЯКУТСКОЙ ЭТНИЧЕСКОЙ ГРУППЕ

П.А. Гервас¹, А.Ю. Молоков¹, А.А. Зарубин², А.А. Иванова¹, Д.Г. Тихонов³,
Н.С. Киприянова³, А.Н. Егоров³, Л.Д. Жуйкова¹, Н.А. Шефер^{4,5},
Е.Б. Топольницкий⁵, В.А. Белявская⁶, Л.Ф. Писарева¹, Е.Л. Чойнзонов^{1,5},
Н.В. Чердынцева^{1,5}

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

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

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр, Российская академия наук, г. Томск, Россия²

Россия, 634050, г. Томск, ул. Набережная Ушайки, 10²

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г. Якутск, Россия³

Россия, 677007, г. Якутск, ул. Кулаковского, 42³

ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия⁴

Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 115⁴

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия⁵

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2⁵

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирск, пос. Кольцово, Россия⁶

Россия, 630559, Новосибирск, пос. Кольцово⁶

Аннотация

Актуальность. Рак молочной железы занимает лидирующие позиции по уровню заболеваемости во всем мире. Ген онкосупрессор *PALB2* наряду с такими генами, как *BRCA1*, *BRCA2*, вовлечен в процессы репарации поврежденной ДНК. Частота встречаемости герминальных мутаций гена *PALB2* при раке молочной железы и семейных случаях рака поджелудочной железы составляет приблизительно 1–2 % и 3–4 % соответственно. Представлен клинический случай 39-летней женщины, принадлежащей к якутской этнической группе, с диагнозом рак молочной железы с семейной историей рака поджелудочной железы. **Материал и методы.** Геномная ДНК выделена из периферической крови, ДНК-библиотеки приготавливали с использованием набора Hereditary Cancer Solution™ (Sophia Genetics, Швейцария) для изучения статуса 27 генов (*ATM*, *APC*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *FAM175A*, *MLH1*, *MRE11A*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PALB2*, *PIK3CA*, *PMS2*, *PMS2CL*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *TP53* и *XRCC2*). Секвенирование (2 × 150 п.н.) проводилось с использованием системы NextSeq 500 (Illumina, США). **Результаты.** По результатам биоинформатического анализа данных NGS у 39-летней женщины, принадлежащей к якутской этнической группе, с диагнозом рак молочной железы с семейной историей рака поджелудочной железы обнаружена новая герминальная мутация гена *PALB2* со сдвигом рамки считывания (NM_024675: Exon1: c.47delA: p.K16FS). В соответствии с dbPubmed ClinVar новая мутация гена *PALB2* расположена в том же кодоне, где ранее была описана, вероятно патогенная, мутация сайта сплайсинга (NM_024675.3: Exon1: c.48+1delG), вовлеченная в патогенез наследственных форм рака молочной железы и яичника. **Заключение.** Впервые у 39-летней женщины, принадлежащей к якутской этнической группе, с диагнозом рак молочной железы и с семейной историей рака поджелудочной железы обнаружена новая, вероятно патогенная, герминальная мутация гена *PALB2* со сдвигом рамки считывания (NM_024675: Exon1: c.47delA: p.K16FS).

Ключевые слова: наследственные мутации, рак молочной железы, этносы России азиатского происхождения, якуты, *PALB2*.

Introduction

Breast cancer (BC) is the most common female malignancy worldwide. *BRCA1* and *BRCA2* are the most widely known breast cancer susceptibility genes. However, mutations in *BRCA1/2* genes account for no more than half of all hereditary breast

cancers [1]. DNA damage response genes, such as *ATM*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D* and others are also involved in a significant number of hereditary breast and ovarian cancer syndromes. Cancer genetic advances allow identification of new mutations associated with breast

cancer (BC). Next generation sequencing allows detection of DNA damage of five levels of pathogenicity: not pathogenic, likely not pathogenic, uncertain, likely pathogenic, and pathogenic. The interpretation of new variants is a major challenge, and its misinterpretation can lead to serious clinical mistakes for patients and their families [2, 3]. In addition, given the fact that *BRCA* gene mutations are ethnospecific, the search and interpretation of new mutations remains open for little-studied populations. For example, there are no reports concerning hereditary BC associated mutations in BC patients from Yakut ethnic group of Asian ancestry living in of the Far North. The Yakuts (Sakha) are a unique indigenous Turkic ethnic group who lives in the Republic of Sakha, which is the largest and coldest region of the Russian Federation (permafrost zone) (Fig. 1). The Yakuts make up about half of the Republic of Sakha population, the population of Yakutsk is about 330,000 (2020) on the 122 sq. km [4].

Results of a comprehensive assessment of breast cancer incidence among indigenous peoples and newcomers in Sakha Republic (Yakutia) were presented by L.F. Pisareva et al. (2007) and M.P. Kirillina et al. (2012) [5, 6]. The breast cancer incidence was found to decrease among indigenous peoples, whereas it tended to increase among newcomers. The breast cancer incidence rate was higher in nonindigenous residents of the Sakha Republic (Yakutia) than in representatives of the indigenous population (60 vs 40%). The disease was more common in women aged 50–59 years (32.6 %) and 60–69 years (21.8 %), regardless of ethnicity. The data obtained point to the most informative criteria for breast tumor malignancy: low expression of estrogen and progesterone receptors, high expression of Ki67 and p53, and low expression of bcl-2. In the published literature there are no data on the frequency of occurrence of *BRCA1/2* gene mutations among patients with breast cancer of the Yakut ethnic group.

The goal of this report was to describe new *PALB2* mutations in a young Yakut breast cancer patient with family history of cancer.

Material and Methods

The eligibility criteria were as follows: early age of onset and/or family history (2 or more close relatives with BC) and/or the presence of synchronous or metachronous multiple primary tumors [7]. Exclusion criteria included the presence of well-known BC-associated *BRCA* gene mutations.

Blood was collected in blood tubes containing K2EDTA. Genomic DNA was extracted from the peripheral blood lymphocytes using the phenol/chloroform method. DNA library were prepared using the Hereditary Cancer Solution™ kit (Sophia GENETICS, Switzerland) to cover 27 genes, such as *ATM*, *APC*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *FAM175A*, *MLH1*, *MRE11A*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PALB2*, *PIK3CA*, *PMS2*, *PMS2CL*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *TP53*,



Fig. 1. Republic of Sakha is a federal subject of Russia
Рис. 1. Республика Саха Якутия – субъект Российской Федерации

and *XRCC2*. Paired-end sequencing (2 × 150 bp) was conducted using NextSeq 500 system (Illumina, USA) [8].

Bioinformatics analysis

Sequencing data were analyzed according to the GATK (Genome Analysis Toolkit) best practice recommendation for Whole Exome Sequencing using GRCh37 as a reference for Burrows-Wheeler alignment. The obtained variants were annotated with ANNOVAR software and ranged according to population frequency (genomic exome, gnomAD genome, and ExAC), ClinVar, CADD, and literature data [9–11]. Detected sequence variants were annotated using PolyPhen2, Mutation Taster, and SIFT [12–14].

ProteinPaint tool was used to complement existing cancer genome portals and provide a comprehensive and intuitive view of cancer genomic data with advanced visualization features (<https://pecan.stjude.cloud/proteinpaint>).

Results and Discussion

We report the case of a 39-year-old Yakut woman with invasive ductal carcinoma in the left breast, with a family history of cancer (mother with pancreatic cancer). Immunohistochemistry testing detected estrogen receptor (0), progesterone receptor (0), and positive HER2 (+). After 10 years of follow-up, she is alive with no evidence of disease progression.

Based on the NGS data, mutational analysis revealed the presence of the new germinal frameshift deletion (NM_024675:exon1:c.47delA:p.K16fs) in exon 1 of *PALB2* gene (Fig. 2).

In accordance with dbPubMed ClinVar, a new mutation is located in codon of the *PALB2* gene, where the likely pathogenic donor splice site mutation (NM_024675.3:c.48+1delG) associated with hereditary cancer-predisposing syndrome has been earlier described. The c.48+1delG intronic variant results from a deletion of one nucleotide within intron 1 of the *PALB2* gene. This rare variant was not reported in population based cohorts in the databases as Database of Single Nucleotide Polymorphisms

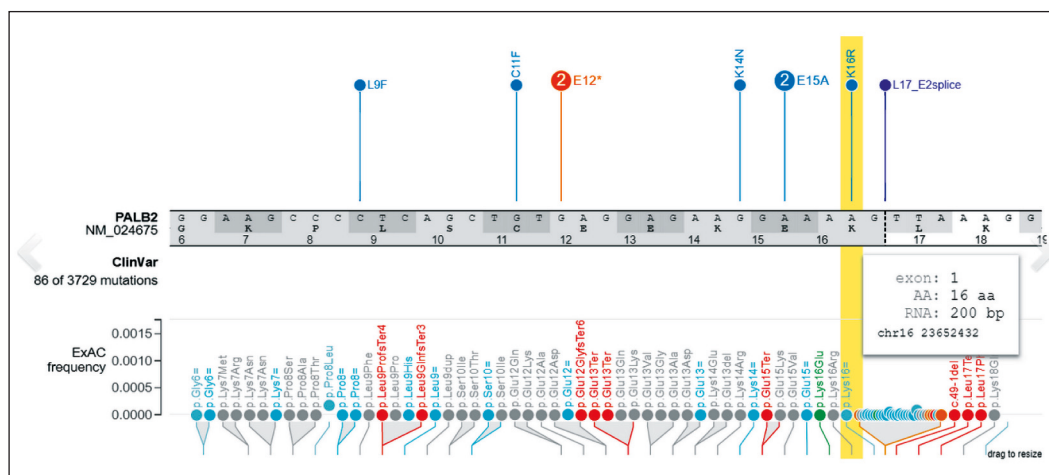


Fig. 2. Visualization of the position of germinal frameshift deletion (NM_024675:exon1:c.47delA:p.K16fs) in the *PALB2* gene by ProteinPaint tool (hg19)

Рис. 2. Визуализация местоположения новой мутации (NM_024675:exon1:c.47delA:p.K16fs) в гене *PALB2* с помощью программы ProteinPaint (hg19)

(dbSNP), NHLBI Exome Sequencing Project (ESP), and 1000 Genomes Project and the NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP). This likely pathogenic donor splice site mutation has been detected with an allele frequency of approximately 0.001 % (more than 130000 alleles tested). In accordance to the BDGP and ESEfinder splice site prediction tools, it was reported that this alteration was predicted to destroy the native splice donor site. A splice site mutation is a genetic mutation that inserts and deletes or changes a number of nucleotides in the specific site at which splicing takes place during the processing of precursor messenger RNA into mature messenger RNA.

Thus, a new mutation of the *PALB2* gene (NM_024675:exon1:c.47delA:p.K16fs) is located in a donor splice site. In accordance to ACMG Recommendations, alterations that disrupt the canonical splice donor site are typically deleterious in nature [15]. However, direct evidence is unavailable. In our study, this variant was classified by us as likely pathogenic, taking into account the early-onset BC woman with a family history of pancreatic cancer. Moreover, our data are consistent with those published in Gastroenterology Journal in 2009 and Fam Cancer Journal in 2011 and others [16, 17]. M.D. Tischkowitz et al. (2009) found that the prevalence of *PALB2* mutation does not exceed 1 % in patients with pancreatic cancer not selected by family history. S. Jones et al. (2009) and E.P. Slater et al. (2010) found an overall prevalence of 3.1 % of *PALB2* mutation in patients with familial pancreatic cancer [18, 19]. Thus, *PALB2* gene mutations appear to be prevalent in patients with a family history of pancreatic cancer. E.W. Hofstatter et al. (2011) reported that *PALB2* mutations occur with a prevalence of 2.1 % in a population of *BRCA1/2*-negative breast cancer patients specifically selected for a personal and/or family history of pancreatic cancer [16, 17].

Partner And Localizer of *BRCA2* gene (*PALB2*) is

directly involved in DNA damage response. Germline mutations in *PALB2* have been identified in breast cancer and familial pancreatic cancer cases, accounting for approximately 1–2 % and 3–4 %, respectively [20]. It is well known that homologous recombination (HRR) genes, such as *ATM*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2* and others are involved in a significant number of hereditary breast and ovarian cancer syndromes [21]. Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome associated with *BRCA1/2* mutations is the most common hereditary cancer syndrome. Patients who carry a mutation in *BRCA1/2* genes are well respond to platinum chemotherapy (cisplatin) or PARP inhibitors (PARPi). The identification of molecular alterations in homologous recombination (HRR) genes is an area of active research to expand the use of PARPi. Several studies are ongoing to evaluate the efficacy of PARPi (ClinicalTrials.gov identifiers: NCT02401347 and NCT03330847) in women with germline or somatic mutations in HRR pathway genes including *PALB2*. T. Grellety et al. (2020) reported on the effective PARPi treatment of a *PALB2*-deficient breast cancer in a 42-year-old woman [22]. In our study, we report the case of a 39-year-old Yakut woman with a family history of pancreatic cancer and new detected likely pathogenic germinal mutation of *PALB2* gene (NM_024675:exon1:c.47delA:p.K16fs). In the case of disease progression, the patient may be considered for the appointment of PARP inhibitors.

Conclusion

This report is the first to describe the new germinal frameshift deletion (NM_024675:exon1:c.47delA:p.K16fs) in the *PALB2* gene in a Yakut BC patient with young-onset and familial BC. This mutation likely can be associated with Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome. Further studies are required to confirm pathogenicity of new frameshift mutation of the *PALB2* gene in Yakut breast cancer patients.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Gifoni A.C.L.V.C., Gifoni M.A.C., Wotroba C.M., Palmero E.I., Costa E.L.V., Dos Santos W., Achatz M.I. Hereditary Breast Cancer in the Brazilian State of Ceará (The CHANCE Cohort): Higher-Than-Expected Prevalence of Recurrent Germline Pathogenic Variants. *Front Oncol.* 2022; 12. doi: 10.3389/fonc.2022.932957.
2. Plon S.E., Eccles D.M., Easton D., Foulkes W.D., Genuardi M., Greenblatt M.S., Hogervorst F.B., Hoogerbrugge N., Spurdle A.B., Tavtigian S.V.; LARC Unclassified Genetic Variants Working Group. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat.* 2008; 29(11): 1282–91. doi: 10.1002/humu.20880.
3. Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., Spector E., Voelkerding K., Reh M.H.L.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17(5): 405–24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
4. Kononova S., Vinokurova D., Barashkov N.A., Semenova A., Sofronova S., Oksana S., Tatiana D., Struchkov V., Burtseva T., Romanova A., Fedorova S. The attitude of young people in the city of Yakutsk to DNA-testing. *Int J Circumpolar Health.* 2021; 80(1). doi: 10.1080/22423982.2021.1973697.
5. Kirillina M.P., Loskutova K.S., Lushnikova E.L., Nepomnyashchikh L.M. Expression of molecular biological markers in breast cancer under conditions of the Sakha Republic (Yakutia). *Bull Exp Biol Med.* 2014; 157(5): 623–7. doi: 10.1007/s10517-014-2630-x.
6. Лисарева Л.Ф., Одинова И.Н., Иванов П.М., Николаева Т.И. Особенности заболеваемости раком молочной железы коренного и пришлого населения Республики Саха (Якутия). *Сибирский онкологический журнал.* 2007; (3): 69–72. [Pisareva L.F., Odintsova I.N., Ivanov P.M., Nikolaeva T.I. Breast cancer incidence among indigenous peoples and newcomers in Sakha republic (Yakutia). *Siberian Journal of Oncology.* 2007; (3): 69–72. (in Russian)].
7. Eccles D.M. Hereditary cancer: guidelines in clinical practice. *Breast and ovarian cancer genetics.* *Ann Oncol.* 2004; 15(4): 133–8. doi: 10.1093/annonc/mdh917.
8. Slatko B.E., Gardner A.F., Ausubel F.M. Overview of Next-Generation Sequencing Technologies. *Curr Protoc Mol Biol.* 2018; 122(1): 59. doi: 10.1002/cpmb.59.
9. Van der Auwera G.A., Carneiro M.O., Hartl C., Poplin R., Del Angel G., Levy-Moonshine A., Jordan T., Shakir K., Roazen D., Thibault J., Banks E., Garimella K.V., Altshuler D., Gabriel S., DePristo M.A. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2013; 43(1110): 11.10.1–11.10.33. doi: 10.1002/0471250953.bi1110s43.
10. DePristo M.A., Banks E., Poplin R., Garimella K.V., Maguire J.R., Hartl C., Philippakis A.A., del Angel G., Rivas M.A., Hanna M., McKenna A., Fennell T.J., Kernysky A.M., Sivachenko A.Y., Cibulskis K., Gabriel S.B., Altshuler D., Daly M.J. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nature genetics.* 2011; 43(5): 491–8. doi: 10.1038/ng.806.
11. McKenna A., Hanna M., Banks E., Sivachenko A., Cibulskis K., Kernysky A., Garimella K., Altshuler D., Gabriel S., Daly M., DePristo M.A. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res.* 2010; 20(9): 1297–303. doi: 10.1101/gr.107524.110.
12. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., Ramensky V.E., Gerasimova A., Bork P., Kondrashov A.S., Sunyaev S.R. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods.* 2010; 7(4): 248–9. doi: 10.1038/nmeth0410-248.
13. Schwarz J.M., Cooper D.N., Schuelke M., Seelow D. Mutation-Taster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods.* 2014; 11(4): 361–2. doi: 10.1038/nmeth.2890.
14. Kumar P., Henikoff S., Ng P.C. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc.* 2009; 4(7): 1073–81. doi: 10.1038/nprot.2009.86.
15. Richards C.S., Bale S., Bellissimo D.B., Das S., Grody W.W., Hegde M.R., Lyon E., Ward B.E.; Molecular Subcommittee of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007. *Genet Med.* 2008; 10(4): 294–300. doi: 10.1097/GIM.0b013e31816b5cae.
16. Hofstatter E.W., Domchek S.M., Miron A., Garber J., Wang M., Compareschi K., Boghossian L., Miron P.L., Nathanson K.L., Tung N. PALB2 mutations in familial breast and pancreatic cancer. *Fam Cancer.* 2011; 10(2): 225–31. doi: 10.1007/s10689-011-9426-1.
17. Tischkowitz M.D., Sabbaghian N., Hamel N., Borgida A., Rosner C., Taherian N., Srivastava A., Holter S., Rothenmund H., Ghadirian P., Foulkes W.D., Gallinger S. Analysis of the gene coding for the BRCA2-interacting protein PALB2 in familial and sporadic pancreatic cancer. *Gastroenterology.* 2009; 137(3): 1183–6. doi: 10.1053/j.gastro.2009.06.055.
18. Jones S., Hruban R.H., Kamiyama M., Borges M., Zhang X., Parsons D.W., Lin J.C., Palmisano E., Brune K., Jaffe E.M., Iacobuzio-Donahue C.A., Maitra A., Parmigiani G., Kern S.E., Velculescu V.E., Kinzler K.W., Vogelstein B., Eshleman J.R., Goggins M., Klein A.P. Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene. *Science.* 2009; 324(5924): 217. doi: 10.1126/science.1171202.
19. Slater E.P., Langer P., Niemczyk E., Strauch K., Butler J., Habbe N., Neoptolemos J.P., Greenhalf W., Bartsch D.K. PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families. *Clin Genet.* 2010; 78(5): 490–4. doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01425.x.
20. Hanenberg H., Andreassen P.R. PALB2 (partner and localizer of BRCA2). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2018; 22(12): 484–90. doi: 10.4267/2042/69016.
21. Practice Bulletin No 182: Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome. *Obstet Gynecol.* 2017; 130(3): 110–26. doi: 10.1097/AOG.0000000000002296.
22. Grellety T., Peyraud F., Sevenet N., Tredan O., Dohollou N., Barouk-Simonet E., Kind M., Longy M., Blay J.Y., Italiano A. Dramatic response to PARP inhibition in a PALB2-mutated breast cancer: moving beyond BRCA. *Ann Oncol.* 2020; 31(6): 822–3. doi: 10.1016/j.annonc.2020.03.283.

Поступила/Received 10.08.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 17.08.2022

Принята к публикации/Accepted 22.08.2022

ABOUT THE AUTHORS

Polina A. Gervas, MD, PhD, Researcher at the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Head of the group of molecular-genetic research methods of the reference center, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: pgervas@yandex.ru. Researcher ID (WOS): C-5846-2012. Author ID (Scopus): 13613767400. ORCID: 0000-0003-0051-8814.

Aleksey Yu. Molokov, Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAF-7302-2021. Author ID (Scopus): 57217493727. ORCID: 0000-0002-1475-1185.

Aleksei A. Zarubin, Postgraduate, Junior Researcher at the Laboratory researcher of the Evolutionary Genetics Laboratory, Research Institute of Molecular Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): H-7476-2017. Author ID (Scopus): 57204453703. ORCID: 0000-0001-6568-6339.

Anna A. Ivanova, MD, PhD, Researcher at the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, head of the group of molecular-genetic research methods of the reference center, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Dmitrii G. Tikhonov, MD, Professor, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University (Yakutsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-1032-2014. Author ID (Scopus): 7006659217. ORCID: 0000-0003-3385-9471.

Nadezda S. Kipriyanova, MD, DSc, Chief Freelance Oncologist in Yakutsk, Professor of the Department of Technosphere Safety, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University (Yakutsk, Russia).

Andrew N. Egorov, Postgraduate, Institute of Natural Sciences, laboratory assistant at the Research Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University (Yakutsk, Russia). ORCID: 0000-0003-4610-7105

Lilia D. Zhuikova, MD, DSc, Head of the Laboratory of Epidemiology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8293-2012. Author ID (Scopus): 56626111900. ORCID: 0000-0003-3536-8473.

Nikolay A. Shefer, MD, PhD, Oncologist, Tomsk Regional Oncological Dispensary; assistant of the Department of Surgery with a course of mobilization training and disaster medicine, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-0011-8370.

Evgenii B. Topolnitskiy, MD, DSc, Professor of the Department of Surgery with a course of mobilization training and disaster medicine, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-5674-0177.

Valentina A. Belyavskaya, DSc, Professor, Leading Researcher, Research Center of Virology and Biotechnology, Vector (Koltsovo, Novosibirsk, Russia).

Lubov F. Pisareva, MD, DSc, Professor, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2353-2012. Author ID (Scopus): 7003646806. ORCID: 0000-0003-3507-0095.

Evgeny L. Choyzonov, MD, DSc, Professor, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Head of Oncology Department, 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.

Nadezda V. Cherdyntseva, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Molecular Oncology and Immunology, Deputy Director for Science, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Researcher of the Laboratory of Genetic Technologies, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-7943-2012. Author ID (Scopus): 6603911744. ORCID: 0000-0003-1526-9013.

AUTHOR CONTRIBUTION

Polina A. Gervas: writing of the manuscript, study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, study conception and design.

Aleksey Yu. Molokov: recruited patients, collected samples and conducted experiments, performed data analysis.

Aleksei A. Zarubin: study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, performed data analysis.

Anna A. Ivanova: recruited patients, collected samples and conducted experiments.

Dmitrii G. Tikhonov: study conception and design, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Nadezda S. Kipriyanova: study conception and design, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Andrew N. Egorov: recruited patients, collected samples and conducted experiments.

Lilia D. Zhuikova: recruited patients, collected samples and conducted experiments.

Nikolay A. Shefer: recruited patients, collected samples and conducted experiments.

Evgenii B. Topolnitskiy: recruited patients, collected samples and conducted experiments.

Valentina A. Belyavskaya: study conception and design, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Lubov F. Pisareva: study conception and design, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Evgeny L. Choyzonov: study conception and design, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Nadezda V. Cherdyntseva: study conception and design, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Ethical Approval and Consent to Participate

All patients were informed about the study and provided written informed consent, and the process was approved by the Ethics Committee of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia.

Availability of data and material

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Funding

The study was funded by the Russian Science Foundation, project № 22-25-20032; The Core Facility «Medical genomics», Tomsk NRMС.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гервас Полина Анатольевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, руководитель группы молекулярно-генетических методов исследований в референсном центре, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: pgervas@yandex.ru. SPIN-код: 2934-7970. Researcher ID (WOS): C-5846-2012. Author ID (Scopus): 13613767400. ORCID: 0000-0003-0051-8814.

Молоков Алексей Юрьевич, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии

наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1347-8410. Researcher ID (WOS): AAF-7302-2021. Author ID (Scopus): 57217493727. ORCID: 0000-0002-1475-1185.

Зарубин Алексей Андреевич, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории геномики орфанных болезней, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр, Российская академия наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7568-0098. Researcher ID (WOS): H-7476-2017. Author ID (Scopus): 57204453703. ORCID: 0000-0001-6568-6339.

Иванова Анна Александровна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, руководитель группы молекулярно-генетических методов исследований в референсном центре, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия).

Тихонов Дмитрий Гаврильевич, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (г. Якутск, Россия). Researcher ID (WOS): C-1032-2014. Author ID (Scopus): 7006659217. ORCID: 0000-0003-3385-9471.

Киприянова Надежда Сидоровна, доктор медицинских наук, главный внештатный онколог г. Якутска, профессор кафедры технософной безопасности, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (г. Якутск, Россия).

Егоров Андрей Николаевич, аспирант Института естественных наук, лаборант Научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (г. Якутск, Россия). ORCID: 0000-0003-4610-7105.

Жуйкова Лилия Дмитриевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией эпидемиологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3260-1308. Researcher ID (WOS): C-8293-2012. Author ID (Scopus): 56626111900. ORCID: 0000-0003-3536-8473.

Шефер Николай Анатольевич, кандидат медицинских наук, врач-онколог, ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер»; ассистент кафедры хирургии с курсом мобилизационной подготовки и медицины катастроф, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3662-7399. ORCID: 0000-0002-0011-8370.

Топольницкий Евгений Богданович, доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии с курсом мобилизационной подготовки и медицины катастроф, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6744-9541. ORCID: 0000-0002-5674-0177.

Белявская Валентина Александровна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Новосибирск, пос. Кольцово, Россия).

Писарева Любовь Филипповна, доктор медицинских наук, профессор, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3529-0202. Researcher ID (WOS): D-2353-2012. Author ID (Scopus): 7003646806. ORCID: 0000-0003-3507-0095.

Чойнзенов Евгений Лхамцыренович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор Научно-исследовательского института онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; заведующий кафедрой онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2240-8730. Researcher ID (WOS): P-1470-2014. Author ID (Scopus): 6603352329. ORCID: 0000-0002-3651-0665.

Чердынцева Надежда Викторовна, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии, заместитель директора Научно-исследовательского института онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; научный сотрудник лаборатории генетических технологий, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5344-0990. Researcher ID (WOS): C-7943-2012. Author ID (Scopus): 6603911744. ORCID: 0000-0003-1526-9013.

ВКЛАД АВТОРОВ

Гервас Полина Анатольевна: разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, сбор биоматериала и информации о пациентке, проведение генетического тестирования, подготовка и редактирование рукописи.

Молоков Алексей Юрьевич: проведение генетического тестирования, биоинформатический анализ данных высокопроизводительного секвенирования.

Зарубин Алексей Андреевич: биоинформатический анализ данных высокопроизводительного секвенирования.

Иванова Анна Александровна: сбор биоматериала и информации о пациентке, проведение генетического тестирования.

Тихонов Дмитрий Гаврильевич: общее руководство проектом, анализ результатов научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, разработка концепции научной работы.

Киприянова Надежда Сидоровна: разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Егоров Андрей Николаевич: сбор биоматериала и информации о пациентке, проведение генетического тестирования.

Жуйкова Лилия Дмитриевна: сбор биоматериала и информации о пациентке.

Шефер Николай Анатольевич: сбор биоматериала и информации о пациентке, проведение генетического тестирования.

Топольницкий Евгений Богданович: сбор биоматериала и информации о пациентке, проведение генетического тестирования.

Белявская Валентина Александровна: проведение генетического тестирования, анализ результатов научной работы, внесение ценного интеллектуального содержания.

Писарева Любовь Филипповна: эпидемиологические исследования, разработка концепции научной работы, анализ результатов научной работы.

Чойнзонов Евгений Лхамацзуренович: общее руководство проектом, разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания

Чердынцева Надежда Викторовна: общее руководство проектом, анализ результатов научной работы, разработка концепции исследования, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Этические принципы проведения исследования

Пациентка была проинформирована об исследовании и дала письменное информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, Россия.

Доступность данных и материалов

Данные, подтверждающие выводы этого исследования, могут быть предоставлены по обоснованному запросу.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ, проект № 22-25-20032; Оборудование ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бакина О.В., Ложкомоев А.С., Казанцев С.О., Августинovich А.В., Афанасьев С.Г., Спирина Л.В. Влияние содержания Fe_3O_4 в наночастицах Fe_3O_4 -Fe со структурой ядро-оболочка на их противоопухолевую активность *in vitro*. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 80–89. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-80-89

For citation: Bakina O.V., Lozhkomoev A.S., Kazantsev S.O., Avgustinovich A.V., Afanasyev S.G., Spirina L.V. Role of the Fe_3O_4 mass ratio in Fe_3O_4 -Fe nanoparticles with the core-shell structure on their anticancer activity *in vitro*. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 80–89. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-80-89

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ Fe_3O_4 В НАНОЧАСТИЦАХ Fe_3O_4 -Fe СО СТРУКТУРОЙ ЯДРО-ОБОЛОЧКА НА ИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO*

О.В. Бакина^{1,2}, А.С. Ложкомоев¹, С.О. Казанцев¹, А.В. Августинovich³,
С.Г. Афанасьев³, Л.В. Спирина^{2,3}

ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения» Сибирского отделения

Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Россия, 634055, г. Томск, пр. Академический, 2/4. E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,

г. Томск, Россия²

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

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский меди-

цинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия³

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5³

Аннотация

Введение. В настоящее время основное число препаратов, применяемых в терапии опухолей, имеют высокую токсичность. Применение магнитных наночастиц оксидов железа в качестве противоопухолевых агентов позволяет предотвратить нецелевую цитотоксичность и другие побочные эффекты традиционной химиотерапии. Однако оно в значительной степени ограничено их низкой эффективностью. Применение в наночастицах гальванической пары Fe_3O_4 -Fe позволит контролировать выделение токсичных ионов железа и, соответственно, активность наночастиц. **Целью исследования** явилась разработка наночастиц Fe_3O_4 -Fe с противоопухолевой активностью *in vitro*. **Материал и методы.** Для достижения поставленной цели синтезированы наночастицы (НЧ), содержащие от 5 до 90 % железа, проведено систематическое исследование структурных, текстурных, зарядовых, морфологических и магнитных свойств наночастиц, а также их активности *in vitro* в отношении опухолевых линий MCF-7 и HeLa. Для получения наночастиц Fe_3O_4 -Fe использовали электрический взрыв проволоки. Физико-химические свойства исследованы при помощи рентгенофазового анализа, тепловой десорбции азота, просвечивающей электронной микроскопии, микроэлектрофореза. Противоопухолевую активность исследовали при помощи МТТ-теста. **Результаты.** В результате электрического взрыва железной проволоки в газовой смеси аргон + кислород, содержащей кислород в диапазоне 1–5 об. %, были получены НЧ Fe_3O_4 -Fe с 5–90 % масс. Fe_3O_4 соответственно. Исследование физико-химических свойств наночастиц показало, что зета-потенциал не зависит от содержания Fe_3O_4 в НЧ и составляет -30 мВ. Средний размер частиц проходит через максимум (минимум величины удельной поверхности) при содержании Fe_3O_4 W=20 %, что можно объяснить механизмом образования оксидной фазы при электрическом взрыве. При помощи МТТ-теста установлено, что наибольшей цитотоксичностью обладают наночастицы, содержащие 5 % масс. Fe_3O_4 , в присутствии которых в концентрации 1 мг/мл количество живых клеток снижалось до 16 % относительно контроля. **Заключение.** Впервые показано, что частицы Fe_3O_4 -Fe можно использовать в качестве противоопухолевого агента. Возможность регулирования магнитных свойств НЧ можно использовать для нацеливания на определенный участок опухолевой ткани с помощью внешнего магнитного поля, а установленная взаимосвязь магнитного момента с активностью НЧ в отношении клеточной линии MCF-7 имеет большие перспективы для клинического применения.

Ключевые слова: железо, оксид железа, опухолевые клетки, наночастицы.

ROLE OF THE Fe_3O_4 MASS RATIO IN Fe_3O_4 -Fe NANOPARTICLES WITH THE CORE-SHELL STRUCTURE ON THEIR ANTICANCER ACTIVITY *IN VITRO*

O.V. Bakina^{1,2}, A.S. Lozhkomoev¹, S.O. Kazantsev¹, A.V. Avgustinovich³,
S.G. Afanasyev³, L.V. Spirina^{2,3}

Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

2/4, Akademicheskoy Ave., 634055, Tomsk, Russia.

E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru¹

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

2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia³

5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia³

Abstract

Introduction. Currently, most of the drugs used in tumor therapy are highly toxic and cause various toxic effects. Therefore, many drug delivery methods are being developed. The use of nanotechnology is one of the most promising methods. The use of magnetic iron oxide nanoparticles as antitumor agents makes it possible to prevent off-target cytotoxicity and other side effects of traditional chemotherapy. The use of nanoparticles is limited by their low efficiency. The Fe_3O_4 /Fe galvanic couple makes it possible to control the release of toxic iron ions and, accordingly, the activity of nanoparticles. **Purpose.** The aim of this study is to develop new Fe_3O_4 -Fe nanoparticles with a core-shell structure with antitumor activity *in vitro*. Nanoparticles containing from 5 % to 90 % iron were synthesized, and a systematic study of the structural, textural, charge, morphological, and magnetic properties of nanoparticles, as well as their *in vitro* activity against the MCF-7 and HeLa tumor lines, was carried out. **Methods.** Fe_3O_4 -Fe nanoparticles were obtained by electric explosion of an iron wire in a mixture of gases: argon and oxygen. The mass fraction of the components was regulated by varying the ratio of the components of the gas mixture. The physicochemical properties of nanoparticles were studied using X-ray phase analysis, thermal desorption of nitrogen, transmission electron microscopy, and microelectrophoresis. Antitumor activity was studied using the MTT test against HeLa and MCF-7 cell lines. **Results.** As a result of the electric explosion of an iron wire in an argon + oxygen gas mixture containing oxygen in the range of 1 – 5 vol. %, Fe_3O_4 -Fe NPs with 5 – 90 % wt. Fe_3O_4 , respectively. The study of the physicochemical properties of nanoparticles showed that the zeta potential does not depend on the content of Fe_3O_4 in NPs and is -30 mV. The change in the specific surface area and the average particle size passes through a maximum at the content of Fe_3O_4 W=20 %, which can be explained by the mechanism of oxide phase formation during an electric explosion. Using the MTT test, it was found that nanoparticles containing 5 wt. Fe_3O_4 , in the presence of which, at a concentration of 1 mg/ml, the number of living cells decreased to 16 % relative to the control. **Conclusion.** In this work, we have shown for the first time that Fe_3O_4 -Fe NPs in the concentration range of 50–100 $\mu\text{g/mL}$ can be used as an antitumor agent. The ability to control the magnetic properties of NPs can be used to target a specific area of tumor tissue using an external magnetic field, and the established relationship between the magnetic moment and the activity of NPs in relation to the MCF-7 cell line has great prospects for clinical application.

Key words: iron; iron oxide, cancer cells, nanoparticles.

Введение

Противоопухолевые препараты имеют высокую токсичность и провоцируют различные побочные эффекты. Применение наночастиц (НЧ) со средним размером менее 100 нм обусловлено их уникальными свойствами, такими как большая площадь поверхности, возможность диффузии в ткани и более низкая скорость осаждения [1]. В связи с этим разрабатываются новые материалы на основе НЧ железа и оксидов железа, позволяющие доставить лекарственные средства к месту поражения

и сами по себе обладающие противоопухолевой активностью [2].

Разработанные системы доставки на основе магнитных НЧ позволили значительно улучшить результаты лечения, благодаря направленному воздействию на очаг поражения, способности регулировать скорость распада препарата и обеспечивать высвобождение лекарства с постоянной скоростью [3]. НЧ железа и его оксидов, в отличие от других магнитных металлов (кобальта и никеля), не обладают выраженной цитотоксичностью [4] и

чаще всего используются как противоопухолевые агенты, а также для диагностики и визуализации [5].

Среди оксидов железа (гематит $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, магнетит Fe_3O_4 и маггемит $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) для биомедицинского применения наиболее приемлемым является магнетит (Fe_3O_4) благодаря его биосовместимости, способности к биорезорбции и химической стабильности [6]. Уникальные магнитные свойства Fe_3O_4 объясняются тем, что он является ферримагнетиком и имеет кубическую структуру шпинели с плотной упаковкой, образующей гранецентрированную кубическую решетку [7]. Исследование возможности применения НЧ Fe_3O_4 в качестве самостоятельных противоопухолевых агентов проводится сравнительно недавно. Так, группа авторов [8] обнаружила пероксидазную активность НЧ Fe_3O_4 в условиях клеточного микроокружения. Данный механизм был подтвержден в работе [9] на примере клеточных линий HepG2 и A549. Авторы показали, что в основе механизма противоопухолевой активности наночастиц Fe_3O_4 лежит их способность генерировать активные формы кислорода (АФК), вызывая окислительный стресс и последующий апоптоз раковых клеток. Возможность применения НЧ Fe_3O_4 для генерации АФК в системе Фентона, содержащей перекись водорода H_2O_2 , при терапии опухолей и химический механизм процесса продемонстрированы в работе [10]. Ионизация наночастиц оксида железа в слабокислой среде с выделением Fe^{2+} и их взаимодействие по реакции диспропорционирования с H_2O_2 приводили к образованию АФК, в основном в виде радикалов $\text{OH}\cdot$, которые значительно снижали жизнеспособность опухолевых клеток за счет перекисного окисления липидов, разрыва цепей ДНК, мутации или транслокации на уровне ядер клеток [11]. Фотокаталитическая терапия опухолей с применением НЧ Fe_3O_4 также описана в работах [12, 13], однако в данном направлении необходимо проведение дополнительных исследований механизмов апоптоза в условиях клеточного микроокружения [14].

Важным параметром, обуславливающим противоопухолевую активность НЧ Fe_3O_4 , является их размер. Установлено, что НЧ с размером 5 нм

способны накапливаться в ядре клеток благодаря более быстрому высвобождению ионов железа Fe^{2+} [15]. Однако повышенная концентрация ионов железа Fe^{2+} , проникающих в митохондрии, способствует клеточному апоптозу [11], что обеспечивает их выраженную цитотоксичность и в отношении нормальных клеток. Накопление ионов железа также способствует нейродегенеративным заболеваниям, связанным с агрегацией белков А β и α -синуклеина [16]. Таким образом, возможность контроля выделения ионов Fe^{2+} является важным критерием при разработке противоопухолевых агентов на основе НЧ Fe_3O_4 .

Цель исследования – разработка наночастиц $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Fe}$ с противоопухолевой активностью *in vitro*.

В работе были получены магнитные НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Fe}$ с различным содержанием оксида Fe_3O_4 . Применение такой системы, образующей гальваническую пару в физиологических жидкостях, позволит контролировать выделение токсичных ионов железа и, соответственно, активность наночастиц. Исследованы физико-химические свойства полученных наночастиц и их противоопухолевая активность в отношении клеточных линий MCF-7 и HeLa.

Материал и методы

Наночастицы $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Fe}$ получали электрическим взрывом железной проволоки в смешанной атмосфере аргон + кислород по ранее описанной методике [17]. Регулирование содержания оксида железа в наночастицах $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Fe}$ осуществляли изменением содержания кислорода и аргона в газовой смеси в соответствии с табл. 1.

Для исследования структуры НЧ использовали метод рентгеноструктурного анализа (РСА), рентгеновский дифрактометр Shimadzu XRD 6000, Япония. Размер частиц исследовали седиментационным методом с применением дисковой центрифуги CPS 24000 (CPS Disc Instruments, США). Текстуру НЧ исследовали методом тепловой десорбции азота на анализаторе Сорбтометр М, Россия. Удельную поверхность рассчитывали методом БЭТ [18]. Для оценки морфологии НЧ использовали просвечивающую электронную микроскопию (JEM-2100, Япония) со встроенной

Таблица 1/Table 1

Условия получения НЧ $\text{Fe-Fe}_3\text{O}_4$
Conditions for obtaining $\text{Fe-Fe}_3\text{O}_4$ nanoparticles

Образец/ Sample	Содержание Fe_3O_4 , масс. %/ Fe_3O_4 , mass ratio, %	Содержание O_2 в газовой смеси, об. %/ O_2 content of in the gas mixture), vol. %	Содержание Ar в газовой смеси, об. %/ Ar content of in the gas mixture), vol. %
$\text{Fe}_3\text{O}_4(5)\text{-Fe}$	4	1,00	99,00
$\text{Fe}_3\text{O}_4(20)\text{-Fe}$	20	1,30	98,70
$\text{Fe}_3\text{O}_4(40)\text{-Fe}$	35	1,75	98,25
$\text{Fe}_3\text{O}_4(90)\text{-Fe}$	91	5,00	95,00

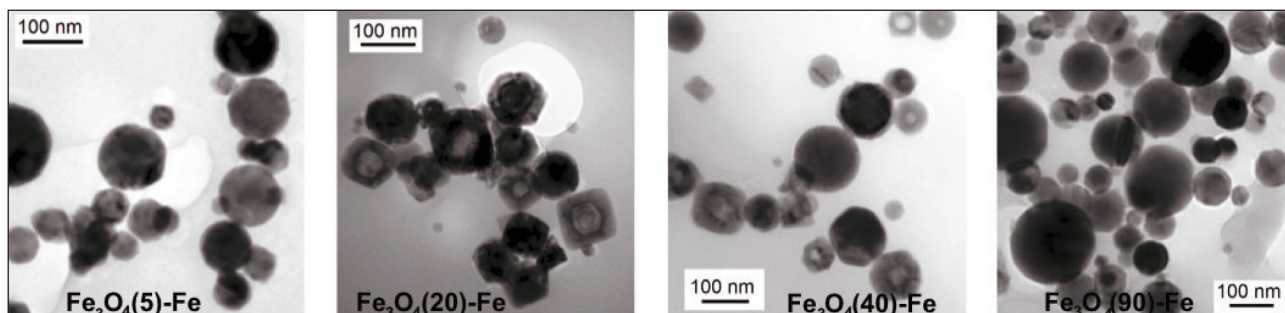


Рис. 1. Электронно-микроскопическое изображение НЧ
Fig. 1. TEM-image of nanoparticles

приставкой энергодисперсионного анализа XMax. Измерения дзета-потенциала образцов проводили методом микроэлектрофореза с использованием анализатора Zetasizer Nano ZSP, Великобритания.

Противоопухолевую активность НЧ исследовали при помощи МТТ-теста на эпителиоподобной культуре клеток аденокарциномы протоков молочной железы MCF-7 (АТСС НТВ-22) и клеточной линии HeLa, выделенной из опухоли шейки матки, предоставленных ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия). Предварительно получали экстракты НЧ после деградации в течение 24 ч при 37 °С в физиологическом растворе NaCl (0,9 масс. %) в соответствии с ГОСТом [19]. Клетки предварительно культивировали при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂/95 % воздуха (CO₂-инкубатор Sanyo, Япония) в среде DMEM (HiClone) с добавлением 5 % сыворотки эмбрионов коров и гентамицина. После инкубирования клетки помещали в 12-луночные культуральные планшеты в количестве 500 тыс. клеток/луночка и добавляли экстракты из расчета 10 мкл экстракта на 1000 мкл среды. Через 24 ч инкубирования цитотоксичность экстрактов оценивали при помощи МТТ-теста. Процедура проведения МТТ-теста детально описана в протоколе [20], определение оптической плотности проводили при длине волны 540 нм с использованием планшетного спектрофотометра (Multiscan FC, Thermo Scientific, США).

Результаты

В результате электрического взрыва железной проволоки в газовой смеси аргон + кислород, содержащей кислород в диапазоне 1–5 об. %, были получены НЧ Fe₃O₄-Fe с 5–90 масс. % Fe₃O₄ соответственно. Характерные электронно-микроскопические изображения НЧ приведены на рис. 1.

В образце Fe₃O₄(5)-Fe наблюдалось небольшое число частиц, имеющих шестиугольную и прямоугольную формы, все частицы в основном были сферическими. Увеличение содержания кислорода при получении НЧ до 1,3 об. % (образец Fe₃O₄(20)-Fe) приводило к резкому увеличению количества НЧ с отклонениями от сферической формы, наблюдалось большое количество частиц шестиугольной и прямоугольной формы. Дальнейшее увеличение содержания Fe₃O₄ в НЧ приводило к увеличению количества сферических НЧ. Основные физико-химические характеристики синтезированных НЧ приведены в табл. 2.

Противоопухолевую активность НЧ Fe₃O₄-Fe исследовали на линиях клеток HeLa и MCF-7. Клеточная линия HeLa выделена из опухоли шейки матки. MCF-7 – это эпителиоподобная культура клеток аденокарциномы протоков молочной железы. Данными, полученными при помощи МТТ-теста, установлено, что с увеличением концентрации НЧ происходит равномерное снижение количества жи-

Таблица 2/Table 2

Удельная поверхность ($S_{уд}$), средний размер частиц (a_n), фазовый состав и дзета-потенциал (ζ) НЧ Fe₃O₄-Fe
Specific Surface area (SSA), average particle size (a_n), phase composition and zeta-potential (ζ) of Fe₃O₄-Fe NPs

Образец/ Sample	$S_{уд}$, м ² ×г ⁻¹ / SSA, m ² ×g ⁻¹	a_n , нм/ a_n , nm	Фазовый состав, масс. %/Phase composition wt. %			ζ , мВ/ ζ , mV
			aFe	Fe ₃ O ₄	FeO	
Fe ₃ O ₄ (5)-Fe	10,3 ± 0,4	68 ± 2	95,7	4,3	–	-29,4 ± 0,2
Fe ₃ O ₄ (20)-Fe	7,5 ± 0,7	81 ± 5	80,3	19,2	0,4	-30,7 ± 0,5
Fe ₃ O ₄ (40)-Fe	8,2 ± 0,7	78 ± 3	60,4	38,9	0,7	-28,5 ± 0,3
Fe ₃ O ₄ (90)-Fe	11,4 ± 0,1	65 ± 2	8,3	90,7	1	-28,2 ± 0,3

Примечание: ± стандартное отклонение для n=3 при определении удельной поверхности ($S_{уд}$) и дзета-потенциала (ζ) образцов; n=5, для определения среднего размера частиц (a_n).

Note: ±SD n=3 for SSA and zeta-potential of samples; n=3 for average particle size (a_n).

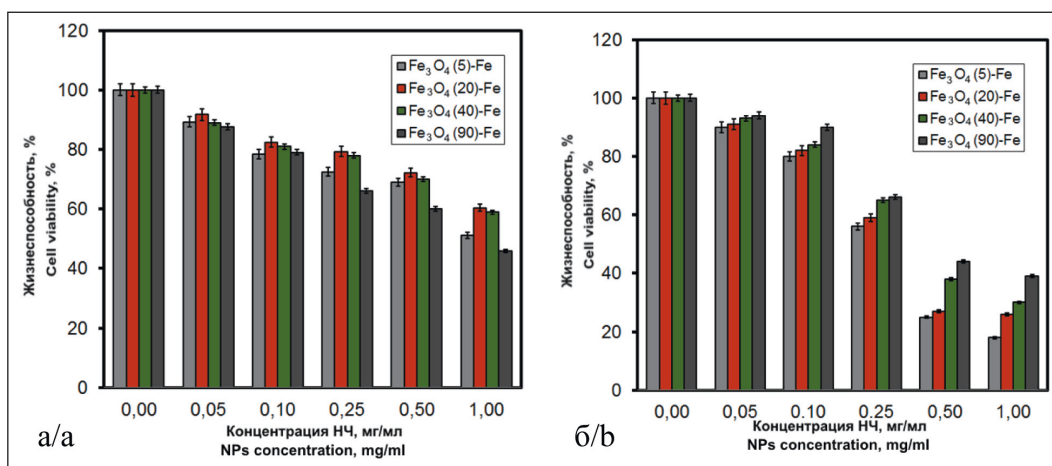


Рис. 2. Жизнеспособность клеточных линий HeLa (а) и MCF-7 (б) в присутствии НЧ Fe₃O₄-Fe, рассчитанная в % относительно контроля.

Примечание: вертикальные линии обозначают \pm стандартное отклонение, n=5 для всех протестированных образцов
 Fig. 2. HeLa (a) and MCF-7 (b) cell viability in the presence of Fe₃O₄-Fe NPs, calculated in % relative to control.
 Note: vertical lines represent \pm SD, n=5 for all tested samples

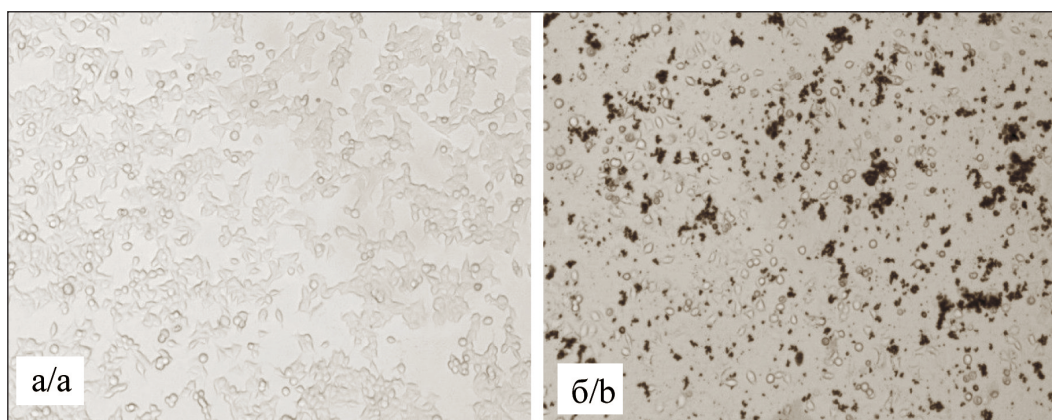


Рис. 3. Фотографическое изображение клеточной линии MCF-7 до (а) и после (б) контакта с НЧ Fe₃O₄(5)-Fe
 Fig. 3. MCF-7 cell line images before (a) and after (b) Fe₃O₄(5)-Fe NPs contact

вых клеток. При концентрации наночастиц 1 мг/мл количество живых клеток линии HeLa составляло около 60 % относительно контрольного образца, не обработанного экстрактом НЧ (рис. 2а).

Линия MCF-7 проявила большую чувствительность к воздействию НЧ (рис. 2б). В отличие от линии HeLa, наименьшей цитотоксичностью обладали НЧ Fe₃O₄(90)-Fe. При концентрации наночастиц 1 мг/мл наблюдалось снижение жизнеспособности клеток до 40 % относительно контроля. Наибольшей цитотоксичностью обладали наночастицы Fe₃O₄(5)-Fe, в присутствии которых в концентрации 1 мг/мл количество живых клеток снижалось до 16 % относительно контроля. Фотографические изображения клеточной культуры MCF-7 до (рис. 3а) и после (рис. 3б) контакта с НЧ демонстрируют значительное снижение количества распластанных клеток, что подтверждает негативное воздействие НЧ на клетки.

Обсуждение

Исследование структурных характеристик НЧ показало, что основными фазами в НЧ Fe₃O₄-Fe

являются магнетит Fe₃O₄, который является двойным оксидом (Fe₂O₃ × FeO) со структурой шпинели, и металлическое железо. Кроме того, в образцах обнаруживаются следовые (менее 1 %) количества оксида железа (II) FeO (вюстита), который является термодинамически нестабильной фазой и при температурах менее 560 °C претерпевает эвтектидный распад с образованием Fe и Fe₃O₄ [21]. Наличие вюстита в образцах, вероятно, объясняется быстрым охлаждением расширяющихся продуктов электрического взрыва со скоростью до 10⁷–10⁹ К/с [22].

Дзета-потенциал НЧ не зависел от содержания Fe₃O₄ в НЧ и составлял \approx -30 мВ. Зависимости основных физико-химических параметров НЧ (удельная поверхность $S_{уд}$, средний размер a_n) от массовой доли Fe₃O₄ W в НЧ приведены на рис. 4.

Такое изменение физико-химических свойств НЧ с экстремумом при содержании Fe₃O₄ $W=20$ % можно объяснить механизмом образования оксидной фазы при электрическом взрыве. При малом содержании кислорода в газовой смеси (1,0 об. %) экзотермический эффект реакции окис-

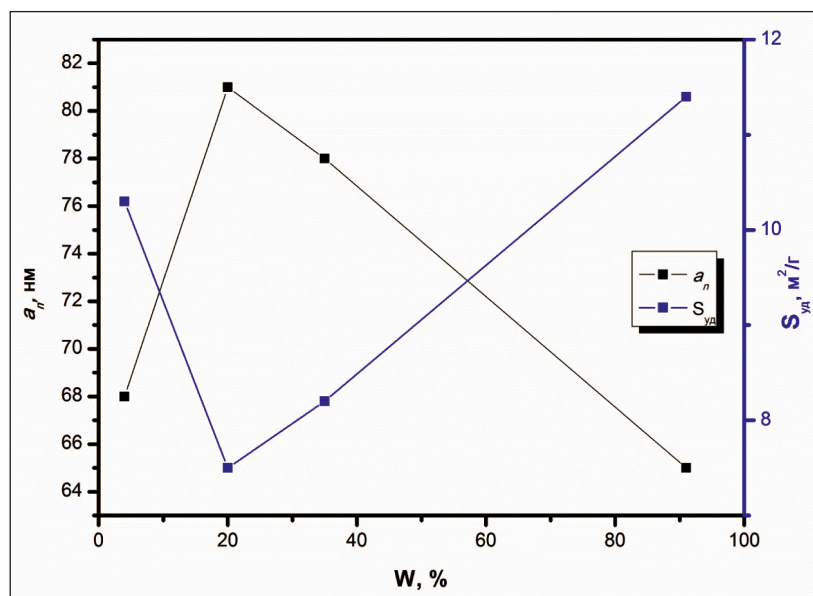


Рис. 4. Экспериментальные зависимости удельной поверхности ($S_{уд}$) и среднего размера (a_n) НЧ от массовой доли (W) Fe_3O_4 в НЧ Fe_3O_4 -Fe

Fig. 4. Experimental curves of dependence of specific surface (SSA) and average particle size (a_n) on Fe_3O_4 mass ratio (W)

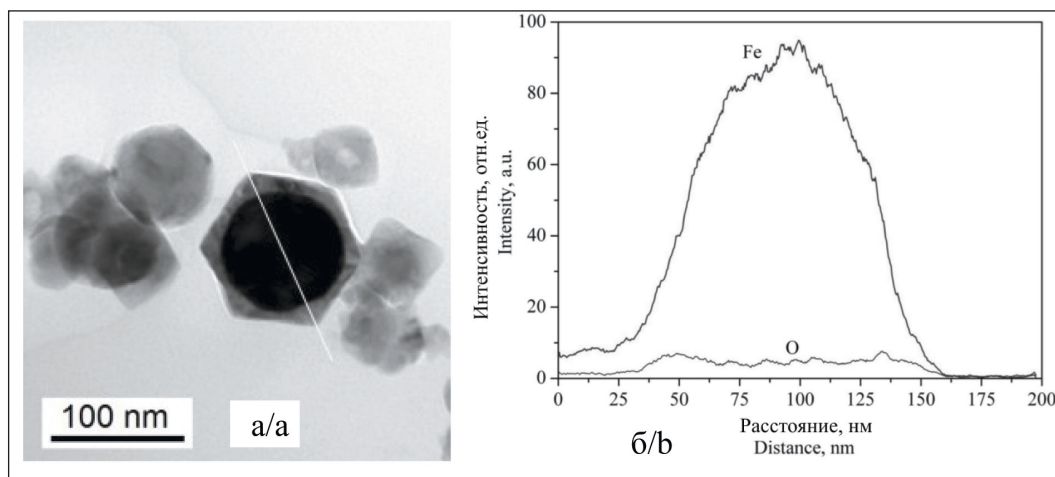


Рис. 5. ПЭМ-изображение (а) и энергодисперсионный анализ (б) в режиме картирования по линии НЧ $Fe_3O_4(20)$ -Fe

Fig. 5. TEM image (a) and energy-dispersive analysis (b) in the mode of mapping along line of $Fe_3O_4(20)$ -Fe NPs

ления железа был небольшим, формирование Fe_3O_4 в образце $Fe_3O_4(5)$ -Fe в основном происходило за счет диффузии кислорода в объем металла. Содержание Fe_3O_4 в данном образце было наименьшим. Увеличение содержания кислорода до 1,3 об. % при получении образца $Fe_3O_4(20)$ -Fe приводило к испарению железа с поверхности основной массы жидких наночастиц. Взаимодействие железа с кислородом происходило в данных условиях в тонком слое газовой фазы, прилегающем к поверхности наночастиц. На поверхности железных наночастиц формировался слой FeO, который при охлаждении дисперсной системы, согласно фазовой диаграмме, распался на α -Fe и Fe_3O_4 . Для данного образца наблюдались изменение морфологии НЧ и наибольшее количество НЧ ограниченной и квадратной формы. Структура ядро-оболочка для данных НЧ была также подтверждена при помощи энергодисперсионного анализа, приведенного на рис. 5.

Дальнейший рост содержания кислорода до 1,75 об. % увеличивал экзотермический эффект

реакции и приводил к полному испарению наиболее мелких наночастиц. В данном случае формирование наночастиц происходило в соответствии с двумя механизмами: 1) часть НЧ формировалась непосредственно из газовой фазы, что обеспечивает их сферическую форму, и была представлена только Fe_3O_4 ; 2) другая часть наночастиц образовывалась при формировании оболочки из FeO вокруг металлического ядра из газовой фазы, которое распалось при охлаждении на α -Fe и Fe_3O_4 . С увеличением содержания кислорода до 5 об. % количество НЧ, формирующихся по первому механизму, увеличивалось. Таким образом, увеличение содержания кислорода в газовой смеси приводит сначала к росту количества НЧ со структурой ядро-оболочка. Их максимальное содержание достигалось для НЧ $Fe_3O_4(20)$ -Fe. Дальнейшее увеличение содержания кислорода приводило к увеличению содержания НЧ оксида железа Fe_3O_4 .

Влияние НЧ на жизнеспособность опухолевых клеточных линий определяли в широком диапазоне

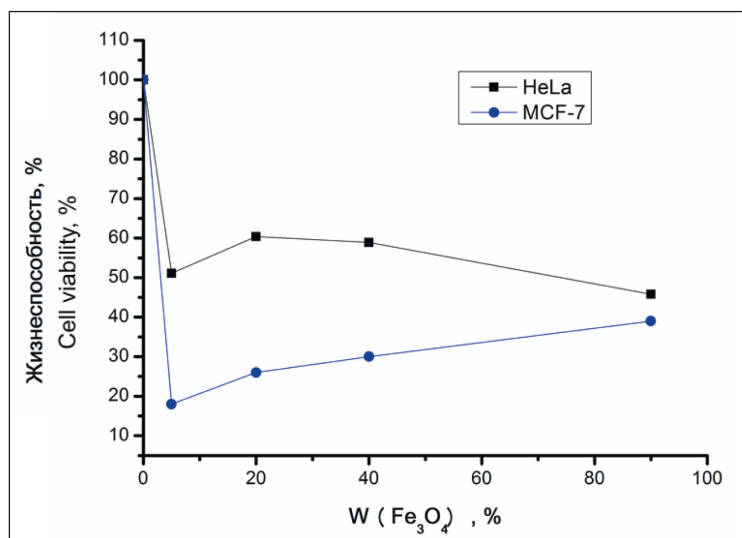


Рис. 6. Влияние массовой доли Fe_3O_4 в НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Fe}$ на жизнеспособность клеточных линий
Fig. 6. Effect of Fe_3O_4 mass ratio on the cell viability

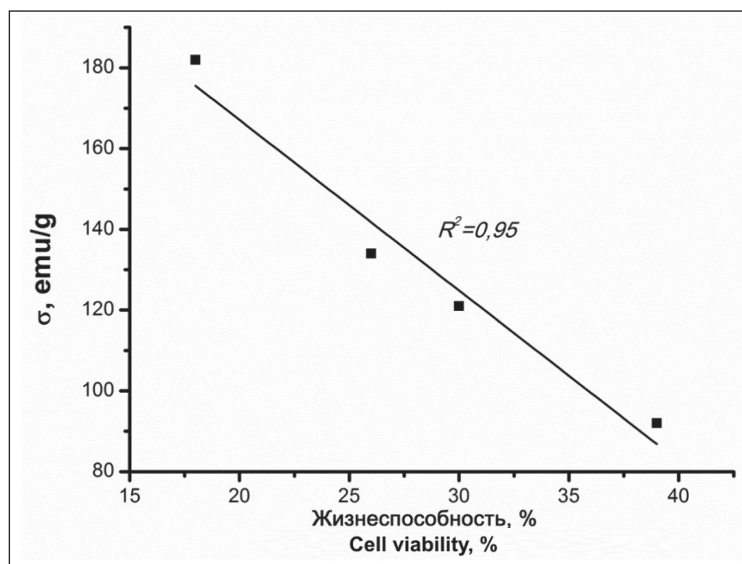


Рис. 7. Влияние магнитного момента (σ) НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Fe}$ на жизнеспособность клеточной линии MCF-7
Fig. 7. Effect of the $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Fe}$ NP magnetic moment (σ) on the MCF-7 cell viability

концентраций наночастиц в течение 24 ч инкубирования при помощи МТТ-теста. МТТ является основным методом оценки цитотоксичности биоматериалов [23]. Метод основан на способности дегидрогеназы митохондрий живых клеток восстанавливать бромид тетразолия до пурпурных кристаллов формазана, количество которых коррелирует с количеством живых клеток.

Как показали проведенные исследования, в присутствии НЧ наблюдалось снижение пролиферации, которое нелинейно зависело от содержания Fe_3O_4 в НЧ. Зависимость жизнеспособности клеточных линий от содержания Fe_3O_4 в образцах приведена на рис. 6.

R.A. Petros et al. установлено, что транспорт НЧ через мембрану опухолевых клеток в значительной степени определяется их размером и оптимальными являются НЧ с размером 50–70 нм [24]. Помимо эффективного поглощения НЧ важна также возможность их удержания, частицы менее 50 нм подвергаются экзоцитозу в течение 24 ч по-

сле поглощения [25]. Полученные нами данные по жизнеспособности культуры HeLa (рис. 6) хорошо коррелировали со средним размером НЧ (рис. 4). Снижение размера частиц приводит и к увеличению выделения ионов Fe^{2+} , которые, по данным [26], нарушают синтез ДНК опухолевых клеток, что вносит основной вклад в снижение их пролиферации.

Однако подобной корреляции не наблюдалось в отношении клеточной линии MCF-7. Как показано на рис. 6, данная линия обладала высокой чувствительностью к НЧ при высоких концентрациях НЧ. Жизнеспособность клеточной линии снижалась с уменьшением количества в Fe_3O_4 НЧ. При построении зависимости магнитных свойств НЧ (магнитного момента) наблюдалась практически линейная зависимость с высоким коэффициентом корреляции (рис. 7).

Насколько нам известно, такая зависимость наблюдалась впервые и требует проведения дополнительных исследований в экспериментах *in vivo*.

Чувствительность клеточной линии HeLa к магнитному моменту НЧ не носила линейного характера, однако для НЧ с наибольшим магнитным моментом (182 ед/г) характерно наибольшее подавление жизнеспособности клеток (48 %). Полученный в работе эффект позволит регулировать свойства синтезированных НЧ под действием внешнего магнитного поля и делает их перспективными при использовании в качестве медиаторов гипертермии при лечении онкологических заболеваний.

Заключение

С каждым годом все больше растет интерес исследователей к применению магнитных НЧ оксидов железа в различных биомедицинских приложениях, включая разделение клеточных смесей, выделение антител, создание биосенсоров и биочипов, магнитно-резонансную томографию и т. д. Способность железа к комплексообразованию

позволит модифицировать такие НЧ различными функциональными группами, а регулируемые магнитные свойства дадут возможность управлять процессом их перемещения. В настоящей работе мы впервые показали, что НЧ Fe_3O_4 -Fe в диапазоне концентраций 50–100 мкг/мл можно использовать в качестве противоопухолевого агента. Возможность регулирования магнитных свойств НЧ можно использовать для нацеливания на определенный участок опухолевой ткани с помощью внешнего магнитного поля, а установленная взаимосвязь магнитного момента с активностью НЧ в отношении клеточной линии MCF-7 имеет большие перспективы для клинического применения. Тем не менее необходимо дальнейшее углубленное изучение токсичности полученных НЧ для понимания механизма, лежащего в основе полученного результата, для возможного применения НЧ *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Park J., An K., Hwang Y., Park J.G., Noh H.J., Kim J.Y., Park J.H., Hwang N.M., Hyeon T. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. *Nat Mater*. 2004; 3(12): 891–5. doi: 10.1038/nmat1251.
2. Soetaert F., Korangath P., Serantes D., Fiering S., Ivkov R. Cancer therapy with iron oxide nanoparticles: Agents of thermal and immune therapies. *Adv Drug Deliv Rev*. 2020. doi: 10.1016/j.addr.2020.06.025.
3. Ebadi M., Buskaran K., Bullo S., Hussein M.Z., Fakurazi S., Pastorin G. Drug delivery system based on magnetic iron oxide nanoparticles coated with (polyvinyl alcohol-zinc/aluminium-layered double hydroxide-sorafenib). *Alexandria Eng J*. 2021. 60(1): 733–47. doi: 10.1016/j.aej.2020.09.061.
4. Hernández-Hernández A.A., Aguirre-Álvarez G., Cariño-Cortés R., Mendoza-Huizar L.H., Jiménez-Alvarado R. Iron oxide nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in diagnosis and treatment of cancer. *Chem Papers*. 2020.74(11): 3809–24. doi: 10.1007/s11696-020-01229-8.
5. Yalcin S., Gündüz U. Iron oxide-based polymeric magnetic nanoparticles for drug and gene delivery: *in vitro* and *in vivo* applications in cancer. *Handbook Polym Ceram Nanotechnol*. 2021: 1271–92. doi: 10.1007/978-3-030-10614-0_38-1.
6. Revia R.A., Zhang M. Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: recent advances. *Mater Today (Kidlington)*. 2016; 19(3): 157–68. doi: 10.1016/j.mattod.2015.08.022.
7. Pinna N., Grancharov S., Beato P., Bonville P., Antonietti M., Niederberger M. Magnetite nanocrystals: nonaqueous synthesis, characterization, and solubility. *Chem Mater*. 2005. 17(11): 3044–9. doi: 10.1021/cm050060+.
8. Chen Z., Yin J.J., Zhou Y.T., Zhang Y., Song L., Song M., Hu S., Gu N. Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. *ACS Nano*. 2012; 6(5): 4001–12. doi: 10.1021/nn300291r.
9. Ahamed M., Alhadlaq H.A., Majeed Khan M.A., Javed Akhtar M. Selective killing of cancer cells by iron oxide nanoparticles mediated through reactive oxygen species via p53 pathway. *J Nanopart. Res*. 2013. 15(1): 1–11 doi: 10.1007/s11051-012-1225-6.
10. Zhang C., Bu W., Ni D., Zhang S., Li Q., Yao Z., Zhang J., Yao H., Wang Z., Shi J. Synthesis of iron nanometallic glasses and their application in cancer therapy by a localized Fenton reaction. *Angewandte Chemie*. 2016. 128(6): 2141–6. doi: 10.1002/anie.201510031.
11. Yarjanli Z., Ghaedi K., Esmaeili A., Rahgozar S., Zarrabi A. Iron oxide nanoparticles may damage to the neural tissue through iron accumulation, oxidative stress, and protein aggregation. *BMC Neurosci*. 2017; 18(1): 51. doi: 10.1186/s12868-017-0369-9.
12. Buiculescu R., Stefanakis D., Androulidaki M., Ghanotakis D., Chaniotakis N.A. Controlling carbon nanodot fluorescence for optical biosensing. *Analyst*. 2016. 141(13): 4170–80. doi: 10.1039/c6an00783j.
13. Huo M., Wang L., Chen Y., Shi J. Tumor-selective catalytic nanomedicine by nanocatalyst delivery. *Nat Commun*. 2017; 8(1): 357. doi: 10.1038/s41467-017-00424-8.
14. Saeed M., Ren W., Wu A. Therapeutic applications of iron oxide based nanoparticles in cancer: basic concepts and recent advances. *Biomater Sci*. 2018. 6(4): 708–25. doi: 10.1039/c7bm00999b.
15. Tian X., Ruan L., Zhou S., Wu L., Cao J., Qi X., Zhang X., Shen S. Appropriate size of Fe_3O_4 nanoparticles for cancer therapy by ferroptosis. *ACS App Bio Mater*. 2022. 5(4): 1692–9. doi:10.1021/acsabm.2c00068.
16. Niu X., Chen J., Gao J. Nanocarriers as a powerful vehicle to overcome blood-brain barrier in treating neurodegenerative diseases: Focus on recent advances. *Asian J Pharm Sci*. 2019; 14(5): 480–96. doi: 10.1016/j.ajps.2018.09.005.
17. Lozhkomoev A.S., Pervikov A.V., Kazantsev S.O., Sharipova A.F., Rodkevich N.G., Toropkov N.E., Suliz K.V., Svarovskaya N.V., Kondranova A.M., Lerner M.I. Synthesis of $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ core-shell nanoparticles by electrical explosion of the iron wire in an oxygen-containing atmosphere. *J Nanopart Res*. 2021. 23(3): 1–12. doi: 10.1007/s11051-021-05180-x.
18. Hwang N., Barron A.R. BET surface area analysis of nanoparticles. *The Connexions project*. 2011: 1–11.
19. ГОСТ ISO 10993-5-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*. 2013. [ГОСТ ISO 10993-5-2011. Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 5. Tests for *in vitro* cytotoxicity. 2013. (in Russian)].
20. van Meerloo J., Kaspers G.J., Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Methods Mol Biol*. 2011; 731: 237–45. doi: 10.1007/978-1-61779-080-5_20.
21. Hussey R.J., Cohen M. The oxidation of Fe in the temperature range 450–550 °C. II. The pressure range 10–3–760 Torr. *Corrosion Sci*. 1971. 11(10): 713–21. doi:10.1016/S0010-938X(71)80004-5.
22. Sindhu T.K., Sarathi R., Chakravarthy S.R. Understanding nanoparticle formation by a wire explosion process through experimental and modelling studies. *Nanotechnology*. 2008; 19(2). doi: 10.1088/0957-4484/19/02/025703.
23. Chen D., Tang Q., Li X., Zhou X., Zang J., Xue W.Q., Xiang J.Y., Guo C.Q. Biocompatibility of magnetic Fe_3O_4 nanoparticles and their cytotoxic effect on MCF-7 cells. *Int J Nanomedicine*. 2012; 7: 4973–82. doi: 10.2147/IJN.S35140.
24. Petros R.A., DeSimone J.M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov*. 2010; 9(8): 615–27. doi: 10.1038/nrd2591.
25. Popescu R.C., Savu D., Dorobantu I., Vasile B.S., Hosser H., Boldeiu A., Temelie M., Straticiu M., Iancu D.A., Andronescu E., Wenz F., Giordano F.A., Herskind C., Veldwijk M.R. Efficient uptake and retention of iron oxide-based nanoparticles in HeLa cells leads to an effective intracellular delivery of doxorubicin. *Sci Rep*. 2020; 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-67207-y.
26. Ye P., Ye Y., Chen X., Zou H., Zhou Y., Zhao X., Kong X. Ultrasmall Fe_3O_4 nanoparticles induce S-phase arrest and inhibit cancer cells proliferation. *Nanotechnol. Rev*. 2020; 9(1): 61–9. doi: 10.1515/ntrv-2020-0006.

Поступила/Received 26.03.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 09.04.2022

Принята к публикации/Accepted 17.04.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бакина Ольга Владимировна, доктор технических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения» Сибирского отделения 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). E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru. SPIN-код: 9002-1344. Researcher ID (WOS): A-3184-2014. Author ID (Scopus): 57200860509.

Ложкомоев Александр Сергеевич, доктор технических наук, заведующий лабораторией, ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): O-3024-2013. Author ID (Scopus): 26664893000. ORCID: 0000-0002-1564-0858.

Казанцев Сергей Олегович, младший научный сотрудник, ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2529-0738. Researcher ID (WOS): A-9259-2019. Author ID (Scopus): 56985661000. ORCID 0000-0002-1728-7947.

Августинович Александра Владимировна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2952-6119. Researcher ID (WOS): D-6062-2012. Author ID (Scopus): 56392965300. ORCID: 0000-0001-7301-7581.

Афанасьев Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9206-3037. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 7005336732. ORCID: 0000-0002-4701-0375.

Спирина Людмила Викторовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; и. о. заведующей кафедрой биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500. ORCID: 0000-0002-5269-736X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Бакина Ольга Владимировна: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Ложкомоев Александр Сергеевич: исследование физико-химических свойств образцов.

Казанцев Сергей Олегович: получение экспериментальных образцов.

Августинович Александра Владимировна: редактирование рукописи, статистическая обработка результатов.

Афанасьев Сергей Геннадьевич: редактирование рукописи, обработка результатов.

Спирина Людмила Викторовна: проведение биологических исследований, редактирование рукописи.

Финансирование

Настоящее исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) и Министерства науки и технологий Израиля в соответствии с исследовательским проектом № 19-53-06006.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Olga V. Bakina, DSc, Senior Researcher, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Associate Professor of 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). E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru. Researcher ID (WOS): A-3184-2014. Author ID (Scopus): 57200860509.

Aleksandr S. Lozhkomoev, DSc, Head of Laboratory, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Science (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): O-3024-2013. Author ID (Scopus): 26664893000. ORCID: 0000-0002-1564-0858.

Sergey O. Kazantsev, Junior Researcher, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Science (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-9259-2019. Author ID (Scopus): 56985661000. ORCID 0000-0002-1728-7947.

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

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

Lyudmila V. Spirina, MD, DSc, Leading Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; acting head of 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). Researcher ID (WOS): A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500. ORCID: 0000-0002-5269-736X.

AUTHOR CONTRIBUTION

Olga V. Bakina: development of the concept of scientific work, drafting the manuscript;

Aleksandr S. Lozhkomoev: study of the physicochemical properties of samples;

Sergey O. Kazantsev: obtaining experimental samples;

Alexandra V. Avgustinovich: manuscript editing, statistical processing of results;

Sergey G. Afanasyev: manuscript editing, processing of results;

Lyudmila V. Spirina: biological research, editing the manuscript.

Funding

This study was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) and the Israeli Ministry of Science and Technology in accordance with research project no. 19-53-06006.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-90-97
УДК: 616.351-006.6-08:615.28+615.849.1

Для цитирования: Гордеев С.С., Сейдинович А., Нагуслаева А.А., Поликарпова С.Б., Мамедли З.З. Роль химиолучевой терапии в лечении нейроэндокринного рака прямой кишки: серия клинических наблюдений. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 90–97. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-90-97

For citation: Gordeev S.S., Seidinovich A., Naguslayeva A.A., Polikarpova S.B., Mamedli Z.Z. The role of chemo-radiotherapy in the treatment of neuroendocrine rectal cancer: case reports. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 90–97. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-82-89

РОЛЬ ХИМИЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОЭНДОКРИННОГО РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ: СЕРИЯ КЛИНИЧЕСКИХ НАБЛЮДЕНИЙ

С.С. Гордеев¹, А. Сейдинович², А.А. Нагуслаева¹, С.Б. Поликарпова³,
З.З. Мамедли¹

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

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24¹

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, Россия²

Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1. E-mail: alen-s-99@yandex.ru²

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России, г. Москва, Россия³

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2, Россия³

Аннотация

Цель исследования – оценка эффективности предоперационной лучевой терапии (ЛТ) у пациентов НЭО прямой кишки G2-G3. **Материал и методы.** Ретроспективное изучение историй болезней пациентов, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в период с 2000 по 2020 г. с запросом МКБ-X: МКБ-0 1.4.1 8249/3, 82401, 8240/1, 8240/3.1, 8240/3, 82403, 82443, 8045/3.2, 8013/3, 80123, 85103, 8510/3, 8041/3.3, 80413, 8041/3, 8246/3, 8240/3.2 и МКБ-X C20, C21.1. Критерии включения больных в исследование: гистологически верифицированные нейроэндокринные опухоли прямой кишки и анального канала G2 и G3 степени злокачественности (Ki67>3 %), которым проведена предоперационная лучевая (ЛТ) или химиолучевая терапия (ХЛТ). Из исследования исключали пациентов, которым проводили ЛТ/ХЛТ с паллиативной целью, а также больных с первично-множественными синхронными или метастатическими опухолями, пациентов с нерезектабельными метастазами в печени. Стадирование осуществляли на основании данных МРТ малого таза, КТ грудной клетки и брюшной полости с внутривенным контрастированием. Основным анализируемым параметром была частота ответа на лечение по критериям RECIST, дополнительными – частота лечебного патоморфоза по DWORAK, общая и безрецидивная выживаемость. Статистический анализ проводили с использованием пакета программ IBM SPSS (версия 25). **Результаты.** Медиана наблюдения составила 24 мес. Пациент с полным клиническим ответом нейроэндокринного рака G3 на лечение наблюдается в течение 64 мес без признаков прогрессирования. Пятилетняя ОВ и БРВ пациентов с НЭО прямой кишки G2-G3 составили 64,3 и 53,6 % соответственно. **Заключение.** Удалось добиться долгосрочной выживаемости без прогрессирования опухолевого процесса у 2 из 3 пациентов с нейроэндокринным раком G3 (у 1 из них – со стойким полным клиническим ответом на лечение) и у 3 из 4 пациентов с нейроэндокринными опухолями G2.

Ключевые слова: нейроэндокринный рак прямой кишки, лучевая терапия, химиолучевая терапия.

THE ROLE OF CHEMORADIO THERAPY IN THE TREATMENT OF NEUROENDOCRINE RECTAL CANCER: CASE REPORTS

S.S. Gordeev¹, A. Seidinovich², A.A. Naguslayeva¹, S.B. Polikarpova³,
Z.Z. Mamedli¹

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

24, Kashirskoye Shosse, 115522, Moscow, Russia¹

N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia²

1, Ostrovityanova St., 117997, Moscow, Russia. E-mail: alen-s-99@yandex.ru²

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia,
Moscow, Russia³

8/2, Trubetskaya St., 119991, Moscow, Russia³

Abstract

The aim of the study was to assess the response to preoperative radiotherapy (RT) in patients with G2-G3 rectal neuroendocrine tumors (NETs). **Material and Methods.** Case reports involving patients who were given treatment at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology from 2000 to 2020 were retrospectively studied. Patients with histologically verified neuroendocrine tumors of the rectum and anal canal (G2 and G3, Ki67>3%), who underwent preoperative radiotherapy (RT) or chemoradiotherapy (CRT) were included into the study. The study excluded patients who received palliative RT/CRT, patients with primary multiple synchronous or metachronous tumors, and patients with unresectable liver metastases. Staging was performed on the basis of MRI of the pelvis, CT scan of the chest and abdomen with intravenous contrast. The main assessment parameter was the response rate to treatment according to the RECIST criteria, and additional parameters were the frequency of pathological response according to DWORAK classification and overall and relapse-free survivals. Statistical analysis was conducted using the IBM SPSS software package (version 25). **Results.** The median follow-up time was 24 months. The follow-up time of a patient with G3 neuroendocrine cancer was 64 months without the evidence of disease progression. The 5-year OS and DFS for patients with G2-G3 rectal NETs were 64.3 % and 53.3 %, respectively. **Conclusion.** Long-term progression-free survival in 2 out of 3 patients with G3 neuroendocrine cancer (1 of them with a complete clinical response) and in 3 out of 4 patients with G2 neuroendocrine tumors was obtained.

Key words: neuroendocrine rectal cancer, radiation therapy, chemoradiotherapy.

Введение

Нейроэндокринные опухоли (НЭО) прямой кишки G2 и G3 – редкие злокачественные новообразования. В научной литературе описано небольшое число серий клинических наблюдений. Основной метод лечения – хирургический, однако из-за отсутствия уверенности в выполнимости резекции R0 часто встает вопрос о предоперационном лечении. При этом эффективность неоадьювантной терапии при нейроэндокринных опухолях прямой кишки G2-G3 не изучена. Существует небольшое число статей, отражающих влияние лучевой терапии (ЛТ) и химиолучевой терапии (ХЛТ) нейроэндокринного рака прямой кишки в составе комплексной терапии.

Целью исследования явилась оценка эффективности предоперационной химиолучевой терапии у пациентов с нейроэндокринными опухолями прямой кишки G2-G3.

Материал и методы

Исследование основано на ретроспективном изучении историй болезни пациентов, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина

в период с 2000 по 2020 г. По кодам МКБ-0 1.4.1 8249/3, 82401, 8240/1, 8240/3.1, 8240/3, 82403, 82443, 8045/3.2, 8013/3, 80123, 85103, 8510/3, 8041/3.3, 80413, 8041/3, 8246/3, 8240/3.2 и МКБ-X C20, C21.1 был отправлен запрос в архив на отбор историй болезни пациентов за период 2000–20 гг. Критериями включения в исследуемую группу были: гистологически верифицированные нейроэндокринные опухоли прямой кишки и анального канала с G2 и G3 степенями злокачественности (Ki67>3 %), по поводу которых проведена предоперационная ЛТ или ХЛТ. Из исследования исключали пациентов, которым проводили ЛТ/ХЛТ с паллиативной целью, пациентов с первично-множественными синхронными или метастатическими опухолями, а также пациентов с нерезектабельными метастазами в печени. Стадирование осуществляли на основании данных МРТ малого таза, КТ грудной клетки и брюшной полости с внутривенным контрастированием.

Лучевую терапию проводили с использованием технологий трехмерной конформной лучевой терапии (3D-CRT, до 2010 г.) или ЛТ с модуляцией интенсивности (IMRT, после 2010 г.). Объем об-

лучения включал прямую кишку с мезоректальной клетчаткой и регионарные, тазовые лимфатические узлы. РОД составляла 2 Гр, СОД 44 Гр на зону регионарного метастазирования, СОД 50–52 Гр – на первичную опухоль. На фоне ЛТ проводили химиотерапию капецитабином 825 мг/м² 2 раза в сутки per os в дни ЛТ. Эффект ЛТ оценивали по результатам МРТ малого таза через 8–14 нед после завершения ЛТ/ХЛТ.

Основным анализируемым параметром была частота ответа на лечение по критериям RECIST, дополнительными – частота лечебного патоморфоза по DWORAK, общая и безрецидивная выживаемость. Все данные о выживаемости были рассчитаны с момента постановки диагноза до смерти (общая выживаемость) или смерти/прогрессирования (безрецидивная выживаемость, в зависимости от того, какое событие наступит раньше). Сравнение показателей выживаемости между пациентами проводилось с использованием лог-рангового теста методом Каплана–Мейера. Статистический анализ проводили с использованием пакета программ IBM SPSS (версия 25).

Результаты

Всего по запросу в архиве было идентифицировано 312 историй болезни. После удаления дублирующих записей (повторное взятие биопсии у одного и того же пациента) осталось 277 историй болезни. В дальнейшем 189 из них было исключено по следующим причинам: 136 – нейроэндокринные опухоли G1, 39 – отсутствие историй болезни в архиве (потерянные истории болезни и пациенты, обратившиеся только для получения второго мнения), 14 – диагноз НЭО опровергнут после повторного взятия биопсии или проведения хирургического вмешательства. Данные оставшихся 88 пациентов были внесены в реестр редких заболеваний Российского общества специалистов по колоректальному раку (РОСКР). Из этих 88 пациентов у 39 опухоль локализовалась в прямой кишке, у 30 исходно была нематастатическая форма заболевания или исходно резектабельные метастазы в печени, и только 7 больных получали предоперационную ЛТ или ХЛТ.

В итоге в исследование включено 7 пациентов. У 2 (28,6 %) пациентов выявлена II стадия забо-

Таблица 1/Table 1

Характеристика исследуемой группы
Features of the study group

Характеристика/Features	Число больных/Number of patients (n=7)
Возраст (медиана, мин-макс), лет/Age, (median, min-max), years	59 (33–66)
Пол/Sex	
Мужчины/Men	3 (43 %)
Женщины/Female	4 (57 %)
Локализация/Localization	
Верхнеампулярный отдел/Upper ampullar department	1 (14 %)
Среднеампулярный отдел/Middle ampullar department	2 (29 %)
Нижнеампулярный отдел/Lower ampullar department	3 (43 %)
Анальный канал/Anal canal	1 (14 %)
Стадия опухолевого процесса/Stage of the tumor process	
IIA	1 (14 %)
IIB	1 (14 %)
IIIB	4 (58 %)
IV	1 (14 %)
Стадия опухоли по критерию T/Stage of the tumor according to the criterion T	
T2	1 (14 %)
T3	4 (57 %)
T4	2 (29 %)
Стадия опухоли по критерию N/Stage of the tumor according to the criterion N	
N0	2 (29 %)
N1	5 (71 %)
Ki67	
G2	4 (57 %)
G3	3 (42 %)
Медиана прослеженности, мес/Median follow-up, months	57,1 (9–104,1)

Таблица 2/Table 2

Частота ответа на лучевую терапию
Response rate to radiotherapy

RECIST	G2	G3
Полный ответ/Complete response	–	1,0 (33 %)
Частичный ответ/Partial response	1,0 (25 %)	1,0 (33 %)
Стабилизация/Stable disease	2,0 (50 %)	1,0 (34 %)
Прогрессирование/Progressive disease	1,0 (25 %)	–

левания, у 4 (57 %) – III стадия, у 1 (14,4 %) – IV стадия (табл. 1), все по данным компьютерной томографии органов грудной клетки, брюшной полости и таза. Пациенту с IV стадией проводили ХЛТ, так как метастазы в печени расценивали как резектабельные и планировали в дальнейшем резекцию печени. Уровень Ki67 варьировал от 3 до 80 % (для G2 – от 3 до 5 %, для G3 – от 35 до 80 %).

При оценке эффективности лечения частота ответа по RECIST составила (табл. 2): полный ответ – у 1 (14 %), частичный ответ – у 3 (43 %), стабилизация – у 2 (29 %), прогрессирование – у 1 (14 %) больного. У 3 пациентов в группе нейроэндокринного рака G3, получавших лучевую терапию, наблюдалась стабилизация (n=1), частичный ответ (n=1) и полный ответ (n=1). В группе химиотерапии частичный ответ был у 1 пациента. Частичный или полный ответ достигнут у 3 (75 %) из 4 пациентов с нейроэндокринной опухолью G2 и у 2 (67 %) из 3 пациентов с нейроэндокринной опухолью G3. Прогрессирование отмечалось у пациента с опухолью G2.

Трем пациентам не было проведено хирургическое лечение: у 1 пациента отмечен полный клинический ответ на лечение, принято решение о продолжении наблюдения в рамках протокола «наблюдения и ожидания»; у 2-го пациента в связи с диссеминацией опухолевого процесса в период ожидания реализации эффекта ХЛТ (при этом исходно отмечались метастазы в печени, которые перешли в нерезектабельное состояние, по первичной опухоли – положительная динамика); у 3-го пациента в сентябре 2018 г. отмечено прогрессирование заболевания в виде метастазов в шейных и шейно-надключичных лимфатических узлах слева. По первичной опухоли положительная динамика. С 20.09.18 по 24.09.18 проведена химиотерапия по схеме: иринотекан в дозе 60 мг/м² (разовая доза – 120 мг) в 1-й, 8-й дни + цисплатин в дозе 60 мг/м² (разовая доза – 120 мг) в 1-й день. Таким образом, хирургическое вмешательство выполнено 4 (57 %) из 7 пациентов. Во всех случаях резекция кишки выполнена в объеме R0. В связи с этим лечебный патоморфоз (ЛП) оценен у 4 пациентов: ЛП I степени наблюдался в 3 (43 %), 0 степени – в 1 (14 %) случае.

Медиана наблюдения составила 24 мес. Пациент с полным клиническим ответом нейроэндокринного рака G3 на лечение наблюдается в течение 64 мес без признаков прогрессирования. Из 4 пациентов, которым выполнены операции в объеме R0, 3 живы без признаков рецидива заболевания с периодом наблюдения – 32, 90 и 104 мес после завершения лечения, 1 больной погиб через 57 мес после завершения лечения от причин, не связанных с опухолевым процессом. Из 2 пациентов с диссеминацией опухолевого процесса на фоне ХЛТ 1 – с нейроэндокринным раком G3 – погиб от прогрессирования через 6 мес от момента начала лечения, 1 – с нейроэндокринной опухолью G2 – потерян для наблюдения через 12 мес с признаками прогрессирования заболевания на фоне II линии химиотерапии. В итоге, 5-летняя общая (ОВ) и безрецидивная выживаемость (БВР) составили 64,3 ± 21 % и 53,6 ± 20,1 % соответственно (рис. 1, 2). Таким образом, удалось добиться долгосрочной выживаемости без прогрессирования опухолевого процесса у 2 из 3 пациентов с нейроэндокринным раком G3 (из них у 1 – со стойким полным клиническим ответом) и у 3 из 4 пациентов с нейроэндокринными опухолями G2.

Обсуждение

В связи с тем, что ХЛТ не входит в стандарты лечения нейроэндокринных опухолей прямой кишки, нам удалось выявить только 7 пациентов, которые получали данное лечение, при глубине поиска в архиве 20 лет. Тем не менее отсутствие уверенности в локорегионарном контроле и близость опухоли к мезоректальной фасции всегда будут поводом к обсуждению данной тактики на мультидисциплинарных консилиумах. Несмотря на то, что ни у одного из 4 прооперированных пациентов в представленном исследовании не отмечено признаков клинически значимого лечебного патоморфоза, у 3 из 7 пациентов наблюдался частичный или полный ответ на ХЛТ, что напрямую может влиять на оценку резектабельности опухоли хирургом.

В исследовании В. Conte et al. на выборке из 100 человек с нейроэндокринным колоректальным раком (из них у 40 % опухоль локализовалась в прямой кишке) установлено, что для локализованной

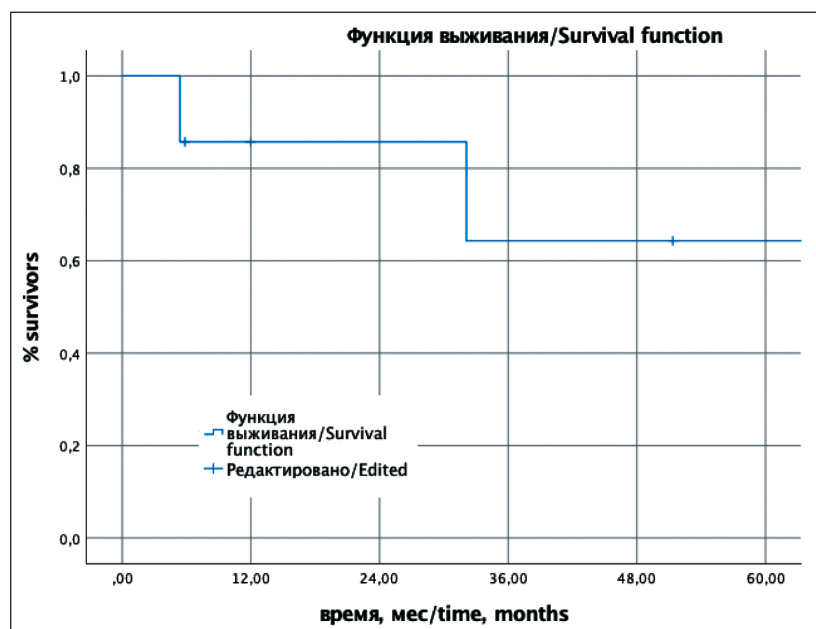


Рис. 1. Безрецидивная выживаемость
(95 % ДИ 15,4–112,3 мес)
Fig. 1. PFS plot
(95% CI 15.4–112.3 months)

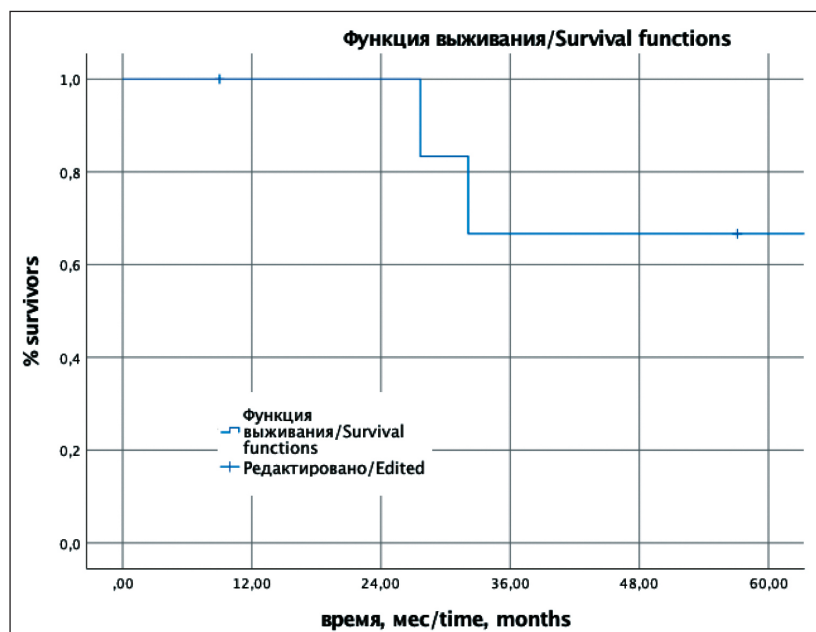


Рис. 2. Общая выживаемость
(95 % ДИ 1,6–126 мес)
Fig. 2. Overall survival plot
(95% CI 1.6–126 months)

формы заболевания мультимодальный подход к лечению, по-видимому, связан с лучшими результатами, в то время как системная химиотерапия является основой лечения распространенного заболевания. Действительно, 64 % пациентов лечение начинали с химиотерапии в связи с наличием метастазов (у 59 пациентов была поражена печень). Лучевая терапия (СОД 50 Гр) была применена у 10 пациентов с аноректальной локализацией нейроэндокринного рака (НЭР). Показатель локорегионарного контроля составил 70 %, медиана ОВ = 17,4 мес [1]. В нашем исследовании медиана ОВ не достигнута, что может быть связано с факторами селекции пациентов, которые невозможно проследить в рамках ретроспективной работы. Были достигнуты высокие показатели отдаленных результатов даже в подгруппе пациентов с G3

НЭР, традиционно ассоциирующимся с крайне негативным прогнозом. В нашем исследовании так же, как и в работе В. Conte et al., подтверждается длительный локорегионарный ответ на ХЛТ в неоадьювантном режиме с последующим оперативным вмешательством.

Несмотря на то, что ни у одного из оперированных пациентов в нашем исследовании не отмечено клинически значимых проявлений лечебного патоморфоза (III–IV степени), выявленный случай стойкого полного клинического ответа говорит об актуальности ХЛТ как метода лечения НЭР. Случаи полного клинического ответа НЭР на ХЛТ ранее описаны и другими авторами, в частности, Т. Yoshida et al. приводят результаты лечения 59 случаев нейроэндокринного рака и смешанного адено-НЭР, из которых у 2 пациентов достигнут

полный клинический ответ на ХЛТ (причем у 1 из них были нерезектабельные метастазы, что ограничивало хирургические возможности, у 2-го пациента проведена операция, но заболевание прогрессировало) [2]. S. Semrau et al. представили клиническое наблюдение, в котором описан случай полного клинического ответа НЭР G3 на ХЛТ, что позволило обойтись без хирургического лечения и, таким образом, избежать калечащей операции [3].

В. Briau et al. проводилось сравнение ХЛТ с хирургическим лечением при нематастатическом нейроэндокринном раке прямой кишки и анального канала [4]. В группе ХЛТ полный ответ, частичный ответ и стабилизация были достигнуты в 40, 40 и 13 % случаев соответственно. В нашем исследовании аналогичные показатели были ниже и составили 14, 29 и 43 % соответственно. Контроль заболевания составил 93 %, медиана ВВП и ОВ – 13,2 и 39,2 мес соответственно. По сравнению с нашим исследованием более высокие показатели ответа на лечение, представленные в указанной статье, можно объяснить включением пациентов с нематастатическим НЭР. Несмотря на это, отдаленные результаты лечения в нашей работе были выше. Однако и авторы данной статьи пришли к выводу, что ввиду высоких показателей Ki67, обуславливающих агрессивное поведение опухоли, необходимо назначение предоперационной ХЛТ [4].

В работе K.R. Voong et al. в период с 1 января 2000 г. по 17 февраля 2013 г. у 10 пациентов был подтвержден НЭР прямой кишки или анального канала, им проведена химиолучевая терапия органов малого таза. Проводилась оценка общей выживаемости, локорегионарного контроля, выживаемости без прогрессирования. У 8 больных были низкодифференцированный НЭР, у 2 – низкодифференцированный НЭР с компонентом аденокарциномы. Медиана наблюдения составила 15 мес

(3–128 мес). Средняя доза ЛТ – 50,4 Гр (45–60 Гр). Все пациенты получали химиотерапию до или после химиолучевой терапии. У 7 больных достигнут стойкий локорегионарный контроль; у 2 было подозрение на рецидив и у 1 – подтвержденный рецидив опухоли в малом тазу. У обоих пациентов, которым проводилась предоперационная химиолучевая терапия, во время операции имелся только микроскопический очаг остаточной карциномы. В 7 случаях наблюдалось прогрессирование заболевания, у всех в виде отдаленного метастазирования в печень, легкие, кости и абдоминальные лимфатические узлы. Двухлетняя БРВ и ОВ составили 30 и 46 %. Более низкие показатели можно объяснить большей распространенностью первичной опухоли (TxN0M0 – 1, II стадия – 1, III стадия – 4, IV – 4 пациента). Однако авторами также был сделан вывод о необходимости ХЛТ у пациентов с данной патологией [5].

Недостатками нашего исследования являются его ретроспективный характер, малое количество пациентов. Эти ограничения, к сожалению, ожидаемы, учитывая редкость заболевания и отсутствия больших и надежных баз данных. Также к недостаткам работы можно отнести то, что в рамках одной исследуемой группы мы рассматривали НЭО как G2, так и G3. Однако показания и принципы ХЛТ при данных типах опухолей схожи. В будущем усилия должны быть направлены на создание национальной базы данных и/или сети врачей и учреждений, занимающихся лечением пациентов с данной патологией. Одним из путей решения этой проблемы является более активное многоцентровое сотрудничество в рамках работы реестра редких заболеваний РОСКР (<http://db.oncoscop.ru>). Соответственно, в случае, если необходимость такого лечения возникает, нужно приоритетно рассматривать вопрос о проведении предоперационной лучевой терапии, учитывая полученные случаи частичного и полного ответа.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Conte B., George B., Overman M., Estrella J., Jiang Z.Q., Mehrvarz Sarshekeh A., Ferrarotto R., Hoff P.M., Rashid A., Yao J.C., Kopetz S., Dasari A. High-Grade Neuroendocrine Colorectal Carcinomas: A Retrospective Study of 100 Patients. *Clin Colorectal Cancer*. 2016; 15(2): e1–7. doi: 10.1016/j.clcc.2015.12.007.
2. Yoshida T., Kamimura K., Hosaka K., Doumori K., Oka H., Sato A., Fukuhara Y., Watanabe S., Sato T., Yoshikawa A., Tomidokoro T., Terai S. Colorectal neuroendocrine carcinoma: A case report and review of the literature. *World J Clin Cases*. 2019; 7(14): 1865–75. doi: 10.12998/wjcc.v7.i14.1865.
3. Semrau S., Agaimy A., Pavel M., Lubgan D., Schmidt D., Cavallaro A., Golcher H., Grützmann R., Fietkau R. Long-term control with chemoradiation of initially metastatic mixed adenoneuroendocrine carcinoma of

the rectum: a case report. *J Med Case Rep*. 2019; 13(1): 82. doi: 10.1186/s13256-019-1995-x.

4. Briau B., Lepère C., Walter T., Lecomte T., Guimbaud R., Manfredi S., Tougeron D., Desseigne F., Lourenco N., Afchain P., El Hajbi F., Terris B., Rougier P., Coriat R. Radiochemotherapy Versus Surgery in Nonmetastatic Anorectal Neuroendocrine Carcinoma: A Multicenter Study by the Association des Gastro-Entérologues Oncologues. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94(42): e1864. doi: 10.1097/MD.0000000000001864.

5. Voong K.R., Rashid A., Crane C.H., Minsky B.D., Krishnan S., Yao J.C., Wolff R.A., Skibber J.M., Feig B.W., Chang G.J., Das P. Chemoradiation for High-grade Neuroendocrine Carcinoma of the Rectum and Anal Canal. *Am J Clin Oncol*. 2017; 40(6): 555–60. doi: 10.1097/COC.0000000000000211.

Поступила/Received 23.04.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 25.07.2022

Принята к публикации/Accepted 08.08.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гордеев Сергей Сергеевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник онкологического отделения хирургических методов лечения № 3 (колопроктологии), ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-9303-8379.

Сейдинович Ален, студент 5-го курса лечебного факультета, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: alen-s-99@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5441-8424.

Нагуслева Александра Андреевна, ординатор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-5457-5166.

Поликарпова Светлана Борисовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-3621-7394;

Мамедли Заман Заурович, кандидат медицинских наук, заведующий онкологическим отделением хирургических методов лечения № 3 (колопроктологии), ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-9289-1247.

ВКЛАД АВТОРОВ

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

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

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

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

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

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Sergey S. Gordeyev, MD, PhD, Leading Researcher, Department of Oncology of Surgical Methods of Treatment № 3 (Coloproctology), N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9303-8379.

Alen Seydinovich, 5th year student of the Medical Faculty, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia). E-mail: alen-s-99@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5441-8424.

Alexandra A. Naguslaeva, Resident, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5457-5166.

Svetlana B. Polikarpova, MD, Professor, Department of Oncology, Institute of Clinical Medicine named after N.V. Sklifosovsky, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-3621-7394.

Zaman Z. Mamedli, MD, PhD, Head of the Oncology Department of Surgical Methods of Treatment № 3 (Coloproctology), N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9289-1247.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Sergey S. Gordeyev: a significant contribution to the search, analysis of scientific work, obtaining, statistical processing and analysis of data; drafting the manuscript and its revision with the introduction of valuable intellectual content; the final availability of the required version of the manuscript.

Alen Seydinovich: a significant contribution to the search, analysis of scientific work, obtaining, statistical processing and analysis of data; drafting the manuscript and its revision with the introduction of valuable intellectual content; the final availability of the required version of the manuscript.

Alexandra A. Naguslaeva: a significant contribution to the search, analysis of scientific work, obtaining, statistical processing and analysis of data; drafting the manuscript and its revision with the introduction of valuable intellectual content; the final availability of the required version of the manuscript.

Svetlana B. Polikarpova: a significant contribution to the search, analysis of scientific work, obtaining, statistical processing and analysis of data; drafting the manuscript and its revision with the introduction of valuable intellectual content; the final availability of the required version of the manuscript.

Zaman Z. Mamedli: a significant contribution to the search, analysis of scientific work, obtaining, statistical processing and analysis of data; drafting the manuscript and its revision with the introduction of valuable intellectual content; the final availability of the required version of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-98-109
УДК: 616.833-006.38.03

Для цитирования: *Мустафин Р.Н.* Атипичные формы и гено-фенотипические корреляции нейрофиброматоза 1-го типа. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 98–109. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-98-109
For citation: *Mustafin R.N.* Atypical clinical manifestations and genotype-phenotype correlations of neurofibromatosis type 1. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 98–109. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-98-109

АТИПИЧНЫЕ ФОРМЫ И ГЕНО-ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ НЕЙРОФИБРОМАТОЗА 1-ГО ТИПА

Р.Н. Мустафин

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»,
г. Уфа, Россия
Россия, 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: ruji79@mail.ru

Аннотация

Цель исследования – анализ данных об атипичных формах нейрофиброматоза 1-го типа и гено-фенотипических корреляциях при этом заболевании. **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников проводился в системах Scopus, Web of Science, PubMed с включением публикаций с мая 1993 г. по октябрь 2021 г. Из 318 найденных исследований 59 были использованы для написания систематического обзора. **Результаты.** Найдены работы с описанием атипичных форм нейрофиброматоза 1-го типа со стертым течением без проявления опухолевого синдрома, которые обусловлены специфическими мутациями в гене *NF1* (вызывающими замены аминокислот в нейрофибромине: p.Arg1038, p.Met1149, p.Arg1809, или делецию аминокислот: p.Met990del, p.Met992del). Для больных с микроделециями всего гена *NF1* и прилегающих областей характерны более тяжелые проявления нейрофиброматоза 1-го типа (чаще проявляются лицевой дизморфизм, скелетные и сердечно-сосудистые аномалии, трудности в обучении и симптоматические спинальные нейрофибромы). С ранней манифестацией опухолей ассоциированы мутации сайтов сплайсинга и протяженные делеции гена *NF1*, с глиомами зрительных нервов – мутации на 5'-конце гена, вызывающие укорочение белкового продукта, со структурным поражением головного мозга – мутация c.3721C>T (p.R1241*), с эндокринными расстройствами – мутация c.6855C>A (p.Y2285*). Описана клиническая картина нейрофиброматоза 1-го типа, схожая с липоматозом и синдромом Джаффе–Кампаначчи, не связанная с конкретным типом мутации. **Заключение.** Несмотря на выраженную клиническую вариабельность нейрофиброматоза 1-го типа даже у членов одной семьи, в ряде работ описаны гено-фенотипические корреляции. Так как белок нейрофибромин имеет сложную структуру с несколькими функциональными доменами, предполагается роль генов-модификаторов и эпигенетических факторов в патогенезе нейрофиброматоза 1-го типа. Показано, что на выраженность опухолевого синдрома влияют особенности метилирования гена *NF1* и прилегающих областей, а сам ген взаимосвязан с определенными микроРНК. Поэтому перспективным способом лечения нейрофиброматоза 1-го типа может стать таргетная терапия, нацеленная на специфические некодирующие РНК для восстановления нормальной экспрессии гена *NF1*.

Ключевые слова: атипичные проявления, ген *NF1*, гены-модификаторы, злокачественные опухоли, липоматоз, микроРНК, нейрофиброматоз 1-го типа, эпигенетические факторы.

ATYPICAL CLINICAL MANIFESTATIONS AND GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATIONS OF NEUROFIBROMATOSIS TYPE 1

R.N. Mustafin

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia
3, Lenin St., 450008, Ufa, Russia. E-mail: ruji79@mail.ru

Abstract

Purpose of the study: Analysis of available data on geno-phenotypic correlations and atypical forms of neurofibromatosis type 1. **Material and Methods.** We searched for relevant sources in the Scopus, Web of Science, PubMed systems, including publications from May 1993 to October 2021. Of the 318 studies we identified, 59 were used to write a systematic review. **Results.** We found studies describing atypical forms of neurofibromatosis type 1 with an erased course without manifestation of a tumor syndrome, which are caused by specific mutations in the *NF1* gene (causing substitutions of amino acids in neurofibromin: p.Arg1038, p.Met1149, p.Arg1809, or deletion of amino acids: p.Met990del, p.Met992del). *NF1* patients with microdeletions are characterized by more severe disease symptoms (more often facial dysmorphism, skeletal and cardiovascular abnormalities, learning difficulties, and symptomatic spinal neurofibromas). Mutations of splicing sites and extended deletions of the *NF1* gene are associated with early manifestation of tumors, mutations at the 5'-end of the gene, causing a shortening of the protein product, are associated with optic nerve gliomas. The mutation c.3721C>T (p.R1241*) correlated with structural brain damage, and c.6855C>A (p.Y2285*) with endocrine disorders. The manifestations of *NF1*, similar to lipomatosis and Jaffe–Campanacci syndrome, not associated with a specific type of mutation are described. **Conclusion.** In spite of pronounced clinical variability of the disease, even among members of the same family, several studies have described genotype-phenotype correlations. Therefore, the role of modifier genes and epigenetic factors in the pathogenesis of *NF1* is assumed, since the neurofibromin protein has a complex structure with several functional domains. It has been shown that the severity of the tumor syndrome is influenced by the methylation characteristics of *NF1* gene and adjacent areas. In addition, *NF1* gene is associated with a variety of microRNAs. Therefore, targeted therapy aimed at specific non-coding RNAs to restore normal expression of *NF1* gene can become a promising treatment for *NF1*.

Key words: atypical manifestations, *NF1* gene, modifier genes, malignant tumors, lipomatosis, microRNA, neurofibromatosis type 1, epigenetic factors.

Введение

Нейрофиброматоз 1-го типа (НФ1) – аутосомно-доминантный опухолевый синдром, поражающий каждого из 3000 новорожденных в мире. НФ1 характеризуется зависимой от возраста пенетрантностью и выраженной вариабельностью даже между больными из одной семьи. Основными клиническими признаками НФ1 являются пятна цвета кофе с молоком (café-au-lait macules – CALM), веснушчатость, узелки Лиша, нейрофибромы, глиомы зрительных нервов и специфические скелетные аномалии. Национальные институты здоровья (National Institutes of Health – NIH) установили, что для постановки диагноза НФ1 необходимо наличие 2 и более из перечисленных симптомов болезни [1]. Согласно данным критериям, полная пенетрантность НФ1 развивается к 5-му году жизни пациентов [2]. У 95 % больных НФ1 развиваются кожные нейрофибромы, у 50 % – плексиформные нейрофибромы, которые отличаются инфильтративным ростом и частым озлокачиванием [3], у 98 % – CALM, у 35 % – спинальные нейрофибромы, у 18 % – глиомы зрительных нервов [4].

Риск развития злокачественных опухолей оболочек периферических нервов (MPNST – Malignant peripheral nerve sheath tumor) у больных НФ1 составляет 8–13 % [5].

Причиной НФ1 является герминативная гетерозиготная мутация гена *NF1*, локализованного на 17q11.2. Ген имеет протяженность 280 килобаз [2], состоит из 57 экзонов и кодирует мРНК длиной 11–13 килобаз [6]. Не менее 3 экзонов гена характеризуются альтернативным сплайсингом [7]. Продукт гена *NF1* – цитоплазматический белок нейрофибромин размерами 2818 аминокислот, который определяется в низких концентрациях в большинстве тканей, но на наиболее высоком уровне – в ЦНС. Мутация *NF1* вызывает гиперактивацию онкогенов RAS, которые, в зависимости от типа ткани, усиливают сигналинг АКТ (RAC-alpha serine/threonine-protein kinase)/mTOR (mammalian Target Of Rapamycin) и RAF (rapidly accelerated fibrosarcoma)/MEK (mitogen-activated protein kinase). Это ведет к повышенному риску развития доброкачественных и злокачественных новообразований [6]. Около 50 % случаев НФ1 –

спорадические, обусловленные мутацией «de novo» в половых клетках [7] в связи с высокой мутабельностью гена *NF1*, то есть повышенной частотой возникновения мутаций по сравнению с другими генами [8].

Нейрофибромин является крупным белком с несколькими функциональными доменами, взаимодействующими со множеством молекул (рис. 1), в соответствии с которыми он может регулировать различные внутриклеточные процессы. К ним относятся путь RAS-циклической АМФ, ERK/MAP киназный каскад, сборка цитоскелета и регуляция аденилатциклазы. Основным доменом нейрофибромина является GRD (GAP (GTP-ase activating protein) related domain), который инактивирует онкогены RAS путем их перевода из ГТФ-связанных в ГДФ-связанные формы [9]. Наличием нескольких доменов в белковом продукте гена *NF1* можно объяснить разнообразие и значительную вариабельность клинических проявлений НФ1 даже у лиц с идентичной мутацией и членов одной семьи [6, 10, 11] за исключением монозиготных близнецов [12]. Необходимо отметить, что соматические мутации в гене *NF1* играют также роль в развитии спорадических новообразований и обнаруживаются в 5–10 % из них с различной вариабельностью в зависимости от типа опухоли. Более того, данные мутации являются причиной резистентности к

терапии [9]. Поэтому всестороннее исследование особенностей НФ1 может стать основой для разработки эффективных способов лечения злокачественных неоплазм.

Атипичные проявления нейрофиброматоза 1-го типа

Атипичные формы НФ1 могут проявляться в виде стертой клиники без проявлений видимых кожных или плексиформных нейрофибром [2] или же совсем без каких-либо проявлений болезни [13], когда диагноз устанавливается благодаря молекулярно-генетической идентификации мутации в гене *NF1*. Кроме того, проявления НФ1 могут напоминать другие фактоматозы, например синдром Легиуса (НФ1-подобный синдром), клинические признаки которого очень схожи с НФ1. Болезнь обусловлена мутацией в гене *SPRED1*, состоящем из 7 экзонов и локализованном на 15q14. Продукт гена (подобно нейрофибромину) служит негативным регулятором сигнальных путей RAS-MAPK [14].

Для синдрома Легиуса характерны CALM, веснушчатость, макроцефалия и дизморфизм лица, интеллектуальные и поведенческие расстройства. Но, в отличие от НФ1, при данном заболевании развиваются множественные липомы, которые могли бы стать дифференциально-диагностическим

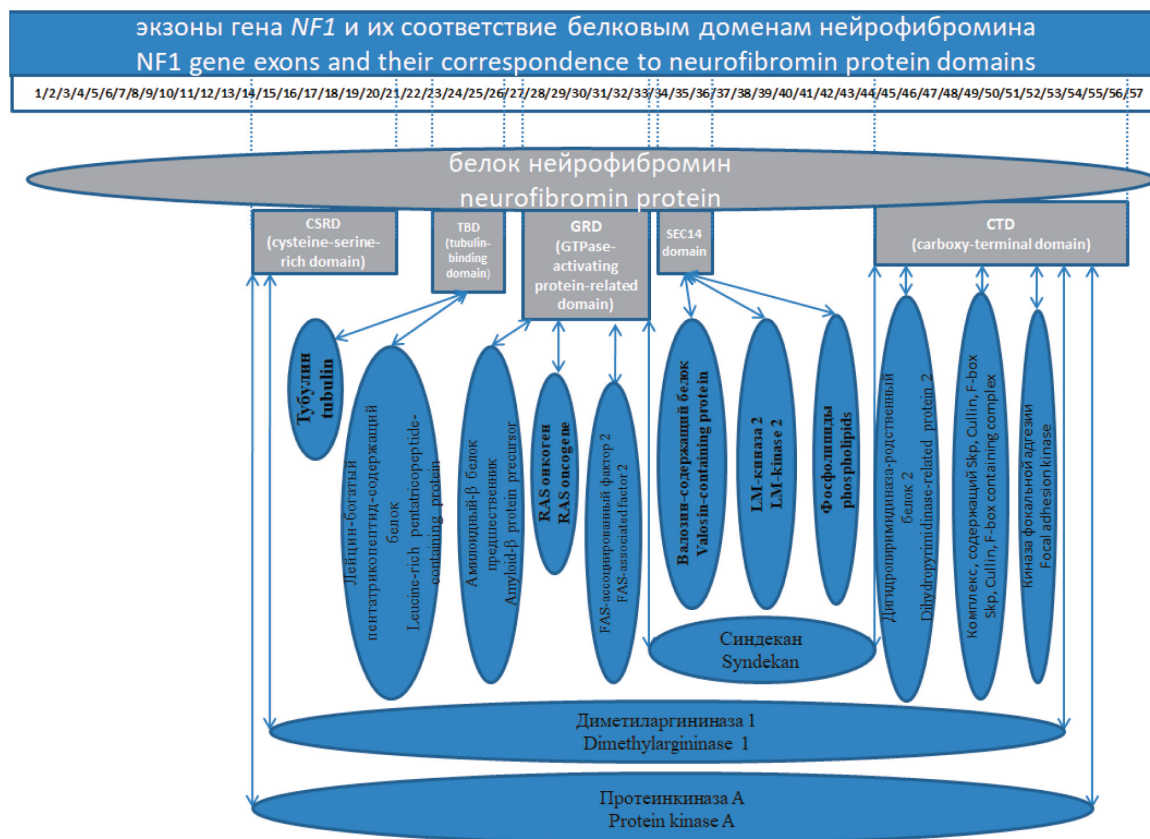


Рис. 1. Особенности структурной организации нейрофибромина и взаимосвязи его функциональных доменов с другими молекулами

Fig. 1. Features of the structural organization of neurofibromin and the relationship of its functional domains with other molecules

критерием [14]. Однако в ряде работ описаны случаи НФ1, при которых также развиваются множественные липомы. Поэтому ключевым методом для постановки диагноза должна быть идентификация мутации в гене *NF1* (или *SPRED1*). В 2019 г. E. Miraglia et al. выявили больного НФ1 со множественными липомами [15], в дальнейшем описали еще несколько подобных случаев [16]. В 2021 г. E. Ramirez et al. обнаружили 2 больных НФ1 с миссенс-мутацией с.3445A>G (p.Met1149Val) из одной семьи с проявлениями болезни в виде липоматоза. Помимо этого, у пациентов развились множественные CALM, веснушчатость, узелки Лиша и отсутствовали плексиформные нейрофибромы [17]. Нужно отметить, что та же самая миссенс-мутация p.Met1149 была выявлена в 2020 г. у 62 больных НФ1 с мягким клиническим течением болезни главным образом в виде CALM, без видимых плексиформных нейрофибром и глиом [18]. Описаны также случаи семейного липоматоза с аутосомно-доминантным типом наследования, но с отсутствием мутаций в генах *NF1*, *SPRED1*, *PTEN* [19].

При гистологическом исследовании подкожных опухолей при НФ1 также часто выявляют атипичные проявления болезни в виде липонейрофибром. Например, анализ 130 образцов от различных больных НФ1 показал, что в 24,6 % случаев микроскопическая картина характеризует неоплазмы как липонейрофибром. Наиболее часто данные изменения определяются в более позднем возрасте у женщин. При этом внутриопухолевые жировые депозиты различаются по морфологии и размерам по сравнению с подкожной клетчаткой при световой микроскопии [20]. Различают также атипичные нейрофибром, состоящие из клеток с гиперхромными ядрами. Данные опухоли отличаются от обычных нейрофибром значительным количеством рекуррентных хромосомных aberrаций, в т. ч. с делецией локуса 9p21.3, содержащего гены *CDKN2A* и *CDKN2B* (характерное событие для MPNST) [5]. Для атипичных нейрофибром показана частая трансформация в MPNST [21].

В 2018 г. C. Barrea et al. описали атипичное течение НФ1 у одного пациента с мутацией с.4030G>T со множественными неоссифицирующими фибромами длинных трубчатых костей, гигантоклеточной гранулемой нижней челюсти и CALM [6]. Данный случай интересен в отношении определения роли дефицита нейрофибромина в развитии костно-суставной патологии, т. к. при синдроме Джаффе–Кампаначчи (проявлениями которого являются CALM, умственная отсталость, гигантоклеточные гранулемы нижней челюсти и неоссифицирующие фибромы) в 93 % случаев обнаруживается НФ1 с разнообразными мутациями в гене *NF1* [22].

Описаны также атипичные клинические варианты НФ1, связанные со специфическими типами

мутаций. В 2015 г. K. Rojnueangnit et al. обнаружили миссенс-мутации с заменой аминокислоты аргинина в идентичном положении (p.Arg1809) у 136 больных НФ1 с характерной особенностью болезни – у всех пациентов с CALM отсутствовали кожные или плексиформные нейрофибром. Данные индивиды отличались значительно большей частотой развития стеноза легочной артерии и низким ростом, у 25 % из них определены Нунав-подобные черты [7]. Необходимо отметить, что данная клиническая картина (пигментные пятна, стеноз легочной артерии, низкий рост) характерна для синдрома LEOPARD (Lentigines, Electrocardiographic conduction abnormalities, Ocular hypertelorism, Pulmonic stenosis, Abnormal genitalia, Retardation of growth, Deafness). Болезнь вызвана герминативной мутацией в онкосупрессорном гене *PTPN11*, кодирующем протеин-тирозин-фосфатазу [23]. В 2019 г. M. Koczkowska et al. описали 135 больных НФ1 из 103 неродственных семей, с идентичной трехнуклеотидной делецией с.2970_2972del, приводящей к выпадению метионина в нейрофибромине (p.Met992del). Все пациенты охарактеризованы атипичной клиникой с отсутствием у них кожных, подкожных или спинальных нейрофибром, а также глиом зрительных нервов. Однако у 38,8 % из них отмечены когнитивные нарушения, у 4,8 % – опухоли головного мозга вне зрительных нервов [1]. В 2019 г. E. Trevisson et al. выявили миссенс-мутацию с.3112A>G (p.Arg1038Gly) у 7 больных НФ1 с отсутствием нейрофибром и других признаков НФ1 за исключением CALM [24]. На рис. 2 представлено распределение мутаций в гене *NF1*, вызывающих развитие атипичных клинических проявлений НФ1. Описанные атипичные случаи НФ1 без видимых опухолей, но с CALM напоминают другие заболевания, характеризующиеся множественными пигментными пятнами на коже. Данные изменения характерны для синдромов Пейтца–Егерса, Баннаяна–Зоннаны, Рувалкаба–Мюре–Смита, Ложье–Хунцикера [23]. На рис. 3 представлена схема дифференциальной диагностики НФ1 с различными синдромами, сходными по клиническим проявлениям.

Гено-фенотипические корреляции при нейрофиброматозе 1-го типа

Наиболее известными и общепринятыми гено-фенотипическими корреляциями при НФ1 являются случаи, обусловленные микроделециями всего гена *NF1* (с фланкирующими его соседними генами), которые выявляются у 5–10 % всех больных НФ1. Встречаются главным образом 3 типа рекуррентных мутаций: размерами 1,4 мегабаз (тип 1, с фланкированием проксимально NF1-REPa и дистально – NF1-REP-c), 1,2 мегабаз (тип 2, с захватом генов *SUZ12* и *SUZ12P*) и 1,0 мегабаз (тип 3, с точками разрыва в паралогичных областях в середине NF1-REP-b и дистально – NF1-REP-c).

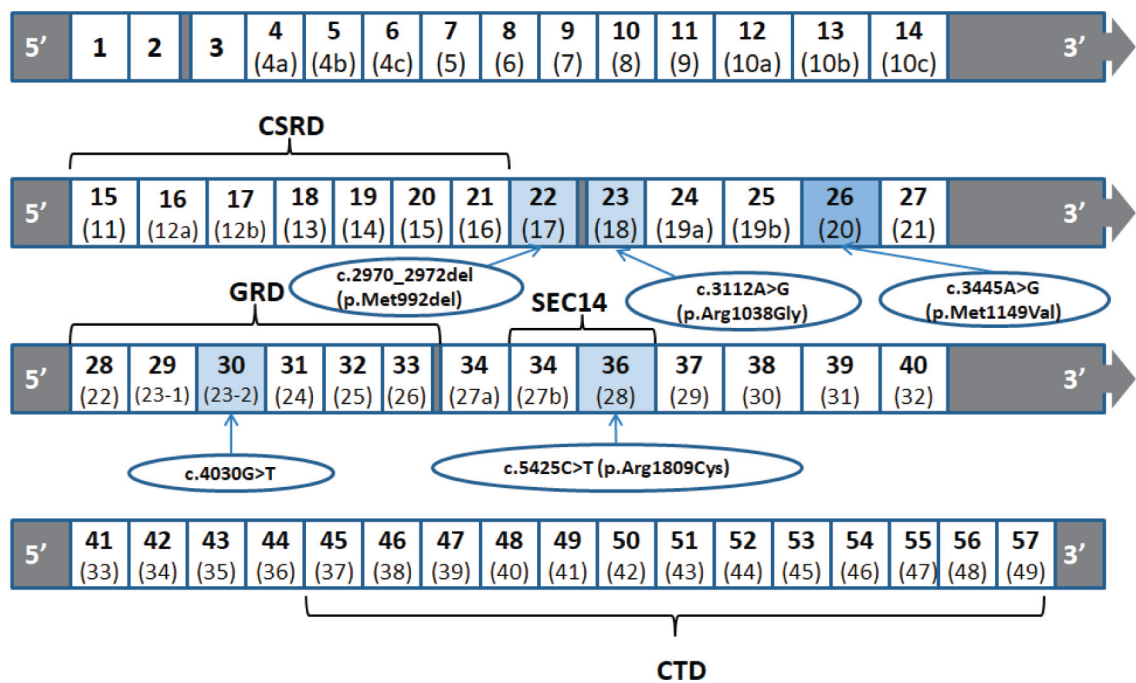


Рис. 2. Схема распределения мутаций в гене *NF1* (в скобках старая нумерация экзонов), вызывающих развитие атипичных форм НФ1. CSRD – cysteine-serine rich domain, GRD – GAP-related domain, CTD – C-terminal domain
Fig. 2. Scheme of distribution of mutations in the *NF1* gene (old exon numbering in parentheses) causing the development of atypical forms of NF1. CSRD – cysteine-serine rich domain, GRD – GAP-related domain, CTD – C-terminal domain

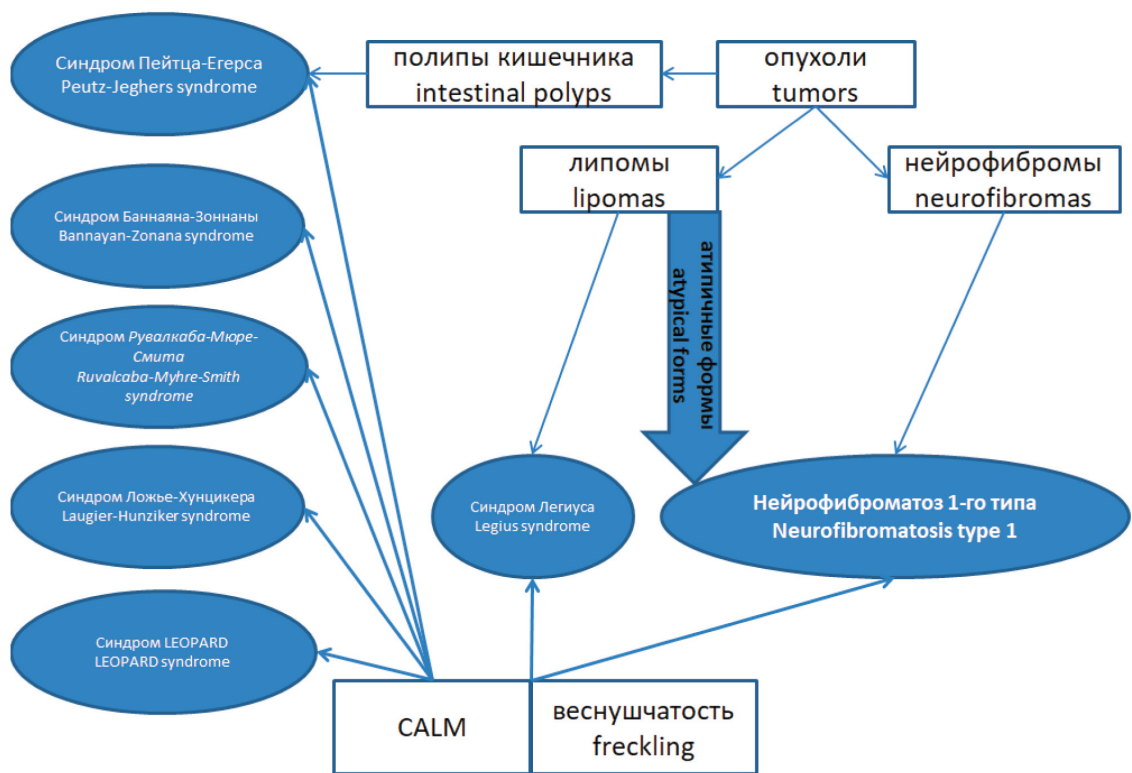


Рис. 3. Сравнительная характеристика нейрофиброматоза 1-го типа и других синдромов по основным клиническим проявлениям
Fig. 3. Comparative characteristics of neurofibromatosis type 1 and other syndromes according to the main clinical manifestations

Для больных НФ1 с данными микроделециями характерны более тяжелые проявления болезни (чаще отмечается когнитивный дефицит, лицевой дизморфизм [25], трудности в обучении, скелетные и сердечно-сосудистые аномалии, большее количество симптоматических спинальных нейрофибром [26]). Среди пациентов с НФ1 с микроделециями чаще встречается тип 1 (70–80 %), реже тип 2 (10–23 %) и тип 3 (1–4 %). Данные мутации обусловлены неаллельной гомологичной рекомбинацией (NAHR) между низкокопийными повторами во время мейоза (типы 1 и 3) или митоза (тип 2) [11].

При исследовании 427 больных НФ1 из 389 неродственных семей из Кореи E. Kang et al. в 2020 г. показали, что протяженные делеции *NF1* и внутригенные мутации, вызывающие нарушение сплайсинга и усечение белка, ассоциированы не только с более тяжелым фенотипом, но и с ранней манифестацией опухолевого синдрома [27]. В 2012 г. при изучении 149 неродственных пациентов с НФ1 из Великобритании показано более тяжелое течение болезни в отношении развития глиом головного мозга и MPNST, а у женщин – в виде большего количества подкожных нейрофибром и когнитивного дефицита в дошкольном возрасте при наличии мутаций сайтов сплайсинга в гене *NF1* [28]. Исследование 307 пациентов с НФ1 позволило выявить более частое развитие глиом зрительных нервов при мутациях на 5'-конце гена *NF1*, вызывающих укорочение белкового продукта [29]. Данный тип мутаций ассоциирован также с развитием расстройств аутистического спектра у больных НФ1 [30].

В 2007 г. M. Upadhyaya et al. описали 47 больных НФ1 из 21 неродственной семьи с идентичной герминативной трехнуклеотидной делецией в экзоне 17 гена *NF1* – с.2970-2972delAAT (p.Met990del), с выраженной гено-фенотипической корреляцией – мягкое течение и незначительное количество кожных и подкожных нейрофибром. Основным проявлением болезни у них были CALM и веснушчатость [2]. Та же самая мутация была выявлена в 2011 г. у пациентки без кожных и плексиформных нейрофибром. Основными проявлениями НФ1 у нее были CALM и веснушчатость; плоская ангиома с распространением на шею, руку и туловище; макроцефалия, высокое арочное небо, полая стопа и сколиоз [10]. В 2010 г. L. Kaplan et al. описали двух монозиготных близнецов, унаследовавших нонсенс-мутацию R1968X от матери, а также патогенетически незначимую миссенс-мутацию S592N в нейрофибромине. Однако у одного из близнецов развилась мозаичная форма (мутация выявлена в клетках крови и щечном эпителии, но отсутствовала в фибробластах) и отсутствовали какие-либо признаки болезни [13]. При сравнительном анализе 78 женщин с НФ1, страдающих раком молочной железы, выявлены гено-фенотипические корреляции в виде преобладания у них миссенс- и нонсенс-

мутаций и отсутствия протяженных делеций *NF1*, в сравнении с базой данных по 3432 больным НФ1. То есть у больных НФ1 женщин с миссенс- и нонсенс-мутациями имеется повышенный риск развития рака молочной железы [31].

Как было отмечено выше, у пациентов с НФ1, обусловленным мутацией p.Met1149, развиваются относительно легкие формы болезни без нейрофибром [18] или с липомами вместо них [17]. M. Koczkowska et al. в 2020 г. у 219 пациентов с миссенс-мутациями p.Arg1276 и p.Lys1423 выявили гено-фенотипическую корреляцию в виде более частого развития сердечно-сосудистой патологии (особенно стеноза легочной артерии). Наличие мутаций p.Arg1276 коррелировало с более частым развитием спинальных нейрофибром с их клиническими проявлениями [18]. В 2009 г. M. Upadhyaya et al. при исследовании пациентов с НФ1 со спинальными плексиформными нейрофибромами выявили ассоциацию миссенс- и сплайсинговых мутаций в гене *NF1* у больных со скудными клиническими проявлениями болезни, не соответствующими критериям диагностики [32]. Сходные с результатами K. Rojnueangnit et al. [8] данные получены V. Pinna et al. в 2015 г. – среди 786 исследованных больных НФ1 выявлено 6 неродственных пациентов с идентичной миссенс-мутацией с.5425C>T (p.Arg1809Cys) с мягким течением болезни, с характерными CALM и веснушчатостью, но отсутствием кожных или плексиформных нейрофибром, узелков Лиша, скелетных аномалий или глиом зрительных нервов [33].

В 2021 г. M. Scala et al. при исследовании 583 больных НФ1 выявили гено-фенотипические ассоциации миссенс-мутаций с меньшим количеством нейрофибром, протяженных делеций, а также мутаций сдвига рамки считывания со скелетными аномалиями. Кроме того, транзигация с.3721C>T (p.R1241*) позитивно коррелировала со структурным поражением головного мозга, а трансверсия с.6855C>A (p.Y2285*) – с узелками Лиша и эндокринными расстройствами [34]. Описаны также межсимптомные корреляции при исследовании 2051 больного НФ1: спинальных нейрофибром с глиомами зрительных нервов и сколиозом, глиом зрительных нервов с дисплазией крыла клиновидной кости. Кроме того, отношение шансов развития MPNST увеличивается при большем количестве кожных нейрофибром [4]. Таким образом, имеются данные о взаимосвязи характера клинического течения НФ1 с определенными типами мутаций в гене *NF1* (рис. 4). Однако для большинства мутаций в гене *NF1* определена выраженная клиническая вариабельность у больных НФ1 даже из одной семьи [6, 10, 11]. Важно определить факторы, воздействие на которые могло бы стать ключом для эффективного лечения опухолевого синдрома при данном заболевании. Развитие более тяжелой клиники у больных НФ1 с протяженными делециями гена *NF1* с поражением соседних генов [25, 27]

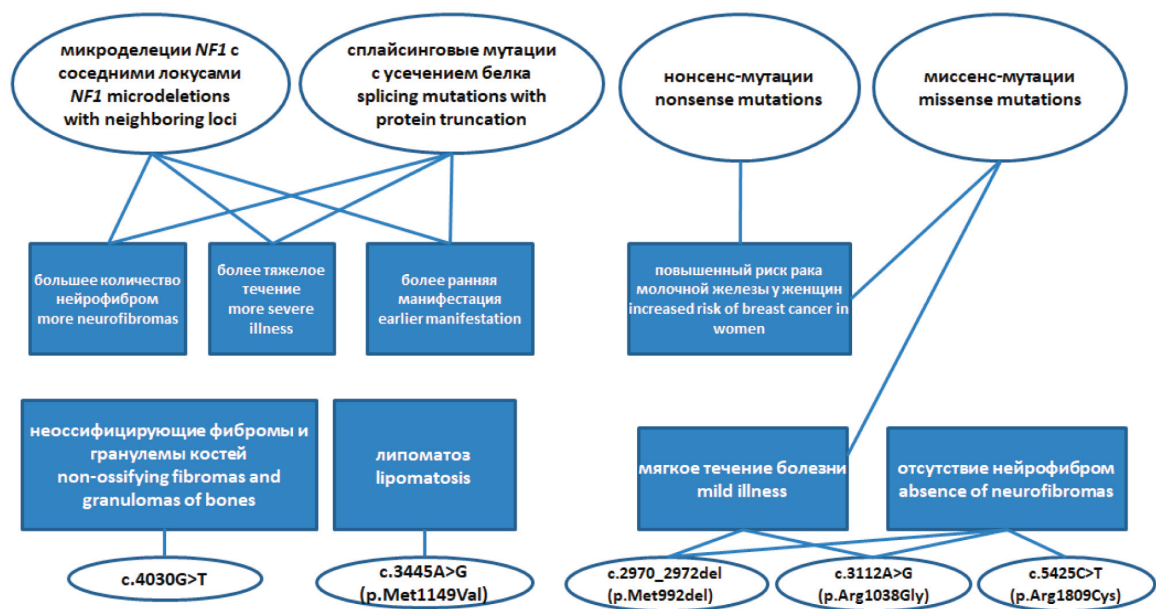


Рис. 4. Схема известных гено-фенотипических корреляций при нейрофиброматозе 1-го типа
Fig. 4. Scheme of known geno-phenotypic correlations in neurofibromatosis type 1

свидетельствует о влиянии генов-модификаторов на развитие болезни. Об этом также говорят данные о конкордантности монозиготных близнецов не только по течению НФ1, но и по его осложнениям в виде развития MPNST и даже их метастазированию [12]. В табл. 1 суммированы наиболее значимые гено-фенотипические корреляции НФ1 для мутаций в гене *NF1*.

Роль генов-модификаторов в патогенезе нейрофиброматоза 1-го типа
Более тяжелые проявления НФ1 при протяженных делециях всего гена *NF1* с соседними локусами [25, 26] свидетельствуют не только о влиянии вовлеченных в область микроделеции генов на

патогенез НФ1, но и о возможной роли других генов в развитии фенотипической вариабельности болезни. В частности, при типе 1 микроделеции утрачивается ген *HSA66*, белковый продукт которого взаимодействует с онкосупрессором Araf-1 (apoptic protease activating factor-1). Соответственно, при инактивации *HSA66* клетки становятся менее восприимчивыми к апоптозу, что способствует усилению опухолевого синдрома при НФ1 [35]. Проведенный в 2020 г. полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) НФ1 показал взаимосвязь аллельного варианта гена *RPS6KA2* (rs12190451) с количеством CALM. Продукт гена вовлечен в сигнальные пути RAS-MAPK, находящиеся под влиянием *NF1*, поскольку он фосфорилируется

Таблица 1/Table 1

Атипичные формы нейрофиброматоза 1-го типа и гено-фенотипические корреляции
Atypical forms and geno-phenotypic correlations of neurofibromatosis type 1

Мутация/ Mutation	Номер экзона (расположение по отношению к доменам белка)/ Exon number (location relative to protein domains)	Проявления/ссылки/ Manifestations/references
c.2970_2972del (p.Met992del)	22 (примыкает к CSRD)/ 22 (adjoins CSRD)	CALM, когнитивные нарушения, без нейрофибром [1, 2, 9]/ CALM, cognitive impairment, without neurofibromas [1, 2, 9]
c.3112A>G (p.Arg1038Gly)	23 (между CSRD и GRD)/ 23 (between CSRD and GRD)	CALM с отсутствием других признаков болезни [23]/ CALM without other signs of the disease [23]
c.3445A>G (p.Met1149Val)	26 (между CSRD и GRD)/ 26 (between CSRD and GRD)	Липоматоз, узелки Лиша, CALM [16, 17]/ Lipomatosis, Lisch nodules [16, 17]
c.4030G>T	30 (внутри GRD)/ 30 (within GRD)	Неоссифицирующие фибромы и гигантоклеточные гранулемы костей, CALM [6]/ Non-ossifying fibromas and giant cell granulomas of bone, CALM [6]
c.5425C>T (p.Arg1809Cys)	36 (внутри SEC14)/ 36 (within SEC14)	CALM без нейрофибром [7, 32]/ CALM without neurofibromas [7, 32]

и активируется киназами ERK1/2 [36]. В 2020 г. опубликованы результаты метаанализа данных о генетике НФ1, согласно которому было выявлено 10 потенциальных генов-модификаторов фенотипа НФ1. К ним относятся *AKT1*, *BRAF*, *EGFR*, *LIMK1*, *PAK1*, *PTEN*, *RAF1*, *SDC2*, *SMARCA4* и *VCP*. Математическое моделирование показало, что наиболее вероятными кандидатными генами являются *SDC2* и *VCP*. Ген *SDC2* кодирует синдекан, протеогликановый белок, который способствует связыванию клеток между собой, организации цитоскелета и клеточному сигналингу. Было показано, что мутации *NF1* вызывают изменение экспрессии *SDC2*, белковый продукт которого взаимодействует с нейрофибрином. Ген *VCP* кодирует валозин-содержащий белок, который играет роль в слиянии внутриклеточных мембран, репарации ДНК и репликации, регуляции клеточного цикла, активации путей NF-каппа В, деградации белков [37]. Было выявлено также, что аллельный вариант гена аденилатциклазы 8 (*ADCY8*) коррелирует с повышенным риском развития глиом у больных НФ1 женщин [38].

Влияние других генов может отражаться непосредственно в ткани нейрофибромы при инициации и поддержке роста опухолей при НФ1. Кандидатными для НФ1 являются гены-модификаторы, кодирующие хемокины, уровень которых значительно повышен в нейрофибромах (*CXCR4* – в 120 раз, *CXCL12* – в 512 раз) [39]. Предполагается влияние продукта онкосупрессорного гена *ATM* в патогенезе опухолевого синдрома при НФ1, поскольку его экспрессия значительно снижается в нейрофибромах у больных НФ1. В экспериментах на мышах гетерозиготные мутации *ATM* инициировали пролиферацию прекурсоров клеток Шванна *in vivo* [3]. В одной семье с НФ1 было проведено молекулярно-генетическое исследование образцов кожной нейрофибромы у мужчины и плексиформной нейрофибромы у его сына (с более тяжелым течением НФ1). В плексиформной нейрофибrome были обнаружены мутации в генах *TP53*, *FANCA*, *BCL6*, *PIK3C2G*, *RNF43*, *FGFR4*, *ELT3*, *ERBB2*, *PAK7*, *NSD1*, *MEN1*, *TSC1*, которые отсутствовали в кожной нейрофибrome отца пробанда. Данные гены могут быть модификаторами, влияющими на клиническую вариабельность НФ1 у больных с идентичной мутацией [40]. Возможным геном-модификатором может служить *PTPN11*, продукт которого вовлечен в сигналинг RAS, поскольку мутация в данном гене была обнаружена в образце ткани псевдоартроза при НФ1, наряду со вторым генетическим событием в гене *NF1* [41]. Как уже отмечалось, герминативные мутации в данном гене вызывают синдром LEOPARD, схожий по клинике с некоторыми атипичными формами НФ1 [23].

У детей с плексиформными нейрофибромами определена коморбидность с тяжелыми скелетными аномалиями. В связи с этим предполагается на-

личие общих патогенетических звеньев и влияние генов-модификаторов на данные проявления НФ1. Препринциальные исследования на мышах показали, что дефицит *NF1* в клетках-предшественниках остеобластов нарушает гомеостаз пирофосфата МЕК-зависимым образом, что изменяет минерализацию костей. Выявлена повышенная экспрессия *ANKH*, наряду с *Enpp1*, в нейрофибромах мыши и человека. Ген *ANKH* кодирует трансмембранный белок, экспрессирующийся в суставах и играющий роль в развитии остеобластов и остеокластов [42]. Возможным геном-модификатором для НФ1 является ген коллагена *COL14A1*, экспрессия которого снижена в тканях нейрофибром. Соответственно, аллельные варианты *COL14A1* могут влиять на выраженность скелетных аномалий и опухолевого синдрома (поскольку коллаген составляет значительную долю массы нейрофибром) [3].

Влияние эпигенетических факторов на развитие нейрофиброматоза 1-го типа

Помимо генов-модификаторов, на выраженную фенотипическую вариабельность НФ1 могут влиять эпигенетические факторы, которые способны инактивировать нормальный аллель *NF1* путем сайленсинга. К эпигенетическим факторам относятся метилирование ДНК, модификации гистонов и РНК-интерференция некодирующими РНК. Эпигенетические процессы, лежащие в основе опухолевого синдрома при НФ1, перспективны для изучения, т. к. они носят обратимый характер и могут быть скорректированы с помощью таргетной терапии. Эпигенетическая инактивация нормального аллеля может служить альтернативой соматической мутации и инициировать образование опухолей при НФ1. При исследовании клеток Шванна в 67 % плексиформных нейрофибром, в которых отсутствовали соматические мутации во втором аллеле гена *NF1*, было выявлено метилирование нескольких специфических цитозиновых остатков (наиболее часто -55, -208) в пределах 451 пары нуклеотидов от стартового кодона [43]. Сравнительное исследование гена *NF1* с прилегающими областями в лейкоцитах и образцах нейрофибром больных НФ1 показало наличие специфического для опухолей метилирования в областях -609, -429, -406, -383, -331, -315 [44]. Хотя авторы посчитали полученные данные недостаточными для доказательства роли метилирования в онкогенезе при НФ1, анализ функциональных элементов проксимального промотора гена *NF1* показал, что метилирование оказывает выраженный эффект на экспрессию, снижая ее до 1 % от нормы [45]. Нужно отметить, что последовательности в пределах 484 нуклеотидов от стартового кодона *NF1* у человека и мыши сходны на 95 % и содержат высококонсервативные сайты связывания с транскрипционными факторами [46]. Поэтому эксперименты на мышах могут раскрыть особенности функционирования

NF1 и его роль в управлении развитием организма. Показано, что в регуляции экспрессии гена имеет значение метилирование не только CpG, но также CpA и CpT динуклеотидов (non-CpG). У двуклеточных эмбрионов мышей определяется non-CpG метилирование в материнских аллелях гена *NF1* и не наблюдается в отцовских аллелях. Это свидетельствует о роли импринтинга в управлении экспрессией гена *NF1* [47].

При исследовании монозиготных близнецов, больных НФ1, дискордантных по нескольким проявлениям болезни, выявлены различия в метилировании промоторной области 5'UTR, экзона 1, интрона 1 (от +7 до +622), сайтов связывания с транскрипционными факторами и промоторных элементов, таких как NF1HCS. Кроме того, более выраженное метилирование области от -249 до -234 от гена *NF1* было ассоциировано с развитием глиомы зрительного нерва [48]. Эпигенетические изменения характерны также для злокачественных перерождений нейрофибром, поскольку в тканях MPNST определяется (с помощью иммуногистохимических методов) полная потеря экспрессии гистона 3 с триметилированным лизином в 27 позиции. Это свидетельствует о роли глобальных эпигенетических изменений в развитии данных опухолей [21]. При НФ1 в кожных нейрофибромах и в клеточных линиях MPNST определяются повышенные уровни miR-27a-3p и miR-27b-3p, которые специфически взаимодействуют с мРНК гена *NF1*, подавляя его экспрессию. Данные микроРНК способствуют пролиферации, миграции и инвазивной способности опухолевых клеток [49].

Эпигенетическое подавление экспрессии гена *NF1* наблюдается в спорадических опухолях у пациентов, не страдающих НФ1. Более того, подобные изменения играют роль в развитии химиорезистентности данных неоплазм. Это свидетельствует о необходимости определения экспрессии *NF1* в химиорезистентных опухолях для возможной таргетной терапии с помощью специфических микроРНК. Так, доказана роль miR-128, miR-137, miR-103 в сайленсинге *NF1* за счет комплементарного связывания с 3'-UTR его мРНК [50]. МикроРНК miR-514a экспрессируется на высоком уровне в большинстве линий клеток меланомы, подавляя выработку *NF1* и таким образом усиливая пролиферацию клеток [51]. С размерами и глубиной инвазии рака желудка коррелирует концентрация miR-107, которая специфически взаимодействует с мРНК гена *NF1*, способствуя канцерогенезу [52]. В образцах плоскоклеточного рака легкого обнаружен повышенный синтез miR-369 фибробластами. Данная микроРНК оказывает целевое воздействие на мРНК гена *NF1*, стимулируя развитие опухоли, миграцию и инвазию раковых клеток [53].

В качестве мишени для таргетной терапии НФ1 возможно использование микроРНК, стимулированных усиленным сигналингом MAPK

вследствие инактивации *NF1*. К таким микроРНК относится miR-155, экспрессия которой повышена в плексиформных нейрофибромах. Ингибирование транскрипции miR-155 с помощью специфических наночастиц подавляет рост нейрофибром. Данный подход предполагается использовать в лечении НФ1 [54]. Возможность использования таргетной терапии нейрофибром и фармакорезистентных злокачественных новообразований определяется в экспериментальных исследованиях. Так, сайленсинг miR-10b в клетках MPNST подавляет их пролиферацию, миграцию и инвазию, что обусловлено целевым воздействием miR-10b на мРНК гена *NF1* [55]. Перспективно также применение онкосупрессорных микроРНК, таких как miR-612, влияющих на экспрессию нейрофибромина опосредовано. MiR-612 способствует синтезу нейрофибромина за счет целевого воздействия на FAIM2 (Fas apoptotic inhibitory molecule 2). В тканях опухолей уровни miR-612 снижены [56].

О сложных и многосторонних взаимосвязях нейрофибромина с различными молекулами, вовлеченными в канцерогенез, свидетельствуют данные об усилении экспрессии антиапоптотического белка MCL1 (myeloid cell leukemia 1) при нокдауне *NF1*. Таким путем дефицит нейрофибромина ингибирует апоптоз и способствует выживаемости опухолевых клеток. Оказалось, что данный эффект обусловлен ролью промотора *NF1* в управлении транскрипцией онкосупрессорной miR-142-5p, мишенью которой является 3'UTR гена *MCL1*. Уровни miR-142-5p снижаются при колоректальном раке, плоскоклеточном раке легкого и раке печени, что может свидетельствовать также о подавлении экспрессии *NF1* в данных опухолях. MiR-142-5p ингибирует пролиферацию клеток немелкоклеточного рака легкого за счет целевого воздействия на ген *PIK3CA* (кодирует субъединицу фосфатидилинозитол-3-киназы) [57]. Получены также данные об участии длинных некодирующих РНК в патогенезе НФ1. Выявлена статистически значимая ассоциация аллельного варианта гена *ANRIL* с количеством плексиформных нейрофибром [58]. Дальнейшие исследования взаимосвязей *NF1* с эпигенетическими факторами перспективны для разработки эффективных способов лечения НФ1 с применением новых и известных лекарственных препаратов. Например, для предотвращения роста и образования новых нейрофибром при НФ1 может быть предложен витамин D3. Его эффект обусловлен эпигенетической регуляторной ролью в отношении задействованных в патогенез НФ1 генов: витамин D3 подавляет экспрессию EGF, VEGF, цитокинов, индукторов Ras, а также стимулирует транскрипцию гена *AMPK* [59].

Заключение

Ген *NF1* отличается высокой мутабельностью, а его белковый продукт – сложной структурой с наличием нескольких функциональных доменов и

множеством взаимосвязей с различными молекулами. Это свидетельствует о сложном патогенезе НФ1 и необходимости поиска всех возможных механизмов развития опухолевого синдрома с целью таргетного воздействия на них при лечении болезни. Выраженная клиническая вариабельность, наличие атипичных форм НФ1 и гено-фенотипических корреляций свидетельствуют о вероятной роли

генов-модификаторов и эпигенетических факторов в развитии патологии. Наиболее перспективно исследование роли микроРНК в регуляции экспрессии *NF1*, поскольку их использование в качестве объекта для таргетного воздействия может стать основой для восстановления функции нормального аллеля *NF1* как при НФ1, так и в спорадических новообразованиях.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Koczkowska M., Callens T., Gomes A., Sharp A., Chen Y., Hicks A.D., Aylsworth A.S., Azizi A.A., Basel D.G., Bellus G., Bird L.M., Blazo M.A., Burke L.W., Cannon A., Collins F., DeFilippo C., Denayer E., Digilio M.C., Dills S.K., Dosa L., Greenwood R.S., Griffiths C., Gupta P., Hachen R.K., Hernández-Chico C., Janssens S., Jones K.J., Jordan J.T., Kannu P., Korf B.R., Lewis A.M., Listernick R.H., Lonardo F., Mahoney M.J., Ojeda M.M., McDonald M.T., McDougall C., Mendelsohn N., Miller D.T., Mori M., Oostenbrink R., Perreault S., Pierpont M.E., Piscopo C., Pond D.A., Randolph L.M., Rauken K.A., Rednam S., Rutledge S.L., Saletti V., Schaefer G.B., Schorry E.K., Scott D.A., Shugar A., Sigveland E., Starr L.J., Syed A., Trapane P.L., Ullrich N.J., Wakefield E.G., Walsh L.E., Wangler M.F., Zackai E., Claes K.B.M., Wimmer K., van Minkelen R., De Luca A., Martin Y., Legius E., Messiaen L.M. Expanding the clinical phenotype of individuals with a 3-bp in-frame deletion of the NF1 gene (c.2970_2972del): an update of genotype-phenotype correlation. *Genet Med*. 2019; 21(4): 867–76. doi: 10.1038/s41436-018-0269-0.
- Upadhyaya M., Huson S.M., Davies M., Thomas N., Chuzhanova N., Giovannini S., Evans D.G., Howard E., Kerr B., Griffiths S., Consoli C., Side L., Adams D., Pierpont M., Hachen R., Barnicoat A., Li H., Wallace P., Van Biervliet J.P., Stevenson D., Viskochil D., Baralle D., Haan E., Riccardi V., Turnpenny P., Lazaro C., Messiaen L. An absence of cutaneous neurofibromas associated with a 3-bp in-frame deletion in exon 17 of the NF1 gene (c.2970-2972 delAAT): evidence of a clinically significant NF1 genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet*. 2007; 80(1): 140–51. doi: 10.1086/510781.
- Yu Y., Choi K., Wu J., Andreassen P.R., Dexheimer P.J., Keddache M., Brems H., Spinner R.J., Cancelas J.A., Martin L.J., Wallace M.R., Legius E., Vogel K.S., Ratner N. NF1 patient missense variants predict a role for ATM in modifying neurofibroma initiation. *Acta Neuropathol*. 2020; 139(1): 157–74. doi: 10.1007/s00401-019-02086-w.
- Tabata M.M., Li S., Knight P., Bakker A., Sarin K.Y. Phenotypic heterogeneity of neurofibromatosis type 1 in a large international registry. *JCI Insight*. 2020; 5(16). doi: 10.1172/jci.insight.136262.
- Beert E., Brems H., Daniëls B., De Wever I., Van Calenberg F., Schoenaers J., Debicq-Rychter M., Gevaert O., De Raedt T., Van Den Bruel A., de Ravel T., Cichowski K., Kluwe L., Mautner V., Sciort R., Legius E. Atypical neurofibromas in neurofibromatosis type 1 are premalignant tumors. *Genes Chromosomes Cancer*. 2011; 50(12): 1021–32. doi: 10.1002/gcc.20921.
- Barrea C., Vaessen S., Bulk S., Harvengt J., Misson J.P. Phenotype-Genotype Correlation in Children with Neurofibromatosis Type 1. *Neuropediatrics*. 2018; 49(3): 180–4. doi: 10.1055/s-0037-1620239.
- Rojnueangnit K., Xie J., Gomes A., Sharp A., Callens T., Chen Y., Liu Y., Cochran M., Abbott M.A., Atkin J., Babovic-Vukсанovic D., Barnett C.P., Crenshaw M., Bartholomew D.W., Basel L., Bellus G., Ben-Shachar S., Bialer M.G., Bick D., Blumberg B., Cortes F., David K.L., Destree A., Duat-Rodriguez A., Earl D., Escobar L., Eswara M., Ezquieta B., Frayling I.M., Frydman M., Gardner K., Gripp K.W., Hernández-Chico C., Heyman K., Ibrahim J., Janssens S., Keena B.A., Llano-Rivas I., Leppig K., McDonald M., Misra V.K., Mulbury J., Narayanan V., Orenstein N., Galvin-Parton P., Pedro H., Pivnick E.K., Powell C.M., Randolph L., Raskin S., Rosell J., Rubin K., Seashore M., Schaaf C.P., Scheuerle K., Schultz M., Schorry E., Schnur R., Sigveland E., Tkachuk A., Tongsgard J., Upadhyaya M., Verma I.C., Wallace S., Williams C., Zackai E., Zonana J., Lazaro C., Claes K., Korf B., Martin Y., Legius E., Messiaen L. High Incidence of Noonan Syndrome Features Including Short Stature and Pulmonic Stenosis in Patients carrying NF1 Missense Mutations Affecting p.Arg1809: Genotype-Phenotype Correlation. *Hum Mutat*. 2015; 36(11): 1052–63. doi: 10.1002/humu.22832.
- Rodenhiser D.I., Ainsworth P.J., Coulter-Mackie M.B., Singh S.M., Jung J.H. A genetic study of neurofibromatosis type 1 (NF1) in south-western Ontario. II. A PCR based approach to molecular and prenatal diagnosis using linkage. *J Med Genet*. 1993; 30(5): 363–8. doi: 10.1136/jmg.30.5.363.
- Ratner N., Miller S.J. A RASopathy gene commonly mutated in cancer: the neurofibromatosis type 1 tumour suppressor. *Nat Rev Cancer*. 2015; 15(5): 290–301. doi: 10.1038/nrc3911.
- Quintáns B., Pardo J., Campos B., Barros F., Volpini V., Carracedo A., Sobrido M.J. Neurofibromatosis without Neurofibromas: Confirmation of a Genotype-Phenotype Correlation and Implications for Genetic Testing. *Case Rep Neurol*. 2011; 3(1): 86–90. doi: 10.1159/000327557.
- Büki G., Zsigmond A., Czako M., Szalai R., Antal G., Farkas V., Fekete G., Nagy D., Széll M., Tihanyi M., Melegh B., Hadzsiev K., Bene J. Genotype-Phenotype Associations in Patients With Type-1, Type-2, and Atypical NF1 Microdeletions. *Front Genet*. 2021; 12. doi: 10.3389/fgene.2021.673025.
- Melean G., Hernández A.M., Valero M.C., Hernández-Imaz E., Martin Y., Hernández-Chico C. Monozygotic twins with Neurofibromatosis type 1, concordant phenotype and synchronous development of MPNST and metastasis. *BMC Cancer*. 2010; 10: 407. doi: 10.1186/1471-2407-10-407.
- Kaplan L., Foster R., Shen Y., Parry D.M., McMaster M.L., O'Leary M.C., Gusella J.F. Monozygotic twins discordant for neurofibromatosis 1. *Am J Med Genet A*. 2010; 152A(3): 601–6. doi: 10.1002/ajmg.a.33271.
- Sumner K., Crockett D.K., Muram T., Mallempati K., Best H., Mao R. The SPRED1 Variants Repository for Legius Syndrome. *G3 (Bethesda)*. 2011; 1(6): 451–6. doi: 10.1534/g3.111.000687.
- Miraglia E., Fino P., Lopez T., Iacovino C., Calvieri S., Giustini S. Multiple lipomas in a patient with Neurofibromatosis Type 1. *G Ital Dermatol Venereol*. 2019; 154(6): 734–5. doi: 10.23736/S0392-0488.18.05869-8.
- Miraglia E., Calvieri S., Giustini S. Lipomas in neurofibromatosis type 1: a single-institution experience. *G Ital Dermatol Venereol*. 2020; 155(3): 375–6. doi: 10.23736/S0392-0488.18.06044-3.
- Ramirez E., Morris S.M., Turner T.N., Gutmann D.H. Familial Lipomas Without Classic Neurofibromatosis-1 Caused by a Missense Germline NF1 Mutation. *Neurol Genet*. 2021; 7(3). doi: 10.1212/NXG.0000000000000582.
- Koczkowska M., Callens T., Chen Y., Gomes A., Hicks A.D., Sharp A., Johns E., Uhas K.A., Armstrong L., Bosanko K.A., Babovic-Vukсанovic D., Baker L., Basel D.G., Bengala M., Bennett J.T., Chambers C., Clarkson L., Clementi M., Cortés F.M., Cunningham M., D'Agostino M.D., Delatycki M.B., Digilio M.C., Dosa L., Esposito S., Fox S., Freckmann M.L., Fauth C., Giugliano T., Giustini S., Goetsch A., Goldberg Y., Greenwood R.S., Griffiths C., Gripp K.W., Gupta P., Haan E., Hachen R.K., Haygarth T.L., Hernández-Chico C., Hodge K., Hopkin R.J., Hudgins L., Janssens S., Keller K., Kelly-Mancuso G., Kochhar A., Korf B.R., Lewis A.M., Liebelt J., Lichty A., Listernick R.H., Lyons M.J., Maystadt I., Martinez Ojeda M., McDougall C., McGregor L.K., Melis D., Mendelsohn N., Nowaczyk M.J.M., Ortenberg J., Panzer K., Pappas J.G., Pierpont M.E., Piluso G., Pinna V., Pivnick E.K., Pond D.A., Powell C.M., Rogers C., Ruhrman Shahar N., Rutledge S.L., Saletti V., Sandaradura S.A., Santoro C., Schatz U.A., Schreiber A., Scott D.A., Sellars E.A., Sheffer R., Sigveland E., Slopis J.A., Smith R., Spalice A., Stockton D.W., Streff H., Theos A., Tomlinson G.E., Tran G., Trapane P.L., Trevisson E., Ullrich N.J., Van den Ende J., Schrier Vergano S.A., Wallace S.E., Wangler M.F., Weaver D.D., Yohay K.H., Zackai E., Zonana J., Zurcher V., Claes K.B.M., Eoli M., Martin Y., Wimmer K., De Luca A., Legius E., Messiaen L.M. Clinical spectrum of individuals with pathogenic NF1 missense variants affecting p.Arg1276, and p.Lys1423: genotype-phenotype study in neurofibromatosis type 1. *Hum Mutat*. 2020; 41(1): 299–315. doi: 10.1002/humu.23929.
- Lee C.H., Spence R.A., Upadhyaya M., Morrison P.J. Familial multiple lipomatosis with clear autosomal dominant inheritance and onset in early adolescence. *BMJ Case Rep*. 2011. doi: 10.1136/bcr.2010.2395.
- Lee S., Bak H., Ahn S.K. Liponeurofibroma: Clinicopathological features and histogenesis. *J Dermatol*. 2018; 45(4): 416–24. doi: 10.1111/1346-8138.14238.
- Miettinen M.M., Antonescu C.R., Fletcher C.D.M., Kim A., Lazar A.J., Quezado M.M., Reilly K.M., Stemmer-Rachaminov A., Stewart D.R., Viskochil D., Widemann B., Perry A. Histopathologic evaluation of atypical neurofibromatous tumors and their transformation into malignant peripheral nerve sheath tumor in patients with neurofibromatosis 1-a consensus overview. *Hum Pathol*. 2017; 67: 1–10. doi: 10.1016/j.humpath.2017.05.010.
- Stewart D.R., Brems H., Gomes A.G., Ruppert S.L., Callens T., Williams J., Claes K., Bober M.B., Hachen R., Kaban L.B., Li H., Lin A., McDonald M., Melancon S., Ortenberg J., Radtke H.B., Samson I.,

- Saul R.A., Shen J., Sigveland E., Toler T.L., van Maarle M., Wallace M., Williams M., Legius E., Messiaen L. Jaffe-Campanacci syndrome, revisited: detailed clinical and molecular analyses determine whether patients have neurofibromatosis type 1, coincidental manifestations, or a distinct disorder. *Genet Med*. 2014; 16(6): 448–59. doi: 10.1038/gim.2013.163.
23. Rahal N., Sadi A., Cohen-Barak E., Ziv M., Krausz J., Dodiuk-Gad R.P. LEPOARD syndrome: A report of a case with a novel PTPN11 mutation. *JAAD Case Rep*. 2021; 11: 57–9. doi: 10.1016/j.jder.2021.03.022.
24. Trevisson E., Morbidoni V., Forzan M., Daolio C., Fumini V., Parrozzani R., Cassina M., Midena E., Salviati L., Clementi M. The Arg1038Gly missense variant in the NF1 gene causes a mild phenotype without neurofibromas. *Mol Genet Genomic Med*. 2019; 7(5). doi: 10.1002/mgg3.616.
25. Pasmant E., Sabbagh A., Spurlock G., Laurendeau I., Grillo E., Hamel M.J., Martin L., Barbarot S., Leheup B., Rodriguez D., Lacombe D., Dollfus H., Pasquier L., Isidor B., Ferkal S., Soulier J., Sanson M., Dieux-Coeslier A., Bièche I., Parfait B., Vidaud M., Wolkenstein P., Upadhyaya M., Vidaud D.; members of the NF France Network. NF1 microdeletions in neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype. *Hum Mutat*. 2010; 31(6): 1506–18. doi: 10.1002/humu.21271.
26. Pacot L., Vidaud D., Sabbagh A., Laurendeau I., Briand-Suleau A., Coustier A., Maillard T., Barbance C., Morice-Picard F., Sigaudy S., Glazunova O.O., Damaj L., Layet V., Quelin C., Gilbert-Dussardier B., Audic F., Dollfus H., Guerrot A.M., Lespinasse J., Julia S., Vantghem M.C., Drouard M., Lackmy M., Leheup B., Alembik Y., Lemaire A., Nitschké P., Petit F., Dieux Coeslier A., Mutez E., Taieb A., Fradin M., Capri Y., Nasser H., Ruaud L., Dauriat B., Bourthoumieu S., Geneviève D., Audebert-Bellanger S., Nizon M., Stoeva R., Hickman G., Nicolas G., Mazereeuw-Hautier J., Jannic A., Ferkal S., Parfait B., Vidaud M., Members Of The Nf France Network, Wolkenstein P., Pasmant E. Severe Phenotype in Patients with Large Deletions of NF1. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(12): 2963. doi: 10.3390/cancers13122963.
27. Kang E., Kim Y.M., Seo G.H., Oh A., Yoon H.M., Ra Y.S., Kim E.K., Kim H., Heo S.H., Kim G.H., Osborn M.J., Tolar J., Yoo H.W., Lee B.H. Phenotype categorization of neurofibromatosis type I and correlation to NF1 mutation types. *J Hum Genet*. 2020; 65(2): 79–89. doi: 10.1038/s10038-019-0695-0.
28. Alkindy A., Chuzhanova N., Kini U., Cooper D.N., Upadhyaya M. Genotype-phenotype associations in neurofibromatosis type 1 (NF1): an increased risk of tumor complications in patients with NF1 splice-site mutations? *Hum Genomics*. 2012; 6(1): 12. doi: 10.1186/1479-7364-6-12.
29. Anastasakis C., Morris S.M., Gao F., Gutmann D.H. Children with 5'-end NF1 gene mutations are more likely to have glioma. *Neurol Genet*. 2017; 3(5): 192. doi: 10.1212/NXG.0000000000000192.
30. Morris S.M., Gutmann D.H. A genotype-phenotype correlation for quantitative autistic trait burden in neurofibromatosis 1. *Neurology*. 2018; 90(8): 377–9. doi: 10.1212/WNL.00000000000005000.
31. Frayling I.M., Mautner V.F., van Minkelen R., Kallionpaa R.A., Aktas S., Baralle D., Ben-Shachar S., Callaway A., Cox H., Eccles D.M., Ferkal S., LaDuca H., Lázaro C., Rogers M.T., Stuenkel A.J., Summerour P., Varan A., Yap Y.S., Zehou O., Peltonen J., Evans D.G., Wolkenstein P., Upadhyaya M. Breast cancer risk in neurofibromatosis type 1 is a function of the type of NF1 gene mutation: a new genotype-phenotype correlation. *J Med Genet*. 2019; 56(4): 209–19. doi: 10.1136/jmedgenet-2018-105599.
32. Upadhyaya M., Spurlock G., Kluwe L., Chuzhanova N., Bennett E., Thomas N., Guha A., Mautner V. The spectrum of somatic and germline NF1 mutations in NF1 patients with spinal neurofibromas. *Neurogenetics*. 2009; 10(3): 251–63. doi: 10.1007/s10048-009-0178-0.
33. Pinna V., Lanari V., Daniele P., Consoli F., Agolini E., Margiotti K., Bottillo I., Torrente I., Bruselles A., Fusilli C., Ficcidenti A., Bargiacchi S., Trevisson E., Forzan M., Giustini S., Leoni C., Zampino G., Digilio M.C., Dallapiccola B., Clementi M., Tartaglia M., De Luca A. p.Arg1809Cys substitution in neurofibromin is associated with a distinctive NF1 phenotype without neurofibromas. *Eur J Hum Genet*. 2015; 23(8): 1068–71. doi: 10.1038/ejhg.2014.243.
34. Scala M., Schiavetti I., Madia F., Chelleri C., Piccolo G., Accogli A., Riva A., Salpietro V., Boccardi R., Morcaldi G., Di Duca M., Caroli F., Verrico A., Milanaccio C., Vighizzo G., Traverso M., Baldassari S., Scuderi P., Iacomino M., Piatelli G., Minetti C., Striano P., Garrè M.L., De Marco P., Diana M.C., Capra V., Pavanella M., Zara F. Genotype-Phenotype Correlations in Neurofibromatosis Type 1: A Single-Center Cohort Study. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(8): 1879. doi: 10.3390/cancers13081879.
35. Sharafi P., Ayter S. Possible modifier genes in the variation of neurofibromatosis type 1 clinical phenotypes. *J Neurogenet*. 2018; 32(2): 65–77. doi: 10.1080/01677063.2018.1456538.
36. Sung H., Hyland P.L., Pemov A., Sabourin J.A., Baldwin A.M., Bass S., Teshome K., Luo W.; Frederick National Laboratory for Cancer Research, Widemann B.C., Stewart D.R., Wilson A.F. Genome-wide association study of café-au-lait macule number in neurofibromatosis type 1. *Mol Genet Genomic Med*. 2020; 8(10): 1400. doi: 10.1002/mgg3.1400.
37. Woycincik Kowalski T., Brussa Reis L., Finger Andreis T., Ashton-Prolla P., Rosset C. Systems Biology Approaches Reveal Potential Phenotype-Modifier Genes in Neurofibromatosis Type 1. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(9): 2416. doi: 10.3390/cancers12092416.
38. Warrington N.M., Sun T., Luo J., McKinstry R.C., Parkin P.C., Ganzhorn S., Spoljaric D., Albers A.C., Merkelson A., Stewart D.R., Stevenson D.A., Viskochil D., Druley T.E., Forys J.T., Reilly K.M., Fisher M.J., Tabori U., Allen J.C., Schiffman J.D., Gutmann D.H., Rubin J.B. The cyclic AMP pathway is a sex-specific modifier of glioma risk in type 1 neurofibromatosis patients. *Cancer Res*. 2015; 75(1): 16–21. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1891.
39. Karaosmanoglu B., Kocaefe Ç.Y., Söylemezoğlu F., Anlar B., Varan A., Vargel I., Ayter S. Heightened CXCR4 and CXCL12 expression in NF1-associated neurofibromas. *Childs Nerv Syst*. 2018; 34(5): 877–82. doi: 10.1007/s00381-018-3745-6.
40. Yang F., Xu S., Liu R., Shi T., Li X., Li X., Chen G., Liu H., Zhou Q., Chen J. The investigation for potential modifier genes in patients with neurofibromatosis type 1 based on next-generation sequencing. *Oncotargets Ther*. 2018; 11: 919–32. doi: 10.2147/OTT.S156998.
41. Sant D.W., Margraf R.L., Stevenson D.A., Grossmann A.H., Viskochil D.H., Hanson H., Everitt M.D., Rios J.J., Eleftheriou F., Hennessey T., Mao R. Evaluation of somatic mutations in tibial pseudarthrosis samples in neurofibromatosis type 1. *J Med Genet*. 2015; 52(4): 256–61. doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102815.
42. Ma Y., Gross A.M., Dombi E., Pemov A., Choi K., Chaney K., Rhodes S.D., Angus S.P., Sciaky N., Clapp D.W., Ratner N., Widemann B.C., Rios J.J., Eleftheriou F. A molecular basis for neurofibroma-associated skeletal manifestations in NF1. *Genet Med*. 2020; 22: 1786–93. doi: 10.1038/s41436-020-0885-3.
43. Fishbein L., Eady B., Sanek N., Muir D., Wallace M.R. Analysis of somatic NF1 promoter methylation in plexiform neurofibromas and Schwann cells. *Cancer Genet Cytogenet*. 2005; 157(2): 181–6. doi: 10.1016/j.cancercycto.2004.08.016.
44. Horan M.P., Cooper D.N., Upadhyaya M. Hypermethylation of the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene promoter is not a common event in the inactivation of the NF1 gene in NF1-specific tumours. *Hum Genet*. 2000; 107(1): 33–9. doi: 10.1007/s004390000322.
45. Zou M.X., Butcher D.T., Sadikovic B., Groves T.C., Yee S.P., Rodenhiser D.I. Characterization of functional elements in the neurofibromatosis (NF1) proximal promoter region. *Oncogene*. 2004; 23(2): 330–9. doi: 10.1038/sj.onc.1207053.
46. Hajra A., Martin-Gallardo A., Tarlé S.A., Freedman M., Wilson-Gunn S., Bernards A., Collins F.S. DNA sequences in the promoter region of the NF1 gene are highly conserved between human and mouse. *Genomics*. 1994; 21(3): 649–52. doi: 10.1006/geno.1994.1328.
47. Haines T.R., Rodenhiser D.I., Ainsworth P.J. Allele-specific non-CpG methylation of the NF1 gene during early mouse development. *Dev Biol*. 2001; 240(2): 585–98. doi: 10.1006/dbio.2001.0504.
48. Harder A., Titze S., Herbst L., Harder T., Guse K., Tinschert S., Kaufmann D., Rosenbaum T., Mautner V.F., Windt E., Wahlländer-Danek U., Wimmer K., Mundlos S., Peters H. Monozygotic twins with neurofibromatosis type 1 (NF1) display differences in methylation of NF1 gene promoter elements, 5' untranslated region, exon and intron 1. *Twin Res Hum Genet*. 2010; 13(6): 582–94. doi: 10.1375/twin.13.6.582. PMID: 21142935.
49. Lu H., Liu P., Pang Q. MiR-27a-3p/miR-27b-3p Promotes Neurofibromatosis Type 1 via Targeting of NF1. *J Mol Neurosci*. 2021; 71(11): 2353–63. doi: 10.1007/s12031-020-01779-2.
50. Paschou M., Doxakis E. Neurofibromin 1 is a miRNA target in neurons. *PLoS One*. 2012; 7(10). doi: 10.1371/journal.pone.0046773.
51. Stark M.S., Bonazzi V.F., Boyle G.M., Palmer J.M., Symmons J., Lanagan C.M., Schmidt C.W., Herington A.C., Ballotti R., Pollock P.M., Hayward N.K. miR-514a regulates the tumour suppressor NF1 and modulates BRAF sensitivity in melanoma. *Oncotarget*. 2015; 6(19): 17753–63. doi: 10.18632/oncotarget.3924.
52. Wang S., Ma G., Zhu H., Lv C., Chu H., Tong N., Wu D., Qiang F., Gong W., Zhao Q., Tao G., Zhou J., Zhang Z., Wang M. miR-107 regulates tumor progression by targeting NF1 in gastric cancer. *Sci Rep*. 2016; 6: 36531. doi: 10.1038/srep36531.
53. Guo L., Li B., Yang J., Shen J., Ji J., Miao M. Fibroblast-derived exosomal microRNA369 potentiates migration and invasion of lung squamous cell carcinoma cells via NF1 mediated MAPK signaling pathway. *Int J Mol Med*. 2020; 46(2): 595–608. doi: 10.3892/ijmm.2020.4614.
54. Na Y., Hall A., Choi K., Hu L., Rose J., Coover R.A., Miller A., Hennigan R.F., Dombi E., Kim M.O., Subramanian S., Ratner N., Wu J. MicroRNA-155 contributes to plexiform neurofibroma growth downstream of MEK. *Oncogene*. 2021; 40(5): 951–63. doi: 10.1038/s41388-020-01581-9.
55. Chai G., Liu N., Ma J., Li H., Oblinger J.L., Prahald A.K., Gong M., Chang L.S., Wallace M., Muir D., Guha A., Phipps R.J., Hock J.M., Yu X. MicroRNA-10b regulates tumorigenesis in neurofibromatosis type 1. *Cancer Sci*. 2010; 101(9): 1997–2004. doi: 10.1111/j.1349-7006.2010.01616.x.

56. Wang M., Wang Z., Zhu X., Guan S., Liu Z. NFKB1-miR-612-FAIM2 pathway regulates tumorigenesis in neurofibromatosis type 1. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2019; 55(7): 491–500. doi: 10.1007/s11626-019-00370-3.
57. Su J., Ruan S., Dai S., Mi J., Chen W., Jiang S. NF1 regulates apoptosis in ovarian cancer cells by targeting MCL1 via miR-142-5p. Pharmacogenomics. 2019; 20(3): 155–65. doi: 10.2217/pgs-2018-0161.
58. Pasmant E., Sabbagh A., Masliah-Planchon J., Ortonne N., Laurendeau I., Melin L., Ferkal S., Hernandez L., Leroy K., Valeyrie-Allanore L., Parfait B., Vidaud D., Bièche I., Lantieri L., Wolkenstein P., Vidaud M.; NF France Network. Role of noncoding RNA ANRIL in genesis of plexiform neurofibromas in neurofibromatosis type 1. J Natl Cancer Inst. 2011; 103(22): 1713–22. doi: 10.1093/jnci/djr416.
59. Riccardi C., Perrone L., Napolitano F., Sampaolo S., Melone M.A.B. Understanding the Biological Activities of Vitamin D in Type 1 Neurofibromatosis: New Insights into Disease Pathogenesis and Therapeutic Design. Cancers (Basel). 2020; 12(10): 2965. doi: 10.3390/cancers12102965.

Поступила/Received 10.07.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 12.10.2021

Принята к публикации/Accepted 29.10.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Мустафин Рустам Наилевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской генетики и фундаментальной медицины, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» (г. Уфа, Россия). E-mail: ruji79@mail.ru. SPIN-код: 4810-2535. Researcher ID (WOS): S-2194-2018. Author ID (Scopus): 56603137500. ORCID: 0000-0002-4091-382X.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHOR

Rustam N. Mustafin, PhD, Associate Professor of the Department of Medical Genetics and Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University (Ufa, Russia). E-mail: ruji79@mail.ru. Researcher ID (WOS): S-2194-2018. Author ID (Scopus): 56603137500. ORCID: 0000-0002-4091-382X.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The author declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Куканов К.К., Воробьева О.М., Забродская Ю.М., Потёмкина Е.Г., Ушанов В.В., Тастанбеков М.М., Иванова Н.Е. Интракраниальные менингиомы: клиничко-интраскопические и патоморфологические причины рецидивирования с учетом современных методов лечения (обзор литературы). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 110–123. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-110-123

For citation: Kukanov K.K., Vorobeveva O.M., Zabrodskaya Yu.M., Potemkina E.G., Ushanov V.V., Tastanbekov M.M., Ivanova N.E. Intracranial meningiomas: clinical, intrascopic and pathomorphological causes of recurrence (literature review). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 110–123. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-110-123

ИНТРАКРАНИАЛЬНЫЕ МЕНИНГИОМЫ: КЛИНИКО-ИНТРАСКОПИЧЕСКИЕ И ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ С УЧЕТОМ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

К.К. Куканов¹, О.М. Воробьева¹, Ю.М. Забродская¹, Е.Г. Потёмкина¹,
В.В. Ушанов², М.М. Тастанбеков², Н.Е. Иванова¹

«Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия¹
Россия, 191014, г. Санкт-Петербург, ул. Маяковского, 12. E-mail: outhall.88@mail.ru¹
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия²
Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2²

Аннотация

Введение. Менингиомы – часто встречающиеся опухоли центральной нервной системы, у взрослых занимают 2-е место, уступая лишь глиомам. Большинство менингиом имеют доброкачественный характер течения. Анапластические и атипические менингиомы, которые составляют 25 %, имеют рецидивирующий тип течения заболевания даже после радикального удаления опухоли и проведения радиотерапии. Прогноз у больных с анапластическими менингиомами остается неутешительным, и большинство из них погибает в первые 2–5 лет после операции. **Цель исследования** – по литературным данным оценить состояние проблемы диагностики и лечения менингиом, имеющих рецидивирующее течение, выявить причины опухолевой прогрессии, особенности клинической картины, лучевой диагностики, специфики патоморфологических и молекулярно-генетических характеристик. **Материал и методы.** Осуществлен поиск печатных работ в базах данных Pubmed, EMBASE, Cochrane Library и eLibrary, опубликованных в период с января 2000 г. по январь 2019 г. по вопросу рецидивирования внутричерепных менингиом, в частности атипических и анапластических. **Результаты.** Систематизированы данные по прогностическим критериям диагностики менингиом, влияющим на выживаемость, безрецидивный период, прогрессирование процесса. Уделено внимание радикальности операции и оценке степени анаплазии. Представлены современные сведения о лучевой терапии и медикаментозном лечении, обсуждены результаты исследований по их эффективности. Затронуты спорные вопросы подходов в оценке морфологических прогностических критериев. Приведены последние сведения о наиболее часто встречающихся генетических мутациях в менингиомах, перспективах их изучения и использования для таргетной терапии. **Заключение.** Проблема ведения больных с менингиомами еще далека до своего окончательного решения, отсутствуют оптимальные стандарты диагностики и лечения пациентов с менингиомами, учитывающие биологические особенности, в том числе особенности роста, молекулярно-генетический профиль. Нет четких прогностических критериев рецидива и преемственности в дальнейшей курации после хирургического лечения, что влияет на уровень смертности и качество жизни данной категории пациентов.

Ключевые слова: менингиома, рецидивы, прогрессия опухоли, радикальность удаления, лучевая терапия, химиотерапия, патоморфология, прогностические маркеры, генетический статус.

INTRACRANIAL MENINGIOMAS: CLINICAL, INTRASCOPIC AND PATHOMORPHOLOGICAL CAUSES OF RECURRENCE (LITERATURE REVIEW)

K.K. Kukanov¹, O.M. Vorobeva¹, Yu.M. Zbrodskaya¹, E.G. Potemkina¹,
V.V. Ushanov², M.M. Tastanbekov², N.E. Ivanova¹

Polenov Neurosurgical Institute – the branch of Almazov National Medical Research Centre,
St. Petersburg, Russia¹

12, Mayakovsky St., 191014, St. Petersburg, Russia. E-mail: outhall.88@mail.ru¹

Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia²

2, Akkuratova St., 197341, St. Petersburg, Russia²

Abstract

Introduction. Meningiomas are the second most common central nervous system (CNS) tumors in adults. Most meningiomas are benign tumors. Anaplastic and atypical meningiomas account for 25% and have a high recurrence rate even after radical tumor resection and radiotherapy. The prognosis of patients with anaplastic meningiomas remains disappointing; most of them die within the first 2 to 5 years after surgery. **Purpose:** to discuss the challenges in diagnosis and treatment of recurrent meningiomas, to identify the causes of tumor progression, and to assess the clinical features and radiographic findings as well as specific pathomorphological and molecular genetic characteristics. **Material and Methods.** We searched for publications in the Pubmed, EMBASE, Cochrane Library and eLibrary databases published between January 2000 and January 2019 on the issue of recurrent intracranial meningiomas, in particular atypical and anaplastic meningiomas. **Results.** The review systematizes data on the prognostic factors for survival, relapse-free period, and disease progression. Particular attention was paid to the radical resection of the tumor and the assessment of the grade of anaplasia. The current data on radiotherapy and drug therapy were presented. The controversial issues of approaches to the assessment of morphological prognostic criteria were discussed. The current knowledge on the most common genetic mutations in meningiomas, the prospects for their study and use for targeted therapy were presented. **Conclusion.** The management of meningioma still presents some unresolved issues. There are no optimal standards for diagnosis and treatment of patients with meningiomas that would take into account biological characteristics, including growth characteristics and molecular genetic profile. There are no clear prognostic criteria for recurrence and continuity in further management after surgical treatment, which affects the mortality rate and quality of life in this category of patients. New fundamental data that will determine a different strategy in the treatment of intracranial meningiomas are needed.

Key words: meningioma; recurrence; tumor progression; radiation therapy; chemotherapy; pathomorphology; prognostic markers; genetic status.

Введение

Менингиомы – это группа преимущественно доброкачественных, медленно растущих опухолей оболочек головного мозга. Термин и анатомическая классификация, используемые и ныне, введены американским нейрохирургом Г. Кушингом в 1922 г. [1]. У взрослого населения менингиомы встречаются в 18–34 % случаев всех внутричерепных новообразований, занимая 2-е место среди всех опухолей головного мозга, уступая по частоте встречаемости лишь глиомам [2]. В США частота встречаемости менингиом составляет приблизительно 35 % первичных интракраниальных опухолей [3]. Среди жителей Санкт-Петербурга менингиомы диагностируются чаще других гистологических видов опухолей ЦНС – 1,75 на 100 тыс.; для злокачественных (анапластических) менингиом этот показатель равен 0,1 на 100 тыс. [4]. Чаще всего менингиомы возникают на 4–6-м десятилетиях жизни. У женщин менингиомы выявляются

чаще, чем у мужчин (соотношение 1,5:1), особенно среди лиц среднего возраста [2]. Половое различие связывают с экспрессией опухоли рецепторов эстрогена и прогестерона [5], андрогенов [6] и нестероидных гормонов, включая соматостатин [7]. В классификации опухолей центральной нервной системы ВОЗ (2016) используется прогностическая градация по степени анаплазии опухоли (Grade), основанная на гистологических признаках. По степени дифференцировки менингиомы разделяют на доброкачественные (типические) Grade I, атипические Grade II (проявляющие переходные качества между доброкачественными и анапластическими) и анапластические (злокачественные) Grade III. Атипические менингиомы составляют порядка 20–25 %, встречаемость анапластических (злокачественных) менингиом, по разным данным, варьирует от 1 до 6 %. Анапластические и атипические менингиомы имеют рецидивирующий тип течения заболевания даже после радикального удаления

опухоли и проведения лучевой терапии. Прогноз у больных с анапластическими менингиомами остается неутешительным, и большинство из них погибает в первые 2–5 лет после операции. [2]. В 2021 г. вышла статья-анонс, посвященная пятому изданию классификации опухолей центральной нервной системы, в которой внесены существенные изменения, повышающие роль молекулярной диагностики при опухолях ЦНС [8].

Цель исследования – по литературным данным оценить состояние проблемы диагностики и лечения менингиом, имеющих рецидивирующее течение, выявить причины опухолевой прогрессии, особенности клинической картины, лучевой диагностики, специфики патоморфологических и молекулярно-генетических характеристик.

Материал и методы

Осуществлен поиск печатных работ в базах данных Pubmed, EMBASE, Cochrane Library и eLibrary, опубликованных в период с января 2000 г. по январь 2019 г., по запросу: *atypical*[ti] AND anaplastic*[ti] AND meningiom*[ti] AND recurrent*[ti] AND outcome*[ti]*. Найдено 3 584 публикации, из них систематических обзоров 54, соответствующих требованиям международной системы PRISMA. Также в обзоре использовались наиболее значимые труды отечественных авторов по данной проблематике. Статья написана как по материалам систематических обзоров, так и по материалам значимых, на наш взгляд, работ по данной тематике за более широкий период времени (до 2000 г.); рассмотрены данные литературы, посвященные различным аспектам диагностики и лечения пациентов с рецидивами менингиом.

Лучевая морфология

Магнитно-резонансная томография (МРТ) является методом выбора в выявлении менингиом интракраниальной локализации и рассматривается как «золотой стандарт» диагностики и оценки рас-

пространности опухолевого процесса (рис. 1). Этот метод позволяет определить локализацию, структуру, степень инвазии опухоли в прилежащие ткани, а также размер и объем образования, что особенно важно при планировании хирургического лечения и прогноза течения заболевания. При МРТ менингиомы в основном имеют изоинтенсивный сигнал на T1 и T2 ВИ либо слабо гипоинтенсивный на T1 и T2 ВИ, гомогенную структуру с относительно четкими контурами [9, 10]. Неоднородность структуры подразумевает наличие в менингиоме кист, участков кровоизлияния, петрификатов и/или собственной сосудистой сети образования. Внутривенное введение контрастного вещества при МРТ позволяет визуализировать матрикс опухоли и оценить его распространенность, что особенно важно для прогноза возможных рецидивов и продолженного роста опухоли [11]. Интенсивность накопления контрастного вещества образованием позволяет проводить корреляцию между нейровизуализационными признаками и степенью анаплазии образования [12–14]. Не менее информативным и доступным диагностическим методом первичной визуализации новообразований менингеального ряда остается КТ с контрастным усилением [12, 15]. КТ-ангиография выполняется для выявления более точных характеристик матрикса менингиомы, который представляет собой радиально расходящиеся сосуды в центральных отделах новообразования, а также для изучения венозной фазы, что чрезвычайно важно для оценки вовлечения в процесс венозных синусов [9, 16]. Для определения метаболических характеристик и степени анаплазии менингиомы применяется радионуклидная диагностика (ПЭТ с метионином, ОФЭКТ с таллием) [17–19].

Хирургическое лечение

Объем удаления опухоли, радикальность хирургического вмешательства являются важными факторами для прогноза заболевания [20]. D. Sim-

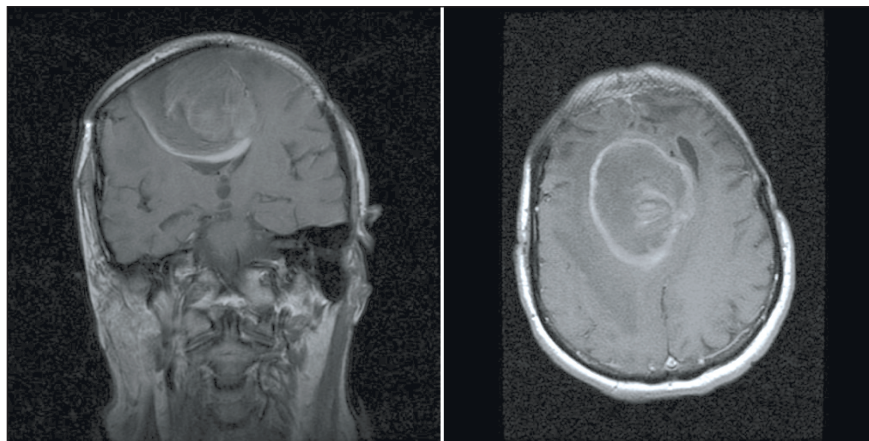


Рис. 1. МРТ головного мозга, фронтальный и горизонтальный срезы. Отмечается выраженный перифокальный отек вокруг менингиомы

Fig. 1. MRI frontal and horizontal sections. There is marked perifocal edema around the meningioma

pson (1957) предложил классификацию по степени радикальности хирургического удаления менингиом (рис. 2) [21]. В случае с менингиомами под рецидивированием следует понимать появление опухоли вновь после ее радикального, полного удаления (Simpson I, II), тогда как продолженный рост – это увеличение размеров опухоли после частичной резекции (Simpson III–V). Продолженный рост и рецидив опухоли часто ведут к повторному оперативному вмешательству, что влияет не только на качество жизни, но и на выживаемость больных.

Общая частота рецидивов и продолженного роста менингиом составляет 14–33 % [1, 4, 6, 21–24]. Изучение безрецидивной выживаемости у пациентов с менингиомами позволило установить, что менингиомы Grade I (доброкачественные) рецидивируют в 7–23 % случаев, Grade II (атипичные) – в 41–55 %, менингиомы Grade III (злокачественные) – в 72–78 %. [3, 22, 25]. В отношении рецидивирования менингиом K. Violaris et al. (2012) изучили прогностическое значение таких факторов, как локализация, гистология опухоли, а также объем резекции. Установлено, что частота рецидивов после полной резекции составила 13,8 % (из 269 пациентов), а для случаев с неполной резекцией – 46,7 % (из 84 случаев); локализация и гистология опухоли для рецидива значения не имели ($p > 0,001$) [22].

К прогностическим показателям, оказывающим влияние на рецидивирование, относят: объем удаления, гистологическую структуру опухоли, ее локализацию и возраст пациента. Логично, что степень радикальности резекции прямо пропорциональна длительности безрецидивного периода и выживаемости [26]. При изучении взаимосвязи степени радикальности резекции и рецидивиро-

вания S. Oya et al. (2012) оценили 248 менингиом Grade I у 240 пациентов и выявили значимое укорочение безрецидивного периода в случае удаления опухоли Simpson IV по сравнению с Simpson I–III [27]. Более быстрый рост новообразований у пациентов с анапластическими менингиомами сопровождается не только укорочением времени «бессимптомного периода», но и более выраженной клинической симптоматикой (значительно чаще выявляются гипертензионный и эпилептический синдромы, а также бульбарные нарушения у больных с базальными субтенториальными опухолями) [28–30].

В метаанализе, проведенном R.S. Kotecha et al. [23], из 677 детей и подростков с менингиомами 518 были отобраны для анализа безрецидивной выживаемости и 547 – для анализа общей выживаемости. Многофакторный анализ показал, что пациенты, перенесшие первичную тотальную резекцию, имели лучшие безрецидивную и общую выживаемость, чем перенесшие субтотальную резекцию. Не выявлено существенных преимуществ при проведении неoadьювантной лучевой терапии с точки зрения как общей, так и безрецидивной выживаемости. У пациентов с нейрофиброматозом 2-го типа (NF2) безрецидивная выживаемость была хуже, чем у больных без нейрофиброматоза. Наблюдалось значительное изменение общей выживаемости с течением времени между пациентами с NF2 по сравнению с больных без нейрофиброматоза; хотя общая выживаемость изначально была лучше у пациентов с NF2, чем без нейрофиброматоза, общая выживаемость через 10 лет была хуже у пациентов с NF2. У пациентов с опухолями ВОЗ III степени анаплазии безрецидивная выживаемость была хуже, чем с опухолями ВОЗ I степени ($p < 0,0001$) и II степени ($p = 0,027$) [23].

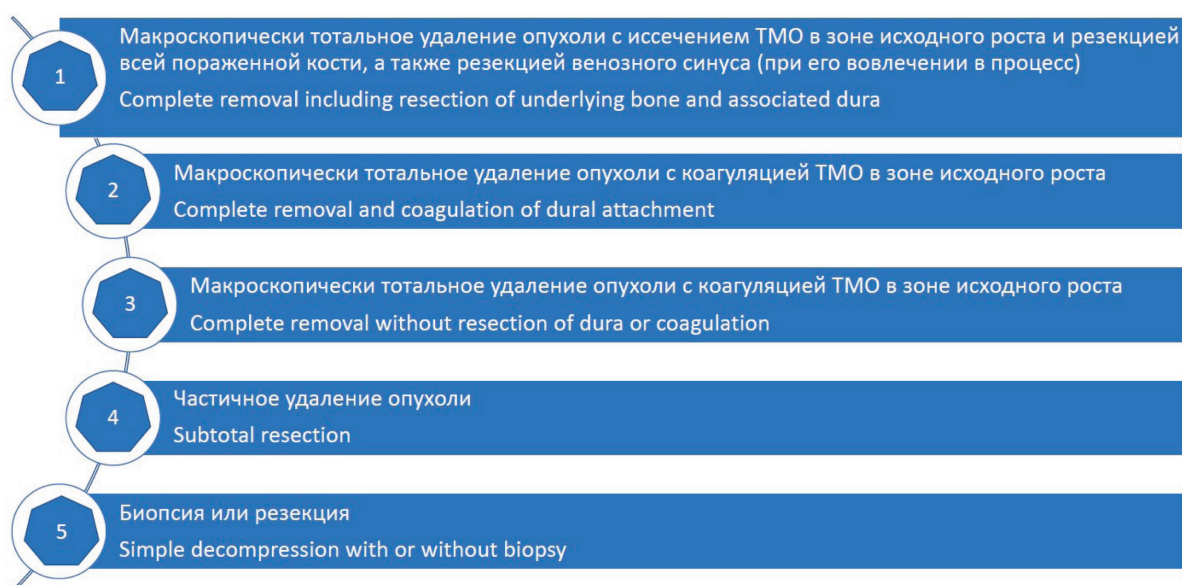


Рис. 2. Степень радикальности резекции менингиомы по Simpson
Fig. 2. The degree of radicality of resection of a meningioma according to Simpson

Лучевая терапия

Лучевая терапия (ЛТ) используется для лечения менингиом, не поддающихся хирургической резекции, в качестве адъювантной терапии при субтотальной или частичной резекции, а также в случаях лечения рецидивировавших или злокачественных опухолей. Целью адъювантной ЛТ является снижение частоты рецидивов. Используются как дистанционная гамма-терапия, стереотаксическая радиохирургия, так и протонная терапия. Доза ЛТ при стереотаксическом лечении менингиом Grade I обычно составляет 50 Гр, при Grade II–III – 60 Гр с ежедневными фракциями в течение 5–6 нед. Следует отметить, что на данный момент нет единого мнения о величине дозы для лечения менингиом Grade II–III. Имеются ограничения применения радиохирургических методов лечения, связанные с размером образования – рекомендованный размер опухоли менее 30 мм в диаметре. Этот вид ЛТ также не рекомендован, если опухоль прилежит к чувствительным к облучению участкам, таким как хиазма [31].

В случаях менингиом II и III степеней злокачественности существует значительно больший риск рецидива. Для менингиом Grade II с хирургическими резекциями Simpson I и II частота рецидивов через 5 лет составила 50 и 71 % соответственно [32, 33]. Пятилетняя безрецидивная выживаемость для пациентов с анапластическими менингиомами, которые не получали ЛТ, значительно хуже – 28 % после тотальной резекции и 0 % для субтотальной резекции [34]. Сочетание лучевой терапии и оперативного лечения показало снижение количества рецидивов за 6 лет с 65 до 20 % по сравнению с оперативным лечением [33]. Но есть противоречивые результаты, полученные другими группами исследователей [35].

В действующих руководствах Национальной сети по комплексному лечению рака (NCCN) для опухолей ЦНС [36] описаны рекомендации применения ЛТ при менингиомах, которые соответствуют уровню доказательности 2A. ЛТ как опцию лечения при первичном обращении следует рассматривать у всех пациентов с менингиомами Grade III, при субтотальной резекции менингиом Grade II, а также при субтотальной резекции образований Grade I, если имеется подозрение на озлокачествление. Также следует рассмотреть возможность ЛТ при любых симптоматических менингиомах Grade II. Для всех бессимптомных менингиом рекомендуется только наблюдение. Такой же точки зрения придерживаются специалисты Европейской ассоциации нейроонкологов (EANO): если у пациента отсутствуют масс-эффект и клиническая симптоматика, целесообразно придерживаться тактики наблюдения [24]. Для хирургически недоступных опухолей или при наличии противопоказаний к оперативному вмешательству рекомендуется только ЛТ. При рецидиве рекомен-

дуется операция (если она доступна), за которой следует лучевая терапия.

Следует отметить, что руководящие принципы NCCN не принимают во внимание возраст пациента, локализацию опухоли или какие-либо молекулярно-генетические маркеры, а также не дается никаких рекомендаций по выбору какого-либо из методов ЛТ.

В рекомендациях Европейской ассоциации нейроонкологии (EANO) ЛТ рекомендована для субтотально резецированных опухолей Grade I, для субтотально резецированных менингиом Grade II с доказательностью уровня C, а при их тотальной резекции – ЛТ или наблюдение. Анапластические менингиомы Grade III рекомендуется подвергать ЛТ независимо от степени резекции с доказательностью уровня B. Как и в руководствах Национального института рака (NCI), не указано влияние локализации опухоли и молекулярных маркеров на рекомендуемую стратегию лечения [24].

Следует отметить, что данные клинические рекомендации опубликованы до пересмотренной классификации ВОЗ опухолей ЦНС 2016 г. и не учитывают новые подходы в оценке степени анаплазии менингиом.

Химиотерапия

К сожалению, интерпретация исследований, посвященных системной химиотерапии менингиом, крайне затруднительна в связи с неоднородностью дизайнов исследований (таблица). Это проявляется во включении пациентов в лечение с разными стадиями, начиная от вновь диагностированных опухолей и заканчивая опухолями, которые рецидивировали, несмотря на многочисленные операции и лучевую терапию, а в некоторых случаях – и многократные схемы химиотерапии. Неоднородность критериев ответа еще больше затрудняет сопоставление между различными исследованиями. В химиотерапии приняты стандартные критерии Макдональда, которые определяют прогрессирование заболевания как увеличение объема опухоли на 25 %; однако во многих исследованиях не были определены критерии того, что представляет собой прогрессирование опухоли (до начала исследования) [76–78]. В большинстве исследований сообщают о результатах выживаемости, но отсутствует единая система изложения полученных данных. Безрецидивная выживаемость в течение 6 мес была наиболее однородной характеристикой ответа, которую затем можно было суммировать по всем исследованиям. Уровень «рентгенологического ответа» регистрировался в тех случаях, когда он был доступен, но не был выбран в качестве основного показателя исхода, поскольку это давало мало информации о результатах лечения и дополнительно затруднялось различными мерами оценки эффективности [79].

Таблица/Table

Суммарные сведения о результатах системной терапии менингиом Summary of the results of systemic therapy for meningiomas

Механизм действия/ Mechanism of action	Препараты/ Drugs	Число на- блюдений/ Number of cases	Степень анаплазии (Grade)/ WHO grade of anaplasia (Grade)			БРВ, мес/ RFS, months	Степень «рентгенологического» ответа/ Radiological response rate					Исследования/ References	
			n/a	I	II		III	Cr/ SD	MO/ MR	ЧО/ PR	ПО/ CR		Пр/ PD
Ингибитор рибонуклеотидредуктазы/ Ribonucleotide reductase inhibitor	Препараты гидроксимочевины/ Hydroxyurea	219	51	60	37	17	2–27	130	5	2	0	73	Schrell U.M. [37], New- ton H.B. [38], Mason W.P. [39], Rosenthal M.A. [40], Paus S. [41], Loven D. [42], Hahn B.M. [43], Weston G.J. [44], Swinnen L.J. [45], Chamberlain M.C. [46, 47]
Алкилирующее средство/ Alkylating antineoplastic agent	Темозоломид/ Temozolomide	16	–	16	–	–	5	13	0	0	0	3	Chamberlain M.C. [48]
Ингибитор топоизомеразы I/ Topoisomerase I inhibitor	Иринотекан/ Irinotecan	16	–	16	–	–	4,5	12	0	1	0	3	Chamberlain M.C. [49]
Комбинированная химиотерапия/ Combined cytotoxic chemotherapy	Циклофосамид + адриамицин (доксирубин) + винкристин (CAV)/ Cyclophosphamide + adriamycin (doxorubicin) + vincristine = CAV	14	–	–	–	14	54	12	0	2	0	0	Chamberlain M.C. [50]
Иммуномодулятор/ Immunomodulator	Интерферон-α/ Interferon-α	53	2	43	2	6	7*	32*	0*	0*	0*	9*	Kaba S.E. [51], Muhr C., [52], Chamberlain M.C., [53]
Антипрогестерон/ Anti-progesterone	Мифепристон/ Mifepristone	122	6	109	3	4	10 (платцебо/ placebo – 12)*	16*	4*	0*	0*	1*	Grunberg S.M., [54], Steven M., [55], Grunberg S.M. [56]
Агонист рецептора про- гестерона/ Progesterone receptor agonist	Мегестрол/ Megestrol	9	–	8	–	1	–*	6	0	0	0	3	Grunberg S.M. [57]
Синтетический проге- стерон/ Synthetic form of progesterone	Медроксипрогесте- рон/ Medroxyprogesterone	5	–	4	–	1	–*	4	0	0	0	1	Jaaskelainen J. [58]
Антиэстроген/ Antiestrogen	Тамоксифен/ Tamoxifen	27	–	–	–	–	15,1*	5*	0*	1*	0*	0*	Markwalder T. [59], Goodwin J.W. [60]

Окончание таблицы 1/End of Table 1

Аналоги соматостатина/ Somatostatin analogs	58	1*	22*	6*	10*	1–5*	31	0	5	0	15	Runzi M.W. [61], Garcia-Luna P.P. [62], Jaffrain-Rea M.L. [63], Johnson D.R. [64], Chamberlain M.C. [65], Norden A.D. [66]
Ингибитор тирозинкиназы PDGFR/ Tyrosine kinase inhibitor PDGFR	23	–	12	5	5	2	9	0	0	0	10	Wen P.Y. [67]
Ингибитор тирозинкиназы EGFR/ Tyrosine kinase inhibitor EGFR	26	–	8	10	8	10*	9	0	0	0	17	Raizer J.J. [68] Norden A. [69]
Ингибитор рибонуклеоти- дредуктазы + ингибитор тирозинкиназы PDGFR/ Ribonucleotide reductase inhibitor + Tyrosine kinase inhibitor PDGFR	21	–	8	9	4	7	–*	–*	–*	–*	–*	Mason W.P. [39]
Ингибитор тирозинкиназ VEGFR + PDGFR/ Tyrosine kinase inhibitor EGFR + PDGFR	57	–	–	44	13	5,2*	37	0	2	1	13	Raizer J.J. [68], Kaley T.J. [70]
Антитела к VEGF/ VEGF Antibodies	32	2	6	11	13	6,5–17,9*	24	4	2	0	2	Puchner M.J. [71], Goutagly S. [72], Wilson T.J. [73], Lou E. [74], Nayak L. [75]

Примечание: БРВ – безрецидивная выживаемость; Ст – стабилизация; МО – минимальный ответ; ЧО – частичный ответ; ПО – полный ответ; Пр – прогрессирование; * – данные о части больных отсутствуют.

Note: RFS – recurrence free survival; SD – stable disease; MR – minimal response; PR – partial response; CR – complete response; PD – progressive disease; * – data on some patients are not available.

Патоморфология

Патоморфологические признаки лежат в основе оценки выраженности проявлений дедифференцировки опухоли. Несмотря на собственный большой многолетний опыт в патоморфологической диагностике менингиом, нередко возникают трудности в определении степени анаплазии и расхождение заключений между разными специалистами в связи с субъективной оценкой и нечеткими патоморфологическими критериями, особенно при пограничных состояниях. Чаще не сходятся мнения патологов в случае постановки диагноза атипичной менингиомы (Grade II), несмотря на то, что в классификации ВОЗ опухолей ЦНС как от 2007, так и от 2016 г. даны вроде бы исчерпывающие и четкие установки для определения этого диагноза. Следует отметить, что расхождение мнения патологов о степени дифференцировки опухоли является частым явлением, наблюдаемым в работе с опухолями различных локализаций [80]. По классификации ВОЗ опухолей ЦНС (2016) указаны следующие критерии атипичной менингиомы (Grade II): более 4 митозов на 10 полей зрения (но менее 20) или наличие инвазии в вещество головного мозга, или выявление трех малых критериев (повышенная клеточность, солидный паттерн роста, мелкоклеточный компонент, крупные ядрышки, некрозы) (рис. 3).

По данным V. Barresi et al. (2018), среди менингиом, отнесенных к Grade II только на основании малых критериев, отмечается как рецидивное, так и безрецидивное течение неопластического процесса. Инвазия в мозг, высокая митотическая активность и наличие полей солидизации в большей степени связаны с более низкой безрецидивной выживаемостью. Авторы, получив противоречивые данные, предложили пересмотр классификации менингиом [81]. В 2021 г. вышел анонс пятой версии классификации опухолей центральной нервной системы, в которой раздел по менингиомам был дополнен данными молекулярно-генетического анализа и менингиома

с ее широким морфологическим спектром была отражена в 15 подтипах [8].

В настоящее время иммуногистохимические методы исследования операционного и биопсийного материала, в частности, выявление с помощью моноклональных антител к Ki67 (MIB-1) пролиферирующих клеток в ткани менингиомы, позволяют выявить группу пациентов с высокой вероятностью рецидива заболевания. Еще в 1999 г. H. Nakagichi et al. определили, что логарифм индекса мечения Ki67 (MIB-1) обратно пропорционален времени удваивания объема опухоли и вероятности ее рецидивирования [82]. L. Bertero et al. (2019) выявили зависимость течения заболевания от наличия или отсутствия «горячих точек» (очагов пролиферативной активности) при исследовании с Ki67 [83]. В классификации ВОЗ 2016 г. отсутствуют рекомендации по определению степени анаплазии в менингиомах на основании уровня пролиферативной активности по Ki67 [2, 84–87]. Вопрос значения уровня пролиферативной активности для определения степени анаплазии в менингиомах до сих пор остается открытым, и в классификации ВОЗ 2021 г., наконец-то, появились некоторые данные по поводу молекулярно-генетического статуса менингиом, однако ряд исследователей указывает на более широкое разнообразие генетики менингиом [88–92].

Молекулярно-генетические факторы

Ряд авторов считает, что традиционные методы гистологического и иммуногистохимического анализа не позволяют достоверно прогнозировать риск рецидива или продолженного роста менингиом и основу изучения прогноза заболевания могут составить только генетические мутации и степень их проявлений [93]. С начала 90-х гг. известно, что в менингиомах приблизительно в половине случаев встречаются генные мутации, хромосомные перестройки, инактивирующие опухолевый супрессор NF2. Последующие исследования, основанные на

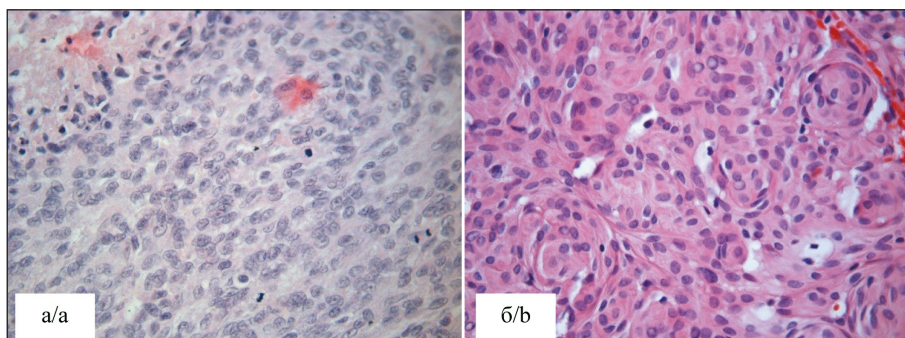


Рис. 3. Гистологическая картина менингиом разной степени анаплазии: а) менинготелиальная менингиома, Grade I – типичные концентрические структуры, слабо выраженный полиморфизм, отсутствие митозов; б) анапластическая менингиома, Grade III – солидизация тканевого рисунка, в ядрах крупные ядрышки, некроз, митозы.

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 3. Histological picture of meningiomas of different grade: a) meningothelial meningioma, Grade I – typical concentric structures, weak polymorphism, no mitoses; b) anaplastic meningioma, Grade III – solid tissue pattern, large nucleoli in the nuclei, necrosis and mitoses are present. Staining with hematoxylin and eosin, $\times 400$

применении методов секвенирования следующего поколения, позволили выявить в менингиомах повторяющиеся «драйверные» мутации в генах AKT1, TRAF7, KLF4, SMO, TERT, PIK3CA [28–30, 89, 93, 94]. При этом одни молекулярные характеристики распределены среди менингиом вне очевидной связи с морфологическими, клиническими или топическими особенностями, другие исключительно тесно связаны с подобными факторами, третьи обогащены в определенных группах менингиом, но встречаются и вне их пределов. Так, некоторые подтипы менингиом (например, секреторная) отличаются облигатным присутствием определенных мутаций (мутации p.K409Q в гене KLF4 и мутаций в 3' конце гена TRAF7). Известно, что секреторные менингиомы характеризуются выраженным перитуморальным отеком мозговой ткани, что обладает клинической значимостью. Наличие мутации p.K409Q среди менингиом патогномонично для секреторного подтипа, а повреждения TRAF7 встречаются и в других менингиомах [28, 89].

Сравнительно редкие мутации в генах AKT, PIK3CA, SMO встречаются преимущественно в менингиомах основания черепа – области, труднодоступной для хирургического лечения и проблематичной даже для радиотерапии [29, 95]. Более детальное изучение таких опухолей может вскрыть более тонкие взаимосвязи между генотипом и фенотипом опухолей, например, показано, что мутации в гене SMO преимущественно ассоциированы с образованиями, возникающими в области обонятельного бугорка [29]. В клиническую онкологию постепенно начинают входить препараты, ингибирующие данные молекулы: PIK3CA (бупарлисиб, алпелисиб), SMO (висмодегиб), AKT (AZD5363, ипатасертиб) [96–98]. Существуют единичные предварительные сообщения о хороших результатах таргетной терапии опухолей с данными мутациями. Так как локализация в области основания черепа может осложнить не только планирование радикальной операции, но даже и биопсию, попытка выделить сочетание клинических, нейровизуализационных и прочих данных, которые могли бы послужить предикторами или суррогатными маркерами высокой вероятности наличия мутаций-мишеней к таргетным препаратам, кажется чрезвычайно заманчивой. Некоторые мутации обладают известной прогностической цен-

ностью. Так, мутации в промоторе TERT связаны с более высоким риском рецидива и более низкой выживаемостью [90, 99]. Эпигенетические изменения могут указывать на риск рецидива менингиом [91, 94, 100–103]. В последних публикациях предлагаются схемы стратификации риска на основе подгрупп метилирования ДНК [92, 104].

Заключение

Имеется обширная база исследований, посвященных изучению и уточнению диагностической и прогностической значимости отдельных клинических характеристик менингиом, влиянию степени радикальности хирургического удаления опухоли, а также применению ЛТ и химиотерапии у пациентов с разной степенью анаплазии менингиом, но они противоречивы и не могут ответить на многие вопросы, особенно при менингиомах с рецидивирующим течением. Обширный арсенал лучевой диагностики направлен в основном на первичную диагностику менингиом и оценку характеристик, связанных с риском оперативного вмешательства, но практически не уделяется внимание прогностическим факторам риска рецидивов. Не до конца изучена роль адъювантных методов лечения (химиотерапия, лучевая терапия и, в частности, радиохirurgия) при рецидивах интракраниальных менингиом. Существующий принцип градации менингиом по степени анаплазии (Grade), опирающийся на данные световой микроскопии, не всегда объективен и имеет различную интерпретацию у разных специалистов. Отсутствие четких патоморфологических критериев определения степени анаплазии менингиом затрудняет прогнозирование течения заболевания и определение дальнейшей тактики лечения. Таким образом, проблема ведения больных с рецидивами менингиом далека до решения, отсутствуют оптимальные стандарты диагностики и лечения данной группы пациентов, учитывающие биологические особенности, в том числе особенности роста, молекулярно-генетический профиль. Нет четких прогностических критериев рецидива и преимущества в дальнейшей курации после хирургического лечения, что влияет на уровень смертности и качество жизни пациентов. Необходимы новые фундаментальные данные, которые определяют иную стратегию в лечении внутричерепных менингиом.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Cushing H. The meningiomas (dural endotheliomas): their source and favored seats of origin (Cavendish Lecture). *Brain*. 1922 Oct; 45(2): 282–316. doi: 10.1093/brain/45.2.282.
2. 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.
3. Ostrom Q.T., Patil N., Cioffi G., 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 2013–2017. *Neuro Oncol*. 2020; 22. doi: 10.1093/neuonc/noaa200.

4. Улитин А.Ю., Олюшин В.Е., Поляков И.В. Эпидемиология первичных опухолей головного мозга в Санкт-Петербурге. Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. 2005; 1: 6–12. [Ulitin A.Ju., Oljushin V.E., Poljakov I.V. Epidemiology of primary brain tumors in St. Petersburg. *Zhurnal «Voprosy neirohirurgii» imeni N.N. Burdenko*. 2005; 1: 6–12. (in Russian)].
5. Leães C.G., Meurer R.T., Coutinho L.B., Ferreira N.P., Pereira-Lima J.F., da Costa Oliveira M. Immunohistochemical expression of aromatase and estrogen, androgen and progesterone receptors in normal

- and neoplastic human meningeal cells. *Neuropathology*. 2010; 30(1): 44–9. doi: 10.1111/j.1440-1789.2009.01047.x.
6. Carroll R.S., Zhang J., Dashner K., Black P.M. Progesterone and glucocorticoid receptor activation in meningiomas. *Neurosurgery*. 1995; 37(1): 92–7. doi: 10.1227/00006123-199507000-00014.
 7. Reubi J.C., Maurer R., Klijn J.G., Stefanko S.Z., Foekens J.A., Blaauw G., Blankenstein M.A., Lamberts S.W. High incidence of somatostatin receptors in human meningiomas: biochemical characterization. *J Clin Endocrinol Metab*. 1986; 63(2): 433–8. doi: 10.1210/jcem-63-2-433.
 8. Louis D.N., Perry A., Wesseling P., Brat D.J., Cree I.A., Figarella-Branger D., Hawkins C., Ng H.K., Pfister S.M., Reifenberger G., Soffietti R., von Deimling A., Ellison D.W. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol*. 2021; 23(8): 1231–51. doi: 10.1093/neuonc/noab106.
 9. Кумаев С.М., Кумаев С.В. Лучевая диагностика заболеваний головного мозга. МЕДпресс-информ. 2018. 136 с. [Kitaev S.M., Kitaev S.V. Radiation diagnostics of brain diseases. MEDpress-inform. 2018. 136 p. (in Russian)].
 10. Осборн А., Зальцман К., Завери М. Лучевая диагностика. Головной мозг. Издательство Панфилова. 2018. 1216 с. [Osborn A., Zal'tsman K., Zaveri M. Radiation diagnostics. Brain. Izdatel'stvo Panfilova. 2018. 1216 p. (in Russian)].
 11. Kleinschmidt-DeMasters B.K., Rodriguez F., Tihan T. Diagnostic pathology: Neuropathology (2nd edition). Elsevier. 2016. 864 p.
 12. Кротенкова М. Б., Брюхов В.В., Морозова С.Н. Современные технологии нейровизуализации (лекция). Радиология-Практика. 2017; 2(62): 47–63. [Krotenkova M. B., Bryukhov V.V., Morozova S.N. Modern technologies of neuroimaging (lecture). Radiology-Practice. 2017; 2(62): 47–63. (in Russian)].
 13. Кривошапкин А.Л., Сергеев Г.С., Курбатов В.П., Гайтан А.С., Душубаев А.Р., Пытов С.М., Мишинов С.В., Кальнеус Л.Е., Янченко А.А., Волков А.М. Предоперационная верификация гистологического типа опухолей мозговых оболочек по данным магнитно-резонансной томографии. Нейрохирургия. 2017; (3): 11–9. [Krivoschapkin A.L., Sergeev G.S., Kurbatov V.P., Gaitan A.S., Duisobaev A.R., Pyatov S.M., Mishinov S.V., Kal'neus L.E., Yanchenko A.A., Volkov A.M. Preoperative verification of histological type of meningeal tumors using magnetic resonance imaging data. Russian Journal of Neurosurgery. 2017; (3): 11–9. (in Russian)].
 14. Бывальцев В.А., Степанов И.А., Кичигин А.И., Антипина С.Л. Возможности диффузно-взвешенной МРТ в дифференциальной диагностике степени злокачественности менингиом головного мозга. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16(3): 19–26. [Byval'tsev V.A., Stepanov I.A., Kichigin A.I., Antipina S.L. Diffusion-weighted MRI in the differential diagnosis of brain meningiomas. Siberian Journal of Oncology. 2017; 16(3): 19–26. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-3-19-26.
 15. Хостен Н., Либиг Т. Компьютерная томография головы и позвоночника. МЕДпресс-информ. 2017. 576 с. [Khosten N., Libig T. Computed tomography of the head and spine. MEDpress-inform. 2017. 576 p. (in Russian)].
 16. Яковленко Ю.Г., Молдованов В.А., Арасланова Л.В., Блинов И.М., Суханова О.П. Предоперационная оценка венозной системы при удалении парасагитальной менингиомы. Медицинский вестник Юга России. 2019; 10(1): 79–83. [Yakovlenko Yu.G., Moldovanov V.A., Araslanova L.V., Blinov I.M., Suhanova O.P. Preoperative evaluation of the venous system during the surgery of parasagittal meningioma. Medical Herald of the South of Russia. 2019; 10(1): 79–83. (in Russian)]. doi: 10.21886/2219-8075-2019-10-1-79-83.
 17. Сергиенко В.Б., Аниелес А.А. Радионуклидная диагностика с нейротропными радиофармпрепаратами. Инфра-М. 2016. 128 с. [Sergienko V.B., Ansheles A.A. Radionuclide diagnostics with neurotropic radiopharmaceuticals. Infra-M. 2016. 128 p. (in Russian)].
 18. Бродская З.Л., Скворцова Т.Ю., Малахова Е., Гурчин А.Ф., Панфиленко А.Ф., Медведев С.В. ПЭТ-диагностика внутричерепных менингиом. Медицинская визуализация. 2012; 2: 18–29. [Brodskaya Z., Skvortsova T., Malakhova E., Gurchin A., Panfilenko A., Medvedev S. PET diagnostics of intracranial meningiomas. Medical Visualization. 2012; 2: 18–29. (in Russian)].
 19. Шмырев В., Васильев А., Рудас М., Язвенко А., Оверченко К. Позитронно-эмиссионная томография в неврологической практике. Кремлиевская медицина. Клинический вестник. 2017; 1(4): 77–81. [Shmyrev V., Vasil'ev A., Rudas M., Jazvenko A., Overchenko K. Positron emission tomography in neurological practice. Kremlevskaya meditsina. Klinicheskii vestnik. 2017; 1(4): 77–81. (in Russian)].
 20. Yao A., Sarkiss C.A., Lee J., Zarzour H.K., Shrivastava R.K. Surgical limitations in convexity meningiomas en-plaque: Is radical resection necessary? *J Clin Neurosci*. 2016; 27: 28–33. doi: 10.1016/j.jocn.2015.06.033.
 21. Simpson D. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1957; 20(1): 22–39. doi: 10.1136/jnnp.20.1.22.
 22. Violaris K., Katsarides V., Sakellariou P. The Recurrence Rate in Meningiomas: Analysis of Tumor Location, Histological Grading, and Extent of Resection. *Open J Modern Neurosurg*. 2012; 2: 6–10. doi: 10.4236/ojmn.2012.21002.
 23. Kotecha R.S., Pascoe E.M., Rushing E.J., Rorke-Adams L.B., Zwerdling T., Gao X., Li X., Greene S., Amirjamshidi A., Kim S.K., Lima M.A., Hung P.C., Lakhdar F., Mehta N., Liu Y., Devi B.I., Sudhir B.J., Lund-Johansen M., Gjerris F., Cole C.H., Gottardo N.G. Meningiomas in children and adolescents: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2011; 12(13): 1229–39. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70275-3.
 24. Goldbrunner R., Minniti G., Preusser M., Jenkinson M.D., Sallabanda K., Houdart E., von Deimling A., Stavrinou P., Lefranc F., Lund-Johansen M., Moyal E.C., Brandsma D., Henriksson R., Soffietti R., Weller M. EANO guidelines for the diagnosis and treatment of meningiomas. *Lancet Oncol*. 2016; 17(9): 383–91. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30321-7.
 25. Rogers L., Barani I., Chamberlain M., Kaley T.J., McDermott M., Raizer J., Schiff D., Weber D.C., Wen P.Y., Vogelbaum M.A. Meningiomas: knowledge base, treatment outcomes, and uncertainties. A RANO review. *J Neurosurg*. 2015; 122(1): 4–23. doi: 10.3171/2014.7.JNS131644.
 26. Buerki R.A., Horbinski C.M., Kruser T., Horowitz P.M., James C.D., Lukas R.V. An overview of meningiomas. *Future Oncol*. 2018; 14(21): 2161–77. doi: 10.2217/fon-2018-0006.
 27. Oya S., Kawai K., Nakatomi H., Saito N. Significance of Simpson grading system in modern meningioma surgery: integration of the grade with MIB-1 labeling index as a key to predict the recurrence of WHO Grade I meningiomas. *J Neurosurg*. 2012; 117(1): 121–8. doi: 10.3171/2012.3.JNS111945.
 28. Reuss D.E., Piro R.M., Jones D.T., Simon M., Ketter R., Kool M., Becker A., Sahm F., Pusch S., Meyer J., Hagenlocher C., Schweizer L., Capper D., Kickingereder P., Mucha J., Koelsche C., Jäger N., Santarius T., Tarpey P.S., Stephens P.J., Andrew Futreal P., Wellenreuther R., Kraus J., Lenartz D., Herold-Mende C., Hartmann C., Mawrin C., Giese N., Eils R., Collins V.P., König R., Wiesler O.D., Pfister S.M., von Deimling A. Secretory meningiomas are defined by combined KLF4 K409Q and TRAF7 mutations. *Acta Neuropathol*. 2013; 125(3): 351–8. doi: 10.1007/s00401-013-1093-x.
 29. Strickland M.R., Gill C.M., Nayyar N., D'Andrea M.R., Thiede C., Juratli A., Schackert G., Borger D.R., Santagata S., Frosch M.P., Cahill D.P., Brastianos P.K., Barker F.G. Targeted sequencing of SMO and AKT1 in anterior skull base meningiomas. *J Neurosurg*. 2017; 127(2): 438–44. doi: 10.3171/2016.8.JNS161076.
 30. Yesilöz Ü., Kirches E., Hartmann C., Scholz J., Kropf S., Sahm F., Nakamura M., Mawrin C. Frequent AKT1E17K mutations in skull base meningiomas are associated with mTOR and ERK1/2 activation and reduced time to tumor recurrence. *Neuro Oncol*. 2017; 19(8): 1088–96. doi: 10.1093/neuonc/nox018.
 31. Walcott B.P., Nahed B.V., Brastianos P.K., Loeffler J.S. Radiation Treatment for WHO Grade II and III Meningiomas. *Front Oncol*. 2013; 3: 227. doi: 10.3389/fonc.2013.00227.
 32. Aghi M.K., Carter B.S., Cosgrove G.R., Ojemann R.G., Amin-Hanjani S., Martuza R.L., Curry W.T. Jr., Barker F.G. Long-term recurrence rates of atypical meningiomas after gross total resection with or without postoperative adjuvant radiation. *Neurosurgery*. 2009; 64(1): 56–60; discussion 60. doi: 10.1227/01.NEU.0000330399.55586.63.
 33. Komotar R.J., Iorgulescu J.B., Raper D.M., Holland E.C., Beal K., Bilsky M.H., Brennan C.W., Tabar V., Sherman J.H., Yamada Y., Gutin P.H. The role of radiotherapy following gross-total resection of atypical meningiomas. *J Neurosurg*. 2012; 117(4): 679–86. doi: 10.3171/2012.7.JNS112113.
 34. Dziuk T.W., Woo S., Butler E.B., Thornby J., Grossman R., Dennis W.S., Lu H., Carpenter L.S., Chiu J.K. Malignant meningioma: an indication for initial aggressive surgery and adjuvant radiotherapy. *J Neurooncol*. 1998; 37(2): 177–88. doi: 10.1023/a:1005853720926.
 35. Rogers L., Barani I., Chamberlain M., Kaley T.J., McDermott M., Raizer J., Schiff D., Weber D.C., Wen P.Y., Vogelbaum M.A. Meningiomas: knowledge base, treatment outcomes, and uncertainties. A RANO review. *J Neurosurg*. 2015; 122(1): 4–23. doi: 10.3171/2014.7.JNS131644.
 36. Central Nervous System Cancers [Internet]. NCCN Guidelines; 2021. URL: <http://nccn.org/> [cited 2021 Dec 27].
 37. Schrell U.M., Rittig M.G., Anders M., Koch U.H., Marschalek R., Kiesewetter F., Fahlbusch R. Hydroxyurea for treatment of unresectable and recurrent meningiomas. II. Decrease in the size of meningiomas in patients treated with hydroxyurea. *J Neurosurg*. 1997; 86(5): 840–4. doi: 10.3171/jns.1997.86.5.0840.
 38. Newton H.B., Slivka M.A., Stevens C. Hydroxyurea chemotherapy for unresectable or residual meningioma. *J Neurooncol*. 2000; 49(2): 165–70. doi: 10.1023/a:1026770624783.
 39. Mason W.P., Gentili F., Macdonald D.R., Hariharan S., Cruz C.R., Abrey L.E. Stabilization of disease progression by hydroxyurea in patients with recurrent or unresectable meningioma. *J Neurosurg*. 2002; 97(2): 341–6. doi: 10.3171/jns.2002.97.2.0341.

40. Rosenthal M.A., Ashley D.L., Cher L. Treatment of high risk or recurrent meningiomas with hydroxyurea. *J Clin Neurosci.* 2002; 9(2): 156–8. doi: 10.1054/jocn.2001.1019.
41. Paus S., Klockgether T., Urbach H., Schlegel U. Meningioma of the optic nerve sheath: treatment with hydroxyurea. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003 Sep; 74(9): 1348–50. doi: 10.1136/jnnp.74.9.1348-a.
42. Loven D., Hardoff R., Sever Z.B., Steinmetz A.P., Gornish M., Rappaport Z.H., Fenig E., Ram Z., Sulkes A. Non-resectable slow-growing meningiomas treated by hydroxyurea. *J Neurooncol.* 2004; 67(1–2): 221–6. doi: 10.1023/b:neon.0000021827.85754.8e.
43. Hahn B.M., Schrell U.M., Sauer R., Fahlbusch R., Ganslandt O., Grabenbauer G.G. Prolonged oral hydroxyurea and concurrent 3d-conformal radiation in patients with progressive or recurrent meningioma: results of a pilot study. *J Neurooncol.* 2005; 74(2): 157–65. doi: 10.1007/s11060-004-2337-3.
44. Weston G.J., Martin A.J., Mufti G.J., Strong A.J., Gleeson M.J. Hydroxyurea treatment of meningiomas: a pilot study. *Skull Base.* 2006; 16(3): 157–60. doi: 10.1055/s-2006-949518.
45. Swinnen L.J., Rankin C., Rushing E.J., Laura H.F., Damek D.M., Barger G.R. Phase II study of hydroxyurea for unresectable meningioma (Southwest Oncology Group S9811). *J Clin Oncol.* 2009; 27(15): 2063. doi: 10.1200/jco.2009.27.15_suppl.2063.
46. Chamberlain M.C., Johnston S.K. Hydroxyurea for recurrent surgery and radiation refractory meningioma: a retrospective case series. *J Neurooncol.* 2011; 104(3): 765–71. doi: 10.1007/s11060-011-0541-5.
47. Chamberlain M.C. Hydroxyurea for recurrent surgery and radiation refractory high-grade meningioma. *J Neurooncol.* 2012; 107(2): 315–21. doi: 10.1007/s11060-011-0741-z.
48. Chamberlain M.C., Tsao-Wei D.D., Groshen S. Temozolomide for treatment-resistant recurrent meningioma. *Neurology.* 2004; 62(7): 1210–2. doi: 10.1212/01.wnl.0000118300.82017.f4.
49. Chamberlain M.C., Tsao-Wei D.D., Groshen S. Salvage chemotherapy with CPT-11 for recurrent meningioma. *J Neurooncol.* 2006; 78(3): 271–6. doi: 10.1007/s11060-005-9093-x.
50. Chamberlain M.C. Adjuvant combined modality therapy for malignant meningiomas. *J Neurosurg.* 1996; 84(5): 733–6. doi: 10.3171/jns.1996.84.5.0733.
51. Kaba S.E., DeMonte F., Bruner J.M., Kyritsis A.P., Jaeckle K.A., Levin V., Yung W.K. The treatment of recurrent unresectable and malignant meningiomas with interferon alpha-2B. *Neurosurgery.* 1997; 40(2): 271–5. doi: 10.1097/00006123-199702000-00007.
52. Muhr C., Gudjonsson O., Lilja A., Hartman M., Zhang Z.J., Långström B. Meningioma treated with interferon-alpha, evaluated with [(11)C]-L-methionine positron emission tomography. *Clin Cancer Res.* 2001; 7(8): 2269–76.
53. Chamberlain M.C., Glantz M.J. Interferon-alpha for recurrent World Health Organization grade I intracranial meningiomas. *Cancer.* 2008; 113(8): 2146–51. doi: 10.1002/cncr.23803.
54. Grunberg S.M., Weiss M.H., Spitz I.M., Ahmadi J., Sadun A., Russell C.A., Lucci L., Stevenson L.L. Treatment of unresectable meningiomas with the antiprogesterone agent mifepristone. *J Neurosurg.* 1991; 74(6): 861–6. doi: 10.3171/jns.1991.74.6.0861.
55. Steven M., Grunberg C.R., Townsend J. Phase III double-blind randomized placebo-controlled study of mifepristone (RU) for the treatment of unresectable meningioma. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2001.
56. Grunberg S.M., Weiss M.H., Russell C.A., Spitz I.M., Ahmadi J., Sadun A., Sitruk-Ware R. Long-term administration of mifepristone (RU486): clinical tolerance during extended treatment of meningioma. *Cancer Invest.* 2006; 24(8): 727–33. doi: 10.1080/07357900601062339.
57. Grunberg S.M., Weiss M.H. Lack of efficacy of megestrol acetate in the treatment of unresectable meningioma. *J Neurooncol.* 1990; 8(1): 61–5. doi: 10.1007/BF00182088.
58. Jääskeläinen J., Laasonen E., Kärkkäinen J., Haltia M., Troupp H. Hormone treatment of meningiomas: lack of response to medroxyprogesterone acetate (MPA). A pilot study of five cases. *Acta Neurochir (Wien).* 1986; 80(1–2): 35–41. doi: 10.1007/BF01809555.
59. Markwalder T.M., Seiler R.W., Zava D.T. Antiestrogenic therapy of meningiomas—a pilot study. *Surg Neurol.* 1985; 24(3): 245–9. doi: 10.1016/0090-3019(85)90030-8.
60. Goodwin J.W., Crowley J., Eyre H.J., Stafford B., Jaeckle K.A., Townsend J.J. A phase II evaluation of tamoxifen in unresectable or refractory meningiomas: a Southwest Oncology Group study. *J Neurooncol.* 1993; 15(1): 75–7. doi: 10.1007/BF01050266.
61. Rünzi M.W., Jaspers C., Windeck R., Benker G., Mehdorn H.M., Reinhardt V., Reinwein D. Successful treatment of meningioma with octreotide. *Lancet.* 1989; 1(8646): 1074. doi: 10.1016/s0140-6736(89)92465-3.
62. Garcia-Luna P.P., Relimpio F., Pumar A., Pereira J.L., Leal-Cerro A., Trujillo F., Cortés A., Astorga R. Clinical use of octreotide in unresectable meningiomas. A report of three cases. *J Neurosurg Sci.* 1993; 37(4): 237–41.
63. Jaffrain-Rea M.L., Minniti G., Santoro A., Bastianello S., Tamburrano G., Gulino A., Cantore G. Visual improvement during octreotide therapy in a case of epistellar meningioma. *Clin Neurol Neurosurg.* 1998; 100(1): 40–3. doi: 10.1016/s0303-8467(97)00110-8.
64. Johnson D.R., Kimmel D.W., Burch P.A., Cascino T.L., Giannini C., Wu W., Buckner J.C. Phase II study of subcutaneous octreotide in adults with recurrent or progressive meningioma and meningeal hemangiopericytoma. *Neuro Oncol.* 2011; 13(5): 530–5. doi: 10.1093/neuonc/nor044.
65. Chamberlain M.C., Glantz M.J., Fadul C.E. Recurrent meningioma: salvage therapy with long-acting somatostatin analogue. *Neurology.* 2007; 69(10): 969–73. doi: 10.1212/01.wnl.0000271382.62776.b7.
66. Norden A.D., Ligon K.L., Hammond S.N., Muzikansky A., Reardon D.A., Kaley T.J., Batchelor T.T., Plotkin S.R., Raizer J.J., Wong E.T., Drappatz J., Lesser G.J., Haidar S., Beroukhi R., Lee E.Q., Doherty L., Lafrankie D., Gaffey S.C., Gerard M., Smith K.H., McCluskey C., Phuphanich S., Wen P.Y. Phase II study of monthly pasireotide LAR (SOM230C) for recurrent or progressive meningioma. *Neurology.* 2015; 84(3): 280–6. doi: 10.1212/WNL.0000000000001153.
67. Wen P.Y., Yung W.K., Lamborn K.R., Norden A.D., Cloughesy T.F., Abrey L.E., Fine H.A., Chang S.M., Robins H.I., Fink K., Deangelis L.M., Mehta M., Di Tomaso E., Drappatz J., Kesari S., Ligon K.L., Aldape K., Jain R.K., Stiles C.D., Egorin M.J., Prados M.D. Phase II study of imatinib mesylate for recurrent meningiomas (North American Brain Tumor Consortium study 01-08). *Neuro Oncol.* 2009; 11(6): 853–60. doi: 10.1215/15228517-2009-010.
68. Raizer J.J., Abrey L.E., Lassman A.B., Chang S.M., Lamborn K.R., Kuhn J.G., Yung W.K., Gilbert M.R., Aldape K.D., Wen P.Y., Fine H.A., Mehta M., Deangelis L.M., Lieberman F., Cloughesy T.F., Robins H.I., Dancy J., Prados M.D.; North American Brain Tumor Consortium. A phase I trial of erlotinib in patients with nonprogressive glioblastoma multiforme postirradiation therapy, and recurrent malignant gliomas and meningiomas. *Neuro Oncol.* 2010; 12(1): 87–94. doi: 10.1093/neuonc/nop017.
69. Norden A.D., Raizer J.J., Abrey L.E., Lamborn K.R., Lassman A.B., Chang S.M., Yung W.K., Gilbert M.R., Fine H.A., Mehta M., Deangelis L.M., Cloughesy T.F., Robins H.I., Aldape K., Dancy J., Prados M.D., Lieberman F., Wen P.Y. Phase II trials of erlotinib or gefitinib in patients with recurrent meningioma. *J Neurooncol.* 2010; 96(2): 211–7. doi: 10.1007/s11060-009-9948-7.
70. Kaley T.J., Wen P., Schiff D., Ligon K., Haidar S., Karimi S., Lassman A.B., Nolan C.P., DeAngelis L.M., Gavrilovic I., Norden A., Drappatz J., Lee E.Q., Purow B., Plotkin S.R., Batchelor T., Abrey L.E., Omuro A. Phase II trial of sunitinib for recurrent and progressive atypical and anaplastic meningioma. *Neuro Oncol.* 2015; 17(1): 116–21. doi: 10.1093/neuonc/nou148.
71. Puchner M.J.A., Hans V.H., Harati A., Lohmann F., Glas M., Herlinger U. Bevacizumab-induced regression of anaplastic meningioma. *Ann Oncol.* 2010; 21(12): 2445–6. doi: 10.1093/annonc/mdq634.
72. Goutaghy S., Raymond E., Sterkers O., Colombani J.M., Kalamarides M. Radiographic regression of cranial meningioma in a NF2 patient treated by bevacizumab. *Ann Oncol.* 2011; 22(4): 990–1. doi: 10.1093/annonc/mdr012.
73. Wilson T.J., Heth J.A. Regression of a meningioma during paclitaxel and bevacizumab therapy for breast cancer. *J Clin Neurosci.* 2012; 19(3): 468–9. doi: 10.1016/j.jocn.2011.07.024.
74. Lou E., Sumrall A.L., Turner S., Peters K.B., Desjardins A., Vredenburgh J.J., McLendon R.E., Herndon J.E., McSherry F., Norfleet J., Friedman H.S., Reardon D.A. Bevacizumab therapy for adults with recurrent/progressive meningioma: a retrospective series. *J Neurooncol.* 2012; 109(1): 63–70. doi: 10.1007/s11060-012-0861-0.
75. Nayak L., Iwamoto F.M., Rudnick J.D., Norden A.D., Lee E.Q., Drappatz J., Omuro A., Kaley T.J. Atypical and anaplastic meningiomas treated with bevacizumab. *J Neurooncol.* 2012; 109(1): 187–93. doi: 10.1007/s11060-012-0886-4.
76. Macdonald D.R., Cascino T.L., Schold S.C. Jr., Cairncross J.G. Response criteria for phase II studies of supratentorial malignant glioma. *J Clin Oncol.* 1990; 8(7): 1277–80. doi: 10.1200/JCO.1990.8.7.1277.
77. Wen P.Y., Macdonald D.R., Reardon D.A., Cloughesy T.F., Sorensen A.G., Galanis E., Degroot J., Wick W., Gilbert M.R., Lassman A.B., Tsien C., Mikkelsen T., Wong E.T., Chamberlain M.C., Stupp R., Lamborn K.R., Vogelbaum M.A., van den Bent M.J., Chang S.M. Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: response assessment in neuro-oncology working group. *J Clin Oncol.* 2010; 28(11): 1963–72. doi: 10.1200/JCO.2009.26.3541.
78. Quant E.C., Wen P.Y. Response assessment in neuro-oncology. *Curr Oncol Rep.* 2011; 13(1): 50–6. doi: 10.1007/s11912-010-0143-y.
79. Kaley T., Barani I., Chamberlain M., McDermott M., Panageas K., Raizer J., Rogers L., Schiff D., Vogelbaum M., Weber D., Wen P. Historical benchmarks for medical therapy trials in surgery- and radiation-refractory meningioma: a RANO review. *Neuro Oncol.* 2014; 16(6): 829–40. doi: 10.1093/neuonc/not330.

80. Каприн А.Д., Иванов С.А., Клименко А.А. Рак предстательной железы: новые возможности в диагностике локализованных и метастораспространенных форм заболевания. Андрология и генитальная хирургия. 2006; 7(2): 14–9. [Kaprin A.D., Ivanov S.A., Klimenko A.A. Prostate cancer: new opportunities in the diagnosis of localized and locally advanced forms of the disease. *Andrology and Genital Surgery*. 2006; 7(2): 14–9. (in Russian)].
81. Barresi V., Lioni S., Caliri S., Caffo M. Histopathological features to define atypical meningioma: What does really matter for prognosis? *Brain Tumor Pathol.* 2018; 35(3): 168–80. doi: 10.1007/s10014-018-0318-z.
82. Nakaguchi H., Fujimaki T., Matsuno A., Matsuura R., Asai A., Suzuki I., Sasaki T., Kirino T. Postoperative residual tumor growth of meningioma can be predicted by MIB-1 immunohistochemistry. *Cancer*. 1999; 85(10): 2249–54.
83. Bertero L., Dalla Dea G., Osella-Abate S., Botta C., Castellano I., Morra I., Pollo B., Calatozzolo C., Patriarca S., Mantovani C., Rudà R., Tardivo V., Zenga F., Garbossa D., Papotti M., Soffietti R., Ricardi U., Cassoni P. Prognostic Characterization of Higher-Grade Meningiomas: A Histopathological Score to Predict Progression and Outcome. *J Neuro-pathol Exp Neurol.* 2019; 78(3): 248–56. doi: 10.1093/jnen/nly127.
84. Shan B., Zhang J., Song Y., Xu J. Prognostic factors for patients with World Health Organization grade III meningiomas treated at a single center. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96(26). doi: 10.1097/MD.00000000000007385.
85. Li B., Tao B., Bai H., Zhong J., Wu X., Shi J., Sun H., Li S. Papillary meningioma: an aggressive variant meningioma with clinical features and treatment: a retrospective study of 10 cases. *Int J Neurosci.* 2016; 126(10): 878–87. doi: 10.3109/00207454.2015.1077833.
86. Surov A., Hamerla G., Meyer H.J., Winter K., Schob S., Fiedler E. Whole lesion histogram analysis of meningiomas derived from ADC values. Correlation with several cellularity parameters, proliferation index Ki67, nucleic content, and membrane permeability. *Magn Reson Imaging*. 2018; 51: 158–62. doi: 10.1016/j.mri.2018.05.009.
87. Surov A., Meyer H.J., Wienke A. Associations between apparent diffusion coefficient (ADC) and Ki67 in different tumors: a meta-analysis. Part 1: ADCmean. *Oncotarget*. 2017; 8(43): 75434–44. doi: 10.18632/oncotarget.20406.
88. Bi W.L., Greenwald N.F., Abedalthagafi M., Wala J., Gibson W.J., Agarwalla P.K., Horowitz P., Schumacher S.E., Esaulova E., Mei Y., Chevalier A., Ducar M., Thorner A.R., van Hummelen P., Stemmer-Rachamimov A., Artyomov M., Al-Mefty O., Dunn G.P., Santagata S., Dunn I.F., Beroukhi R. Genomic landscape of high-grade meningiomas. *NPJ Genom Med.* 2017; 2: 15. doi: 10.1038/s41525-017-0014-7.
89. Clark V.E., Erson-Omay E.Z., Serin A., Yin J., Cotney J., Ozduman K., Avşar T., Li J., Murray P.B., Henegariu O., Yilmaz S., Günel J.M., Carrión-Grant G., Yilmaz B., Grady C., Tanrikulu B., Bakircioğlu M., Kaymakçalan H., Caglayan A.O., Sencar L., Ceyhan E., Atik A.F., Bayrı Y., Bai H., Kolb L.E., Hebert R.M., Omay S.B., Mishra-Gorur K., Choi M., Overton J.D., Holland E.C., Mane S.C., State M.W., Bilgüvar K., Baehring J.M., Gutin P.H., Piepmeyer J.M., Vortmeyer A., Brennan C.W., Pamiir M.N., Kiliç T., Lifton R.P., Noonan J.P., Yasuno K., Günel M. Genomic analysis of non-NF2 meningiomas reveals mutations in TRAF7, KLF4, AKT1, and SMO. *Science*. 2013; 339(6123): 1077–80. doi: 10.1126/science.1233009.
90. Peyre M., Gauchotte G., Giry M., Froehlich S., Pallud J., Grailon T., Bielle F., Cazals-Hatem D., Varlet P., Figarella-Branger D., Loiseau H., Kalamirides M. De novo and secondary anaplastic meningiomas: a study of clinical and histomolecular prognostic factors. *Neuro Oncol.* 2018; 20(8): 1113–21. doi: 10.1093/neuonc/nox231.
91. Gao F., Shi L., Russin J., Zeng L., Chang X., He S., Chen T.C., Giannotta S.L., Weisenberger D.J., Zada G., Mack W.J., Wang K. DNA methylation in the malignant transformation of meningiomas. *PLoS One*. 2013; 8(1). doi: 10.1371/journal.pone.0054114.
92. Sahn F., Schimpf D., Stichel D., Jones D.T.W., Hielscher T., Schefzyk S., Okonechnikov K., Koelsche C., Reuss D.E., Capper D., Sturm D., Wirsching H.G., Berghoff A.S., Baumgarten P., Kratz A., Huang K., Wefers A.K., Hovestadt V., Sill M., Ellis H.P., Kurian K.M., Okuducu A.F., Jung K., Drueschler K., Schick M., Bewerunge-Hudler M., Mawrin C., Seiz-Rosenhagen M., Ketter R., Simon M., Westphal M., Lam-szus K., Becker A., Koch A., Schittenhelm J., Rushing E.J., Collins V.P., Brehmer S., Chavez L., Platten M., Hänggi D., Unterberg A., Paulus W., Wick W., Pfister S.M., Mittelbronn M., Preusser M., Herold-Mende C., Weller M., von Deimling A. DNA methylation-based classification and grading system for meningioma: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2017; 18(5): 682–94. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30155-9.
93. Shaikh N., Dixit K., Raizer J. Recent advances in managing/understanding meningioma. *F1000Res.* 2018; 7. doi: 10.12688/f1000research.13674.1.
94. Brastianos P.K., Horowitz P.M., Santagata S., Jones R.T., McKenna A., Getz G., Ligon K.L., Palescandolo E., Van Hummelen P., Ducar M.D., Raza A., Sunkavalli A., Macconail L.E., Stemmer-Rachamimov A.O., Louis D.N., Hahn W.C., Dunn I.F., Beroukhi R. Genomic sequencing of meningiomas identifies oncogenic SMO and AKT1 mutations. *Nat Genet.* 2013; 45(3): 285–9. doi: 10.1038/ng.2526.
95. Abedalthagafi M., Bi W.L., Aizer A.A., Merrill P.H., Brewster R., Agarwalla P.K., Listewnik M.L., Dias-Santagata D., Thorner A.R., Van Hummelen P., Brastianos P.K., Reardon D.A., Wen P.Y., Al-Mefty O., Ramkissoon S.H., Folkerth R.D., Ligon K.L., Ligon A.H., Alexander B.M., Dunn I.F., Beroukhi R., Santagata S. Oncogenic PI3K mutations are as common as AKT1 and SMO mutations in meningioma. *Neuro Oncol.* 2016; 18(5): 649–55. doi: 10.1093/neuonc/nov316.
96. Janku F. Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) pathway inhibitors in solid tumors: From laboratory to patients. *Cancer Treat Rev.* 2017; 59: 93–101. doi: 10.1016/j.ctrv.2017.07.005.
97. Basset-Séguin N., Hauschild A., Kunstfeld R., Grob J., Dréno B., Mortier L., Ascierto P.A., Licitra L., Dutriaux C., Thomas L., Meyer N., Guillot B., Dummer R., Arenberger P., Fife K., Raimundo A., Dika E., Dimier N., Fittipaldo A., Xynos I., Hansson J. Vismodegib in patients with advanced basal cell carcinoma: Primary analysis of STEVIE, an international, open-label trial. *Eur J Cancer.* 2017; 86: 334–48. doi: 10.1016/j.ejca.2017.08.022.
98. de Bono J.S., De Giorgi U., Rodrigues D.N., Massard C., Bracarda S., Font A., Arranz A.J.A., Shih K.C., Radavoi G.D., Xu N., Chan W.Y., Ma H., Gendreau S., Riisnaes R., Patel P.H., Maslyar D.J., Jing V. Randomized Phase II Study Evaluating Akt Blockade with Ipatasertib, in Combination with Abiraterone, in Patients with Metastatic Prostate Cancer with and without PTEN Loss. *Clin Cancer Res.* 2019; 25(3): 928–36. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0981.
99. Goutagny S., Nault J.C., Mallet M., Henin D., Rossi J.Z., Kalamirides M. High incidence of activating TERT promoter mutations in meningiomas undergoing malignant progression. *Brain Pathol.* 2014; 24(2): 184–9. doi: 10.1111/bpa.12110.
100. Di Vinci A., Brigati C., Casciano I., Banelli B., Borzi L., Forlani A., Ravetti G.L., Allemanni G., Melloni I., Zona G., Spaziante R., Merlo D.F., Romani M. HOXA7, 9, and 10 are methylation targets associated with aggressive behavior in meningiomas. *Transl Res.* 2012; 160(5): 355–62. doi: 10.1016/j.trsl.2012.05.007.
101. Harman A.S., Youngblood M.W., Clark V.E., Coşkun S., Henegariu O., Duran D., Erson-Omay E.Z., Kaulen L.D., Lee T.I., Abraham B.J., Simon M., Krschek B., Timmer M., Goldbrunner R., Omay S.B., Baranoski J., Baran B., Carrión-Grant G., Bai H., Mishra-Gorur K., Schramm J., Moliterno J., Vortmeyer A.O., Bilgüvar K., Yasuno K., Young R.A., Günel M. Integrated genomic analyses of de novo pathways underlying atypical meningiomas. *Nat Commun.* 2017; 8: 14433. doi: 10.1038/ncomms14433.
102. Kishida Y., Natsume A., Kondo Y., Takeuchi I., An B., Okamoto Y., Shinjo K., Saito K., Ando H., Ohka F., Sekido Y., Wakabayashi T. Epigenetic subclassification of meningiomas based on genome-wide DNA methylation analyses. *Carcinogenesis*. 2012; 33(2): 436–41. doi: 10.1093/carcin/bgr260.
103. Vengoechea J., Sloan A.E., Chen Y., Guan X., Ostrom Q.T., Kerstetter A., Capella D., Cohen M.L., Wolinsky Y., Devine K., Selman W., Barnett G.H., Warnick R.E., McPherson C., Chiocca E.A., Elder J.B., Barnholtz-Sloan J.S. Methylation markers of malignant potential in meningiomas. *J Neurosurg.* 2013; 119(4): 899–906. doi: 10.3171/2013.7.JNS13311.
104. Olar A., Wani K.M., Wilson C.D., Zadeh G., DeMonte F., Jones D.T., Pfister S.M., Sulman E.P., Aldape K.D. Global epigenetic profiling identifies methylation subgroups associated with recurrence-free survival in meningioma. *Acta Neuropathol.* 2017; 133(3): 431–44. doi: 10.1007/s00401-017-1678-x.

Поступила/Received 29.06.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 07.02.2022

Принята к публикации/Accepted 25.02.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Куканов Константин Константинович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник НИЛ нейроонкологии, «Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-1123-8271.

Воробьева Ольга Михайловна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИЛ патоморфологии нервной системы, «Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-1349-7349.

Забродская Юлия Михайловна, доктор медицинских наук, заведующая НИЛ патоморфологии нервной системы, «Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6206-2133.

Потёмкина Елена Геннадьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, врач-рентгенолог отделения лучевой диагностики, «Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-0449-9163.

Ушанов Всеслав Всеволодович, клинический ординатор кафедры нейрохирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-4091-7396.

Тастанбеков Малик Маратович, доктор медицинских наук, руководитель отделения нейрохирургии № 6, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-3675-9302.

Иванова Наталия Евгеньевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая научным отделом, «Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-2790-0191.

ВКЛАД АВТОРОВ

Куканов Константин Константинович: разработка концепции научной статьи, обзор литературы, составление черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Воробьева Ольга Михайловна: разработка концепции научной статьи, обзор литературы, составление черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Забродская Юлия Михайловна: разработка концепции научной статьи, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Потёмкина Елена Геннадьевна: обзор литературы, составление черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Ушанов Всеслав Всеволодович: обзор литературы, составление черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Тастанбеков Малик Маратович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Иванова Наталия Евгеньевна: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Konstantin K. Kukanov, MD, PhD, Researcher, Research Laboratory of Neurooncology, Russian Research Neurosurgical Institute named after Professor A.L. Polenov – a branch of National Medical Research Center named after V.A. Almazov, Ministry of Health of the Russia (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-1123-8271.

Olga M. Vorobyova, MD, PhD, Senior Researcher, Research Laboratory of Pathomorphology of the Nervous System, Russian Research Neurosurgical Institute named after Professor A.L. Polenov – a branch of National Medical Research Center named after V.A. Almazov, Ministry of Health of the Russia (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-1349-7349.

Yulia M. Zabrodskaia, MD, DSc, Head of the Research Laboratory of Pathomorphology of the Nervous System, Russian Research Neurosurgical Institute named after Professor A.L. Polenov – a branch of National Medical Research Center named after V.A. Almazov, Ministry of Health of the Russia (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6206-2133.

Elena G. Potemkina, MD, DSc, Senior Researcher, Radiologist, Department of Radiation Diagnostics, Russian Research Neurosurgical Institute named after Professor A.L. Polenov – a branch of National Medical Research Center named after V.A. Almazov of the Ministry of Health of the Russia (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-0449-9163.

Vseslav V. Ushanov, Clinical Resident of the Department of Neurosurgery, National Medical Research Center named after V.A. Almazov, Ministry of Health of the Russian Federation (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-4091-7396.

Malik M. Tastanbekov, MD, DSc, Head of the Department of Neurosurgery № 6, National Medical Research Center named after V.A. Almazov of the Ministry of Health of the Russia (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-3675-9302.

Natalia E. Ivanova, MD, Professor, Head of the Scientific Department, Russian Research Neurosurgical Institute named after Professor A.L. Polenov – a branch of National Medical Research Center named after V.A. Almazov of the Ministry of Health of the Russia (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-2790-0191.

AUTHOR CONTRIBUTION

Konstantin K. Kukanov: study conception and design, review of literature, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Olga M. Vorobyeva: study conception and design, review of literature, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Yulia M. Zabrodsкая: study conception, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Elena G. Potemkina: review of literature, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Vseslav V. Ushanov: review of literature, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Malik M. Tastanbekov: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Natalia E. Ivanova: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Федоров А.А., Ермак Н.А., Геращенко Т.С., Топольницкий Е.Б., Шефер Н.А., Родионов Е.О., Стахеева М.Н. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 124–136. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136

For citation: Fedorov A.A., Ermak N. A., Gerashchenko T.S., Topolnitskiy E.B., Shefer N.A., Rodionov E.O., Stakheyeva M.N. Polarization of macrophages: mechanisms, markers and factors of induction. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 124–136. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136

ПОЛЯРИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ: МЕХАНИЗМЫ, МАРКЕРЫ И ФАКТОРЫ ИНДУКЦИИ

А.А. Федоров¹, Н.А. Ермак², Т.С. Геращенко¹, Е.Б. Топольницкий^{2,4},
Н.А. Шефер³, Е.О. Родионов^{1,2}, М.Н. Стахеева¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: anton.fedorov.2014@mail.ru¹
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия²
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²
ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия³
Россия, 634009, г. Томск, пр. Ленина, 115³
ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница», г. Томск, Россия⁴
Россия, 634063, г. Томск, ул. Ивана Черных, 96⁴

Аннотация

Макрофаги являются ключевыми компонентами врожденной иммунной системы. Вариативность участия макрофагов в различных патологических процессах, определяемая их функциональной поляризацией, открывает широкую перспективу для модуляции их функционального профиля для использования в терапевтических целях. **Цель исследования** – предоставить современные данные о процессе поляризации макрофагов, механизмах его регуляции, маркерах поляризации и факторах индукции. **Материал и методы.** Проведен поиск доступных литературных источников, опубликованных в базах данных Web of Science, Scopus и др. Найдено более 160 источников, посвященных изучению процесса поляризации макрофагов, из которых 121 включен в данный обзор. **Результаты.** В обзоре представлены данные о молекулярных механизмах и генных сигнатурах, ассоциированных с M1- и M2-поляризацией макрофагов, информация о метаболических, фенотипических признаках и цитокиновом профиле M1- и M2-макрофагов, а также освещены данные о факторах поляризации и мишенях их воздействия. **Заключение.** Представленные в обзоре сведения могут послужить информационной базой для разработки экспериментальных и клинических подходов для редактирования функционального профиля макрофагов с целью управления патологическими процессами с их участием.

Ключевые слова: макрофаги, пластичность, факторы поляризация.

POLARIZATION OF MACROPHAGES: MECHANISMS, MARKERS AND FACTORS OF INDUCTION

A.A. Fedorov¹, N.A. Ermak², T.S. Gerashchenko¹, E.B. Topolnitskiy^{2,4},
N.A. Shefer³, E.O. Rodionov^{1,2}, M.N. Stakheyeva¹

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

5, Kooperativny St., 634050, Tomsk, Russia. E-mail: anton.fedorov.2014@mail.ru¹

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

2, Moskovsky Trakt, Tomsk, 634050, Russia²

Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia³

115, Lenina Ave., 634009, Tomsk, Russia³

Tomsk Regional Clinical Hospital, Tomsk, Russia⁴

96, Ivana Chernykh St., 63406, Tomsk, Russia⁴

Abstract

Macrophages are key components of the innate immune system. The variability of the macrophage's participation in tumor progression, determined by their functional polarization, opens up a wide prospect for modulating their functional profile, primarily in the direction of increasing antitumor activity. **The purpose of the study** was to provide up-to-date data on the process of macrophage polarization, mechanisms of its regulation, polarization markers and induction factors. **Material and Methods.** A search was made for available literature sources published in Web of Science, Scopus and other databases. More than 160 sources devoted to the study of the process of macrophage polarization were found, of which 121 were included in this review. **Results.** This review presents data on the molecular mechanisms and gene signatures associated with M1 and M2 polarization of macrophages. We displayed information on metabolic, phenotypic characteristics and cytokine profile of M1- and M2-macrophages, as well as highlighted data on polarization factors and targets of their action. **Conclusion.** The information presented in the review can serve as an information base for the development of experimental and clinical approaches for editing the functional profile of macrophages in order to control their involvement in various pathological processes.

Key words: macrophages, plasticity, polarization factors.

Макрофаги являются ключевыми компонентами врожденной иммунной системы [1, 2]. Многообразие функций и вовлечение в разнообразные физиологические и патологические реакции организма, в т. ч. в воспаление и злокачественный рост, обусловлены таким свойством клеток моноцитарно-макрофагального звена, как пластичность. Пластичность макрофагов – способность клеток изменять свой фенотип и функциональную активность под влиянием различных факторов внутренней и внешней среды, в частности микроокружения. Пластичность макрофагов проявляется в процессе поляризации – обретения определенного функционального статуса [3]. Изучение роли макрофагов в феномене воспаления позволило открыть два функционально противоположных состояния данной клеточной популяции – M1- и M2-поляризованные макрофаги, реализующих оппозитные активности цитотоксичности и регенерации.

Подобная функциональная амбивалентность присуща макрофагам и при вовлечении в патогенез злокачественного роста. Провоспалительные M1-макрофаги способны выступать как эффекторы противоопухолевой защиты [4], в то время как

M2-популяция содействует развитию опухоли как в первичных, так и в метастатических очагах благодаря своему вкладу в разрушение базальной мембраны, индукции ангиогенеза, рекрутированию лейкоцитов и общей иммуносупрессии [4]. По литературным данным, в опухолевой ткани M2-макрофаги преобладают над M1-популяцией, при этом инфильтрация опухоли M2-макрофагами связана с худшими показателями выживаемости у пациентов со злокачественными новообразованиями различных локализаций [5–10]. Выявление признаков, факторов и условий поляризации, а также механизмов, опосредующих данный феномен, позволит определить пути направленной модуляции функциональным статусом макрофагов с целью управления их участием в патологических процессах.

Молекулярные механизмы M1-и M2-поляризации макрофагов

В основе поляризации лежит каскад молекулярных событий, начинающихся со связывания индуктора с соответствующим рецептором, с последующим внутриклеточным преобразованием сигнала через активацию молекулярных

мессенджеров, цитоплазматических и ядерных, индукцией экспрессии генов, перестройкой метаболизма клетки, аранжировкой поверхностных молекул, секрецией цитокинов и, в целом, изменением функционального статуса клетки [11]. Молекулы, вовлеченные в осуществление каждого из перечисленных этапов, являются потенциальными маркерами принадлежности макрофагов к M1- или M2-поляризации.

При воздействии провоспалительных стимулов, например, при взаимодействии интерферона гамма (IFN γ) с соответствующим рецептором IFN- γ R или липополисахарида (ЛПС) с TLR4, в макрофагах активируются IRF/STAT-канонические пути передачи сигналов. Данный каскад вовлекает следующие факторы транскрипции: NF- κ B, STAT1, STAT3, AP-1, SREBP-1 и HIF1 α , AP-1, PU.1, CCAAT/энхансер-связывающий белок- α (C/EBP- α), а также регуляторный фактор интерферона 5 (IRF5) [12], что приводит к M1-поляризации. Активация данных транскрипционных факторов запускает экспрессию таких функциональных молекул, как iNOS, COX-2, CD80, CD86 и MHC-II, и секрецию воспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-12 и IL-23 [13–15].

Взаимодействие IL-4 и IL-13 с рецепторами IL-4/IL-13 активирует транскрипционный фактор STAT6, который, в свою очередь, запускает транскрипцию генов, типичных для поляризации M2, например, рецептора маннозы (Mrc), резистин-подобного белка α и хитины типа 3 (CHI3L3). Интересно, что STAT6 координирует и взаимодействует как с PPAR γ , так и с Крюппел-подобным фактором 4 (KLF4), членом семейства белков, которые вносят вклад в функциональную активность макрофагов. KLF4 взаимодействует со STAT6, индуцирует гены M2 (Arg-1, Mrc1, Fizz1, PPAR γ) и ингибирует гены M1 (TNF α , Cox-2, CCL5, iNOS) через секвестрацию коактиваторов, необходимых для активации NF- κ B. Ядерные рецепторы PPAR γ и PPAR δ контролируют подмножества генов, ассоциированных с активацией M2-макрофагов и с окислительным метаболизмом. KLF2 регулирует активацию макрофагов путем ингибирования активности NF- κ B/HIF-1 α . IL-4 также индуцирует активность с-Myc в макрофагах человека, которая контролирует гены активации M2 (Scarb1, Alox15 и Mrc1), а также активацию STAT6 и PPAR γ [14, 16–18]. IL-10 активирует STAT3-опосредованную экспрессию генов (IL-10, TGFB1, Mrc1), связанных с M2-подобным фенотипом [19]. STAT-опосредованная активация макрофагов регулируется членами семейства SOCS. IL-4 и IFN- γ (последний в сочетании со стимуляцией TLR) активируют SOCS1 и SOCS3, которые, в свою очередь, оказывают ингибирующее действие на STAT1 и STAT3 соответственно [19, 20]. Ядерный фактор NF- κ B играет важную и амбивалентную роль в M1/M2-поляризации. Несмотря на то, что его активация при взаимодей-

ствии соответствующего лиганда с TLR приводит к продукции медиаторов воспаления, связанных с M1-макрофагами, этот же фактор активирует генетическую программу, необходимую для разрешения воспаления и поляризации M2-OAM [21, 22]. Более того, индукция гомодимеров p50 NF- κ B необходима для поляризации M2 *in vitro* и *in vivo* [23].

Генные сигнатуры, ассоциированные с M1- и M2-поляризацией макрофагов

P. Italiani et al. [24] разработана модель *in vitro*, которая дала понимание процессов регуляции функциональной дифференцировки и поляризации моноцитов/макрофагов. В данной модели моноциты периферической крови человека подвергались последовательным изменениям в условиях микроокружения. С помощью транскриптомного анализа микрочипов были идентифицированы кластеры генов, которые имели отличия в экспрессии при разных фазах воспаления. При M1-поляризации, характерной для острой фазы воспаления, активировались следующие гены: *IL12B*, *PTX3*, *CCL4*, *IL1RN*, *TNF*, *IL6*, *CCL20*, *IL1A*, *ICAM1*, *NFKB1*, *TRAF1*, *SERPINB9*, *IL1F9*, *MAFF*, *CXCL1*, *DRAM*, *TNIP3*, *CCL2*, *SLAMF7*, *CCR7*, *TNFAIP6*, тогда как гены *P2RY5*, *FGL2*, *CD1D* ингибировались. При M2-поляризации, отмечаемой в фазу разрешения воспаления, отмечена активация генов *TREM2*, *A2M*, *NUPR1*, *CIQA*, *MS4A4A*, *APOE*, *APOC1*, *ADORA3*, *ADAMDEC1*, *CD59*, *TFPI*, *CCL3*, в то время как гены *FCER1A*, *LGALS2*, *PF4*, *CD69*, *CD93*, *NR4A2*, *VCAN*, *CD62L*, *ICAM3*, *NLRP3*, *ERG1* были ингибированы [24]. В экспериментальном исследовании G. Raes et al. (2002) выявлена связь M2-поляризации макрофагов с повышенной экспрессией генов *Arg1*, *Mrc1*, резистиноподобная молекула α (*FIZZ1*) и *Ym1* [25].

Метаболические признаки M1/M2-макрофагов

В зависимости от типа поляризации макрофаги проявляют различную метаболическую активность. Активация сигнальных путей, связанных с M1-поляризацией, вызывает метаболическое перепрограммирование клеток в сторону гликолиза, пентозофосфатного пути и синтеза жирных кислот.

Главной особенностью провоспалительных макрофагов является индукция гликолиза за счет повышенной регуляции транспортера глюкозы (GLUT1), который опосредует поглощение глюкозы [26]. Сверхэкспрессия GLUT1, члена семейства GLUT, в макрофагах связана с повышенным гликолизом и промежуточными продуктами пентозофосфатного пути, которые индуцируют продукцию активных форм кислорода (АФК) и экспрессию провоспалительных медиаторов, таких как TNF α и IL-6 [27]. GLUT в макрофагах контролируется

HIF1 α , который регулирует экспрессию генов, кодирующих гликолитические ферменты, а также медиаторы воспаления [28].

Показано, что гликолитический фермент пируваткиназа M2 (PKM2) индуцирует экспрессию IL-1 β за счет активности HIF1 α [29]. Гликолиз, опосредованный PKM2, способствует активации воспаления путем модуляции фосфорилирования за счет эукариотического фактора инициации трансляции 2 альфа-киназы 2 (EIF2AK2) в макрофагах [30]. Активация гликолиза в M1 макрофагах не только вырабатывает АТФ, но также поддерживает пентозофосфатный путь (PPP). PPP способствует воспалительным реакциям макрофагов, генерируя аминокислоты для синтеза белка, рибозу для нуклеотидов и NADPH для производства АФК с помощью NADPH-оксидазы [31]. Укороченный цикл трикарбоновых кислот рассматривается как метаболическая особенность макрофагов M1, приводящая к накоплению цитрата и сукцината [32]. Повышенный синтез ацетилкоэнзима А (ацетил-КоА) из цитрата удовлетворяет биосинтетические потребности воспалительных макрофагов, включая синтез жирных кислот, липидов и простагландинов [33]. Сукцинат связан с провоспалительной функцией макрофагов M1 [34]. Индуцированный LPS сукцинат в макрофагах усиливал продукцию IL-1 β за счет стабилизации HIF-1 α [35]. Сукцинат может косвенно стабилизировать HIF-1 α посредством индукции АФК [34].

Метаболизм M2-поляризованных макрофагов характеризуется усиленным процессом окислительного фосфорилирования (OXPHOS), окислением жирных кислот, глутаминолизом, катаболизмом триптофана с высвобождением кинуренина и синтезом полиаминов. Цикл трикарбоновых кислот в M2-макрофагах интактен и обеспечивает поставку субстратов для дыхательной цепи переноса электронов [28]. Повышенное потребление M2 макрофагами глутаминотрансферазы отражает относительно высокие уровни экспрессии как переносчиков глутаминотрансферазы, так и метаболических ферментов, что наблюдается (*in vitro* и *in vivo*) на моделях опухолей мышей и первичных опухоль-ассоциированных макрофагов человека [36, 37]. Сообщается, что в *in vitro* моделях глутамат-аммиачная лигаза (GLUL) поддерживает поляризацию M2, катализируя превращение глутамата в глутамин [38]. Таким образом, ингибирование GLUL способствует реполяризации M2-подобных макрофагов в M1-подобные, что сопровождается повышением гликолиза и образованием сукцината [38]. Данный факт указывает на существование метаболического взаимодействия между метаболизмом глюкозы и глутаминотрансферазы в регуляции функций макрофагов. Окисление жирных кислот является ключевым метаболическим процессом M2-макрофагов. Ингибирование окисления жирных кислот обработкой этимоксином подавляло активацию пирин-

связывающего домена-3 (NLRP3) и последующую секрецию IL-1 β и IL-18 в макрофагах человека и мыши [39]. Показано, что окисление жирных кислот необходимо для индуцированной пальмитатом активации воспаления NLRP3, который включает митохондриальные АФК [40].

В ряде исследований было показано, что активированные макрофаги в высокой степени экспрессируют рецептор фолиевой кислоты (FR- β) [41, 42], особенно активированные M2-макрофаги [43], тогда как в покоящихся макрофагах экспрессия FR- β отсутствует или наблюдается в меньшей степени. R. Samaniego et al. показали, что продукция переносчиков фолиевой кислоты различается между подтипами макрофагов. M1-макрофаги демонстрируют более высокую экспрессию RFC, тогда как FR β и PCFT преимущественно вырабатываются противовоспалительными макрофагами M2 [44]. Данный факт объясняет более высокое накопление 5-MTHF – основной формы фолиевой кислоты, обнаруженной в сыворотке – в M2-макрофагах *in vitro* и *in vivo*.

Фенотипические признаки M1- и M2-макрофагов

Поляризация макрофагов сопровождается экспрессией маркерных молекул, позволяющих классифицировать клеточные популяции по типу поляризации. Большинство маркерных молекул связано с реализуемой функцией, характерной для типа поляризации клетки.

CD68 и CD11b являются общими маркерами макрофагов [45, 46]. CD68 рассматривается как член семейства скавенджер-рецепторов, он значительно повышен в макрофагах, отвечающих на воспалительные стимулы. CD68 способен связывать модифицированные ЛПНП, фосфатидилсерин и апоптотические клетки, а также может быстро перемещаться между плазматической мембраной и эндосомами [46]. CD11b регулирует клеточную адгезию и миграцию лейкоцитов, хотя миграция может происходить только в присутствии субъединицы CD18. Помимо участия в различных реакциях адгезии, CD11b является рецептором комплемента C3bi, который опосредует поглощение чужеродных частиц [47].

К специфичным маркерам M1-макрофагов относят рецептор HLA-DR [48] и индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS) при воспалительных процессах [49], а также молекулы CD80, CD86, CD64, CD16, CD32, YKL-40 (CHI3L1) [50, 51]. Данные маркеры выполняют различные функции. HLA-DR играет роль в представлении пептидов, полученных из внеклеточных белков, Т-клеткам [52]. iNOS является ферментом, участвующим в продукции важного провоспалительного цитотоксического агента оксида азота (NO), который защищает хозяина от различных патогенов путем инактивации и уничтожения инфекционных

агентов [53]. CD80 и CD86 располагаются на поверхности антигенпрезентирующих клеток и отвечают за передачу сигналов Т-клеткам, когда они взаимодействуют со своими лигандами CD152 и CD28 [54]. FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16) являются рецепторами Fc-γ (FcγR), которые опосредуют фагоцитоз, высвобождение медиаторов воспаления и стимуляцию иммунного ответа в макрофагах [55]. YKL-40 (CHI3L1) – белок, относящийся к семейству хитиназоподобных, усиливает ангиогенез, индуцируется интерфероном γ [56, 57].

CD163 и CD206 являются основными маркерами для идентификации макрофагов M2 [58–60]. CD163 относится к членам семейства скавенджер-рецепторов, богатых цистеином (SRCR), для комплексов гаптоглобин-гемоглобин [61]. Но совсем недавно было показано, что CD163 является маркером M2-макрофагов только в сочетании с фактором транскрипции CMAF, таким образом, CD163 не может считаться маркером M2 при использовании в качестве уникального маркера [62]. CD206, или рецептор маннозы (MRC1), участвует в эндоцитозе, фагоцитозе и иммунном гомеостазе, способствуя удалению чужеродных гликопротеинов из организма [63]. Недавние исследования показали, что высокая экспрессия скавенджер-рецептора класса А (CD204) наблюдается на M2-подобных макрофагах. CD204 специфически экспрессируется на макрофагах и действует как паттерн-распознающий рецептор, способный связываться с большим количеством лигандов [64].

К маркерам M2-макрофагов также относят белки: MMP-9, SIGLEC1, Stabilin-1, YKL-39, ZEB1. MARCO является скавенджер-рецептором с коллагеновой структурой, который опосредует опсонин-независимый фагоцитоз [65]. Матриксная металлопротеиназа-9 (MMP-9) играет важную роль в функционировании иммунных клеток, является основным MMP, продуцируемым макрофагами человека. Делеция гена MMP-9 способствует привлечению эозинофилов и клеток Th2 в легкие во время воздействия аллергена [66]. SIGLEC1, (CD169) или связывающий сиаловую кислоту иммуноглобулиноподобный лектин 1, был описан как маркер субпопуляции макрофагов, выделенной из костного мозга, лимфатических узлов, печени и селезенки. Эти клетки обладали способностью связывать эритроциты. Молекула CD169 сильно экспрессируется макрофагами, обнаруженными в подкапсульном синусе и мозговом веществе (М) лимфатических узлов и маргинальной зоне в селезенке [67]. Stabilin-1 (RS1), общий лимфатический эндотелиальный и сосудистый эндотелиальный рецептор-1 (CLEVER-1), действует как внутриклеточный сортирующий рецептор, который направляет хитиназоподобные белки SI-CLP и YKL-39 на секреторный путь [56]. SI-CLP и YKL-39, в свою очередь, регулируют рекрутирование

моноцитов и ангиогенез [56]. Stabilin-1 опосредует внутриклеточную сортировку и транспортировку по секреторному пути хитиназоподобных белков, связанных с воспалением и ремоделированием тканей [68]. ZEB1 – представитель семейства белков цинкового пальца, наиболее известен тем, что управляет эпителиально-мезенхимальным переходом (EMT) в раковых клетках, что способствует прогрессированию опухоли. Ключевым индуктором эпителиально-мезенхимального перехода в раковых клетках является транскрипционный фактор ZEB1, который экспрессируется злокачественными клетками на инвазивном фронте карциномы [69]. ZEB1 наделяет раковые клетки проинвазивным и стволовым фенотипом и определяет худший клинический прогноз при большинстве видов рака [70].

Аргиназа 1 (Arg1) и DECTIN-1 также являются фенотипическими индикаторами для выявления макрофагов M2. Arg1 – метаболический фермент, который катализирует гидролиз L-аргинина до мочевины и орнитина. Активность Arg1 в миелоидных клетках нарушает эффективный иммунитет против внутриклеточных патогенов, таких как *Mycobacterium tuberculosis* и *Toxoplasma gondii*, усугубляет рост опухоли, подавляя функцию Т-клеток, и ограничивает вызванное Т-клетками воспалительное повреждение тканей, подавляя функции эффекторных Т-клеток, способствуя активации регуляторных Т-клеток [71]. DECTIN-1 играет важную роль в противогрибковом врожденном иммунитете. DECTIN-1 экспрессируется на фагоцитах и является специфическим рецептором для β-глюканов [72].

Цитокины как маркеры M1- и M2-макрофагов

Цитокины и хемокины являются сигнальными молекулами, которые так же важны для жизнедеятельности организма, как гормоны и нейромедиаторы. Эти молекулы участвуют в регуляции различных процессов, начиная от местного и системного воспаления и заканчивая клеточной пролиферацией, хемотаксисом и восстановлением тканей. В зависимости от типа активации макрофаги способны продуцировать различного рода сигнальные молекулы [73].

M1-макрофаги продуцируют ряд провоспалительных цитокинов, который включает в себя IL-1β, IL-6, IL-12, IL-18 и IL-23, TNF-α и IFN I типа, а также секретируют следующие хемокины: CXCL1, CXCL3, CXCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL13 и CXCL16; CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL8, CCL15, CCL11, CCL19, CCL20, CX3CL1 [74, 75]. Хемокины, обладающие провоспалительными свойствами, продуцируются клетками в первую очередь для рекрутирования лейкоцитов в место возникновения инфекции или повреждения. Хемокины индуцируют в лейкоци-

тах экспрессию $\beta 2$ -интегрина (LFA-1), который блокирует циркуляцию данных клеток и способствует диапедезу через эндотелий [76].

M2-макрофаги способны к продукции следующих цитокинов и хемокинов: IL-13, CCL1, CCL2, CCL13, CCL14, CCL17, CCL18, CCL22, CCL23, CCL24, CCL26 и IL-1R, IGFR [51]. Помимо вышеперечисленного, M2-макрофаги продуцируют IL-8, хемоаттрактантный белок моноцитов-1 (MCP-1), CXCL-10, воспалительный белок макрофагов (MCP)-1 β и CCL5 для привлечения нейтрофилов, моноцитов и Т-лимфоцитов в противовоспалительном или регуляторном ответе [77]. Противовоспалительные цитокины имеют решающее значение для координации клеточно-опосредованного иммунного ответа и играют важную роль в модуляции иммунной системы. Противовоспалительные цитокины обычно регулируют рост, активацию клеток, ремоделирование матрикса, регенерацию, ангиогенез, дифференцировку и возвращение иммунных клеток к местам инфекции с целью контроля и уничтожения внутриклеточных патогенов, включая вирусы [76].

Факторы поляризации и мишени их воздействия

Факторы поляризации – факторы, приводящие к изменению фенотипа и функциональной активности моноцитов и макрофагов [11]. Изучение данных факторов и их мишеней открывает возможность целенаправленного управления поляризацией макрофагов *in vitro* и *in vivo* и воздействия на воспаление и опухолевую прогрессию.

Факторы дифференцировки M-CSF и GM-CSF, способствующие поляризации макрофагов

Главными цитокинами, регулирующими жизнеспособность, дифференцировку и рекрутирование клеток моноцитарно-макрофагального ряда, являются макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF) и гранулацитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF). M-CSF представляет собой фактор роста, который обнаруживается в нормальных условиях, тогда как GM-CSF присутствует в нормальных условиях лишь в некоторых тканях, не обнаруживается системно за исключением воспаления [78]. M-CSF и GM-CSF активируют клетки посредством различных сигнальных путей. Рецептор M-CSF представляет собой гомодимер, образованный внеклеточным, трансмембранным и внутриклеточным доменом. Взаимодействие M-CSF и рецептора активирует такие пути, как PI3K/Akt и MEK-ERK1/2 и др. [79]. Рецептор GM-CSF представляет собой гетеродимерный рецептор, образованный двумя субъединицами: специфической лиганд-связывающей субъединицей (CSF2R α) и общей субъединицей передачи сигнала (CSF2R β). Взаимодействие

GM-CSF с рецептором активирует путь JAK2/STAT5 [80]. Транскриптомный анализ макрофагов, индуцированных из моноцитов путем M-CSF и GM-CSF, показал четкие различия между данными индукторами. Макрофаги, дифференцированные при использовании GM-CSF, экспрессируют более высокие уровни генов провоспалительных цитокинов, таких как TNF или IL-1 β , в ответ на LPS [81]. В исследовании *in vitro* было показано, что M-CSF индуцирует поляризацию макрофагов в сторону иммуносупрессивного фенотипа, и эти макрофаги экспрессируют высокие уровни противовоспалительного цитокина IL-10 и хемокина CCL2/MCP-1. Обработанные GM-CSF макрофаги были связаны с состоянием активации M1 макрофагов, поскольку вырабатываемые ими цитокины и хемокины относятся к провоспалительным (TNF- α , IL-6, IL-12p70, IL-23, IL-1 β , CCL22, CCL24, CCL5 и CCL1) [82].

Цитокины и хемокины, влияющие на M1-поляризацию макрофагов

Главным цитокином, вызывающим поляризацию макрофагов по M1-типу, является интерферон-гамма (IFN γ). Сигнальный путь был представлен выше. Показано, что IFN- γ совместно с лигандами Toll-подобных рецепторов действует на макрофаги, индуцируя их противоопухолевую активность, а также усиливая продукцию оксида азота (NO) и экспрессию провоспалительных молекул, TNF α и цитокинов семейства IL-12 [83]. Присутствие IL-17 в среде культивируемых моноцитов с целью индукции из них макрофагов увеличивает степень экспрессии генов провоспалительных цитокинов, хемокинов и путей, связанных с трансэндотелиальной миграцией лейкоцитов [84]. IL-32 способствует дифференцировке моноцитов в макрофаги путем активации p38-MAPK и NF- κ B [85]. При транскриптомном анализе показано, что фактор тромбоцитов 4 (PF4), также известный как хемокин CXCL4, секретируемый при остром сосудистом повреждении, способствует обретению макрофагами, дифференцированными с помощью M-CSF, провоспалительного статуса, что проявляется в секреции высоких концентраций цитокинов IL-6 и TNF [86, 87].

Цитокины, влияющие на M2-поляризацию макрофагов

Для поляризации макрофагов в направлении M2-типа центральную роль, как было описано выше, играют IL-4, IL-13, IL-10.

CCL2, также известный как MCP-1, представляет собой классический хемокин, который способствует привлечению моноцитов в ткань. Присутствие CCL-2 во время поляризации приводит к проявлению менее выраженного провоспалительного фенотипа, со сниженным уровнем экспрессии IL-6 [88]. CCL2 также важен в микроокружении опухоли, где в сочетании с

IL-6 способствует увеличению жизнеспособности клеток CD11b⁺ за счет увеличения экспрессии антиапоптотических белков (например, cFLIP, Bcl-2 и Bcl-X) и блокирования расщепления каспазы-8. Эти клетки также проявляют повышенную экспрессию противовоспалительных маркеров, таких как CD206 [89].

CCL8 (MCP2) – хемоаттрактантный белок моноцитов, участвует в иммунном ответе, привлекая моноциты, Т-лимфоциты, естественные клетки-киллеры (NK), базофилы, тучные клетки и эозинофилы. CCL8 высоко экспрессируется во время инволюции молочной железы и усиливает инфильтрацию макрофагов подтипа M2 на второй фазе инволюции [90].

Изолированное применение IL-6 приводит к активации пути STAT3, увеличению экспрессии CD206, CD163 и продукции IL-10 и TGFβ в макрофагах опухолевого микроокружения [91]. Эти данные предполагают, что как CCL2, так и IL-6 индуцируют в макрофагах клеточный фенотип со сниженными воспалительными и повышенными иммуносупрессивными характеристиками, способствующий росту опухоли.

Цитокин IL-34 играет ключевую роль в развитии остеокластов и микроглии в ЦНС и связан с ревматоидным артритом [92]. Моноциты, дифференцированные с помощью IL-34, подобны M-CSF-индуцированным макрофагам, но демонстрируют повышенную фагоцитарную активность и более высокую продукцию IL-10 и CCL-17 после стимуляции. Данные различия объясняются способностью IL-34 связываться с рецепторами, отличными от CSF-1R [93]. Макрофаги, дифференцированные с помощью ИЛ-34, демонстрируют выраженный противовоспалительный, иммуносупрессивный фенотип, который в опухолях связан с более низким уровнем инфильтрации цитотоксическими CD8⁺Т-лимфоцитами [94].

Метаболические факторы

M1-/M2-поляризации

Метаболические факторы, способствующие поляризации M1- макрофагов

Как было показано выше, преобладание гликолиза над процессом митохондриального окислительного фосфорилирования является признаком M1-макрофагов. Главным индуктором гликолиза являются бактериальные агенты, в частности LPS. Активация провоспалительных макрофагов M1 *in vitro* путем воздействия на них LPS усиливает гликолиз и подавляет OXPHOS [95]. Хотя гликолиз менее эффективен для производства АТФ, чем OXPHOS, было высказано предположение, что переключение на процессы гликолиза играет важную роль для быстрой продукции молекул АТФ и образования промежуточных продуктов биосинтеза, необходимых для синтеза воспалительных цитокинов [96].

Метаболические факторы, способствующие дифференцировке M2-макрофагов

Гипоксия является главным индуктором, влияющим на функциональный профиль M2-макрофагов. В условиях гипоксии макрофаги проявляют низкую фагоцитарную способность, повышенную экспрессию CD206, CD40, а также повышенную продукцию VEGF, поддерживающую ангиогенез [97]. Индуцируемые гипоксией факторы HIF-1α и HIF-2α по-разному экспрессируются в M1- и M2-поляризованных макрофагах и регулируют индуцибельные NOS2 (M1) и аргиназу 1 (M2) соответственно [21, 22, 98].

Эпигенетические факторы

Эпигенетический уровень регуляции имеет решающее значение для дифференцировки и функционального перепрограммирования макрофагов [99]. В целом эпигенетические изменения можно разделить на три основные категории: метилирование ДНК; посттрансляционные модификации гистонов; некодирующая РНК [100].

Метилирование ДНК характеризуется переносом метильной группы на цитозинное кольцо ДНК с помощью ДНК-метилтрансфераз (DNMT) с образованием 5-метилцитозина (5mC) [101]. В литературе встречаются данные о специфическом влиянии ДНК-метилтрансфераз на формирование фенотипа макрофагов. Так, нокдаун DNMT3b способствует поляризации макрофагов в сторону M2-фенотипа в клетках RAW264.7 [102]. DNMT1 участвует в поляризации M1 путем подавления гена SOCS1 и последующего увеличения продукции TNF и IL-6 [103]. Сверхэкспрессия DNMT1 способствует индуцированной LPS и IFN-γ активации M1-макрофагов, тогда как ингибирование DNMT1 ослабляет ее [103].

К посттрансляционным модификациям гистонов относятся такие процессы, как ацетилирование и метилирование [104]. Ацетилированию и деацетилированию способствуют гистоновые ацетилтрансферазы (HATs) и гистоновые деацетилазы (HDACs) соответственно. Метилирование и деметилирование гистонов достигается с помощью гистоновых метилтрансфераз (HMT) и гистоновых деметилаз (HDM) соответственно [105]. Одним из типичных ферментов, участвующим в метилировании гистонов, является SMYD3, метилтрансфераза H3K4, которая, как было показано, положительно регулирует поляризацию M2 макрофагов [106]. Уровень экспрессии данного фермента увеличивается в макрофагах, происходящих из моноцитов человека, при воздействии комбинации M-CSF, IL-4 и IL-13 и снижается при стимуляции M1 макрофагов [106]. Другим эпигенетическим ферментом, который регулирует фенотип макрофагов, является Jmjd3, деметилаза H3K27. Jmjd3 также был признан важным регулятором поляризации M2 благодаря индукции Irf4, Arg1, CD206 и других

маркеров M2-макрофагов в костном мозге мышей, стимулированных IL-4 и IL-6 в сочетании с IL-13 [107]. Ацетилирование белка гистона-3 (H3) является важным регулятором фенотипической экспрессии макрофагов [108]. Имеются обширные данные относительно роли гистондеацетилазы-3 (HDAC3). HDAC3 блокирует передачу сигналов NFκB путем деацетилирования субъединицы p65 NFκB и обеспечения ее связи с IκB-α [109]. HDAC3 является ключевым регулятором поляризации M1-макрофагов и препятствует поляризации M2-макрофагов [110].

Накапливающиеся данные подтверждают важную роль нескольких miRs в процессе поляризации макрофагов. В частности, miR-155 и miR-223 участвуют в модуляции состояния активации макрофагов путем воздействия на SOCS1, C/EBP и Pknox1 [111]. Сверхэкспрессия или отсутствие активности miR-155 способствует изменению фенотипа макрофагов к M1 или M2 соответственно, подтверждая, что miR-155 играет центральную роль в регуляции Akt-зависимой поляризации M1/M2-макрофагов. Также показано, что miR-155 подавляет экспрессию IL-13R α1, ингибируя сдвиг поляризации макрофагов в сторону фенотипа M2 [112, 113].

Предшественник miR let-7c, который является членом семейства let-7, экспрессируется на более высоком уровне в M2-макрофагах, чем в M1-макрофагах. Соответственно, активация let-7c в макрофагах снижает фенотип M1 и способствует поляризации M2, направленной на C/EBP-d [114, 115].

miR-146, miR-125b, miR-155 и miR-9 могут ингибировать передачу сигналов TLR4/IL-1R, регулируя IRAK-1, TRAF6, IKKε, p50 NF-κB и TNF-α [114]. Кроме того, miR-17, miR-20a и miR-106a снижают уровень экспрессии сигнального регуляторного белка (SIRPα), важного маркера, связанного с дифференцировкой макрофагов. miR-98 и miR-21 подавляют экспрессию воспалительных генов в моноцитах и макрофагах, контролируя уровень IL-10 [11].

Цитостатики как фактор поляризации макрофагов

Цитостатические химиопрепараты оказывают выраженное воздействие на функциональный

профиль макрофагов. Направленность данного воздействия зависит от используемого средства, его дозы, режима, а также комбинации с другими препаратами. Так, доцетаксел способствовал дифференцировке первичных моноцитов в провоспалительные M1-макрофаги [116]. Моноциты, обработанные доцетакселем, демонстрировали повышенную секрецию IL-8 и IL-1β [116]. Комбинация паклитаксела с низкими дозами циклофосфида приводила к накоплению макрофагов с противоопухолевой активностью [117]. Циклофосфамид в монорежиме увеличивал продукцию провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-12 и снижал продукцию противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF-β в перитонеальных макрофагах мышей *in vivo* [118]. Однако применение комбинации циклофосфида, паклитаксела и доксорубина в экспериментальных моделях рака легких (LLC1s) и метастатического рака молочной железы (MMTV-PyMT) приводило к значительному увеличению количества CD206+опухолеассоциированных макрофагов. После химиотерапии M2-макрофаги накапливались в васкуляризованных областях опухоли, обогащенных хемокином CXCL12, что, в свою очередь, вызывало ревазуляризацию и рецидивирование опухоли [119].

Заключение

Поляризация макрофагов индуцируется разнообразными факторами химического, физического и биологического происхождения и проявляется изменениями на геномном, транскриптомном, эпигеномном, фенотипическом, метаболическом уровнях. Молекулярные маркеры поляризации макрофагов тесно связаны с сигнальными путями, опосредующими данный процесс, и могут быть определены как потенциальные мишени для управления функциональным статусом данной клеточной популяции, а факторы, индуцирующие поляризацию, – как средства достижения нужного состояния. Представленные сведения могут послужить информационной базой для разработки экспериментальных и клинических подходов для редактирования функционального профиля макрофагов с целью управления патологическими процессами, в которых они играют ключевую регуляторную роль.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wynn T.A., Chawla A., Pollard J.W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*. 2013; 496(7446): 445–55. doi: 10.1038/nature12034.
2. Ma W.-T., Gao F., Gu K., Chen D.-K. The Role of Monocytes and Macrophages in Autoimmune Diseases: A Comprehensive Review. *Front Immunol*. 2019; 10(1140). doi: 10.3389/fimmu.2019.01140.
3. Sica A., Erreni M., Allavena P., Porta C. Macrophage polarization in pathology. *Cell Mol Life Sci*. 2015; 72(21): 4111–26. doi: 10.1007/s00018-015-1995-y.
4. Das A., Sinha M., Datta S., Abas M., Chaffee S., Sen C.K., Roy S. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. *Am J Pathol*. 2015; 185(10): 2596–606. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.06.001.
5. Cheng Z., Zhang D., Gong B., Wang P., Liu F. CD163 as a novel target gene of STAT3 is a potential therapeutic target for gastric cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(50): 87244–62. doi: 10.18632/oncotarget.20244.
6. Lan C., Huang X., Lin S., Huang H., Cai Q., Wan T., Lu J., Liu J. Expression of M2-polarized macrophages is associated with poor prognosis for advanced epithelial ovarian cancer. *Tech Cancer Res Treat*. 2013; 12(3): 259–67. doi: 10.7785/tcr.2012.500312.
7. Medrek C., Pontén F., Jirstrom K., Leandersson K. The presence of tumor associated macrophages in tumor stroma as a prognostic marker for breast cancer patients. *BMC cancer*. 2012; 12: 306. doi: 10.1186/1471-2407-12-306.
8. Xu L., Zhu Y., Chen L., An H., Zhang W., Wang G., Lin Z., Xu J. Prognostic value of diametrically polarized tumor-associated macrophages in renal cell carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2014; 21(9): 3142–50. doi: 10.1245/s10434-014-3601-1.
9. Zhang H., Wang X., Shen Z., Xu J., Qin J., Sun Y. Infiltration of diametrically polarized macrophages predicts overall survival of patients with gastric cancer after surgical resection. *Gastric Cancer*. 2015; 18(4): 740–50. doi: 10.1007/s10120-014-0422-7.

10. Zhang W.J., Wang X.H., Gao S.T., Chen C., Xu X.Y., Sun Q., Zhou Z.H., Wu G.Z., Yu Q., Xu G., Yao Y.Z., Guan W.X. Tumor-associated macrophages correlate with phenomenon of epithelial-mesenchymal transition and contribute to poor prognosis in triple-negative breast cancer patients. *J Surg Res.* 2018; 222: 93–101. doi: 10.1016/j.jss.2017.09.035.
11. Wang N., Liang H., Zen K. Molecular mechanisms that influence the macrophage m1-m2 polarization balance. *Front Immunol.* 2014; 5: 614. doi: 10.3389/fimmu.2014.00614.
12. Juhas U., Ryba-Stanislawowska M., Szargiej P., Myśliwska J. Different pathways of macrophage activation and polarization. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej* (Online). 2015; 69: 496–502. doi: 10.5604/17322693.1150133.
13. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3(1): 23–35. doi: 10.1038/nri978.
14. Szanto A., Balint B.L., Nagy Z.S., Barta E., Dezso B., Pap A., Szeles L., Poliska S., Oras M., Evans R.M., Barak Y., Schwabe J., Nagy L. STAT6 transcription factor is a facilitator of the nuclear receptor PPAR γ -regulated gene expression in macrophages and dendritic cells. *Immunity.* 2010; 33(5): 699–712. doi: 10.1016/j.immuni.2010.11.009.
15. Takeda Y., Costa S., Delamarre E., Roncal C., Leite de Oliveira R., Squadrito M.L., Finisguerra V., Deschoemaeker S., Bruyère F., Wenes M., Hamm A., Serneels J., Magat J., Bhattacharyya T., Anisimov A., Jordan B.F., Alitalo K., Maxwell P., Gallez B., Zhuang Z.W., Saito Y., Simons M., De Palma M., Mazzone M. Macrophage skewing by Phd2 haploinsufficiency prevents ischaemia by inducing arteriogenesis. *Nature.* 2011; 479(7371): 122–6. doi: 10.1038/nature10507.
16. Kang K., Reilly S.M., Karabacak V., Gangl M.R., Fitzgerald K., Hatanoto B., Lee C.H. Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPAR δ regulate macrophage polarization and insulin sensitivity. *Cell Metab.* 2008; 7(6): 485–95. doi: 10.1016/j.cmet.2008.04.002.
17. Odegaard J.I., Ricardo-Gonzalez R.R., Goforth M.H., Morel C.R., Subramanian V., Mukundan L., Red Eagle A., Vats D., Brombacher F., Ferrante A.W., Chawla A. Macrophage-specific PPAR γ controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature.* 2007; 447(7148): 1116–20. doi: 10.1038/nature05894.
18. Odegaard J.I., Ricardo-Gonzalez R.R., Red Eagle A., Vats D., Morel C.R., Goforth M.H., Subramanian V., Mukundan L., Ferrante A.W., Chawla A. Alternative M2 activation of Kupffer cells by PPAR δ ameliorates obesity-induced insulin resistance. *Cell Metab.* 2008; 7(6): 496–507. doi: 10.1016/j.cmet.2008.04.003.
19. Mantovani A., Sozzani S., Locati M., Allavena P., Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol.* 2002; 23(11): 549–55. doi: 10.1016/s1471-4906(02)02302-5.
20. Sica A., Bronte V. Altered macrophage differentiation and immune dysfunction in tumor development. *J Clin Invest.* 2007; 117(5): 1155–66. doi: 10.1172/jci31422.
21. Hagemann T., Lawrence T., McNeish I., Charles K.A., Kulbe H., Thompson R.G., Robinson S.C., Balkwill F.R. «Re-educating» tumor-associated macrophages by targeting NF-kappaB. *J Exp Med.* 2008; 205(6): 1261–8. doi: 10.1084/jem.20080108.
22. Lawrence T., Gilroy D.W. Chronic inflammation: a failure of resolution? *Int J Exp Pathol.* 2007; 88(2): 85–94. doi: 10.1111/j.1365-2613.2006.00507.x.
23. Porta C., Rimoldi M., Raes G., Brys L., Ghezzi P., Di Liberto D., Dieli F., Ghisletti S., Natoli G., De Baetselier P., Mantovani A., Sica A. Tolerance and M2 (alternative) macrophage polarization are related processes orchestrated by p50 nuclear factor kappaB. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106(35): 14978–83. doi: 10.1073/pnas.0809784106.
24. Italiani P., Mazza E.M., Lucchesi D., Cifola I., Gemelli C., Grande A., Battaglia C., Biccato S., Boraschi D. Transcriptomic profiling of the development of the inflammatory response in human monocytes in vitro. *PloSone.* 2014; 9(2): e87680. doi: 10.1371/journal.pone.0087680.
25. Raes G., De Baetselier P., Noël W., Beschin A., Brombacher F., Hassanzadeh Gh G. Differential expression of FIZZ1 and Ym1 in alternatively versus classically activated macrophages. *J Leukos Biol.* 2002; 71(4): 597–602.
26. Netea-Maier R.T., Smit J.W.A., Netea M.G. Metabolic changes in tumor cells and tumor-associated macrophages: A mutual relationship. *Cancer Lett.* 2018; 413: 102–9. doi: 10.1016/j.canlet.2017.10.037.
27. Freimerman A.J., Johnson A.R., Sacks G.N., Milner J.J., Kirk E.L., Troester M.A., Macintyre A.N., Goraksha-Hicks P., Rathmell J.C., Makowski L. Metabolic reprogramming of macrophages: glucose transporter 1 (GLUT1)-mediated glucose metabolism drives a proinflammatory phenotype. *J Biol Chem.* 2014; 289(11): 7884–96. doi: 10.1074/jbc.M113.522037.
28. Viola A., Munari F., Sánchez-Rodríguez R., Scolaro T., Castegna A. The Metabolic Signature of Macrophage Responses. *Front Immunol.* 2019; 10: 1462. doi: 10.3389/fimmu.2019.01462.
29. Palsson-McDermott E.M., Curtis A.M., Goel G., Lauterbach M.A., Sheedy F.J., Gleeson L.E., van den Bosch M.W., Quinn S.R., Domingo-Fernandez R., Johnston D.G., Jiang J.K., Israelsen W.J., Keane J., Thomas C., Clish C., Vander Heiden M., Xavier R.J., O'Neill L.A. Pyruvate kinase M2 regulates Hif-1 α activity and IL-1 β induction and is a critical determinant of the warburg effect in LPS-activated macrophages. *Cell Metab.* 2015; 21(1): 65–80. doi: 10.1016/j.cmet.2014.12.005.
30. Xie M., Yu Y., Kang R., Zhu S., Yang L., Zeng L., Sun X., Yang M., Billiar T.R., Wang H., Cao L., Jiang J., Tang D. PKM2-dependent glycolysis promotes NLRP3 and AIM2 inflammasome activation. *Nature Commun.* 2016; 7: 13280. doi: 10.1038/ncomms13280.
31. Nagy C., Haschemi A. Time and Demand are Two Critical Dimensions of Immunometabolism: The Process of Macrophage Activation and the Pentose Phosphate Pathway. *Front Immunol.* 2015; 6: 164. doi: 10.3389/fimmu.2015.00164.
32. Williams N.C., O'Neill L.A.J. A Role for the Krebs Cycle Intermediate Citrate in Metabolic Reprogramming in Innate Immunity and Inflammation. *Front Immunol.* 2018; 9: 141. doi: 10.3389/fimmu.2018.00141.
33. Infantino V., Convertini P., Cucci L., Panaro M.A., Di Noia M.A., Calvello R., Palmieri F., Iacobazzi V. The mitochondrial citrate carrier: a new player in inflammation. *Biochem J.* 2011; 438(3): 433–6. doi: 10.1042/bj20111275.
34. Van den Bossche J., O'Neill L.A., Menon D. Macrophage Immunometabolism: Where Are We (Going)? *Trends Immunol.* 2017; 38(6): 395–406. doi: 10.1016/j.it.2017.03.001.
35. Tannahill G.M., Curtis A.M., Adamik J., Palsson-McDermott E.M., McGettrick A.F., Goel G., Frezza C., Bernard N.J., Kelly B., Foley N.H., Zheng L., Gardet A., Tong Z., Jany S.S., Corr S.C., Haneklaus M., Caffrey B.E., Pierce K., Walmsley S., Beasley F.C., Cummins E., Nizet V., Whyte M., Taylor C.T., Lin H., Masters S.L., Gottlieb E., Kelly V.P., Clish C., Auron P.E., Xavier R.J., O'Neill L.A. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α . *Nature.* 2013; 496(7444): 238–42. doi: 10.1038/nature11986.
36. Choi J., Stradmann-Bellinghausen B., Yakubov E., Savaskan N.E., Régner-Vigouroux A. Glioblastoma cells induce differential glutamatergic gene expressions in human tumor-associated microglia/macrophages and monocyte-derived macrophages. *Cancer Biol Ther.* 2015; 16(8): 1205–13. doi: 10.1080/15384047.2015.1056406.
37. Colegio O.R., Chu N.Q., Szabo A.L., Chu T., Rhebergen A.M., Jaisam V., Cyrus N., Brokowski C.E., Eisenbarth S.C., Phillips G.M., Cline G.W., Phillips A.J., Medzhitov R. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature.* 2014; 513(7519): 559–63. doi: 10.1038/nature13490.
38. Palmieri E.M., Menga A., Martín-Pérez R., Quinto A., Riera-Domingo C., De Tullio G., Hooper D.C., Lamers W.H., Ghesquière B., McVicar D.W., Guarini A., Mazzone M., Castegna A. Pharmacologic or Genetic Targeting of Glutamine Synthetase Skews Macrophages toward an M1-like Phenotype and Inhibits Tumor Metastasis. *Cell Rep.* 2017; 20(7): 1654–66. doi: 10.1016/j.celrep.2017.07.054.
39. Moon J.S., Nakahira K., Chung K.P., DeNicola G.M., Koo M.J., Pabón M.A., Rooney K.T., Yoon J.H., Ryter S.W., Stout-Delgado H., Choi A.M. NOX4-dependent fatty acid oxidation promotes NLRP3 inflammasome activation in macrophages. *Nature Med.* 2016; 22(9): 1002–12. doi: 10.1038/nm.4153.
40. Wen H., Gris D., Lei Y., Jha S., Zhang L., Huang M.T., Brickey W.J., Ting J.P. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nature Immunol.* 2011; 12(5): 408–15. doi: 10.1038/ni.2022.
41. Frigerio B., Bizzoni C., Jansen G., Leamon C.P., Peters G.J., Low P.S., Matherly L.H., Figini M. Folate receptors and transporters: biological role and diagnostic/therapeutic targets in cancer and other diseases. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019; 38(1): 125. doi: 10.1186/s13046-019-1123-1.
42. Shen J., Hu Y., Putt K.S., Singhal S., Han H., Visscher D.W., Murphy L.M., Low P.S. Assessment of folate receptor alpha and beta expression in selection of lung and pancreatic cancer patients for receptor targeted therapies. *Oncotarget.* 2018; 9(4): 4485–95. doi: 10.18632/oncotarget.23321.
43. Puig-Kröger A., Sierra-Filardi E., Domínguez-Soto A., Samaniego R., Corcuera M.T., Gómez-Aguado F., Ratnam M., Sánchez-Mateos P., Corbí A.L. Folate receptor beta is expressed by tumor-associated macrophages and constitutes a marker for M2 anti-inflammatory/regulatory macrophages. *Cancer Res.* 2009; 69(24): 9395–403. doi: 10.1158/0008-5472.can-09-2050.
44. Samaniego R., Palacios B.S., Domínguez-Soto A., Vidal C., Salas A., Matsuyama T., Sánchez-Torres C., de la Torre I., Miranda-Carús M.E., Sánchez-Mateos P., Puig-Kröger A. Macrophage uptake and accumulation of folates are polarization-dependent in vitro and in vivo and are regulated by activin A. *J Leukos Biol.* 2014; 95(5): 797–808. doi: 10.1189/jlb.0613345.
45. Schmid M.C., Khan S.Q., Kaneda M.M., Pathria P., Shepard R., Louis T.L., Anand S., Woo G., Leem C., Faridi M.H., Geraghty T., Rajagopalan A., Gupta S., Ahmed M., Vazquez-Padron R.I., Cheres D.A.,

- Gupta V., Varner J.A. Integrin CD11b activation drives anti-tumor innate immunity. *Nature Commun.* 2018; 9(1): 5379. doi: 10.1038/s41467-018-07387-4.
46. Chistiakov D.A., Killingsworth M.C., Myasoedova V.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. *Lab Invest.* 2017; 97(1): 4–13. doi: 10.1038/abinvest.2016.116.
47. Khan S.Q., Khan I., Gupta V. CD11b Activity Modulates Pathogenesis of Lupus Nephritis. *Front Med.* 2018; 5. doi: 10.3389/fmed.2018.00052.
48. Helm O., Held-Feindt J., Schäfer H., Sebels S. M1 and M2: there is no «good» and «bad»-How macrophages promote malignancy-associated features in tumorigenesis. *Oncoimmunology.* 2014; 3(7): e946818. doi: 10.4161/21624011.2014.946818.
49. Ley K. M1 Means Kill; M2 Means Heal. *J Immunol.* 2017; 199(7): 2191–3. doi: 10.4049/jimmunol.1701135.
50. Mantovani A., Biswas S.K., Galdiero M.R., Sica A., Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol.* 2013; 229(2): 176–85. doi: 10.1002/path.4133.
51. Tarrque A.A., Logan J., Thomas E., Holt P.G., Sly P.D., Fantino E. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *Am J Resp Cell Mol Biol.* 2015; 53(5): 676–88. doi: 10.1165/rcmb.2015-0012OC.
52. Saraiva D.P., Jacinto A., Borralho P., Braga S., Cabral M.G. HLA-DR in Cytotoxic T Lymphocytes Predicts Breast Cancer Patients' Response to Neoadjuvant Chemotherapy. *Front Immunol.* 2018; 9. doi: 10.3389/fimmu.2018.02605.
53. Xue Q., Yan Y., Zhang R., Xiong H. Regulation of iNOS on Immune Cells and Its Role in Diseases. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(12). doi: 10.3390/ijms19123805.
54. Soskic B., Jeffery L.E., Kennedy A., Gardner D.H., Hou T.Z., Halliday N., Williams C., Janman D., Rowshanravan B., Hirschfield G.M., Sansom D.M. CD80 on Human T Cells Is Associated With FoxP3 Expression and Supports Treg Homeostasis. *Front Immunol.* 2021; 11. doi: 10.3389/fimmu.2020.577655.
55. Devaraj S., Chen X., Adams-Huet B., Jialal I. Increased expression of Fc-γ receptors on monocytes in patients with nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(9): E1510-5. doi: 10.1210/jc.2013-2112.
56. Kzhyshkowska J., Mamidi S., Gratchev A., Kremmer E., Schmuttermair C., Krusel L., Haus G., Utikal J., Schledzewski K., Scholtze J., Goerdts S. Novel stabilin-1 interacting chitinase-like protein (SI-CLP) is up-regulated in alternatively activated macrophages and secreted via lysosomal pathway. *Blood.* 2006; 107(8): 3221–8. doi: 10.1182/blood-2005-07-2843.
57. Pouyafar A., Heydarabad M.Z., Mahboob S., Mokhtarzadeh A., Rahbarghazi R. Angiogenic potential of YKL-40 in the dynamics of tumor niche. *Biomed Pharmacother.* 2018; 100: 478–85. doi: 10.1016/j.biopha.2018.02.050.
58. Rebelo S.P., Pinto C., Martins T.R., Harrer N., Estrada M.F., Loza-Alvarez P., Cabçadas J., Alves P.M., Gualda E.J., Sommergruber W., Brito C. 3D-3-culture: A tool to unveil macrophage plasticity in the tumour microenvironment. *Biomaterials.* 2018; 163: 185–97. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.02.030.
59. Tedesco S., Bolego C., Toniolo A., Nassi A., Fadini G.P., Locati M., Cignarella A. Phenotypic activation and pharmacological outcomes of spontaneously differentiated human monocyte-derived macrophages. *Immunobiology.* 2015; 220(5): 545–54. doi: 10.1016/j.imbio.2014.12.008.
60. Wang S., Zhang J., Sui L., Xu H., Piao Q., Liu Y., Qu X., Sun Y., Song L., Li D., Peng L., Hua S., Hu G., Chen J. Antibiotics induce polarization of pleural macrophages to M2-like phenotype in patients with tuberculous pleuritis. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 14982. doi: 10.1038/s41598-017-14808-9.
61. Garton T., Keep R.F., Hua Y., Xi G. CD163, a Hemoglobin/Haptoglobin Scavenger Receptor, After Intracerebral Hemorrhage: Functions in Microglia/Macrophages Versus Neurons. *Transl Stroke Res.* 2017; 8(6): 612–6. doi: 10.1007/s12975-017-0535-5.
62. Barros M.H., Hauck F., Dreyer J.H., Kempkes B., Niedobitek G. Macrophage polarisation: an immunohistochemical approach for identifying M1 and M2 macrophages. *PloSone.* 2013; 8(11): e80908. doi: 10.1371/journal.pone.0080908.
63. Tsuchiya K., Suzuki Y., Yoshimura K., Yasui H., Karayama M., Hozumi H., Furuhashi K., Enomoto N., Fujisawa T., Nakamura Y., Inui N., Yokomura K., Suda T. Author Correction: Macrophage Mannose Receptor CD206 Predicts Prognosis in Community-acquired Pneumonia. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 3324. doi: 10.1038/s41598-020-58958-9.
64. Komohara Y., Jinushi M., Takeya M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors. *Cancer Sci.* 2014; 105(1): 1–8. doi: 10.1111/cas.12314.
65. Jing J., Yang I.V., Hui L., Patel J.A., Evans C.M., Prikeris R., Kobzik L., O'Connor B.P., Schwartz D.A. Role of macrophage receptor with collagenous structure in innate immune tolerance. *J Immunol.* 2013; 190(12): 6367–7. doi: 10.4049/jimmunol.1202942.
66. McMillan S.J., Kearley J., Campbell J.D., Zhu X.W., Larbi K.Y., Shipley J.M., Senior R.M., Nourshargh S., Lloyd C.M. Matrix metalloproteinase-9 deficiency results in enhanced allergen-induced airway inflammation. *J Immunol.* 2004; 172(4): 2586–94. doi: 10.4049/jimmunol.172.4.2586.
67. Chávez-Galán L., Ollerros M.L., Vesin D., Garcia I. Much More than M1 and M2 Macrophages, There are also CD169(+) and TCR(+) Macrophages. *Front Immunol.* 2015; 6: 263. doi: 10.3389/fimmu.2015.00263.
68. Liu T., Larionova I., Litviakov N., Riabov V., Zavyalova M., Tsyganov M., Buldakov M., Song B., Moganti K., Kazantseva P., Slonimskaya E., Kremmer E., Flatley A., Klüter H., Cherdynseva N., Kzhyshkowska J. Tumor-associated macrophages in human breast cancer produce new monocyte attracting and pro-angiogenic factor YKL-39 indicative for increased metastasis after neoadjuvant chemotherapy. *Oncoimmunology.* 2018; 7(6): e1436922. doi: 10.1080/2162402x.2018.1436922.
69. Wellner U., Schubert J., Burk U.C., Schmalhofer O., Zhu F., Sonntag A., Waldvogel B., Vannier C., Darling D., zur Hausen A., Branton V.G., Morton J., Sansom O., Schüler J., Stemmler M.P., Herzberger C., Hopt U., Keck T., Brabletz S., Brabletz T. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs. *Nature Cell Biol.* 2009; 11(12): 1487–95. doi: 10.1038/ncb1998.
70. Hill L., Browne G., Tulchinsky E. ZEB/miR-200 feedback loop: at the crossroads of signal transduction in cancer. *Int J Cancer.* 2013; 132(4): 745–54. doi: 10.1002/ijc.27708.
71. Stoermer K.A., Burrack A., Oko L., Montgomery S.A., Borst L.B., Gill R.G., Morrison T.E. Genetic ablation of arginase 1 in macrophages and neutrophils enhances clearance of an arthritogenic alphavirus. *J Immunol.* 2012; 189(8): 4047–59. doi: 10.4049/jimmunol.1201240.
72. Kalia N., Singh J., Kaur M. The role of dectin-1 in health and disease. *Immunobiology.* 2021; 226(2): 152071. doi: 10.1016/j.imbio.2021.152071.
73. Arango Duque G., Descoteaux A. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol.* 2014; 5: 491. doi: 10.3389/fimmu.2014.00491.
74. Atri C., Guerfali F.Z., Laouini D. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(6). doi: 10.3390/ijms19061801.
75. Zheng X., Turkowski K., Mora J., Brüne B., Seeger W., Weigert A., Savai R. Redirecting tumor-associated macrophages to become tumoricidal effectors as a novel strategy for cancer therapy. *Oncotarget.* 2017; 8(29): 48436–52. doi: 10.18632/oncotarget.17061.
76. Turner M.D., Nedjai B., Hurst T., Pennington D.J. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1843(11): 2563–82. doi: 10.1016/j.bbamer.2014.05.014.
77. Verreck F.A., de Boer T., Langenberg D.M., van der Zanden L., Ottenhoff T.H. Phenotypic and functional profiling of human proinflammatory type-1 and anti-inflammatory type-2 macrophages in response to microbial antigens and IFN-γ and CD40L-mediated costimulation. *J Leukoc Biol.* 2006; 79(2): 285–93. doi: 10.1189/jlb.0105015.
78. Wicks I.P., Roberts A.W. Targeting GM-CSF in inflammatory diseases. *Nature Rev Rheumatol.* 2016; 12(1): 37–48. doi: 10.1038/nrrheum.2015.161.
79. Stanley E.R., Chitu V. CSF-1 receptor signaling in myeloid cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014; 6(6). doi: 10.1101/cshperspect.a021857.
80. Hamilton J.A. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nature Rev Immunol.* 2008; 8(7): 533–44. doi: 10.1038/nri2356.
81. Lacey D.C., Achuthan A., Fleetwood A.J., Dinh H., Roiniotis J., Scholz G.M., Chang M.W., Beckman S.K., Cook A.D., Hamilton J.A. Defining GM-CSF- and macrophage-CSF-dependent macrophage responses by in vitro models. *J Immunol.* 2012; 188(11): 5752–65. doi: 10.4049/jimmunol.1103426.
82. Ushach I., Zlotnik A. Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage. *J Leukoc Biol.* 2016; 100(3): 481–9. doi: https://doi.org/10.1189/jlb.3RU0316-144R.
83. Müller E., Christopoulos P.F., Halder S., Lunde A., Beraki K., Speth M., Øyenebråten I., Corthay A. Toll-Like Receptor Ligands and Interferon-γ Synergize for Induction of Antitumor M1 Macrophages. *Front Immunol.* 2017; 8: 1383. doi: 10.3389/fimmu.2017.01383.
84. Wang C.Q.F., Suárez-Fariñas M., Nograles K.E., Mimoso C.A., Shrom D., Dow E.R., Heffernan M.P., Hoffman R.W., Krueger J.G. IL-17 induces inflammation-associated gene products in blood monocytes, and treatment with ixekizumab reduces their expression in psoriasis patient blood. *J Invest Dermatol.* 2014; 134(12): 2990–3. doi: 10.1038/jid.2014.268.
85. Netea M.G., Lewis E.C., Azam T., Joosten L.A., Jaekal J., Bae S.Y., Dinarello C.A., Kim S.H. Interleukin-32 induces the differentia-

tion of monocytes into macrophage-like cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105(9): 3515–20. doi: 10.1073/pnas.0712381105.

86. Domschke G., Gleissner C.A. CXCL4-induced macrophages in human atherosclerosis. *Cytokine*. 2019; 122: 154141. doi: 10.1016/j.cyt.2017.08.021.

87. Gleissner C.A., Shaked I., Little K.M., Ley K. CXC chemokine ligand 4 induces a unique transcriptome in monocyte-derived macrophages. *J Immunol*. 2010; 184(9): 4810–8. doi: 10.4049/jimmunol.0901368.

88. Sierra-Filardi E., Nieto C., Domínguez-Soto A., Barroso R., Sánchez-Mateos P., Puig-Kroger A., López-Bravo M., Joven J., Ardavin C., Rodríguez-Fernández J.L., Sánchez-Torres C., Mellado M., Corbí A.L. CCL2 shapes macrophage polarization by GM-CSF and M-CSF: identification of CCL2/CCR2-dependent gene expression profile. *J Immunol*. 2014; 192(8): 3858–67. doi: 10.4049/jimmunol.1302821.

89. Roca H., Varsos Z.S., Sud S., Craig M.J., Ying C., Pienta K.J. CCL2 and interleukin-6 promote survival of human CD11b+ peripheral blood mononuclear cells and induce M2-type macrophage polarization. *J Biol Chem*. 2009; 284(49): 34342–54. doi: 10.1074/jbc.M109.042671.

90. Farmaki E., Kaza V., Chatzistamou I., Kiaris H. CCL8 Promotes Postpartum Breast Cancer by Recruiting M2 Macrophages. *iScience*. 2020; 23(6): 101217. doi: 10.1016/j.isci.2020.101217.

91. Fu X.L., Duan W., Su C.Y., Mao F.Y., Lv Y.P., Teng Y.S., Yu P.W., Zhuang Y., Zhao Y.L. Interleukin 6 induces M2 macrophage differentiation by STAT3 activation that correlates with gastric cancer progression. *Cancer Immunol Immunother*. 2017; 66(12): 1597–608. doi: 10.1007/s00262-017-2052-5.

92. Masteller E.L., Wong B.R. Targeting IL-34 in chronic inflammation. *Drug Discovery Today*. 2014; 19(8): 1212–6. doi: 10.1016/j.drudis.2014.05.016.

93. Boulakirba S., Pfeifer A., Mhaidly R., Obba S., Goulard M., Schmitt T., Chaintreuil P., Calleja A., Furstoss N., Orange F., Lacas-Gervais S., Boyer L., Marchetti S., Verhoeven E., Luciano F., Robert G., Auberger P., Jacquet A. IL-34 and CSF-1 display an equivalent macrophage differentiation ability but a different polarization potential. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 256. doi: 10.1038/s41598-017-18433-4.

94. Baghdadi M., Wada H., Nakanishi S., Abe H., Han N., Putra W.E., Endo D., Watarai H., Sakuragi N., Hida Y., Kaga K., Miyagi Y., Yokose T., Takano A., Daigo Y., Seino K.I. Chemotherapy-Induced IL34 Enhances Immunosuppression by Tumor-Associated Macrophages and Mediates Survival of Chemoresistant Lung Cancer Cells. *Cancer Res*. 2016; 76(20): 6030–42. doi: 10.1158/0008-5472.can-16-1170.

95. Oishi Y., Manabe I. Integrated regulation of the cellular metabolism and function of immune cells in adipose tissue. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2016; 43(3): 294–303. doi: 10.1111/1440-1681.12539.

96. O'Neill L.A., Kishton R.J., Rathmell J. A guide to immunometabolism for immunologists. *Nature Rev Immunol*. 2016; 16(9): 553–65. doi: 10.1038/nri.2016.70.

97. Staples K.J., Sotoodehnejadnatahali F., Pearson H., Frankenberg M., Francescut L., Ziegler-Heitbrock L., Burke B. Monocyte-derived macrophages matured under prolonged hypoxia transcriptionally up-regulate HIF-1α mRNA. *Immunobiology*. 2011; 216(7): 832–9. doi: 10.1016/j.imbio.2010.12.005.

98. Bonizzi G., Karin M. The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol*. 2004; 25(6): 280–8. doi: 10.1016/j.it.2004.03.008.

99. Hoeksema M.A., de Winther M.P. Epigenetic Regulation of Monocyte and Macrophage Function. *Antioxid Redox Signal*. 2016; 25(14): 758–74. doi: 10.1089/ars.2016.6695.

100. Davis F.M., Gallagher K.A. Epigenetic Mechanisms in Monocytes/Macrophages Regulate Inflammation in Cardiometabolic and Vascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019; 39(4): 623–34. doi: 10.1161/atvbaha.118.312135.

101. Holliday R., Pugh J.E. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science*. 1975; 187(4173): 226–32.

102. Yang X., Wang X., Liu D., Yu L., Xue B., Shi H. Epigenetic regulation of macrophage polarization by DNA methyltransferase 3b. *Mol Endocrinol*. 2014; 28(4): 565–74. doi: 10.1210/me.2013.1293.

103. Cheng C., Huang C., Ma T.T., Bian E.B., He Y., Zhang L., Li J. SOCS1 hypermethylation mediated by DNMT1 is associated with lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokines in macrophages. *Toxicol Lett*. 2014; 225(3): 488–97. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.12.023.

104. Larionova I., Kazakova E., Patysheva M., Kzhyskowska J. Transcriptional, Epigenetic and Metabolic Programming of Tumor-Associated Macrophages. *Cancers*. 2020; 12(6). doi: 10.3390/cancers12061411.

105. Van den Bossche J., Neele A.E., Hoeksema M.A., de Winther M.P. Macrophage polarization: the epigenetic point of view. *Curr Opin Lipidol*. 2014; 25(5): 367–73. doi: 10.1097/mol.0000000000000109.

106. Kittan N.A., Allen R.M., Dhaliwal A., Cavassani K.A., Schaller M., Gallagher K.A., Carson W.F., Mukherjee S., Grembecka J., Cierpicki T., Jarai G., Westwick J., Kunkel S.L., Hogaboam C.M. Cytokine induced phenotypic and epigenetic signatures are key to establishing specific macrophage phenotypes. *PloSone*. 2013; 8(10): e78045. doi: 10.1371/journal.pone.0078045.

107. Satoh T., Takeuchi O., Vandenbon A., Yasuda K., Tanaka Y., Kumagai Y., Miyake T., Matsushita K., Okazaki T., Saitoh T., Honma K., Matsuyama T., Yui K., Tsujimura T., Standley D.M., Nakanishi K., Nakai K., Akira S. The Jmjd3-Irf4 axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection. *Nat Immunol*. 2010; 11(10): 936–44. doi: 10.1038/ni.1920.

108. Feng D., Sangster-Guity N., Stone R., Korczeniewska J., Mancl M.E., Fitzgerald-Bocarsly P., Barnes B.J. Differential requirement of histone acetylase and deacetylase activities for IRF5-mediated proinflammatory cytokine expression. *J Immunol*. 2010; 185(10): 6003–12. doi: 10.4049/jimmunol.1000482.

109. Leus N.G., Zwinderman M.R., Dekker F.J. Histone deacetylase-3 (HDAC 3) as emerging drug target in NF-κB-mediated inflammation. *Curr Opin Chem Biol*. 2016; 33: 160–8. doi: 10.1016/j.cbpa.2016.06.019.

110. Mullican S.E., Gaddis C.A., Alenghat T., Nair M.G., Giacomini P.R., Everett L.J., Feng D., Steger D.J., Schug J., Artis D., Lazar M.A. Histone deacetylase 3 is an epigenomic brake in macrophage alternative activation. *Genes Dev*. 2011; 25(23): 2480–8. doi: 10.1101/gad.175950.111.

111. Graff J.W., Dickson A.M., Clay G., McCaffrey A.P., Wilson M.E. Identifying functional microRNAs in macrophages with polarized phenotypes. *J Biol Chem*. 2012; 287(26): 21816–25. doi: 10.1074/jbc.M111.327031.

112. Cai X., Yin Y., Li N., Zhu D., Zhang J., Zhang C.-Y., Zen K. Repolarization of tumor-associated macrophages to pro-inflammatory M1 macrophages by microRNA-155. *J Mol Cell Biol*. 2012; 4(5): 341–3. doi: 10.1093/jmcb/mjs044.

113. Martinez-Nunez R.T., Louafi F., Sanchez-Elsner T. The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor alpha1 (IL13Ralpha1). *J Biol Chem*. 2011; 286(3): 1786–94. doi: 10.1074/jbc.M110.169367.

114. Litvak V., Ramsey S.A., Rust A.G., Zak D.E., Kennedy K.A., Lampano A.E., Nykter M., Shmulevich I., Aderem A. Function of C/EBPδ in a regulatory circuit that discriminates between transient and persistent TLR4-induced signals. *Nat Immunol*. 2009; 10(4): 437–43. doi: 10.1038/ni.1721.

115. Lu T., Yang X., Huang Y., Zhao M., Li M., Ma K., Yin J., Zhan C., Wang Q. Trends in the incidence, treatment, and survival of patients with lung cancer in the last four decades. *Cancer Manag Res*. 2019; 11: 943–53. doi: 10.2147/cmcr.s187317.

116. Millrud C.R., Mehmeti M., Leandersson K. Docetaxel promotes the generation of anti-tumorigenic human macrophages. *Exp Cell Res*. 2018; 362(2): 525–31. doi: 10.1016/j.yexcr.2017.12.018.

117. Shree T., Olson O.C., Elie B.T., Kester J.C., Garfall A.L., Simpson K., Bell-McGuinn K.M., Zabor E.C., Brogi E., Joyce J.A. Macrophages and cathepsin proteases blunt chemotherapeutic response in breast cancer. *Genes Dev*. 2011; 25(23): 2465–79. doi: 10.1101/gad.180331.111.

118. Bryniarski K., Szczepanik M., Ptak M., Zemelka M., Ptak W. Influence of cyclophosphamide and its metabolic products on the activity of peritoneal macrophages in mice. *Pharmacol Rep*. 2009; 61(3): 550–7. doi: 10.1016/s1734-1140(09)70098-2.

119. Hughes R., Qian B.Z., Rowan C., Muthana M., Keklikoglou I., Olson O.C., Tazzyman S., Danson S., Addison C., Clemons M., Gonzalez-Angulo A.M., Joyce J.A., De Palma M., Pollard J.W., Lewis C.E. Perivascular M2 Macrophages Stimulate Tumor Relapse after Chemotherapy. *Cancer Res*. 2015; 75(17): 3479–91. doi: 10.1158/0008-5472.can-14-3587.

Поступила/Received 24.02.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 16.05.2022

Принята к публикации/Accepted 10.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Федоров Антон Андреевич, аспирант лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, младший научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: anton.fedorov.2014@mail.ru. SPIN-код: 1315-8100. Researcher ID (WOS): AAG-8911-2020. Author ID (Scopus): 57211136209. ORCID: 0000-0002-5121-2535.

Ермак Никита Андреевич, студент 6-го курса, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). ORCID: 0000-0003-1205-5976.

Герашенко Татьяна Сергеевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7900-9700. Researcher ID (WOS): A-7011-2014. Author ID (Scopus): 55948412900. ORCID: 0000-0002-7283-0092.

Топольницкий Евгений Богданович, доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии с курсом мобилизационной подготовки и медицины катастроф, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий хирургическим торакальным отделением, ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6744-9541. Researcher ID (WOS): T-5818-2018. Author ID (Scopus): 35197267200. ORCID: 0000-0002-5674-0177.

Шефер Николай Анатольевич, кандидат медицинских наук, врач-онколог, ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3662-7399. Author ID (Scopus): 57211683932. ORCID: 0000-0002-0011-8370.

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). SPIN-код: 7650-2129. Researcher ID (WOS): B-7280-2017. Author ID (Scopus): 57189622130. ORCID: 0000-0003-4980-8986.

Стахеева Марина Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7804-0361. Researcher ID (WOS): C-6184-2012. Author ID (Scopus): 6505941716. ORCID: 0000-0003-0601-2240.

ВКЛАД АВТОРОВ

Федоров Антон Андреевич: подбор и анализ литературных источников, составление черновика рукописи, написание итогового варианта рукописи.

Ермак Никита Андреевич: подбор и анализ литературных источников, составление черновика рукописи.

Герашенко Татьяна Сергеевна: редактирование рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Топольницкий Евгений Богданович: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Шефер Николай Анатольевич: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Родионов Евгений Олегович: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Стахеева Марина Николаевна: разработка концепции научной работы, редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Обзор выполнен при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-315-90055.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Anton A. Fedorov, Postgraduate, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Junior Researcher of the Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: anton.fedorov.2014@mail.ru. Researcher ID (WOS): AAG-8911-2020. Author ID (Scopus): 57211136209. ORCID: 0000-0002-5121-2535.

Nikita A. Ermak, 6th year student, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0003-1205-5976.

Tatiana S. Gerashchenko, PhD, Researcher of the Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-7011-2014. Author ID (Scopus): 55948412900. ORCID: 0000-0002-7283-0092.

Evgenii B. Topolnitskii, MD, Professor of the Department of Surgery with a Course of Mobilization Training and Disaster Medicine, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia; Head of the Department Thoracic Surgery, Tomsk Regional Clinical Hospital (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): T-5818-2018. Author ID (Scopus): 35197267200. ORCID: 0000-0002-5674-0177.

Nikolay A. Shefer, MD, PhD, Oncologist of the Surgery Department, Tomsk Regional Oncology Center (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57211683932. ORCID: 0000-0002-0011-8370.

Evgenii O. Rodionov, MD, PhD, Senior Researcher of the Thoracic Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant of the Department of Oncology, 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.

Marina N. Stakheyeva, MD, DSc, Leading Researcher of the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-6184-2012. Author ID (Scopus): 6505941716. ORCID: 0000-0003-0601-2240.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Anton A. Fedorov: data collection and analysis, drafting of the manuscript, writing the final version of the manuscript.

Nikita A. Ermak: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Tatiana S., Gerashchenko: critical revision of manuscript for important intellectual content.

Evgenii B. Topolnitskii: critical revision of manuscript for important intellectual content.

Nikolay A. Shefer: critical revision of manuscript for important intellectual content.

Evgenii O. Rodionov: critical revision of manuscript for important intellectual content.

Marina N. Stakheyeva: study design, data analysis, critical revision of manuscript for important intellectual content.

Funding

The study was funded by RFBR, project number 20-315-90055.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Золотухина Н.С., Гуляева Л.Ф. Прогностическое значение ангиогенных маркеров рака эндометрия (обзор литературы). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 137–146. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-137-146
For citation: Zolotukhina N.S., Gulyaeva L.F. Prognostic value of angiogenic markers of endometrial cancer (literature review). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 137–146. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-137-146

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АНГИОГЕННЫХ МАРКЕРОВ РАКА ЭНДОМЕТРИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Н.С. Золотухина, Л.Ф. Гуляева

Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики – структурное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия
Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12. E-mail: geletin@yandex.ru

Аннотация

Цель исследования – обобщение имеющихся данных о роли ангиогенных маркеров ангиогенеза в развитии, прогрессировании и оценке прогноза рака эндометрия. **Материал и методы.** Проведен поиск по ключевым словам доступных литературных источников, опубликованных в базах данных Pubmed и Elibrary. Использовано 56 источников, содержание которых в наибольшей мере соответствовало цели обзора. **Результаты.** На данный момент существует многообразие различных данных о связях между молекулярными маркерами ангиогенеза в раке эндометрия и прогнозом рака эндометрия. В статье обобщены результаты последних исследований, посвященных изучению ангиогенных маркеров рака эндометрия, а также характеристикам микроциркуляторного русла с акцентом на их прогностическое и диагностическое значение, представлено потенциальное значение использования их в клинической практике. Отдельное внимание уделяется инактивации онкосупрессорного белка PTEN, ингибитора PI3K/Akt/mTOR-сигнального пути, играющего большую роль в патогенезе и прогнозе рака эндометрия. **Заключение.** Многие из маркеров ангиогенеза могут быть использованы при оценке развития и прогноза рака эндометрия. Однако противоречивые результаты исследований в отношении некоторых маркеров требуют дальнейшего изучения, их валидации с последующим внедрением в практику.

Ключевые слова: рак эндометрия, железистая гиперплазия эндометрия, PTEN, патологическая неоваскуляризация, эндотелиальный сосудистый фактор роста.

PROGNOSTIC VALUE OF ANGIOGENIC MARKERS OF ENDOMETRIAL CANCER (LITERATURE REVIEW)

N.S. Zolotukhina, L.F. Gulyaeva

Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia
2/12, Timakova St., 630117, Novosibirsk, Russia. E-mail: geletin@yandex.ru

Abstract

Endometrial cancer is the most common cancer of the female reproductive organs. **The purpose of the study** was to summarize the available data on the role of angiogenic markers in the development, progression and prognosis of endometrial cancer. **Material and Methods.** A literature search was conducted using Medline and Pubmed databases using the key words: “endometrial cancer”, “endometrial hyperplasia” and others. 56 publications were selected to write this review. **Results.** Currently, there is a variety of different data on the relationship between molecular markers of angiogenesis in endometrial cancer and the prognosis of endometrial cancer. The article summarizes the results of the most recent studies devoted to the study of angiogenic markers of endometrial cancer, as well as the characteristics of the microvasculature. We focused on the prognostic and diagnostic values of these morphological and molecular changes. Particular attention was paid to the inactivation of the oncosuppressive protein PTEN, an inhibitor of the PI3K/Akt/mTOR-signaling pathway, which plays an important role in the pathogenesis and prognosis of endometrial cancer.

Conclusion. Many of the markers of angiogenesis can be used to assess the development and prognosis of endometrial cancer. However, conflicting research results with respect to some markers require further study, their validation, and subsequent implementation into practice.

Key words: endometrial cancer, glandular hyperplasia of the endometrium, PTEN, pathological neovascularization, endothelial vascular growth factor.

Рак эндометрия (РЭ) занимает 3-е место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями среди женского населения России, составляя 8,0 %, и 1-е место среди опухолей женских половых органов [1]. Согласно Бохману, рак эндометрия классифицируется по 2-м типам: гормонозависимый рак эндометрия (I типа) и гормоннезависимый (II типа), который встречается гораздо реже [2]. В настоящее время наблюдается большая гетерогенность течения РЭ даже в пределах клинически однородных групп пациенток, что проявляется в различной степени агрессивности опухоли, разном ответе на лечение, прогнозе и частоте метастазирования. Подобное явление связывают с тем, что среди схожих морфологических вариантов РЭ можно выделить несколько молекулярно-биологических субтипов, значительно различающихся по своему патогенезу [2].

В основе патогенеза РЭ лежит онкогенная трансформация клеток, приводящая к малигнизации. Данный процесс зависит от активности как онкосупрессорных, так и онкогенных белков. Найдено большое количество соматических мутаций в генах *PTEN*, *p53*, *K-ras*, *p16*, *BAX*, *β-катенин*, *PIK3CA* и др., которые ассоциированы с клинико-морфологическими параметрами рака эндометрия [3]. Экспрессия многих из этих сигнальных молекул в клетках эндометрия связана с неоангиогенезом. Опухолевый неоангиогенез оказывает существенное влияние на такие значимые биологические характеристики опухоли, как рост, инвазия, миграция опухолевых клеток, метастазирование. Поэтому крайне актуальным является изучение процессов неоангиогенеза в опухоли, а также ассоциированных с ним молекулярно-биологических маркеров.

Влияние ангиогенеза на прогноз опухолевых заболеваний

Ангиогенез представляет собой сложный процесс, в ходе которого образуются новые кровеносные сосуды из эндотелиального предшественника, что является ключевым фактором для опухолевой инвазии, миграции и метастазирования [4]. Экспериментальные данные свидетельствуют, что рост опухоли более 1–2 мм³ невозможен без развития адекватного ангиогенеза [5]. Гипотеза о существенной роли ангиогенеза в росте опухоли была впервые предложена Фолкманом в 1971 г. [6]. Опухолевые клетки для своего роста нуждаются в постоянном питании, поэтому, по Фолкману [6] и Наумову [7], способность опухолей прогрессировать от неангиогенного к ангиогенному фенотипу

является центральной для прогрессирования рака и называется «ангиогенным переключателем» [8]. Этот процесс является предпосылкой для дальнейшего роста опухоли и метастазирования. Опухоли, расположенные в аваскулярных зонах, в основном остаются в состоянии покоя в течение более длительных периодов по сравнению с расположенными в хорошо васкуляризованной области. Первые связаны с поздними симптомами и поздним метастазированием по сравнению с последними [6, 8, 9]. Однако тенденция к «спячке» опухоли связана с многими факторами и не полностью зависит лишь от ангиогенеза [10].

Характерной особенностью сосудов опухоли является их экспансивный рост из-за постоянно повышенного уровня стимуляторов ангиогенеза в микроокружении, что проявляется в их морфологических изменениях и особенностях общей сосудистой архитектоники в опухоли. К морфологическим особенностям опухолевых сосудов относятся измененная форма, дилатация, высокая проницаемость, а также отсутствие четко выраженной принадлежности к известным типам сосудов (венулам, артериолам, капиллярам) [11]. Формирование сосудов в опухоли регулируется комплексом различных факторов, продуцируемых как клетками стромы, так и неопластическими клеточными элементами солидных опухолей [12].

Различные типы формирования опухолевых сосудов рассматриваются как важный фактор для прогноза онкологических заболеваний и чувствительности к противоопухолевой терапии. Выделяют пять типов формирования опухолевых сосудов: почкование, васкулогенез, кооптация, интусуспективный ангиогенез и васкулогенная мимикрия [13]. Тип формирования опухолевых сосудов – это важный фактор, влияющий на их морфологию, участие в опухолевой прогрессии, прогноз заболевания и чувствительность к противоопухолевой и антиангиогенной терапии [14, 15]. Кроме того, при оценке прогностической значимости опухолевых сосудов следует учитывать не только особенности их происхождения, но также степень их зрелости, которая определяется несколькими факторами: пролиферативной активностью эндотелиальных клеток, характером покрытия сосудов перичитами, а также особенностями строения базальной мембраны [13]. Оценка роли разных типов формирования сосудов в аденокарциноме эндометрия и факторов, влияющих на степень зрелости сформированных сосудов, – важная и перспективная область для дальнейших исследований опухолей этой локализации.

при комплексной железистой гиперплазии эндометрия выше по сравнению с простой железистой гиперплазией эндометрия, а при аденокарциноме эндометрия в 2 раза выше, чем в эндометрии с гиперпластическими процессами [17, 18], причем значимый прирост сосудистого русла начинается уже при РЭ I стадии, особенно в участках инвазии в миометрий. Плотность микроциркуляторного русла зависит от степени дифференцировки аденокарциномы эндометрия, и этот показатель выше при опухоли низкой степени дифференцировки [19]. Другие исследования с использованием эндотелиального маркера CD34 демонстрируют отсутствие корреляционной связи между плотностью сосудов микроциркуляторного русла при сравнении нормального эндометрия в фазе секреции, железистой гиперплазии эндометрия и аденокарциномы эндометрия (рис. 2) [20].

О. Abulafia et al. [19] указывают на наличие корреляционной связи между плотностью сосудов микроциркуляторного русла при сравнении эндометрия фазы пролиферации, железистой гиперплазии эндометрия и аденокарциномы эндометрия при определении фактора фон Вилебрандта, при этом связь между степенью васкуляризации и наличием сосудистой инвазии не выявлена.

Обнаружено отсутствие корреляции между клинической или гистологической стадией аденокарциномы эндометрия и значением микрососу-

дистой плотности, измеренной с использованием антител к CD34 и к CD105 [17]. В то же время показатель микрососудистой плотности, измеренный с помощью этих маркеров, коррелировал с менопаузальным статусом пациенток. Также были обнаружены значимые различия между значением микрососудистой плотности, измеренной с помощью антител к маркеру CD105 в группах женщин с доброкачественными и злокачественными состояниями эндометрия.

Исследование маркера CD105, который экспрессируется только пролиферирующими эндотелиоцитами, показало, что уровень его экспрессии значительно различается в исследуемых группах (нормальный эндометрий – железистая гиперплазия эндометрия – аденокарцинома эндометрия), что свидетельствует об активации неоангиогенеза при гиперпластических процессах в эндометрии [19]. Также показана корреляционная связь между повышением экспрессии CD105 и риском возникновения инвазии в лимфатические сосуды с последующим метастазированием [21].

Ангиогенные маркеры рака эндометрия и их прогностическое значение

Пролиферация эпителия при гиперпластических процессах в эндометрии приводит к дефициту кислорода и нутриентов. Данный механизм работает в физиологических условиях для обеспечения пита-

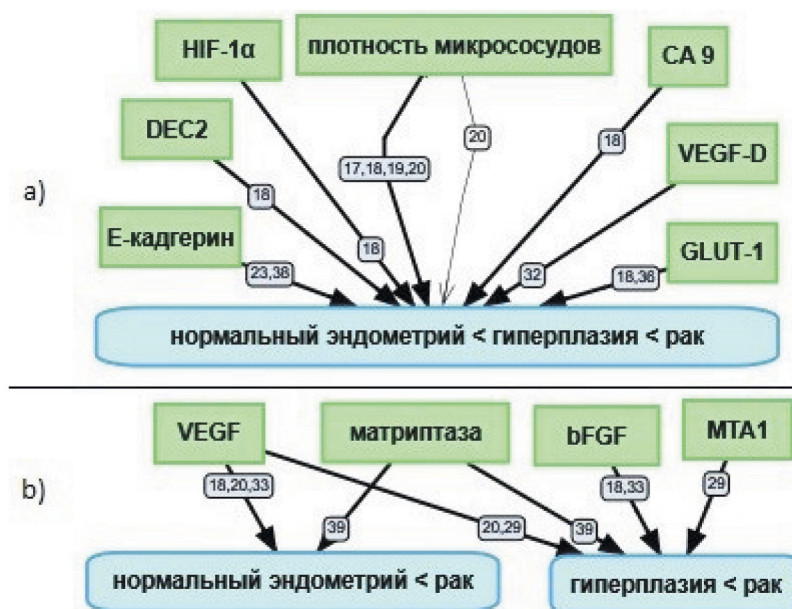


Рис. 2. Корреляционные связи между уровнем экспрессии в образцах эндометрия: 2а) значение перечисленных факторов при раке эндометрия выше, чем при гиперплазии эндометрия, а при гиперплазии выше, чем в нормальном эндометрии; 2б) значение перечисленных факторов при раке эндометрия выше, чем в гиперплазии эндометрия; или значение перечисленных факторов при раке эндометрия выше, чем в нормальном эндометрии. Черными толстыми стрелками обозначены прямые корреляционные связи. Черной тонкой стрелкой обозначено отсутствие корреляционной связи в эксперименте. Номер на стрелке указывает на порядковый номер статьи в списке литературы

Fig. 2. Correlation between expression levels in endometrial samples. 2a) The expression levels in endometrial cancer are higher than those in endometrial hyperplasia, and they are higher in endometrial hyperplasia than in normal endometrium. 2b) The expression levels are higher in endometrial cancer than in endometrial hyperplasia; or the expression levels are higher in endometrial cancer than in normal endometrium. Black thick arrows indicate direct correlations. The black thin arrow indicates the absence of a correlation in the experiment. The number on the arrow indicates the ordinal number of the article in the list of references

ния растущего функционального слоя эндометрия, приобретая особое значение при канцерогенезе [22]. Гипоксия в ткани опухоли через активацию фактора-1 α , индуцируемого гипоксией (HIF-1 α), запускает ангиогенез, инвазию, а также определяет ключевой момент начала метастазирования [23]. Чрезмерная экспрессия HIF-1 α отсутствует в нормальной эндометрии, но появляется при железистой гиперплазии и аденокарциноме эндометрия, при этом наиболее мощно она представлена в опухолевой ткани вокруг очагов некроза, указывая на предшествующую гипоксию [18]. Уровень экспрессии HIF-1 α коррелирует с неблагоприятными прогностическими факторами опухоли – большей глубиной инвазии и низкой степенью дифференцировки [23]. HIF-1 α имеет 5 генов-мишеней: *DEC1*, *DEC2*, *CA 9*, *VEGF* и *SLC2A1* [18, 24].

Считается, что в соответствии с процессом ремоделирования тканей высвобождение VEGF инициируется гипоксией или ишемией. Когда ткань находится в состоянии гипоксии, происходит активация HIF, приводящая к высвобождению различных факторов роста, включая VEGF, что ведет к деградации внеклеточного матрикса с помощью матриксных металлопротеиназ [25].

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) является одним из ангиогенных факторов и служит избирательным митогеном для эндотелиоцитов. Чрезмерная экспрессия VEGF связана с глубокой инвазией аденокарциномы эндометрия в миометрий и меньшей степенью дифференцировки опухоли, а также с плотностью микрососудов в опухоли и гистологическим типом опухоли [26]. Изучение аденокарциномы эндометрия показало, что уровень экспрессии VEGF коррелирует с плотностью микрососудов, определенной методом цветной доплерографии [27]. По данным O. Erdem et al. [20], уровень экспрессии VEGF как в образцах аденокарциномы эндометрия, так и в образцах гиперплазии эндометрия был значимо выше, чем в неизмененном эндометрии, однако без значимой разницы между уровнем экспрессии VEGF при аденокарциноме и при гиперплазии эндометрия. При этом средняя плотность микрососудистого русла, оцененная с помощью эндоглина (входит в рецепторный комплекс TGF β), была повышена для аденокарциномы эндометрия по сравнению с нормальным и с гиперпластическим эндометрием. В то же время уровень экспрессии VEGF в образцах с различным состоянием эндометрия не коррелировал с показателем микрососудистой плотности [20]. Показано, что уровень экспрессии VEGF в области инвазивного фронта опухоли в 4–10 раз превышает его уровень в центре опухоли [28]. Совместное изучение экспрессии VEGF вместе с MTA1 (белком, ассоциированным с метастазами) показало наличие прямой корреляционной связи между этими показателями [29]. Кроме того, уровень экспрессии VEGF и MTA1 в аденокар-

циноме эндометрия был выше, чем в нормальном эндометрии. Уровень экспрессии как VEGF, так и MTA1 коррелировал с клинической стадией, метастазированием в лимфоузлы и глубиной инвазии в миометрий.

Семейство белков VEGF включает в себя подтипы VEGF-A, -B, -C и -D, рецепторами которых являются VEGFR-1, VEGFR-2 и VEGFR-3. Уровень экспрессии различных форм VEGF находится во взаимосвязи со степенью дифференцировки рака эндометрия. Показано, что уровень экспрессии VEGF-A, VEGF-R1 и VEGFR-2 увеличивался по мере уменьшения степени дифференцировки рака эндометрия. Похожая взаимосвязь обнаружена и для VEGF-B в ряду: G2> G3> G1> контрольная группа [30]. Также для больных РЭ с высокими показателями экспрессии VEGF и VEGFR-1 в опухоли показано снижение уровня пятилетней безрецидивной выживаемости по сравнению с пациентками с низким уровнем экспрессии этих маркеров [31]. Уровень экспрессии белков VEGF-D, отвечающих за рост лимфатических сосудов, в опухолевых клетках аденокарциномы эндометрия (в т. ч. и в стромальных) усиливается при прогрессии от нормального эндометрия к инвазивному раку. Уровень экспрессии соответствующих рецепторов к этому белку (VEGFR-3) увеличивается в клетках опухоли и эндотелиальных клетках. Высокие уровни экспрессии VEGF-D и VEGFR-3 положительно коррелируют с инвазией в миометрий и метастазированием в лимфоузлы [32].

Уровень экспрессии белков VEGF и bFGF (основной фактор роста фибробластов) при атипичной гиперплазии и РЭ выше, чем в нормальном эндометрии [18, 33]; также найдена положительная корреляционная связь между уровнем экспрессии bFGF и гистологической стадией РЭ [33].

Уровень экспрессии белка Efr (estrogen-responsive ring finger protein) в аденокарциноме эндометрия превышал таковой в нормальном эндометрии. Найдена отрицательная корреляция между уровнем экспрессии Efr и гистологической стадией опухоли [33].

Уровень экспрессии циклооксигеназы-2 (COX-2), участвующей в синтезе провоспалительных агентов, отмеченной только в клетках паренхимы и отсутствующей в строме, значимо выше при гиперплазии или аденокарциноме эндометрия, чем в любую из фаз нормального менструального цикла. Уровень экспрессии циклооксигеназы-2 коррелирует с площадью микроциркуляторного русла, уровнями экспрессии VEGF и тимидинфосфорилазы [34, 35]. Для экспрессии тимидинфосфорилазы обнаружены корреляционные связи с высокой степенью дифференцировки, поздними стадиями опухоли, глубиной инвазии в миометрий [28].

Экспрессия белка GLUT-1 (глюкозный транспортер первого типа) кодируется геном *SLC2A1*, который, в свою очередь, регулируется через

HIF-1 α . GLUT-1 может быть интересен с точки зрения дифференциальной диагностики состояния эндометрия. Этот транспортный белок отсутствует в эндометрии фазы пролиферации, редко определяется в простой гиперплазии эндометрия и постоянно экспрессируется в атипической гиперплазии и аденокарциноме эндометрия. При этом уровень экспрессии GLUT-1 коррелирует со степенью дифференцировки аденокарциномы эндометрия [36]. Мембранная экспрессия GLUT-1, CA 9 и DEC2 отсутствует в нормальном эндометрии, но повышается по мере прогрессирования патологии в гиперплазии и аденокарциноме эндометрия [18].

Иммуногистохимическое окрашивание CA 9 (карбоангидразы 9 – фермента, регулирующего клеточный pH) в образцах рака эндометрия выявило связь между повышенным уровнем экспрессии этого маркера гипоксии и повышенным уровнем микрососудистой плотности в 16,4 % случаев. При таких вариантах РЭ показано снижение показателей общей и безрецидивной выживаемости [37].

Повышенная экспрессия HIF-1 α приводит к снижению экспрессии Е-кадгерина, участвующего в межклеточных контактах [23]. Экспрессия Е-кадгерина снижается от нормального эндометрия в сторону аденокарциномы эндометрия, снижение его экспрессии достоверно коррелирует с повышением частоты инвазии и метастазирования, особенно при одновременном нарушении работы гена-супрессора *PTEN*, мутация которого часто определяется при злокачественных опухолях эндометрия [23, 38].

Опухолевая прогрессия характеризуется инвазией в лимфатические сосуды и метастазированием. Для реализации данных процессов необходимы вещества, разрушающие внеклеточный матрикс. Одним из таких соединений является матриптаза – трансмембранная сериновая протеаза II типа, связанная с ангиогенезом, деградацией экстрацеллюлярного матрикса и прогрессией аденокарциномы эндометрия. Уровень экспрессии матриптазы в аденокарциноме эндометрия выше по сравнению с железистой гиперплазией эндометрия и нормальным эндометрием [39].

Влияние PI3K/AKT/MTOR-сигнального пути на ангиогенез при раке эндометрия

Известно, что в патогенезе практически всех подтипов рака эндометрия одним из важнейших механизмов является активация PI3K/Akt/mTOR-сигнального пути, компоненты которого могут стать мишенями для таргетной терапии [40]. Этот киназный путь регулирует клеточный рост и метаболизм, а также осуществляет регуляцию апоптоза. Нерегулируемая активация данного сигнального каскада приводит к ингибированию апоптоза, что сопровождается накоплением генетически модифицированных и избыточно пролиферирующих клеток эндометрия. В 1997 г. в локусе 10q23.3

был картирован ген-супрессор опухолей *PTEN* (phosphatase and tensin homolog). Продукт этого гена, белок PTEN, является негативным регулятором PI3K/Akt/mTOR-сигнального пути. Инактивация белка PTEN – одно из самых частых событий в канцерогенезе эндометрия, регистрируемое в 35–50 % случаев рака эндометрия эстрогенового типа и в 10 % случаев рака эндометрия неэстрогенового типа [41]. Недавние исследования показали, что PI3K и Akt играют важную роль в регуляции роста опухоли и ангиогенеза через усиление экспрессии VEGF и HIF-1. В трансформированных клетках человека PI3K регулирует экспрессию этих двух белков через белки HDM2 и p70S6K1 [42].

I.I. Lee et al. показано влияние PI3K/Akt/mTOR-сигнального пути на ангиогенез в клеточной линии Ишикава (клетки аденокарциномы эндометрия) [43]. Комбинированное лечение ингибитором Akt и прогестинном значительно уменьшило инвазию эндотелиальных клеток и образование сосудов по сравнению с изолированным приемом этих препаратов. Кроме того, этими же авторами был проведен эксперимент на мышинной модели рака эндометрия (*PTEN^{td/d}*), у которых нокаутирован ген *PTEN*. У этих мышей развивались карцинома *in situ* в течение 1 мес и карцинома с инвазией миометрия в течение 3 мес. Комбинированное лечение мышей *PTEN^{td/d}* ингибитором Akt и прогестероном показало снижение ангиогенеза и пролиферации, что подтверждено ИГХ-анализом CD31 и Ki67 соответственно. Влияние ингибиторов Akt на активность VEGF также отмечено J. Zhang et al., которые показали, что экспрессия VEGF и bFGF в клетках Ишикава, положительных по эстрогеновому рецептору, и в клетках HEC-1A, отрицательных по эстрогеновому рецептору, блокировалась ингибиторами Akt [44].

Нокаут по гену молекулы адгезии Е-кадгерину у мышей приводит к дезорганизации клеточной структуры эпителия матки и исчезновению эндометриальных желез, но не приводит к возникновению опухоли матки [45]. Мыши, нокаутные по этому гену, становятся стерильными из-за дефектов при имплантации и децидуализации.

Критически важную роль в канцерогенезе эндометрия играет потеря функции PTEN в клетках эндометрия [46]. Нокаут по гену белка-онкосупрессора PTEN у мышей (*Pgr^{Cre/+}*) приводит к гиперплазии эндометрия, возникающей на 10-й день постнатального развития и прогрессирующей до карциномы эндометрия с инвазией в миометрий к 3 мес [47]. В данном исследовании обращает на себя внимание факт отсутствия у экспериментальных животных отдаленных метастазов. Хотя некоторые из опухолей диссеминировали по брюшине, причиной смерти мышей был рост первичной опухоли.

В качестве модели для изучения неопластической трансформации эндометрия M. Lindberg et al.

использовали мышей, нокаутных по гену белка-онкосупрессора PTEN и по гену молекулы адгезии Е-кадгерину одновременно (*Cdh1^{d/d} PTEN^{d/d}*) [38]. Матки у таких мышей на макроуровне имели аномальное строение, с изогнутыми рогами, на микроуровне наблюдались дезорганизация эпителиальной ткани и повышенная клеточная пролиферация в матке. С помощью ИГХ-метода с использованием CD31 у этих мышей обнаружены более крупные кровеносные сосуды в эндометрии и миометрии, что указывает на активный ангиогенез. Кроме того, обнаружено снижение экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, потеря клеточной адгезии, а также активация Akt в матке мышей. Показательно, что мыши данной группы умирали на 15–19-й дни жизни из-за массивной кровопотери. Тем не менее у таких мышей (*Cdh1^{d/d} PTEN^{d/d}*) не было выявлено комплексной гиперплазии эндометрия. В матке у группы мышей *Cdh1^{d/d} PTEN^{d/d}* обнаружено крайне аномальное развитее эпителия с папиллярной дифференцировкой, при этом не было обнаружено комплексной гиперплазии эндометрия. В группе мышей с нокаутом гена *PTEN* (*PTEN^{d/d}*) присутствовала комплексная гиперплазия эндометрия.

Особого внимания в качестве маркера ангиогенеза заслуживают микроРНК, влияющие на PI3K/Akt/mTOR-сигнальный путь. В исследовании Widodo et al. методами *in silico* найдено несколько микроРНК, ассоциированных с начальной стадией рака эндометрия и экспрессией PTEN. Для микроРНК-495 и микроРНК-152 экспериментально доказано снижение их экспрессии в злокачественных клетках эндометрия по сравнению с неизмененным эндометрием, тогда как для микроРНК-181d, напротив, – повышение экспрессии [48]. Обратная корреляция с экспрессией PTEN также показана для микроРНК-181a в образцах рака эндометрия у женщин с индексом массы тела меньше 30 [49]. Ингибирование ангиогенеза в клетках рака эндометрия путем воздействия на ангиогенный фактор VEGF-A через сигнальные

пути MAPK/ERK и PI3K/Akt/mTOR показано также для микроРНК-29b [50].

Изменение клеточного микроокружения и его прогностическое значение при раке эндометрия

Цитологическое исследование (мазок по Папаниколау) при железистой гиперплазии и аденокарциноме эндометрия выявляет пенистые клетки, экспрессирующие на своей поверхности маркеры, позволяющие отнести их к популяции макрофагов [51]. Они определяются в равной степени как при гиперплазии, так и при злокачественных процессах в ткани эндометрия, что не позволяет использовать их для дифференциальной диагностики, а лишь помогает заподозрить неопластический процесс [51, 52], поэтому необходимо оценивать данный параметр комплексно [53, 54].

Гиперэстрогения, сопровождающая гиперпластические процессы в эндометрии, приводит к потере макрофагами способности к фагоцитозу [55]. Потеря рецепторов к прогестерону, увеличение плотности микрососудов в строме аденокарциномы эндометрия и повышение экспрессии VEGF достоверно коррелируют с увеличением количества опухоль-ассоциированных макрофагов [56]. Высокая активность тимидинфосфорилазы в клетках стромы коррелирует с высокой плотностью активированных макрофагов, которые, в свою очередь, ускоряют опухолевый ангиогенез [28].

Заключение

Данные литературы свидетельствуют о том, что изучение маркеров ангиогенеза является важным направлением для оценки прогноза рака эндометрия. Изучение взаимосвязей между разными звеньями процесса ангиогенеза и их значением для прогноза рака эндометрия позволит более четко определять регуляторные механизмы ангиогенеза. Это, в свою очередь, позволит более точно и предсказуемо воздействовать на опухоль с помощью препаратов для антиангиогенной терапии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2017 г. (заболеваемость и смертность). М., 2018. 250 с. [*Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)*. Moscow, 2018. 250 p. (in Russian)].
2. Talhouk A., McAlpine J.N. New classification of endometrial cancers: the development and potential applications of genomic-based classification in research and clinical care. *Gynecol Oncol Res Pract*. 2016; 3: 14. doi: 10.1186/s40661-016-0035-4.
3. Salvesen H.B., Haldorsen I.S., Trovik J. Markers for individualised therapy in endometrial carcinoma. *Lancet Oncol*. 2012; 13(8): 353–61. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70213-9.
4. Papa A., Zaccarelli E., Caruso D., Vici P., Benedetti Panici P., Tomao F. Targeting angiogenesis in endometrial cancer – new agents for tailored treatments. *Expert Opin Investig Drugs*. 2016; 25(1): 31–49. doi: 10.1517/13543784.2016.1116517.
5. Farnsworth R.H., Lackmann M., Achen M.G., Stacker S.A. Vascular remodeling in cancer. *Oncogene*. 2014; 33(27): 3496–505. doi: 10.1038/onc.2013.304.
6. Naumov G.N., Folkman J., Straume O., Akslen L.A. Tumor-vascular interactions and tumor dormancy. *APMIS*. 2008; 116(7–8): 569–85. doi: 10.1111/j.1600-0463.2008.01213.x.
7. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol*. 2002; 29(16): 15–8. doi: 10.1053/sonc.2002.37263.
8. Naumov G.N., Akslen L.A., Folkman J. Role of angiogenesis in human tumor dormancy: animal models of the angiogenic switch. *Cell Cycle*. 2006; 5(16): 1779–87. doi: 10.4161/cc.5.16.3018.
9. Naumov G.N., Folkman J., Straume O. Tumor dormancy due to failure of angiogenesis: role of the microenvironment. *Clin Exp Metastasis*. 2009; 26(1): 51–60. doi: 10.1007/s10585-008-9176-0.
10. Gelao L., Criscitiello C., Fumagalli L., Locatelli M., Manunta S., Esposito A., Minchella I., Goldhirsch A., Curigliano G. Tumour dormancy and clinical implications in breast cancer. *Eur J Cancer*. 2013; 7: 320. doi: 10.3332/ecancer.2013.320.
11. Benjamin L.E., Golijanin D., Itin A., Podes D., Keshet E. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *J Clin Invest*. 1999; 103(2): 159–65. doi: 10.1172/JCI5028.
12. Alcalde R.E., Terakado N., Otsuki K., Matsumura T. Angiogenesis and expression of platelet-derived endothelial cell

growth factor in oral squamous cell carcinoma. *Oncology*. 1997; 54(4): 324–8. doi: 10.1159/000227711.

13. Сеньчукова М.А., Макарова Е.В., Калинин Е.А., Ткачев В.В. Современные представления о происхождении, особенностях морфологии, прогностической и предиктивной значимости опухолевых сосудов. *Российский биотерапевтический журнал*. 2019; 18(1): 6–15. [Senchukova M.A., Makarova E.V., Kalinin E.A., Tkachev V.V. Modern ideas about the origin, features of morphology, prognostic and predictive significance of tumor vessels. *Russian Journal of Biotherapy*. 2019; 18(1): 6–15. (in Russian)]. doi:10.17650/1726-9784-2019-18-1-6-15.

14. Zuazo-Gaztelu I., Casanovas O. Unraveling the Role of Angiogenesis in Cancer Ecosystems. *Front Oncol*. 2018; 8: 248. doi: 10.3389/fonc.2018.00248.

15. Minder P., Zajac E., Quigley J.P., Deryugina E.I. EGFR regulates the development and microarchitecture of intratumoral angiogenic vasculature capable of sustaining cancer cell intravasation. *Neoplasia*. 2015; 17(8): 634–49. doi: 10.1016/j.neo.2015.08.002.

16. Kaku T., Kamura T., Kinukawa N., Kobayashi H., Sakai K., Tsuruchi N., Saito T., Kawauchi S., Tsuneyoshi M., Nakano H. Angiogenesis in endometrial carcinoma. *Cancer*. 1997; 80(4): 741–7. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19970815)80:4<741::aid-cncr13>3.0.co;2-t.

17. Czekierdowski A., Czekierdowska S., Czuba B., Cnota W., Sodowski K., Kotarski J., Zwirska-Korczala K. Microvessel density assessment in benign and malignant endometrial changes. *J Physiol Pharmacol*. 2008; 59(4):45–51.

18. Horrée N., van Diest P.J., van der Groep P., Sie-Go D.M., Heintz A.P. Hypoxia and angiogenesis in endometrioid endometrial carcinogenesis. *Cell Oncol*. 2007; 29(3): 219–27. doi: 10.1155/2007/434731.

19. Abulafia O., Triest W.E., Sherer D.M., Hansen C.C., Ghezzi F. Angiogenesis in endometrial hyperplasia and stage I endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol*. 1995; 86: 479–85. doi: 10.1016/0029-7844(95)00203-4.

20. Erdem O., Erdem M., Erdem A., Memis L., Akyol G. Expression of vascular endothelial growth factor and assessment of microvascular density with CD 34 and endoglin in proliferative endometrium, endometrial hyperplasia, and endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2007; 17(6): 1327–32. doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.00942.x.

21. Saad R.S., Jasnosz K.M., Tung M.Y., Silverman J.F. Endoglin (CD105) expression in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*. 2003; 22(3): 248–53. doi: 10.1097/01.PGP.0000070852.25718.37.

22. Корнева Ю.С., Украинцев Р.В., Доросевич А.Е. Прогностическое значение изменений микроциркуляторного русла и клеточного микроокружения при железистой гиперплазии эндометрия и раке эндометрия (обзор литературы). *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2019; 15(1): 67–72. [Korņeva Yu.S., Ukrainets R.V., Dorosovich A.E. Prognostic value of microcirculatory changes and alterations in the cellular microenvironment in patients with glandular hyperplasia of the endometrium and endometrial cancer (literature review). *Tumors of Female Reproductive System*. 2019; 15(1): 67–72. (in Russian)]. doi: 10.17650/1994-4098-2019-15-1-67-72.

23. Feng Z., Gan H., Cai Z., Li N., Yang Z., Lu G., Chen J. Aberrant expression of hypoxia-inducible factor 1α, TWIST and E-cadherin is associated with aggressive tumor phenotypes in endometrioid endometrial carcinoma. *Jpn J Clin Oncol*. 2013; 43(4): 396–403. doi: 10.1093/jjco/hys237.

24. Yunokawa M., Tanimoto K., Nakamura H., Nagai N., Kudo Y., Kawamoto T., Kato Y., Hiyama E., Hiyama K., Nishiyama M. Differential regulation of DEC2 among hypoxia-inducible genes in endometrial carcinomas. *Oncol Rep*. 2007; 17(4): 871–8.

25. Christoffersson G., Vågesjö E., Vandooren J., Lidén M., Massena S., Reinert R.B., Brissova M., Powers A.C., Opdenaker G., Phillipson M. VEGF-A recruits a proangiogenic MMP-9-delivering neutrophil subset that induces angiogenesis in transplanted hypoxic tissue. *Blood*. 2012; 120(23): 4653–62. doi: 10.1182/blood-2012-04-421040.

26. Topolovec Z., Corusić A., Babić D., Mrcela M., Sijanović S., Müller-Vranjes A., Curzik D. Vascular endothelial growth factor and intratumoral microvessel density as prognostic factors in endometrial cancer. *Coll Antropol*. 2010; 34(2): 447–53.

27. Lee C.N., Cheng W.F., Chen C.A., Chu J.S., Hsieh C.Y., Hsieh F.J. Angiogenesis of endometrial carcinomas assessed by measurement of intratumoral blood flow, microvessel density, and vascular endothelial growth factor levels. *Obstet Gynecol*. 2000; 96(4): 615–21. doi: 10.1016/s0029-7844(00)00976-5.

28. Sivridis E. Angiogenesis and endometrial cancer. *Anticancer Res*. 2001; 21(6B): 4383–8.

29. Yang Y.M., Liu H., Li W.B. [Expression of Mta-1 and VEGF and their correlation in the endometrial cancer]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2010; 26(7): 682–4.

30. Dziobek K., Oplawski M., Grabarek B.O., Zmarzły N., Tomala B., Halski T., Leśniak E., Januszyk K., Brus R., Kielbasinski R., Boroń D. Changes in the Expression Profile of VEGF-A, VEGF-B, VEGFR-1, VEGFR-2 in Different Grades of Endometrial Cancer. *Curr Pharm Biotechnol*. 2019; 20(11): 955–63. doi: 10.2174/1389201020666190717092448.

31. Dobrzycka B., Terlikowski S.J., Kwiatkowski M., Garbowicz M., Kinalski M., Chyczewski L. Prognostic significance of VEGF and its receptors in endometrioid endometrial cancer. *Ginek Pol*. 2010; 81(6): 422–5.

32. Yokoyama Y., Charnock-Jones D.S., Licence D., Yanai-hara A., Hastings J.M., Holland C.M., Emoto M., Sakamoto A., Sakamoto T., Maruyama H., Sato S., Mizunuma H., Smith S.K. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-D and its receptor, VEGF receptor 3, as a prognostic factor in endometrial carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2003; 9(4): 1361–9.

33. Dai H., Zhao S., Xu L., Chen A., Dai S. Expression of Efp, VEGF and bFGF in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue. *Oncol Rep*. 2010; 23(3): 795–9.

34. Fujiwaki R., Iida K., Kanasaki H., Ozaki T., Hata K., Miyazaki K. Cyclooxygenase-2 expression in endometrial cancer: correlation with microvessel count and expression of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase. *Hum Pathol*. 2002; 33(2): 213–9. doi: 10.1053/hupa.2002.31292.

35. Boruban M.C., Altundag K., Kilic G.S., Blankstein J. From endometrial hyperplasia to endometrial cancer: insight into the biology and possible medical preventive measures. *Eur J Cancer Prev*. 2008; 17(2): 133–8. doi: 10.1097/CEJ.0b013e32811080ce.

36. Ashton-Sager A., Paulino A.F., Affy A.M. GLUT-1 is preferentially expressed in atypical endometrial hyperplasia and endometrial adenocarcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2006; 14(2): 187–92. doi: 10.1097/01.pai.0000162003.43334.c7.

37. Reijnen C., van Weelden W.J., Arts M.S.J.P., Peters J.P., Rijken P.F., van de Vijver K., Santacana M., Bronsart P., Bulten J., Hirschfeld M., Colas E., Gil-Moreno A., Reques A., Mancebo G., Krakstad C., Trovik J., Haldorsen I.S., Huvila J., Koskas M., Weinberger V., Minar L., Jandakova E., Snijders M.P.L.M., van den Berg-van Erp S., Küsters-Vandeveld H.V.N., Matias-Guiu X., Amant F., ENITEC-consortium, Massuger L.F.A.G., Bussink J., Pijnenborg J.M.A. Poor outcome in hypoxic endometrial carcinoma is related to vascular density. *Br J Cancer*. 2019; 120(11): 1037–44. doi: 10.1038/s41416-019-0461-2.

38. Lindberg M.E., Stodden G.R., King M.L., MacLean J.A., Mann J.L., DeMayo F.J., Lydon J.P., Hayashi K. Loss of CDH1 and Pten accelerates cellular invasiveness and angiogenesis in the mouse uterus. *Biol Reprod*. 2013; 89(1): 8. doi: 10.1095/biolreprod.113.109462.

39. Nakamura K., Hongo A., Kodama J., Abarzua F., Nasu Y., Kumon H., Hiramatsu Y. Expression of matriptase and clinical outcome of human endometrial cancer. *Anticancer Res*. 2009; 29(5): 1685–90.

40. Barra F., Evangelisti G., Ferro Desideri L., Di Domenico S., Ferraioli D., Vellone V.G., De Cian F., Ferrero S. Investigational PI3K/AKT/mTOR inhibitors in development for endometrial cancer. *Expert Opin Investig Drugs*. 2019; 28(2): 131–42. doi: 10.1080/13543784.2018.1558202.

41. Doll A., Abal M., Rigau M., Monge M., Gonzalez M., Demajo S., Colás E., Llaurodo M., Alazzouzi H., Planagumá J., Lohmann M.A., Garcia J., Castellvi S., Ramon y Cajal J., Gil-Moreno A., Xercavins J., Alameda F., Reventós J. Novel molecular profiles of endometrial cancer-new light through old windows. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2008; 108(3–5): 221–9. doi: 10.1016/j.jsbmb.2007.09.020.

42. Jiang B.H., Liu L.Z. PI3K/PTEN signaling in tumorigenesis and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1784(1): 150–8. doi: 10.1016/j.bbapap.2007.09.008.

43. Lee I.I., Maniar K., Lydon J.P., Kim J.J. Akt regulates progesterone receptor B-dependent transcription and angiogenesis in endometrial cancer cells. *Oncogene*. 2016; 35(39): 5191–201. doi: 10.1038/ncr.2016.56.

44. Zhang J., Song H., Lu Y., Chen H., Jiang S., Li L. Effects of estradiol on VEGF and bFGF by Akt in endometrial cancer cells are mediated through the NF-κB pathway. *Oncol Rep*. 2016; 36(2): 705–14. doi: 10.3892/or.2016.4888.

45. Reardon S.N., King M.L., MacLean J.A., Mann J.L., DeMayo F.J., Lydon J.P., Hayashi K. CDH1 is essential for endometrial differentiation, gland development, and adult function in the mouse uterus. *Biol Reprod.* 2012; 86(5): 141, 1–10. doi: 10.1095/biolreprod.112.098871.
46. Memarzadeh S., Zong Y., Janzen D.M., Goldstein A.S., Cheng D., Kurita T., Schafenacker A.M., Huang J., Witte O.N. Cell-autonomous activation of the PI3-kinase pathway initiates endometrial cancer from adult uterine epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107(40): 17298–303. doi: 10.1073/pnas.1012548107.
47. Daikoku T., Hirota Y., Tranguch S., Joshi A.R., DeMayo F.J., Lydon J.P., Ellenson L.H., Dey S.K. Conditional loss of uterine Pten unfaithfully and rapidly induces endometrial cancer in mice. *Cancer Res.* 2008; 68(14): 5619–27. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1274.
48. Widodo, Djati M.S., Rifa'i M. Role of MicroRNAs in carcinogenesis that potential for biomarker of endometrial cancer. *Ann Med Surg (Lond).* 2016; 7: 9–13. doi: 10.1016/j.amsu.2016.01.091.
49. Geletina N.S., Kobelev V.S., Babayants E.V., Feng L., Pustynnyak V.O., Gulyaeva L.F. PTEN negative correlates with miR-181a in tumour tissues of non-obese endometrial cancer patients. *Gene.* 2018; 655: 20–4. doi: 10.1016/j.gene.2018.02.051.
50. Chen H.X., Xu X.X., Tan B.Z., Zhang Z., Zhou X.D. MicroRNA-29b Inhibits Angiogenesis by Targeting VEGFA through the MAPK/ERK and PI3K/Akt Signaling Pathways in Endometrial Carcinoma. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 41(3): 933–46. doi: 10.1159/000460510.
51. Silver S.A., Sherman M.E. Morphologic and immunophenotypic characterization of foam cells in endometrial lesions. *Int J Gynecol Pathol.* 1998; 17(2): 140–5. doi: 10.1097/00004347-199804000-00008.
52. Iavazzo C., Kalmantis K., Ntziora F., Balakitsas N., Paschalinopoulos D. Detection of large histiocytes in pap smears: role in the prediction of endometrial pathology? *Bratisl Lek Listy.* 2008; 109(11): 497–8.
53. Nguyen T.N., Bourdeau J.L., Ferenczy A., Franco E.L. Clinical significance of histiocytes in the detection of endometrial adenocarcinoma and hyperplasia. *Diagn Cytopathol.* 1998; 19(2): 89–93. doi: 10.1002/(sici)1097-0339(199808)19:2<89::aid-dc3>3.0.co;2-i.
54. Nassar A., Fleisher S.R., Nasuti J.F. Value of histiocyte detection in Pap smears for predicting endometrial pathology. An institutional experience. *Acta Cytol.* 2003; 47(5): 762–7. doi: 10.1159/000326602.
55. Ashkenazy M., Lancet M., Borenstein R., Czernobilsky B. Endometrial foam cells. Non-estrogenic and estrogenic. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1983; 62(3): 193–7. doi: 10.3109/00016348309155791.
56. Jiang X.F., Tang Q.L., Li H.G., Shen X.M., Luo X., Wang X.Y., Lin Z.Q. Tumor-associated macrophages correlate with progesterone receptor loss in endometrial endometrioid adenocarcinoma. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013; 39(4): 855–63. doi: 10.1111/j.1447-0756.2012.02036.x.

Поступила/Received 03.05.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 04.06.2021

Принята к публикации/Accepted 25.06.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Золотухина Надежда Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики – структурное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск, Россия). Author ID (Scopus): 57200725423. Researcher ID (WOS): AAD-5702-2019. ORCID: 0000-0001-9003-9774.

Гуляева Людмила Федоровна, доктор биологических наук, профессор, руководитель лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики – структурное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск, Россия). SPIN-код: 3497-8325. Author ID (Scopus): 7003566821. Researcher ID (WOS): A-8890-2016. ORCID: 0000-0002-7693-3777.

ВКЛАД АВТОРОВ

Надежда Сергеевна Золотухина: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Людмила Федоровна Гуляева: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Поисково-аналитическая работа по подготовке рукописи проведена в рамках финансирования по государственному заданию бюджетного учреждения «Постгеномные исследования фундаментальных основ патогенеза социально значимых заболеваний». Код научной темы, присвоенный организацией: 0535-2019-0025. Номер государственного учета научно-исследовательской, опытно-конструкторской работы в Единой государственной информационной системе учета результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технологических работ гражданского назначения: AAAA-A18-118012490236-3.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Nadezhda S. Zolotukhina, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Mechanisms of Carcinogenesis, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 57200725423. Researcher ID (WOS): AAD-5702-2019. ORCID: 0000-0001-9003-9774.

Lyudmila F. Gulyaeva, Professor, Head of Laboratory of Molecular Mechanisms of Carcinogenesis, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 7003566821. Researcher ID (WOS): A-8890-2016. ORCID: 0000-0002-7693-3777.

AUTHOR CONTRIBUTION

Nadezhda S. Zolotukhina: study conception, drafting of the manuscript.

Lyudmila F. Gulyaeva: project supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

Search and analytical work on the preparation of the manuscript was carried out within the framework of funding under the state assignment of the budgetary institution "Post-genomic studies of the fundamental foundations of the pathogenesis of socially significant diseases". Scientific topic code assigned by the organization: 0535-2019-0025. The number of state registration of research, development work in the Unified State Information System for Accounting the Results of Research, Development and Technological Work for Civil Use: AAAA-A18-118012490236-3.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Хланта Д.А., Генс Г.П. Особенности ведения пациентов с первично-множественными злокачественными опухолями в практике современного онколога. Клинический пример и обзор литературы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 147–155. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-147-155

For citation: Khlanta D.A., Gens G.P. Management of patients with multiple primary cancer in the practice of a modern oncologist. Case report and literature review. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 147–155. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-147-155

ОСОБЕННОСТИ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ В ПРАКТИКЕ СОВРЕМЕННОГО ОНКОЛОГА. КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Д.А. Хланта, Г.П. Генс

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, г. Москва, Россия
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1. E-mail: daianakhlanta@gmail.com

Аннотация

Цель исследования – рассмотреть наиболее актуальные позиции медицины в отношении первично-множественных злокачественных опухолей (ПМЗО), которые представляют собой феномен туморогенеза и одну из малоизученных категорий в современной клинической онкологии. Увеличение распространенности онкологических заболеваний в популяции, полинеоплазий в частности, а также необходимость принятия непростых решений о дальнейшей тактике лечения усиливают актуальность изучения ПМЗО. В обзоре показаны современные взгляды на данную категорию злокачественных заболеваний, а также представлен клинический пример. **Материал и методы.** Проведен анализ результатов международных исследований по проблеме первично-множественного рака. Поиск соответствующих источников производился в системах Web of Science, Scopus, MedLine, в фокусе нашего внимания были работы 2016–21 гг. Из проанализированных исследований 60 наиболее актуальных и информативных использованы для составления систематического обзора с клиническим примером. **Результаты.** Своевременный диагностический поиск, совершенствование скрининговых онкологических программ, а также адекватный уровень онкологической настороженности среди врачей первичного звена являются условиями, необходимыми для совершенствования контроля ПМЗО. Психологическая работа с пациентом, усиление его приверженности к терапии и выполнению врачебных рекомендаций относительно сроков наблюдения в период ремиссии и диспансерное наблюдение – неотъемлемые составляющие совершенствования онкологической помощи. **Заключение.** Всесторонний анализ первично-множественных злокачественных опухолей требует длительного наблюдения за большой популяцией, учета генетических факторов, факторов окружающей среды, воздействия курения и питания, а также коморбидной патологии. Своевременный диагностический поиск, совершенствование скрининговых онкологических программ, а также адекватный уровень онкологической настороженности среди врачей первичного звена являются необходимыми условиями контроля ПМЗО.

Ключевые слова: первично-множественные злокачественные образования, рак почки, рак мочевого пузыря, рак мочеточника, рак предстательной железы, рак желудка, генетика, наследственность.

MANAGEMENT OF PATIENTS WITH MULTIPLE PRIMARY CANCER IN THE PRACTICE OF A MODERN ONCOLOGIST. CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW

D.A. Khlanta, G.P. Gens

A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
20/1, Delegatskaya St., 127473, Moscow, Russia. E-mail: daianakhlanta@gmail.com

Abstract

The purpose of the study. Multiple primary malignant neoplasms or polyneoplasia are a phenomenon of tumorigenesis and one of the little-studied categories in modern clinical oncology. The increase in the cancer incidence, as well as the need to make difficult decisions about further treatment strategy, enhance the relevance of studying multiple primary malignant neoplasms. This review discusses the current positions of medicine in relation to this category of malignant neoplasms, and presents a case report of a patient with this disease. **Material and Methods.** We have analyzed the results of international studies on the management of patients with multiple primary cancer. The search for relevant sources was carried out in the Web of Science, Scopus, MedLine systems with a chronological interval of 2016–2021. Of the analyzed studies, 60 were used to compile a systematic review with a case report. **Results.** The analysis showed that timely diagnosis and improvement of cancer screening programs are necessary to improve the control of these tumors. Psychological work with a patient, strengthening of his commitment to therapy and the implementation of medical recommendations are integral parts of improving cancer care for patients with such disease. **Conclusion.** A comprehensive analysis of multiple primary malignant tumors requires long-term follow-up of a large population, taking into account genetic factors, environmental factors, exposure to smoking and nutrition, and comorbid pathology. Timely diagnosis and improvement of cancer screening programs are necessary to improve the control of multiple primary malignant tumors.

Key words: multiple primary malignancies, kidney cancer, bladder cancer, ureteral cancer, prostate cancer, stomach cancer, genetics, heredity.

Введение

Онкологические заболевания представляют собой одну из самых обширных областей исследования современной медицины, однако до сих пор являются малоизученной и сложнейшей патологией. Развитие первично-множественных злокачественных опухолей (ПМЗО) – сложный процесс, характеризующийся одномоментным или поочередным возникновением очагов злокачественного роста, развивающихся независимо друг от друга в пределах одного или нескольких органов (парные органы, органы различных систем, мультицентрическое поражение одного органа). Теория о существовании множественных злокачественных новообразований была изложена Т. Billroth в 1889 г. [1] и в подробном исследовании S. Warren, O. Gates в 1932 г. [2]. Задолго до этого множеством ученых были высказаны предположения о существовании подобного вида онкологического процесса. Так, еще в X веке Абу Али ибн Сина (Авиценна) описал случай двустороннего злокачественного поражения молочных желез у женщины [3]. Спустя столетия, вместе с улучшением диагностического поиска и нарастающим количеством факторов риска ПМЗО прочно обосновались в мировой статистике онкологических заболеваний и представляют значимую проблему для онкологов, генетиков и врачей смежных специальностей.

Этиопатогенез

Изучение этиопатогенеза ПМЗО привело ученых к выводу о важности влияния различных канцерогенных агентов и их комбинаций на развитие злокачественного процесса. Так, теория «опухолевого поля», представленная R.A. Willis в 1967 г., подразумевает, что во всем объеме ткани, подвергающейся канцерогенному влиянию, могут возникнуть множественные очаги, представленные

одной или группой клеток потенциального опухолевого роста [4]. Кроме того, ряд авторов считают, что ПМЗО возникают на фоне воспалительных и дистрофических изменений в тканях, а также в результате метаболических, гормональных изменений, повышающих способность клеток к опухолевой трансформации [5, 6].

Существует мнение о том, что дополнительным фактором риска является наличие онкологического заболевания в анамнезе. Подтверждение этого факта нашлось в нескольких исследованиях [7, 8]. Недавно было показано, что пациенты хотя бы с одним типом рака имели на 23 % более высокий риск возникновения следующей опухоли по сравнению с больными без онкологической патологии в анамнезе, а у тех, у кого было, по крайней мере, два рака, риск последующего развития злокачественной опухоли повышался на 47 % по сравнению с больными с наличием в анамнезе одной опухоли [9].

Этиологические факторы, лежащие в основе развития ПМЗО, можно разделить на несколько групп: факторы образа жизни, окружающей среды, генетические факторы, возраст пациента, предшествующее противоопухолевое лечение. Еще одна связь между первичным онкологическим процессом и развитием «второй» опухоли прослеживается в общности факторов риска последних. Например, таких как курение и употребление алкоголя: данные факторы приводят к развитию синхронного или метасинхронного рака в полости рта или/и пищевода [10, 11]. Общеизвестным и значимым фактором риска развития ПМЗО является пожилой возраст [12]. Совершенствование противоопухолевой терапии является причиной улучшения показателей выживаемости онкологических больных, что вкупе с увеличением общей продолжительности жизни в популяции увеличивает возможность развития «второй» злокачественной опухоли. Кроме того,

противоопухолевая терапия сама по себе связана с увеличением риска развития ПМЗО. Росту случаев ПМЗО в статистике опухолей способствует и совершенствование современных методов диагностики. Улучшение диагностических возможностей в визуализации опухолей [13, 14], а также достижения в области генетики [15] способствуют раннему обнаружению ПМЗО и предрасположенности к ним.

Основным критерием ПМЗО считается градация последних на основании временного промежутка возникновения опухолей. Выделяют синхронные опухоли, выявленные до 6 мес с момента обнаружения первичной опухоли; метакронные – выявленные спустя 6 мес и позднее от диагностирования первой опухоли; сочетанные – если речь идет о наличии трех и более опухолей у одного больного (синхронно-метакронный и метакронно-синхронный типы ПМЗО) [2, 16].

ПМЗО и генетика

Значимость генетического, или наследственного, фактора в развитии ПМЗО активно изучается в настоящее время. Одни из первых исследований в этой области принадлежат В.Ю. Сельчук и соавт. [17] и J. Schildkraut et al. [18]. В сравнении генетических корреляций между раком толстой кишки, раком яичников и желудка в семьях больных ПМЗО с соответствующими показателями в семьях пациентов с единственным раком толстой кишки [17] продемонстрировано, что развитие ПМЗО в этих семьях обусловлено участием значительно большей доли общих генов, чем у семей второй группы без полинеоплазии в анамнезе. В семьях больных ПМЗО по сравнению с семьями с единственным раком молочных желез прослеживается подобная корреляция и относительно яичников, что свидетельствует о большей генетической отягощенности в семьях с полинеоплазией [18]. Более 20 лет назад стало известно, что микросателлитная нестабильность (MSI) играет важную роль в развитии злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта [19]. Целью исследования Y.B. Kim et al. явилась оценка MSI в качестве маркера для прогноза развития синхронных новообразований желудка и толстой кишки. Исследователи пришли к выводу, что при колоректальном раке (КРР) наличие синхронной опухоли ЖКТ связано со стадией процесса и типам последнего, статус MSI не имел отношения к синхронным новообразованиям ЖКТ. Вместе с тем, распространенность синхронного КРР была выше при раке желудка MSI-L, чем при раке желудка MSI-H или MSS. При этом распространенность синхронной колоректальной аденомы существенно не различалась среди пациентов с колоректальным раком, будь то MSI-H, MSI-L или MSS. Эти данные свидетельствуют о том, что роль MSI в канцерогенезе опухолей желудка

и толстой кишки различается. Авторами показано, что рак желудка с MSI сочетается не только с большей распространенностью синхронного колоректального рака, но и с более высокой распространенностью синхронной аденомы желудка, чем у больных без MSI [20]. Изучение наследственного компонента РПЖ привело P.G. Pilié et al. к секвенированию ДНК зародышевой линии 102 больных раком предстательной железы (РПЖ) с наличием в анамнезе по крайней мере еще одного злокачественного новообразования. Критериями включения в исследование были возраст до 55 лет включительно на момент диагностики первого злокачественного заболевания; редкая опухоль; три и более злокачественных новообразования. Мутации, предрасполагающие к развитию онкологического процесса, у отобранной когорты пациентов составили 10,8 %. При этом большинство пациентов – 74,5 % (76/102) – имели в анамнезе два онкологических заболевания, 21,5 % – три и 4 % – четыре злокачественных новообразования. Для пациентов с РПЖ и их родственников важно выявить наследственные патогенные варианты, которые будут определять скрининг РПЖ [21].

Эпидемиология

Частота первичных злокачественных опухолей в мире, в зависимости от конкретной нозологии, колеблется в пределах от 2,4 до 17 % [22]. Заболеваемость и показатели выживаемости при ПМЗО, как и методы лечения последних, в зависимости от географических и экономических факторов, безусловно, разнообразны [23]. Данные колебания связаны с различными климатическими условиями той или иной страны, с поведенческими особенностями и генетической предрасположенностью [24]. Недавнее исследование продемонстрировало соотношение проявления ПМЗО в зависимости от пола, возраста и локализации злокачественного процесса. Среди проанализированных случаев ПМЗО самым частым типом опухолей являются аденокарциномы (49,3 %), плоскоклеточный рак (26,1 %), злокачественное поражение гемопоэтической и лимфоидной ткани (8,1 %), переходноклеточный рак (6,2 %). Из пациентов с ПМЗО женщины составили 39,1 %, мужчины – 60,9 %. В группе синхронных опухолей в тройку ведущих входят злокачественные новообразования пищеварительной (48,7 %), урогенитальной (21,8 %), дыхательной (15,4 %) систем [25]. В России на данный момент частота ПМЗО находится в диапазоне от 7 до 9 % [26]. Исследование, проведенное в Швейцарии и направленное на изучение риска развития «вторых» опухолей, продемонстрировало существенную вариацию риска в зависимости от типа первичной опухоли. Наиболее высокая вероятность «второй» опухоли наблюдалась у пациентов с такими первичными процессами, как рак полости рта, глотки, гортани, пищевода, легких и

лимфома Ходжкина [10]. По данным R. Zheng et al., чаще всего ПМЗО связаны с колоректальным раком. Кроме того, авторы сделали вывод, что пациенты с метастатическим раком чаще имеют более благоприятный прогноз по сравнению с больными с синхронными полинеоплазиями [27].

Клинические особенности ПМЗО, факторы диагностики, лечения и прогноза

Выбор тактики лечения ПМЗО зависит от стадии каждой отдельной опухоли, ее гистотипа и соматического состояния пациента, наличия у него сопутствующей патологии. При морфологическом подтверждении ПМЗО каждая опухоль оценивается независимо. В первую очередь лечение рассматривается в отношении наиболее опасной для выживания и угрожающей качеству жизни пациента опухоли. Лечение ПМЗО в послеоперационном периоде обычно проводится в соответствии с рекомендациями для патологоанатомической стадии опухоли. Существует мнение, что синхронная или поэтапная резекция обеих опухолей дает наилучшие перспективы долгосрочной выживаемости у пациентов с синхронными опухолями. В недавнем систематическом обзоре проанализированы результаты резекции пищевода в сочетании с резекциями желудка, поджелудочной железы, легких, толстой кишки, почек и печени с определением послеоперационных исходов в конкретном случае [28]. При лекарственной терапии, когда один режим химиотерапии (ХТ) не подходит для лечения ПМЗО, как правило, прибегают к выбору более эффективной комбинации, предусмотренной для опухолей большей злокачественности. Лучевая терапия, применяемая самостоятельно или в рамках комбинированного лечения, может эффективно повлиять на улучшение прогноза пациентов с ПМЗО [29]. Однако не теряет своей значимости проблема постлучевых осложнений, которые необходимо учитывать в терапии ПМЗО [30, 31], принимая во внимание комбинацию различных по токсичности методов лечения.

Диагностика и лечение синхронных множественных опухолей представляют большую сложность по сравнению с метастатическими ПМЗО, в первую очередь из-за наличия процессов, для которых применяются разные методики лечения, а также из-за коморбидной патологии. На данный момент не существует универсального диагностического метода, равно как и диагностических рекомендаций по выявлению ПМЗО, поскольку выбор между КТ, МРТ, ПЭТ/КТ и УЗИ зависит от типа опухоли и ее локализации. H. Kurose et al. представлено клиническое наблюдение синхронного рака почек, предстательной железы, мочевого пузыря, позиционируемое как «эффект скрининга». Скрининговый эффект возникает в случае диагностики и лечения одного рака, что служит возможностью для обнаружения других бессимптомных опухо-

лей. Иммуногистохимическое исследование *p53* и *HER2*, проведенное для оценки генетических факторов канцерогенеза, показало отрицательный результат во всех полученных материалах. Эти мутации признаны факторами, негативно влияющими на выживаемость и степень злокачественности опухолей, и их отсутствие во всех образцах демонстрирует собой редкий случай множественного злокачественного процесса [32].

Методика ПЭТ/КТ может быть рассмотрена как одна из самых перспективных для обнаружения ПМЗО. Однако, принимая во внимание особенности проведения ПЭТ/КТ с 18F-фтордезоксиглюкозой, а именно, отсутствие качественного различия между воспалительной и неопластической тканью, а также особенности некоторых опухолей (почечно-клеточный рак, РПЖ и др.), которые не имеют тенденции к концентрации ФДГ, необходимо учитывать возможность ложноотрицательных результатов [33].

В исследовании M. Lv et al. при выборке в 161 пациента с синхронными и метастатическими ПМЗО в группе метастатических опухолей 28,9 % пациентов проводилось хирургическое лечение, 27,7 % – операции в сочетании с ХТ или лучевой терапией. 41 % пациентов получали ХТ или лучевую терапию после диагностирования «первого» первичного рака. Кроме того, 27,8 % пациентов подверглись хирургическому лечению после диагностирования «второго» первичного рака. При оценке выживаемости из 161 пациента под наблюдением находились 138, в среднем в течение 36 мес с момента выявления первой опухоли 78 пациентов умерли. Пациенты с синхронными опухолями показали более низкую выживаемость, чем пациенты с метастатическими опухолями, медиана выживаемости составила 12 мес и 96 мес соответственно. Кроме того, у пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта, «первыми» или «вторыми» по очередности, выживаемость была хуже, чем у больных с ПМЗО других локализаций. На основании этих данных можно прийти к выводу о том, что пациенты, получавшие хирургическое лечение в сочетании с химиотерапией или лучевой терапией, имели более благоприятный прогноз по сравнению с группой пациентов, которым проводилась только операция [25].

Следует принять во внимание многообразие существующих на данный момент методов хирургического лечения. При РПЖ в последние годы применяются малоинвазивные методы лечения, в число которых входят криотерапия, терапия высокодозным сфокусированным ультразвуковым излучением, электропорация и др. [23].

В исследовании A. Godara et al., включающем пациентов с аденокарциномой желудка и поджелудочной железы, было освещено влияние ХТ, в частности способность к повреждению ДНК, на развитие синхронного злокачественного про-

цесса. Алкилирующие агенты и ингибиторы топоизомеразы наиболее часто демонстрируют свою причастность к развитию миелодиспластического синдрома [34]. Принимая во внимание общее токсическое воздействие ХТ на организм, а также побочное действие каждого применяемого в терапии препарата, возможно предположить вероятность развития ПМЗО у пациента, получавшего ХТ.

Рак желудка

Рак желудка (РЖ) является одной из самых значимых проблем современной онкологии. Занимая 3-е место в статистике смертности от рака во всем мире [35], данная патология ставит перед онкологами задачу совершенствования скрининга и методов диагностики. Эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС), вошедшая в скрининговую программу рака желудка в Японии, несомненно, привела к улучшению его выявляемости на ранних стадиях. Около 50 % случаев РЖ в Японии выявляется, когда опухоль ограничена слизистой или подслизистой оболочкой, что значительно улучшило отдаленные результаты лечения [36, 37]. Большинство пациентов с ранним РЖ подвергается резекции желудка. При выборе данной хирургической методики желудок сохраняет свою функцию, существенно не страдает качество жизни пациента [38]. Недостатком резекции желудка является риск развития МРЖ в нерезецированной части органа, частота которого составляет 2,7–15,6 % [36, 39, 40]. Основными факторами риска данного процесса являются пожилой возраст, неоднократный ранний рак желудка в анамнезе, а также персистенция *H. pylori* [39]. В 1994 г. *H. pylori* официально признана канцерогеном 1-й группы для рака желудка. *H. pylori* проявляет свой канцерогенный эффект, подвергая слизистую оболочку желудка изменениям в следующем порядке: хронический активный гастрит, атрофия, кишечная метаплазия и дисплазия с последующим развитием аденокарциномы желудка [41]. Считается, что эрадикация *H. pylori* является потенциально благоприятным профилактическим фактором, препятствующим развитию МРЖ.

Хромофобный почечно-клеточный рак

Хромофобные почечно-клеточные опухоли (ХПКО) составляют около 6–8 % почечно-клеточного рака [24]. Хотя хромофобный рак почки обладает низкой степенью злокачественности, в недавнем исследовании продемонстрированы некоторые исключения. Если у пациентов изначально фиксируется опухоль большого размера или имеются признаки саркоматоидной трансформации, прогноз заболевания значительно ухудшается из-за возрастания риска метастазирования [42]. Зачастую хромофобные опухоли могут быть случайной находкой, поскольку чаще всего протекают доброкачественно и без выраженной клинической симптоматики [43]. По этой причине внимание

исследователей сосредоточено не только на морфологических способах верификации диагноза, но и на различных молекулярных маркерах данного типа опухоли. Доброкачественную опухоль, такую как онкоцитома, легко спутать с ХПКО, поскольку морфологическая характеристика этих новообразований весьма схожа, а методы визуализации не всегда помогают их точно дифференцировать. В связи с этим необходимо исследование молекулярных маркеров, позволяющих произвести дифференциальную диагностику. Основными опухолевыми маркерами иммуногистохимической диагностики ХПКО являются CD117 (KIT), сверхэкспрессия которого описана в клетках различных сарком, рака легкого, ХПКО, а также кадгерина, в частности Е-кадгерин (эпителиальный) и N-кадгерин (нейрональный) [44]. В будущем генетическое исследование основных молекулярных маркеров у пациентов с ХПКО может способствовать применению таргетной терапии.

ПМЗО верхних мочевыводящих путей

Уротелиальные карциномы (УК) занимают 4-е место по распространенности в мире [24]. УК верхних мочевыводящих путей (ВМП) представляют собой редкий, но агрессивный тип опухолей, отличающийся неблагоприятным прогнозом, составляя 5–10 % от всех УК. Золотым стандартом лечения уротелиальных карцином верхних мочевыводящих путей является радикальная нефроретерэктомия [45] и иммунотерапия [46]. В связи с возрастающей эффективностью методов лечения и, как следствие, увеличением продолжительности жизни у пациентов с данной патологией современная онкология столкнулась с увеличением риска развития метакронного контрлатерального рака ВМП. По данным недавнего исследования, 30-летняя кумулятивная частота развития метакронного контрлатерального рака ВМП составила 2,6 % [47]. Также результаты исследования показывают, что пожилой возраст при первичном диагнозе и больший размер опухоли связаны со снижением риска метакронного контрлатерального рака. Однако наличие первичного рака ВМП является важнейшим фактором риска развития контрлатерального злокачественного новообразования. Кроме того, развитие последнего не связано с ухудшением выживаемости по сравнению с односторонней УК ВМП. Возникновение контрлатерального рака у 70,1 % пациентов происходит в течение 5 лет, а у 10,4 % – в течение 10 и более лет после выявления первичной УК ВМП [47], что необходимо учитывать при разработке грамотной концепции наблюдения пациентов после лечения.

Клиническое наблюдение

Пациент И.В., 1942 г.р. В 2007 г. обратился в поликлинику с жалобами на учащенное мочеиспускание и тупые боли в области поясницы, был установлен диагноз: хронический простатит,

доброкачественная гиперплазия предстательной железы. В мае 2012 г. выявлена опухоль мочевого пузыря. Выполнена трансуретральная резекция (ТУР) мочевого пузыря с последующей ХТ: митомидин-веро 40 мг. По данным гистологического исследования (ГИ) – неинвазивная папиллярная уротелиальная опухоль. Выставлен диагноз: рак мочевого пузыря pT1N0M0. В сентябре 2013 г. обратился вновь в связи с повышением уровня общего ПСА до 2,12 нг/мл, свободного ПСА до 17,9 %. По данным МРТ малого таза: предстательная железа размерами 4,5×3,9×4,7 см с небольшим интрапузырным ростом в виде вдающегося до 0,9 см узелка с четкими контурами, структура железы неоднородная. Произведена мультифокальная биопсия простаты. Гистологическое заключение: мелкоацинарная аденокарцинома предстательной железы 8 баллов по Глиссону (4 + 4). В октябре 2013 г. выполнена радикальная простатэктомия. Учитывая данные ГИ выставлен диагноз: рак предстательной железы pT1cN0M0, G3, II стадия. По результатам контрольной цистоскопии признаков рецидива рака мочевого пузыря не выявлено. В мае 2014 г. выполнена операция по Винкельману с двух сторон по поводу гидроцеле. Выписан под наблюдение онколога и уролога по месту жительства. Однако в течение последующих 2 нед возник рецидив гидроцеле справа. В июле 2014 г. выполнена операция по Бергману справа. При контрольном обследовании в ноябре 2014 г. выявлен рецидив рака мочевого пузыря, проявляющийся неинвазивной папиллярной уротелиальной опухолью с низкой степенью анаплазии. В декабре 2014 г. выполнена ТУР мочевого пузыря с лазерной абляцией ложа опухоли с внутрипузырной инстилляцией 40 мг митомидина-веро. На II этапе лечения проведено 8 курсов внутрипузырной ХТ. При контрольном обследовании в декабре 2015 г. данных за рецидив и прогрессирование опухоли не выявлено (ПСА – 0,02 нг/мл), но обнаружены лигатурные конкременты в зоне везикулоуретрального анастомоза. В декабре 2015 г. произведена ТУР вышеуказанной зоны вместе с лигатурами и конкрементами. По данным ГИ опухолевых клеток в пределах удаленных тканей не обнаружено. В дальнейшем по результатам контрольного обследования прогрессирования не выявлено. По результатам контрольной цистоскопии от февраля 2018 г. в области правой полукружности шейки выявлен участок слизистой диаметром около 1,0×1,0 см с ворсинчатыми разрастаниями. По данным ГИ: неинвазивная уротелиальная папиллярная карцинома (G1). В марте 2018 г. выполнена ТУР мочевого пузыря и проведен I-й курс внутрипузырной ХТ митомидин-веро. В дальнейшем наблюдался без признаков прогрессирования. При обследовании в июле 2020 г. выявлена опухоль левого мочеточника. По данным МРТ:

двусторонний гидроуретер, гидронефроз слева. По данным экскреторной урографии: накопительная функция правой почки не изменена, но несколько замедлена экскреторная функция; слева – снижение концентрационно-выделительной функции почки. В августе 2020 г. выполнена ТУР-биопсия опухоли. По данным ГИ: папиллярный уротелиальный рак с фокусом микроинвазии (high-grade). СКФ – 60 мл/мин/1,73 м². Онкомаркеры: РЭА – 0,537 нг/мл (0–3,8); АФП – 3,21 МЕ/мл (0–5,8); СА19–9 – 2,11 Ед/мл, ПСА (общий) – 0,11 нг/мл (0–4,4); СА 72–4 – 0,8 Ед/мл (0–6,9). На основании клинической картины и результатов обследования принято решение об установке стента-катетера в мочеточник. В августе 2020 г. по результатам ЭГДС в рамках контрольного обследования выявлена язва желудка, проведена биопсия. Количественное определение антител класса IgG к *Helicobacter pylori* >200 Ед/мл (>1,1-обнаружено). По данным ГИ: перстневидноклеточный рак желудка. На первом этапе лечения, с учетом тяжести злокачественного процесса, принято решение об урологическом оперативном вмешательстве, с последующим решением вопроса о гастрэктомии. В сентябре 2020 г. выполнена лапароскопическая нефруретерэктомия с резекцией стенки мочевого пузыря. По данным ГИ: уротелиальная папиллярная карцинома мочеточника высокой степени злокачественности с инвазией в субэпителиальную основу, слабо выраженной перитуморозной лимфоидной инфильтрацией; хромофобная опухоль кортикального слоя почки (0,4 см) без признаков сосудистой и периневральной инвазии. На основании полученных данных поставлен диагноз: рак мочеточника pT1N0M0 G3Pn0L0. Рак почки pT1aN0M0 Pn0L0. В октябре 2020 г. произведена субтотальная дистальная резекция желудка. По данным ГИ: умеренно дифференцированная аденокарцинома тела желудка в сочетании с перстневидноклеточным раком с изъязвлением (pT1aM0M0 G2 L0V0Pn0, R0, классификация по Lauren: смешанный тип). На основании анамнеза, лабораторной и инструментальной диагностики выставлен диагноз: Основное заболевание: ПМЗО, метакронно-синхронный рост. Рак тела желудка pT1aN0M0 G2 L0V0Pn0 R0, классификация по Lauren: смешанный тип, I стадия. Хирургическое лечение (10.2020): субтотальная дистальная резекция желудка. Рак левого мочеточника pT1N0M0 G3Pn0L0, I стадия. Хромофобная опухоль левой почки pT1N0M0 Pn0L0, I стадия. Хирургическое лечение (09.2020): нефруретерэктомия слева. Рак мочевого пузыря pT1N0M0, I стадия. Комбинированное лечение (2012–18): ТУР мочевого пузыря, ХТ митомидин-веро. Стабилизация процесса. Рак предстательной железы pT1cN0M0 G3, II стадия. Хирургическое лечение (10.2013): радикальная простатэктомия. Стабилизация процесса.

Обсуждение

В представленном наблюдении больного, 78 лет, имеется ряд особенностей, заслуживающих клинического разбора. Обращает на себя внимание полиорганность поражения: злокачественные новообразования обнаружены в пяти органах, большинство из которых относится к уротелиальным опухолям. Кроме того, клинические проявления заболевания носили весьма стертый характер, из чего следует вывод, что нельзя пренебрегать скринингом в отношении пациентов с первичной злокачественной опухолью, особенно в случае, если скрининг – единственный способ обнаружения «вторых» опухолей. Современные методы диагностики, в частности МРТ с контрастированием, позволяют детально оценить патологический очаг, оценить эффективность проводимой терапии. Также продемонстрирован случай синхронной хромофобной опухоли почки, явившийся примером случайной находки после радикальной нефруртерэктомии по поводу злокачественного новообразования мочеочника. Данный пример указывает на сложность диагностики этого вида опухолей, несмотря на применение высокотехнологичных методов визуализации.

Заключение

Проблема лечения первично-множественных злокачественных новообразований становится актуальнее с каждым годом. Вместе с развитием медицины увеличивается число пациентов, переживших онкологическое заболевание, которые подвержены повышенному риску развития нового злокачественного процесса. Всесторонний анализ ПМЗО требует длительного наблюдения за большой популяцией, учета генетических факторов, факторов окружающей среды, воздействия курения и питания, а также коморбидной патологии. Своевременный диагностический поиск, совершенствование скрининговых онкологических программ, а также адекватный уровень онкологической настороженности среди врачей первичного звена являются условиями, необходимыми для контроля ПМЗО. Психологическая работа с пациентом, усиление его приверженности к терапии и выполнению врачебных рекомендаций относительно сроков наблюдения, а также диспансерное наблюдение – неотъемлемые части совершенствования онкологической помощи. Результатом выполнения данных условий является своевременная диагностика метастазирования, а также развития нового онкологического процесса.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Billroth T. Die allgemeine Chirurgie, Pathologie und Therapie. Berlin, 1889. 908 p.
2. Warren S., Gates O. Multiple primary malignant tumours. Am. J. Cancer. 1932; 16: 1358–414.
3. Zarshenas M.M., Mohammadi-Bardbori A. A medieval description of metastatic breast cancer; from Avicenna's view point. Breast. 2017; 31: 20–1. doi: 10.1016/j.breast.2016.10.019.
4. Willis R.A. Pathology of Tumors. London: Butterworth & Co, 1967.
5. Matsuo K., Blake E.A., Machida H., Mandelbaum R.S., Roman L.D., Wright J.D. Incidences and risk factors of metachronous vulvar, vaginal, and anal cancers after cervical cancer diagnosis. Gynecol Oncol. 2018; 150(3): 501–8. doi: 10.1016/j.ygyno.2018.07.016.
6. Jayasekara H., Reece J.C., Buchanan D.D., Rosty C., Dashti S.G., Ait Ouakrim D., Winship I.M., Macrae F.A., Boussioutas A., Giles G.G., Ahnen D.J., Lowery J., Casey G., Haile R.W., Gallinger S., Le Marchand L., Newcomb P.A., Lindor N.M., Hopper J.L., Parry S., Jenkins M.A., Win A.K. Risk factors for metachronous colorectal cancer following a primary colorectal cancer: A prospective cohort study. Int J Cancer. 2016; 139(5): 1081–90. doi: 10.1002/ijc.30153.
7. Donin N., Filson C., Drakaki A., Tan H.J., Castillo A., Kwan L., Litwin M., Chamie K. Risk of second primary malignancies among cancer survivors in the United States, 1992 through 2008. Cancer. 2016; 122(19): 3075–86. doi: 10.1002/encr.30164.
8. Li R., Zhang Y., Ma B., Tan K., Lynn H.S., Wu Z. Survival analysis of second primary malignancies after cervical cancer using a competing risk model: implications for prevention and surveillance. Ann Transl Med. 2021; 9(3): 239. doi: 10.21037/atm-20-2003.
9. Finkelstein D.M., Horick N.K., Ramchandani R., Boyd K.L., Rana H.Q., Bychkovsky B.L. Are rare cancer survivors at elevated risk of subsequent new cancers? BMC Cancer. 2019; 19(1): 166. doi: 10.1186/s12885-019-5358-1.
10. Feller A., Matthes K.L., Bordoni A., Bouchardy C., Bulliard J.L., Herrmann C., Konzelmann I., Maspoli M., Mousavi M., Rohrmann S., Staehelin K., Arndt V.; NICER Working Group. The relative risk of second primary cancers in Switzerland: a population-based retrospective cohort study. BMC Cancer. 2020; 20(1): 51. doi: 10.1186/s12885-019-6452-0.
11. Sato A., Matsubayashi K., Morishima T., Nakata K., Kawakami K., Miyashiro I. Increasing trends in the prevalence of prior cancer in newly diagnosed lung, stomach, colorectal, breast, cervical, and corpus uterine cancer patients: a population-based study. BMC Cancer. 2021; 21(1): 264. doi: 10.1186/s12885-021-08011-3.
12. Spratt J.S. Jr, Hoag M.G. Incidence of multiple primary cancers per man-year of follow up: 20-year review from the Ellis Fischel State Cancer Hospital. Ann Surg. 1966; 164(5): 775–84. doi: 10.1097/0000658-196611000-00001.
13. Panebianco V., Narumi Y., Altun E., Bochner B.H., Efstathiou J.A., Hafeez S., Huddart R., Kennish S., Lerner S., Montironi R., Muglia V.F., Salomon G., Thomas S., Vargas H.A., Witjes J.A., Takeuchi M., Barentsz J., Catto J.W.F. Multiparametric Magnetic Resonance Imaging for Bladder Cancer: Development of VI-RADS (Vesical Imaging-Reporting And Data System). Eur Urol. 2018; 74(3): 294–306. doi: 10.1016/j.eururo.2018.04.029.
14. Escorcia F.E., Steckler J.M., Abdel-Atti D., Price E.W., Carlin S.D., Scholz W.W., Lewis J.S., Houghton J.L. Tumor-Specific Zr-89 Immuno-PET Imaging in a Human Bladder Cancer Model. Mol Imaging Biol. 2018; 20(5): 808–15. doi: 10.1007/s11307-018-1177-z.
15. Kamps R., Brandão R.D., Bosch B.J., Paulussen A.D., Xanthoulea S., Blok M.J., Romano A. Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification. Int J Mol Sci. 2017; 18(2): 308. doi: 10.3390/ijms18020308.
16. Паяниди Ю.Г., Жордания К.И., Паукер В., Сельчук В.Ю., Кузубская Т.П. Полинеоплазия органов женской репродуктивной системы и наследственность. Акушерство и гинекология. 2016; 9: 68–72. [Payanidi Yu.G., Zhordania K.I., Pauker V., Selchuk V.Yu., Kazubskaya T.P. Polyneoplasia of the female reproductive system and heredity. Obstetrics and Gynecology. 2016; 9: 68–72. (in Russian)]. doi:10.18565/aig.2016.9.68-72.
17. Сельчук В.Ю., Кузубская Т.П., Белев Н.Ф. Первично-множественные злокачественные опухоли. Вестник ВОИЦ АМН СССР. 1990. 1: 28–31. [Selchuk V.Yu., Kuzbasskaya T.P., Belev N.F. Primary-multiple malignant tumors. Bulletin of the All-Union Oncological Scientific Center of the Academy of Medical Sciences of the USSR. 1990. 1: 28–31. (in Russian)].
18. Schildkraut J.M., Risch N., Thompson W.D. Evaluating genetic association among ovarian, breast, and endometrial cancer: evidence for a breast/ovarian cancer relationship. Am J Hum Genet. 1989; 45(4): 521–9.
19. Boland C.R., Thibodeau S.N., Hamilton S.R., Sidransky D., Eshleman J.R., Burt R.W., Meltzer S.J., Rodriguez-Bigas M.A., Fodde R., Ranzani G.N., Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. Cancer Res. 1998; 58(22): 5248–57.
20. Kim Y.B., Lee S.Y., Kim J.H., Sung I.K., Park H.S., Shim C.S., Han H.S. Microsatellite Instability of Gastric and Colorectal Cancers as

a Predictor of Synchronous Gastric or Colorectal Neoplasms. Gut Liver. 2016; 10(2): 220–7. doi: 10.5009/gnl14310.

21. Pilié P.G., Johnson A.M., Hanson K.L., Dayno M.E., Kapron A.L., Stoffel E.M., Cooney K.A. Germline genetic variants in men with prostate cancer and one or more additional cancers. Cancer. 2017; 123(20): 3925–32. doi: 10.1002/cncr.30817.

22. Copur M.S., Manapuram S. Multiple Primary Tumors Over a Lifetime. Oncology (Williston Park). 2019; 33(7).

23. Аникианова Е.В., Колонтарев К.Б., Генс Г.П., Прилепская Е.А., Ковылина М.В., Пушкар Д.Ю. Электрохимический лизис в терапии рака предстательной железы (экспериментальное исследование). Экспериментальная и клиническая урология 2020; (2): 58–66. [Anikanova E.V., Kolontarev K.B., Guens G.P., Prilepskaya E.A., Kovylyina M.V., Pushkar D.Yu. Electrochemicallysis in the therapy of prostate cancer (experimental study). Experimental and Clinical Urology 2020; (2): 58–66. (in Russian)]. doi: 10.29188/2222-8543-2020-12-2-58-66.

24. 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.

25. Lv M., Zhang X., Shen Y., Wang F., Yang J., Wang B., Chen Z., Li P., Zhang X., Li S., Yang J. Clinical analysis and prognosis of synchronous and metachronous multiple primary malignant tumors. Medicine (Baltimore). 2017; 96(17). doi: 10.1097/MD.0000000000006799.

26. Бехтерева С.А., Доможирова А.С., Аксенова И.А., Пищенко С.В. Первично-множественный рак яичников. Исследования и практика в медицине. 2018; 5s: 1–20. [Bekhtereva S.A., Domozhirova A.S., Akse-nova I.A., Pshichenko S.V. Primary-multiple ovarian cancer. Research'n Practical Medicine Journal. 2018; 5s: 1–20. (in Russian)]. doi: 10.17709/2409-2231-2018-5-51.

27. Zheng R., Li H., Ye Y., Guan L., Li H., Ye Z., Yuan G., Zhang X., Wang G., Cao M., Zhang R., Jiang B. Clinicopathological features and prognostic analysis of 77 patients with multiple primary cancers. J BUON. 2020; 25(4): 2110–6.

28. Papaconstantinou D., Tsilimigras D.I., Moris D., Michalinos A., Mastoraki A., Mpaili E., Hasemaki N., Bakopoulos A., Filippou D., Schizas D. Synchronous resection of esophageal cancer and other organ malignancies: A systematic review. World J Gastroenterol. 2019; 25(26): 3438–49. doi: 10.3748/wjg.v25.i26.3438.

29. Dosanjh M., Cirilli M., Myers S., Navin S. Medical Applications at CERN and the ENLIGHT Network. Front Oncol. 2016; 6: 9. doi: 10.3389/fonc.2016.00009.

30. Zuppone S., Bresolin A., Spinelli A.E., Fallara G., Lucianò R., Scarfò F., Benigni F., Di Muzio N., Fiorino C., Briganti A., Salonia A., Montorsi F., Vago R., Cozzarini C. Pre-clinical Research on Bladder Toxicity After Radiotherapy for Pelvic Cancers: State-of-the Art and Challenges. Front Oncol. 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.527121.

31. Matta R., Chapple C.R., Fisch M., Heidenreich A., Herschorn S., Kodama R.T., Koontz B.F., Murphy D.G., Nguyen P.L., Nam R.K. Pelvic Complications After Prostate Cancer Radiation Therapy and Their Management: An International Collaborative Narrative Review. Eur Urol. 2019; 75(3): 464–76. doi: 10.1016/j.eururo.2018.12.003.

32. Kurose H., Ueda K., Nakiri M., Matsuo M., Suekane S., Igawa T. Synchronous primary triple urogenital malignant tumors of kidney, prostate and bladder. Urol Case Rep. 2020; 33. doi: 10.1016/j.eurcr.2020.101277.

33. Corvino A., Setola S.V., Sandomenico F., Corvino F., Catalano O. Synchronous tumours detected during cancer patient staging: prevalence and patterns of occurrence in multidetector computed tomography. Pol J Radiol. 2020; 85: 261–70. doi: 10.5114/pjr.2020.95781.

34. Godara A., Kumar A., Miller K.B., Saif M.W. Myelodysplastic Syndrome in Patients with Gastro-Pancreatic Malignancies: A Case Series and Review of Literature. Cancer Med J. 2021; 4(2): 52–9.

35. Kim Y.I., Park J.Y., Kim B.J., Hwang H.W., Hong S.A., Kim J.G. Risk of metachronous gastric neoplasm occurrence during intermediate-term follow-up period after endoscopic submucosal dissection for gastric dysplasia. Sci Rep. 2020; 10(1): 6747. doi: 10.1038/s41598-020-63722-0.

36. Inaba S., Hirayama H., Nagata C., Kurisu Y., Takatsuka N., Kawakami N., Shimizu H. Evaluation of a screening program on reduction of gastric cancer mortality in Japan: preliminary results from a cohort study. Prev Med. 1999; 29(2): 102–6. doi: 10.1006/pmed.1999.0507.

37. Abe S., Oda I., Minagawa T., Sekiguchi M., Nonaka S., Suzuki H., Yoshinaga S., Bhatt A., Saito Y. Metachronous Gastric Cancer Following Curative Endoscopic Resection of Early Gastric Cancer. Clin Endosc. 2018; 51(3): 253–9. doi: 10.5946/ce.2017.104.

38. Tae C.H., Shim K.N., Kim B.W., Kim J.H., Hong S.J., Baik G.H., Song H.J., Kim Y.S., Jang S.H., Jung H.K. Comparison of subjective quality of life after endoscopic submucosal resection or surgery for early gastric cancer. Sci Rep. 2020; 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-62854-7.

39. Hahn K.Y., Park J.C., Kim E.H., Shin S., Park C.H., Chung H., Shin S.K., Lee S.K., Lee Y.C. Incidence and impact of scheduled endoscopic surveillance on recurrence after curative endoscopic resection for early gastric cancer. Gastrointest Endosc. 2016; 84(4): 628–38. doi: 10.1016/j.gie.2016.03.1404.

40. Kim J.L., Kim S.G., Kim J., Park J.Y., Yang H.J., Kim H.J., Chung H. Clinical Outcomes of Metachronous Gastric Cancer after Endoscopic Resection for Early Gastric Cancer. Gut Liver. 2020; 14(2): 190–8. doi: 10.5009/gnl18575.

41. IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans: some industrial chemicals. Lyon, 15–22 February 1994. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 1994; 60: 1–560.

42. Casuscelli J., Becerra M.F., Seier K., Manley B.J., Benfante N., Redzematovic A., Stief C.G., Hsieh J.J., Tickoo S.K., Reuter V.E., Coleman J.A., Russo P., Ostrovnya I., Hakimi A.A. Chromophobe Renal Cell Carcinoma: Results From a Large Single-Institution Series. Clin Genitourin Cancer. 2019; 17(5): 373–9. doi: 10.1016/j.clgc.2019.06.011.

43. Yang F., Zhao Z.C., Hu A.J., Sun P.F., Zhang B., Yu M.C., Wang J. Synchronous sporadic bilateral multiple chromophobe renal cell carcinoma accompanied by a clear cell carcinoma and a cyst: A case report. World J Clin Cases. 2020; 8(14): 3064–73. doi: 10.12998/wjcc.v8.i14.3064.

44. Badowska-Kozakiewicz A.M., Budzik M.P., Koczkodaj P., Przybylski J. Selected tumor markers in the routine diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma. Arch Med Sci. 2016; 12(4): 856–63. doi: 10.5114/aoms.2015.51188.

45. Kenigsberg A.P., Meng X., Ghandour R., Margulis V. Oncologic outcomes of radical nephroureterectomy (RNU). Transl Androl Urol. 2020; 9(4): 1841–52. doi: 10.21037/tau.2019.12.29.

46. Yang H.Y., Yang C.C., Wu C.Y., Wang L.J., Lu K.L. Aristolochic Acid and Immunotherapy for Urothelial Carcinoma: Directions for unmet Needs. Int J Mol Sci. 2019; 20(13): 3162. doi: 10.3390/ijms20133162.

47. Wu K., Liang J., Lu Y. Risk factors and survival outcomes of metachronous contralateral upper tract urothelial carcinoma. Sci Rep. 2020; 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-73699-5.

Поступила/Received 30.05.2021
Одобрена после рецензирования/Revised 21.09.2021
Принята к публикации/Accepted 12.10.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Хланта Даяна Арсеновна, ординатор кафедры онкологии и лучевой терапии, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2672-8124. ORCID: 0000-0002-9106-5277.

Генс Елена Петровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой онкологии и лучевой терапии, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3867-9491. Author ID (Scopus): 26537295500. ORCID: 0000-0001-8708-2712.

ВКЛАД АВТОРОВ

Хланта Даяна Арсеновна: получение и анализ данных, составление черновика рукописи, подготовка иллюстраций, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Генс Елена Петровна: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Daiana A. Khlanta, MD, Resident of the Department of Oncology and Radiation Therapy, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9106-5277.

Gelena P. Gens, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncology and Radiation Therapy, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 26537295500. ORCID: 0000-0001-8708-2712.

AUTHOR CONTRIBUTION

Daiana A. Khlanta: data acquisition and analysis, drafting of the manuscript, preparation of illustrations, final approval of the published version of the manuscript.

Gelena P. Gens: development of the concept of scientific work, analysis of scientific work, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, final approval of the published version of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-156-164

УДК: 618.11-006.6-08

Для цитирования: Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Фесик Е.А., Иванова А.А., Юнусова Н.В., Чуруксаева О.Н. Клинический случай повторного применения PARP-ингибиторов у больной с *mBRCA*-ассоциированным раком яичников. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 156–164. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-156-164

For citation: Villert A.B., Kolomiets L.A., Fesik Y.A., Ivanova A.A., Yunusova N.V., Churuksaeva O.N. A clinical case of repeat use of PARP inhibitors in a patient with *mBRCA*-associated ovarian cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 156–164. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-156-164

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ПОВТОРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ PARP-ИНГИБИТОРОВ У БОЛЬНОЙ С *mBRCA*-АССОЦИИРОВАННЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

А.Б. Виллерт¹, Л.А. Коломиец^{1,2}, Е.А. Фесик¹, А.А. Иванова¹, Н.В. Юнусова^{1,2},
О.Н. Чуруксаева¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: avillert@yandex.ru¹
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия²
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

Аннотация

Актуальность. Серозная карцинома высокой степени злокачественности (HG) – наиболее распространенный подтип рака яичника. Частота герминальных мутаций *BRCA1,2* наибольшая при HG серозном раке яичников. Пациентки с герминальными мутациями генов *BRCA* более склонны реагировать на химиотерапию на основе платины. Клинические исследования демонстрируют эффективность PARP-ингибиторов в лечении *BRCA*-ассоциированного рака яичника. Повторное назначение курсов поддерживающей терапии PARP-ингибиторами после ответа на химиотерапию на основе препаратов платины демонстрирует увеличение выживаемости без прогрессирования независимо от *BRCA*-статуса и является актуальным для изучения с точки зрения понимания развития молекулярных механизмов резистентности к препаратам платины и ингибиторам PARP, а также с позиций разработки новых методов преодоления резистентности. **Описание клинического случая.** Данное наблюдение *BRCA*-ассоциированного наследственного рака яичников демонстрирует эффективность и хорошую переносимость PARP-ингибитора в поддерживающем режиме после терапии первого рецидива на протяжении 37 мес, а также повторное назначение PARP-ингибиторов после лечения второго рецидива. Курс повторной терапии был непродолжительным и сопровождался развитием множественной лекарственной устойчивости. Общая выживаемость составила 112 мес. **Заключение.** Наличие мутаций генов *BRCA1,2* является обоснованием для поддерживающей терапии PARP-ингибиторами, которые рассматриваются в качестве дополнительной опции поддерживающей терапии, улучшающей результаты лечения рака яичников. Повторное назначение PARP-ингибиторов при последующих рецидивах рака яичников рассматривается в качестве возможной терапевтической опции. Расшифровка молекулярных механизмов устойчивости к PARP-ингибиторам имеет значение для разработки новых методов преодоления химиорезистентности, повторного восстановления чувствительности опухоли к препаратам платины или PARP-ингибиторам.

Ключевые слова: рак яичников, платиночувствительный рецидив, *BRCA1*, *BRCA2*, мутация, повторный курс терапии PARP-ингибиторами.

A CLINICAL CASE OF REPEAT USE OF PARP INHIBITORS IN A PATIENT WITH *mBRCA*-ASSOCIATED OVARIAN CANCER

A.B. Villert¹, L.A. Kolomiets^{1,2}, Y.A. Fesik¹, A.A. Ivanova¹, N.V. Yunusova^{1,2}, O.N. Churuxsaeva¹

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

5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia. E-mail: avillert@yandex.ru¹

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

2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia²

Abstract

Background. High-grade serous ovarian carcinoma (HGSOC) is the most common type of ovarian cancer. The prevalence of *BRCA1/2* germline mutations is the highest in HGSOC. Patients with germline *BRCA* gene mutations are more likely to respond to platinum-based chemotherapy. Clinical trials demonstrate the effectiveness of PARP inhibitors in the treatment of *BRCA*-associated ovarian cancer. Re-administration of PARP inhibitors after response to platinum-based chemotherapy demonstrates an increase in progression-free survival rates regardless of *BRCA* status. It is important for understanding the development of molecular mechanisms of resistance to platinum drugs and PARP inhibitors, as well as for developing new treatment strategies and tools to overcome resistance. **Case description.** This clinical case of *BRCA*-associated hereditary ovarian cancer demonstrates the efficacy and good tolerability of PARP inhibitor maintenance therapy following the treatment of the first relapse, as well as the efficacy of re-administration of PARP inhibitors following the treatment of the second relapse. The short-course of re-treatment with PARP inhibitors was accompanied by the development of multidrug resistance. The overall survival time was 112 months. **Conclusion.** The presence of mutations in *BRCA1/2* genes is a promising justification for the administration of maintenance therapy with PARP inhibitors. Re-administration of PARP inhibitor maintenance therapy for relapsed ovarian cancer is currently being considered as a possible therapeutic option. Deciphering the molecular mechanisms of resistance to PARP inhibitors is of paramount importance for the development of new treatment strategies and tools to overcome chemoresistance, re-sensitization of the tumor to platinum-based drugs or PARP inhibitors.

Key words: ovarian cancer, platinum-sensitive relapse, *BRCA1*, *BRCA2* mutation, re-administration of PARP inhibitor therapy.

Рак яичников (РЯ) является 5-м по распространенности и 4-м по частоте причин смерти типом рака у женщин и наиболее летальным гинекологическим злокачественным новообразованием. Больше половины впервые выявленных больных умирают в течение первых двух лет. Даже при локализованных формах РЯ после комбинированного лечения 25–40 % пациенток погибают в дальнейшем от рецидивов заболевания [1]. Хотя последние данные свидетельствуют, что уровень заболеваемости РЯ начал снижаться с середины 1980-х гг., уменьшаясь с 2007–2016 гг. со скоростью 1,6 % в год, а смертность от РЯ начала снижаться с начала 2000-х гг., с 2008–2017 гг. со скоростью 2,3 % в год, перспектива значимо влиять на эти показатели пока невысокая. Это связано с тем, что программы скрининга при этой патологии не эффективны, подходы к лечению серьезно не изменились за текущие десятилетия. Основу лечения РЯ составляют первичная циторедуктивная операция с последующей химиотерапией комбинацией производных платины (цисплатин или карбоплатин) и таксанов. В то же

время наметились пути улучшения результатов лечения этой категории больных, прежде всего, это касается наследственного РЯ.

Роль генетического фактора в этиологии РЯ имеет особую значимость. При наличии генетической предрасположенности предполагаемый риск развития РЯ для женщины в популяции составляет примерно 1 из 54. У женщин с родственницами, заболевшими РЯ или раком молочной железы первой степени родства, риск заболеть РЯ увеличивается более чем в 2 раза по сравнению с женщинами без семейного анамнеза. На синдром рака молочной железы и яичников (breast-ovarian cancer syndrom) приходится 90–95 % всех случаев наследственного рака, большинство из которых связано с мутациями генов *BRCA1,2*. Частота мутаций в генах *BRCA* у больных РЯ на территории РФ варьирует в пределах от 4,1 до 25 %. Последние данные свидетельствуют, что частота *BRCA1/2m* в российской популяции достигает 28,4 % [2–6].

Средний возраст диагностики РЯ у пациенток с мутацией *BRCA1* на 5–10 лет меньше, чем средний возраст диагностики у пациенток с *BRCA*

дикого типа (*wtBRCA*) (хотя пациентки с *BRCA2m* не демонстрируют столь значимых различий возраста, по сравнению с *wtBRCA*) [6–8]. Показаны значительные различия в ответе на лечение и в выживаемости между популяциями больных РЯ *mBRCA* и *wtBRCA*, в т. ч. при одинаковом объеме операции [9, 10]. Есть данные однофакторного анализа, что для *mBRCA* больных РЯ поздняя стадия опухоли и субоптимальное удаление опухоли значимо связаны с уменьшением выживаемости. При многофакторном анализе только оптимальность первичной циторедуктивной операции имеет независимое прогностическое влияние на выживаемость. Показатели выживаемости для *mBRCA* пациенток при неоптимальной циторедукции аналогичны таковым у больных, отрицательных по мутациям, но с оптимально удаленной опухолью [9]. Данные исследований демонстрируют улучшение выживаемости у носителей мутаций *BRCA2*, которые имели наибольшие показатели выживаемости, за ними следуют носители мутации *BRCA1*, а далее – носители немутированного гена (*wtBRCA*) [11–15].

Известно, что пациентки с герминальными мутациями генов *BRCA* более склонны реагировать на химиотерапию на основе платины, проводимую в первичном лечении либо в лечении рецидивов. Эти больные имеют тенденцию сохранять чувствительность к платине в течение более длительного времени, чем пациентки без мутации *BRCA* [9, 16]. Среди пациенток с рецидивом заболевания носители герминальной мутации *BRCA* имеют более высокий уровень ответа и на ряд не платиносодержащих химиотерапевтических средств, чем пациентки без мутации, в т. ч. на пегилированный липосомальный доксорубин (56,5 против 19,5 %), трабектин (47,8 против 31,2 %) и циклофосфамид, что приводит к увеличению продолжительности жизни [17, 18]. В клинической практике у больных РЯ с герминальными *BRCA*-мутациями с большей вероятностью повторно назначаются платиносодержащие схемы химиотерапии.

Наблюдение за объективным ответом на терапию препаратами платины во второй линии у пациенток с положительной мутацией и ранним рецидивом после первичного лечения поставило под сомнение обычно используемое определение устойчивости к препаратам платины, т. е. прогрессирование в течение 6 мес после химиотерапии первой линии [19, 20]. Высокий уровень ответа на терапию рецидива препаратами платины свидетельствует о целесообразности их использования, пока не будет наблюдаться явное прогрессирование опухоли [9].

Генетическая составляющая представляет собой основу, определяющую успех в лечении больных РЯ: оправданность поддерживающего лечения у *BRCA*-мутированных пациенток [9]. Несмотря на то, что наличие мутаций генов *BRCA1,2* считается

прогностическим биомаркером ответа на лечение [21], до внедрения в клиническую практику ингибиторов поли-АДФ-рибозо-полимеразы (PARP) знание статуса *BRCA* пациентки оказывало незначительное влияние на тактику лечения РЯ. Все формы РЯ, за исключением клинических исследований, проведенных в течение последних 20 лет, рассматривались как единое целое. Данные представления изменились в результате клинических исследований, демонстрирующих эффективность PARP-ингибитора олапариба [22–24].

Белки, кодируемые геном *BRCA*, участвуют в репарации двунитевых разрывов ДНК по механизму гомологичной рекомбинации, обеспечивая целостность генома. Мутации в генах *BRCA1/2* приводят к нарушению *BRCA*-ассоциированного механизма репарации ДНК. Белки суперсемейства PARP участвуют в репарации однострунчатых разрывов ДНК. Механизм действия ингибиторов PARP запускает процесс синтетической летальности. Синтетическая летальность является основой терапевтического подхода, который избирательно летален для опухолевых клеток, несущих оба дефекта систем репарации, но не токсичен для незлокачественных клеток, создавая тем самым значимое терапевтическое окно. О синтетической летальности, возникающей при обусловленных мутациями потерях функций генов *BRCA1*, или *BRCA2* и PARP-ингибировании впервые сообщено в 2005 г. [25]. В декабре 2014 г. олапариб был одобрен EMA (European Medicines Agency/Европейское медицинское агентство) для использования в качестве поддерживающей терапии у пациенток с рецидивом HG серозного РЯ с *BRCA 1/2m* (герминальной или соматической), чувствительным к платине [26]. После одобрения олапариба клиническая польза была продемонстрирована как при *mBRCA*, так и при *wtBRCA* при применении других лицензированных ингибиторов PARP – нирапариба и рукапариба [27, 28]. В последующем в исследовании SOLO2 олапариб сравнивали с плацебо в качестве поддерживающей терапии после завершения платиновой терапии платиночувствительного рецидива. Олапариб достоверно увеличил медиану времени до прогрессирования с 5,5 мес до 19,1 мес, что соответствовало снижению относительного риска прогрессирования на 70 % (HR=0,30; $p<0,0001$) [29]. На основании этого олапариб был зарегистрирован в России и рекомендован в качестве поддерживающей терапии платиносодержащей химиотерапии по поводу платиночувствительного рецидива.

Клиническое наблюдение

Больная П., 44 лет, находится под наблюдением в НИИ онкологии Томского НИМЦ с июля 2011 г. По месту жительства 15.07.11 выполнена оптимальная циторедуктивная операция в объеме экстирпации матки с придатками, оментэктомии. Гистологически данные за серозную карциному

высокой степени злокачественности (HG). Установлен диагноз: РЯ 1с стадии (T1cNxM0) (рис. 1). Проведено 6 курсов адъювантной химиотерапии по схеме цисплатин 75 мг/м^2 + циклофосфан 750 мг/м^2 каждые 3 нед.

Через 39 мес после завершения первичного лечения выявлен рецидив в виде объемного образования малого таза, размером $22 \times 19 \times 20 \text{ мм}$, лимфаденопатии наружных подвздошных лимфоузлов (до 7 мм) (рис. 2). Уровень СА-125 в плазме крови на момент выявления рецидива повысился незначительно: с 9 Ед/мл до 13,2 Ед/мл, HE4 – 92,8 ммоль/л. При молекулярно-генетическом тестировании методом Real-Time ПЦР выявлена мутация BRCA1 5382ins C (рис. 3). Проведено 6 курсов химиотерапии карбоплатином AUC6 каждые 3 нед с полным клиническим ответом (рис. 4).

Учитывая наличие герминальной мутации гена BRCA1 и полный клинический ответ на препараты платины, через 8 нед после завершения противорецидивного лечения начата поддерживающая терапия PARP-ингибитором. На фоне приема олапариба в дозе $400 \text{ мг} \times 2 \text{ раза/день}$ не отме-

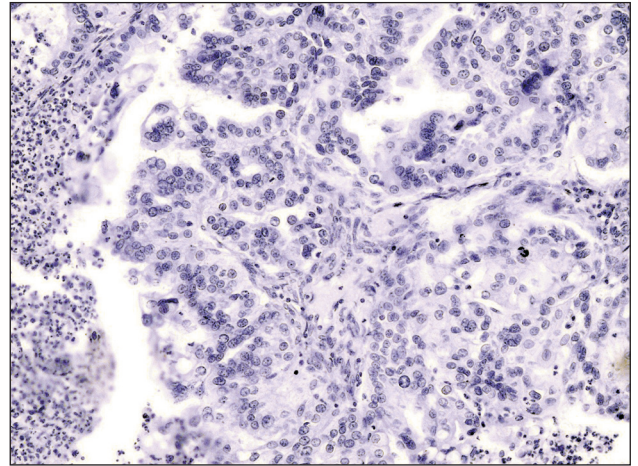


Рис. 1. Микрофото. Опухоль представлена железисто-криброзными структурами, построенными крупными умеренно полиморфными опухолевыми клетками с нормохромными ядрами, одним-двумя ядрышками с немногочисленными патологическими митозами.

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$

Fig. 1. Microphoto. The tumor consists of glandular-cribriform structures formed by large moderately polymorphic tumor cells with normochromic nuclei, one or two nucleoli with a few pathological mitoses. Hematoxylin and eosin staining, $\times 40$



Рис. 2. МРТ. В области культи влагалища справа на границе со стенкой прямой кишки определяется рецидивное объемное образование солидной структуры с неровными, четкими контурами, активно накапливающее контраст

Fig. 2. MRI shows a recurrent tumor of a solid structure with uneven, clear contours in the region of the vaginal stump on the right, at the border with the wall of the rectum

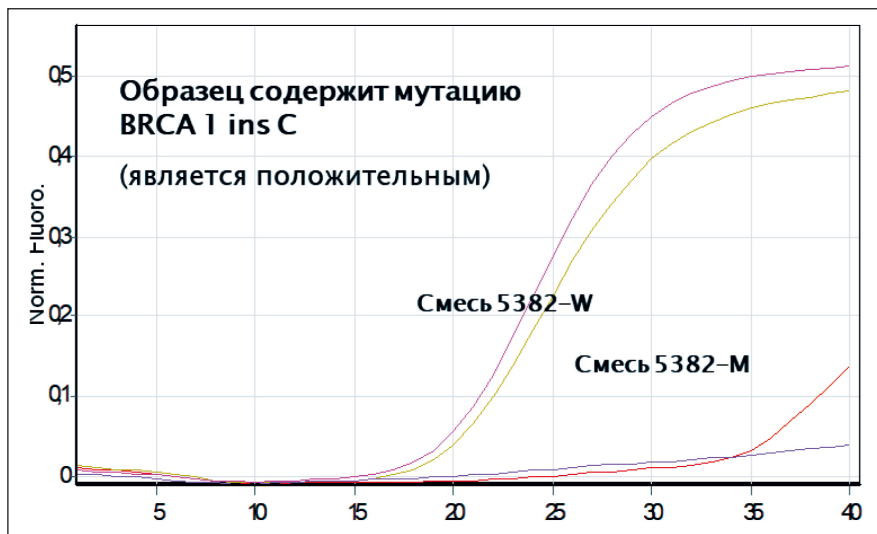


Рис. 3. Результат Real-Time ПЦР: Образец положительный (содержащий мутацию) – при использовании смеси праймеров 5382-W и 5382-M появление кривых амплификации, пересекающих порог флуоресценции с разницей не более чем в 1 цикл

Fig. 3. Real-Time PCR: Positive sample (containing a mutation): when using 5382-W and 5382-M primers, amplification curves crossing the fluorescence threshold with a difference of no more than 1 cycle appear

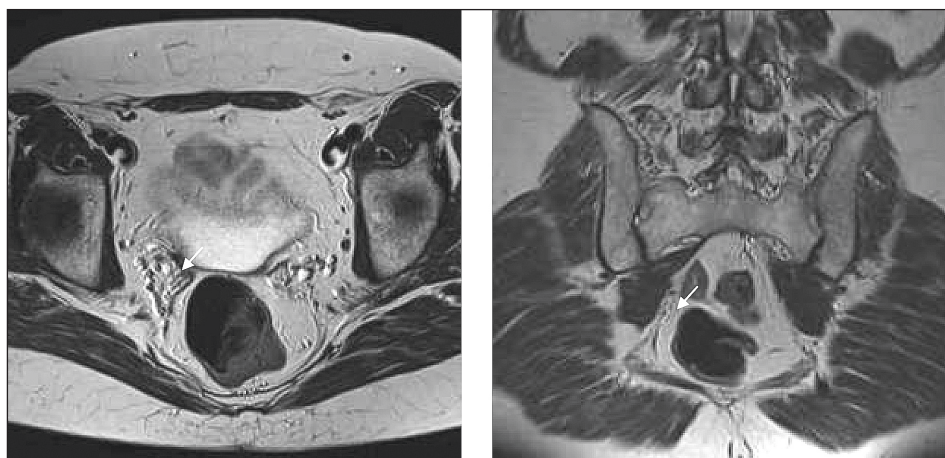


Рис. 4. МРТ. Признаки регресса рецидивного объемного образования малого таза
Fig. 4. MRI shows signs of regression of recurrent pelvic tumor (a, b).

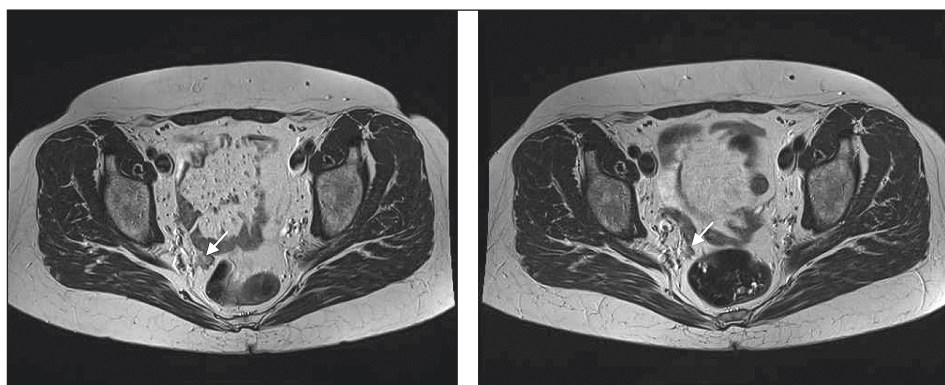


Рис. 5. МРТ. Признаки рецидивного объемного образования малого таза в области культи влагалища с распространением на параректальную клетчатку
Fig. 5. MRI. Signs of recurrent pelvic tumor in the area of the vaginal stump with spread to pararectal tissue

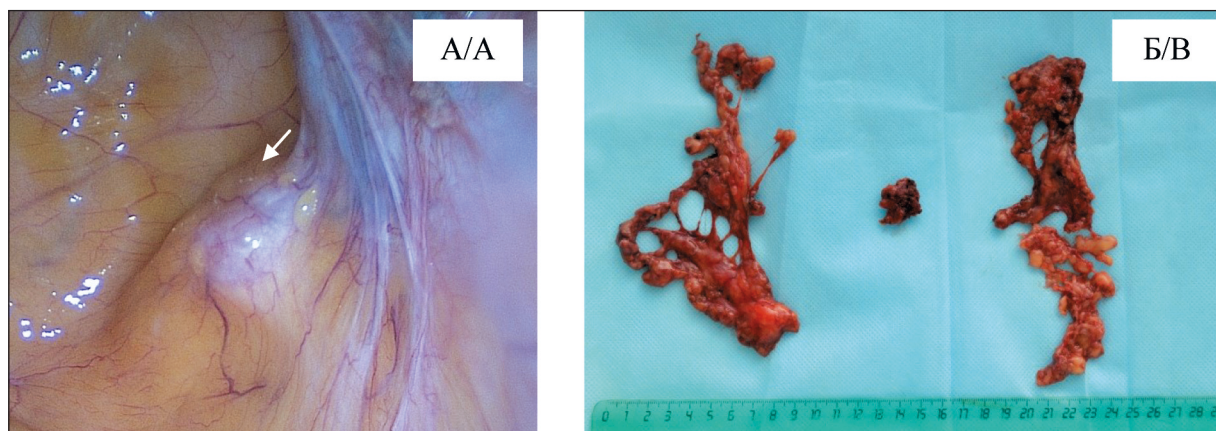


Рис. 6. Этап вторичной циторедуктивной операции: А – вид опухоли при лапароскопии, ревизии: опухоль в виде солидного участка до 12 мм расположена в подвздошной области справа; Б – макропрепарат: опухоль представлена узловым образованием плотной консистенции, тазовая клетчатка с лимфоузлами без признаков метастатического поражения
Fig. 6. Secondary cytoreductive surgery: А – laparoscopic view: solid tumor ≤ 12 mm, located in the right iliac region; В – macrospecimen: the tumor with hard consistency; pelvic lymph nodes without signs of metastases

чено значимых нежелательных явлений, признаки вегетососудистой дистонии по смешанному типу наблюдались только в начале лечения. Продолжительность лечения PARP-ингибитором – 37 мес. В ноябре 2018 г. пациентка отметила дискомфорт внизу живота. При УЗИ и МРТ органов малого таза выявлены признаки 2-го рецидива. Размеры рецидивной опухоли в малом тазу – $17 \times 11 \times 12$ мм, также при МРТ наблюдались признаки подвздошной лимфоаденопатии (рис. 5). Уровень сывороточных маркеров сохранялся в пределах нормы

(Ca-125 – 3,14 Ед/мл, HE4 – 76 ммоль/л). Проведено 2 курса противорецидивной химиотерапии – карбоплатин AUC5, паклитаксел 175 мг/м^2 каждые 3 нед. По результатам МРТ-контроля выявлены признаки частичного ответа – уменьшение опухоли до $10 \times 9 \times 11$ мм. После 2 курсов системной терапии 16.01.19 выполнена вторичная циторедуктивная операция в объеме лапароскопии, удаления рецидивной опухоли, тазовой лимфодиссекции, R0 (рис. 6). По данным гистологического исследования – серозная карцинома High grade (G3)

без метастазов в лимфатические узлы. Далее проведено 3 курса химиотерапии по прежней схеме с полной регрессией по данным инструментальных методов.

Общая выживаемость на данном этапе составила 93 мес. С учетом полного ответа на лечение 22.03.19 вновь начата поддерживающая терапия олапарибом в дозе 800 мг/сут ежедневно. Однако после 3 мес приема PARP-ингибитора в июне 2019 г. выявлено прогрессирование заболевания в виде нескольких рецидивных образований в малом тазу (20×11 и 15×9 мм) без клинических проявлений и без повышения сывороточных опухолевых маркеров (CA-125 – 3,14 Ед/мл, HE4 – 79,4 ммоль/л). Прием олапариба был прекращен. Системная химиотерапия проводилась в связи с прогрессированием заболевания, нарастанием канцероматоза, появлением и нарастанием асцита. В последующем больная получила несколько линий химиотерапии без эффекта и была переведена на симптоматическую терапию. Общая выживаемость составила 112 мес.

Обсуждение

Поддерживающая терапия PARP-ингибиторами у больных РЯ с мутациями генов *BRCA* является эффективным способом увеличения успешности лечения при отсутствии значимого влияния на качество жизни, что подтверждает и данное клиническое наблюдение. Возможность повторного назначения PARP-ингибиторов больным с рецидивирующим течением РЯ активно изучается. В первом исследовании, посвященном изучению эффективности повторных курсов терапии ингибиторами PARP, показано, что у пациенток, которым ранее назначались данные препараты, резистентность при их повторном применении не развивалась, и поэтому они могли получать пользу от повторного назначения ингибиторов PARP. Это было небольшое ретроспективное исследование, в которое включены 22 пациентки случая *BRCAm* РЯ. Больные повторно лечились одним из 3 одобренных FDA ингибиторов PARP: олапарибом (n=6), нирапарибом (n=10) и рукапарибом (n=6). После повторного лечения частичный ответ получен у 3 (13,6 %), стабилизация – у 13 (59,1 %) больных, в 3 (13,6 %) случаях болезнь прогрессировала [30].

В 2018 г. опубликованы предварительные [31] и недавно – окончательные, результаты двойного слепого исследования III фазы OReO/ENGOT Ov-38 (NCT03106987), которые свидетельствуют, что повторное назначение поддерживающей терапии олапарибом (Lynparza) после ответа на химиотерапию на основе препаратов платины приводило к увеличению выживаемости без прогрессирования у пациенток с рецидивами, независимо от *BRCA*-статуса [32]. В исследование были включены 220 пациенток, которые ранее получали 1 линию поддерживающей терапии ингибиторами PARP

продолжительностью не менее 18 мес после химиотерапии первой линии или не менее 12 мес после химиотерапии второй или более поздней линии и продемонстрировали ответ на противорецидивную химиотерапию на основе препаратов платины. В исследование включено 112 больных с рецидивами РЯ *mBRCA* и 108 пациенток с рецидивами РЯ *wtBRCA*, каждая из групп была рандомизирована 2:1 для терапии олапарибом или плацебо. Медиана продолжительности предшествующей терапии PARP-ингибиторами среди *mBRCA* больных составляла от 18,3 до 21,2 мес, среди *wtBRCA* больных – от 12,4 до 12,6 мес. Соответственно, в когорте *mBRCA* и *wtBRCA* ранее назначаемыми ингибиторами PARP были олапариб (91 vs 21,5 %), нирапариб (4,5 vs 61 %), рукапариб (3 vs 13,5 %), велипариб (0 vs 2 %), слепая терапия (0 vs 3,5 %) и плацебо (по 1,5 % в каждом случае). Статус дефицита гомологичной рекомбинации (HRD) был положительным примерно у 40 % *wtBRCA* пациенток и был неизвестен примерно в четверти случаев. Через 12 мес после рандомизации показатели ВБП в группе *mBRCA* больных составили 19 % по сравнению с 0 % в группе плацебо, в группе *wtBRCA* больных – 14 % и 0 % соответственно. Преимущество олапариба в отношении ВБП наблюдалось во всех подгруппах и не зависело от статуса HRD, за исключением пациенток, которые получали первичное лечение PARP-ингибиторами в течение короткого времени. Авторы подчеркивают важность определения молекулярных предикторов при осуществлении выбора между схемами системной терапии и терапией ингибиторами PARP.

Эта область является приоритетной для активного изучения именно сейчас, после уже доказанной клиническими исследованиями эффективности терапии PARP-ингибиторами. Имеется пока единственное проспективное рандомизированное клиническое исследование III фазы OReO, поставившее задачу выяснить, полезно ли повторное введение PARP-ингибиторов *mBRCA* больным [32]. У большинства пациентов с HG РЯ неизбежно реализуется врожденная или приобретенная резистентность к PARP-ингибиторам [34]. Описаны различные гетерогенные механизмы, лежащие в ее основе, к ним относятся снижение внутриклеточных концентраций препарата из-за активизации множественных насосов выброса лекарственных средств из клетки, потеря экспрессии или инактивирующие мутации в белке PARP, восстановление HR посредством реверсивных мутаций *BRCA* и эпигенетической активизации *BRCA1*, защита репликационной вилки, изменения в микроокружении опухоли и др. [33, 34].

Расшифровка молекулярных механизмов устойчивости к PARP-ингибиторам имеет первостепенное значение для разработки новых методов преодоления химиорезистентности, повторного восстановления чувствительности опухоли к

препаратам платины или PARP-ингибиторам [33, 34]. Многообещающими стратегиями являются ингибирование ATR, эпигенетическая ресенсибилизация посредством ингибирования DNMT, ингибирование контрольных точек клеточного цикла, комбинации с антиангиогенной терапией, ингибирование ВЕТ и др. Трансляционные исследования для выяснения механизмов резистентности должны быть включены в будущие клинические испытания, поскольку понимание этих биологи-

ческих механизмов имеет решающее значение для разработки новых терапевтических подходов в лечении распространенного и рецидивного РЯ [33]. Наличие мутаций генов *BRCA1,2* является обоснованием для дополнительной опции – поддерживающей терапии PARP-ингибиторами, улучшающей результаты лечения не только первичного и рецидивного рака яичника, но и при повторном использовании препарата.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Максимов С.Я., Хаджимба А.С., Ильин А.А., Соболев И.В. Роль повторных лапаротомий в лечении больных злокачественными опухолями яичников. Практическая онкология. 2014; 15(4): 176–85. [Maksimov S.Ya., Khadzhibba A.S., Il'in A.A., Sobolev I.V. The role of repeated laparotomies in the treatment of patients with malignant ovarian tumors. Practical Oncology. 2014; 15(4): 176–85. (in Russian)].
- Porhanova N.V., Sokolenko A.P., Sherina N.Y., Ponomariova D.N., Tkachenko N.N., Matsko D.E., Imyanitov E.N. Ovarian cancer patient with germline mutations in both BRCA1 and NBN genes. Cancer Genet Cyto-genet. 2008; 186(2): 122–4. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2008.06.012.
- Смирнова Т.Ю., Любченко Л.Н., Поспехова Н.И., Портной С.М., Жорданина К.И., Гарькавцева Р.Ф., Карпухин А.В. Рак молочной железы и яичников. Роль наследственных факторов. Tumors of the female reproductive system. 2007; 4: 90–6. [Smirnova T.Yu., Lyubchenko L.N., Pospekhova N.I., Portnoi S.M., Zhordanina K.I., Gar'kavtseva R.F., Karpukhin A.V. Breast and ovarian cancer. The role of hereditary traits. Tumors of the female reproductive system. 2007; 4: 90–6. (in Russian)].
- Федорова О.Е., Любченко Л.Н., Паяниди Ю.Г., Казубская Т.П., Амосенко Ф.А., Гарькавцева Р.Ф., Заседателев А.С., Наседкина Т.В. Использование биочипов при изучении распространенных мутаций в генах BRCA1/2 и CHEK2 у больных органоспецифическим раком яичников и первично-множественными злокачественными новообразованиями с поражением яичников (российская популяция). Молекулярная биология. 2007; 41(1): 37–42. [Fedorova O.E., Lyubchenko L.N., Payanidi Yu.G., Kazubskaya T.P., Amosenko F.A., Gar'kavtseva R.F., Zasedatelev A.S., Nasedkina T.V. Biochip analysis of BRCA1/2 and CHEK2 common mutations in ovarian cancer and primary multiple tumors involving the ovaries (Russian population). Molecular Biology. 2007; 41(1): 37–42. (in Russian)].
- Анисименко М.С., Афанасьева Н.А., Часовникова О.Б., Красильников С.Э., Гуляева Л.Ф., Коваленко С.П. Анализ встречаемости мутации 5382TinsC в гене BRCA1 у больных раком яичников в Сибирском регионе. Сибирский онкологический журнал. 2013; 52(4): 39–42. [Anisimenko M.S., Afanasieva N.A., Chasovnikova O.B., Krasilnikov S.E., Gulyaeva L.F., Kovalenko S.P. The incidence of mutation BRCA1 5382TinsC in ovarian cancer patients in Siberian region, Russia. Siberian Journal of Oncology. 2013; 52(4): 39–42. (in Russian)].
- Tyulyandina A., Gorbunova V., Khokhlova S., Kolomiets L. Profile of BRCA1/BRCA2 mutations in Russian ovarian cancer population detected by NGS and MLPA analysis: Interim results of OVATAR study. Proc Am Assoc Cancer Res. 2018. 59: 320. doi: 0.1200/JCO.2019.37.15_suppl.e13111.
- Zhang S., Royer R., Li S., McLaughlin J.R., Rosen B., Risch H.A., Fan I., Bradley L., Shaw P.A., Narod S.A. Frequencies of BRCA1 and BRCA2 mutations among 1,342 unselected patients with invasive ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2011; 121(2): 353–7. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.01.020.
- Pal T., Permeth-Wey J., Betts J.A., Krischer J.P., Fiorica J., Arango H., LaPolla J., Hoffman M., Martino M.A., Wakeley K., Wilbanks G., Nicosia S., Cantor A., Sutphen R. BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases. Cancer. 2005; 104(12): 2807–16. https://doi.org/10.1002/ncr.21536.
- Kentwell M., Dow E., Antill Y., Wrede C.D., McNally O., Higgs E., Hamilton A., Ananda S., Lindeman G.J., Scott C.L. Mainstreaming cancer genetics: A model integrating germline BRCA testing into routine ovarian cancer clinics. Gynecol Oncol. 2017; 145(1): 130–6. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.01.030.
- Alsop K., Fereday S., Meldrum C., deFazio A., Emmanuel C., George J., Dobrovic A., Birrer M.J., Webb P.M., Stewart C., Friedlander M., Fox S., Bowtell D., Mitchell G. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. J Clin Oncol. 2012; 30(21): 2654–63. doi: 10.1200/JCO.2011.39.8545. 2012. Erratum in: J Clin Oncol. 2012; 30(33): 4180.
- Plaskocinska I., Shipman H., Drummond J., Thompson E., Buchanan V., Newcombe B., Hodgkin C., Barter E., Ridley P., Ng R., Miller S., Dann A., Licence V., Webb H., Tan L.T., Daly M., Ayers S., Rufford B., Earl H., Parkinson C., Duncan T., Jimenez-Linan M., Sagoo G.S., Abbs S., Hulbert-Williams N., Pharoah P., Crawford R., Brenton J.D., Tischkowitz M. New paradigms for BRCA1/BRCA2 testing in women with ovarian cancer: results of the Genetic Testing in Epithelial Ovarian Cancer (GTEOC) study. J Med Genet. 2016; 53(10): 655–61. doi: 10.1136/jmedgenet-2016-103902.
- Yang D., Khan S., Sun Y., Hess K., Shmulevich I., Sood A.K., Zhang W. Association of BRCA1 and BRCA2 mutations with survival, chemotherapy sensitivity, and gene mutator phenotype in patients with ovarian cancer. JAMA. 2011; 306(14): 1557–65. doi: 10.1001/jama.2011.1456. Erratum in: JAMA. 2012 Jan 25; 307(4): 363.
- Bolton K.L., Chenevix-Trench G., Goh C., Sadetzki S., Ramus S.J., Karlan B.Y., Lambrechts D., Despierre E., Barrowdale D., McGuffog L., Healey S., Easton D.F., Sinilnikova O., Benitez J., Garcia M.J., Neuhausen S., Gail M.H., Hartge P., Peock S., Frost D., Evans D.G., Eeles R., Godwin A.K., Daly M.B., Kwong A., Ma E.S., Lázaro C., Blanco I., Montagna M., D'Andrea E., Nicoletto M.O., Johnatty S.E., Kjaer S.K., Jensen A., Hogdall E., Goode E.L., Fridley B.L., Loud J.T., Greene M.H., Mai P.L., Chetrit A., Lubin F., Hirsh-Yechezkel G., Glendon G., Andrulis L.L., Toland A.E., Senter L., Gore M.E., Gourley C., Michie C.O., Song H., Tyrer J., Whittemore A.S., McGuire V., Sieh W., Kristofferson U., Olsson H., Borg Å., Levine D.A., Steele L., Beattie M.S., Chan S., Nussbaum R.L., Moysich K.B., Gross J., Cass I., Walsh C., Li A.J., Leuchter R., Gordon O., Garcia-Closas M., Gayther S.A., Chanock S.J., Antoniou A.C., Pharoah P.D.; EMBRACE; kConFab Investigators; Cancer Genome Atlas Research Network. Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer. JAMA. 2012; 307(4): 382–90. doi: 10.1001/jama.2012.20.
- Liu J., Cristea M.C., Frankel P., Neuhausen S.L., Steele L., Engelstaedter V., Matulonis U., Sand S., Tung N., Garber J.E., Weitzel J.N. Clinical characteristics and outcomes of BRCA-associated ovarian cancer: genotype and survival. Cancer Genet. 2012; 205(1–2): 34–41. doi: 10.1016/j.cancergen.2012.01.008.
- Candido-dos-Reis F.J., Song H., Goode E.L., Cunningham J.M., Fridley B.L., Larson M.C., Alsop K., Dicks E., Harrington P., Ramus S.J., de Fazio A., Mitchell G., Fereday S., Bolton K.L., Gourley C., Michie C., Karlan B., Lester J., Walsh C., Cass I., Olsson H., Gore M., Benitez J.J., Garcia M.J., Andrulis L., Mulligan A.M., Glendon G., Blanco I., Lázaro C., Whittemore A.S., McGuire V., Sieh W., Montagna M., Alducci E., Sadetzki S., Chetrit A., Kwong A., Kjaer S.K., Jensen A., Hogdall E., Neuhausen S., Nussbaum R., Daly M., Greene M.H., Mai P.L., Loud J.T., Moysich K., Toland A.E., Lambrechts D., Ellis S., Frost D., Brenton J.D., Tischkowitz M., Easton D.F., Antoniou A., Chenevix-Trench G., Gayther S.A., Bowtell D., Pharoah P.D.; for EMBRACE; kConFab Investigators; Australian Ovarian Cancer Study Group. Germline mutation in BRCA1 or BRCA2 and ten-year survival for women diagnosed with epithelial ovarian cancer. Clin Cancer Res. 2015; 21(3): 652–7. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2497.
- Fox E., McCuaig J., Demsky R., Shuman C., Chitayat D., Maganti M., Murphy J., Rosen B., Ferguson S., Randall Armel S. The sooner the better: Genetic testing following ovarian cancer diagnosis. Gynecol Oncol. 2015; 137(3): 423–9. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.03.057.
- Tan D.S., Rothermundt C., Thomas K., Bancroft E., Eeles R., Shanley S., Arderm-Jones A., Norman A., Kaye S.B., Gore M.E. “BRCAness” syndrome in ovarian cancer: a case-control study describing the clinical features and outcome of patients with epithelial ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations. J Clin Oncol. 2008; 26(34): 5530–6. doi: 10.1200/JCO.2008.16.1703.
- Adams S.F., Marsh E.B., Elmasri W., Halberstadt S., Vandecker S., Sammel M.D., Bradbury A.R., Daly M., Karlan B., Rubin S.C. A high response rate to liposomal doxorubicin is seen among women with BRCA mutations treated for recurrent epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2011; 123(3): 486–91. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.08.032.

19. Lorusso D., Scambia G., Pignata S., Sorio R., Amadio G., Lepori S., Mosconi A., Pisano C., Mangili G., Maltese G., Sabbatini R., Artioli G., Gamucci T., Di Napoli M., Capoluongo E., Ludovini V., Raspagliesi F., Ferrandina G. Prospective phase II trial of trabectedin in BRCA-mutated and/or BRCA-phenotype recurrent ovarian cancer patients: the MITO 15 trial. *Ann Oncol.* 2016; 27(3): 487–93. doi: 10.1093/annonc/mdv608.
20. Eisenhauer E.A., Vermorken J.B., van Glabbeke M. Predictors of response to subsequent chemotherapy in platinum pretreated ovarian cancer: a multivariate analysis of 704 patients [see comments]. *Ann Oncol.* 1997; 8(10): 963–8. doi: 10.1023/a:1008240421028.
21. Cannistra S.A. Cancer of the ovary. *N Engl J Med.* 2004; 351(24): 2519–29. doi: 10.1056/NEJMra041842. Erratum in: *N Engl J Med.* 2005; 352(1):104.
22. George A., Kaye S., Banerjee S. Delivering widespread BRCA testing and PARP inhibition to patients with ovarian cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017; 14(5): 284–96. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.191.
23. Fong P.C., Yap T.A., Boss D.S., Carden C.P., Mergui-Roelvink M., Gourley C., De Greve J., Lubinski J., Shanley S., Messiou C., A'Hern R., Tutt A., Ashworth A., Stone J., Carmichael J., Schellens J.H., de Bono J.S., Kaye S.B. Poly(ADP)-ribose polymerase inhibition: frequent durable responses in BRCA carrier ovarian cancer correlating with platinum-free interval. *J Clin Oncol.* 2010; 28(15): 2512–9. doi: 10.1200/JCO.2009.26.9589.
24. Swisher E.M., Lin K.K., Oza A.M., Scott C.L., Giordano H., Sun J., Konecny G.E., Coleman R.L., Tinker A.V., O'Malley D.M., Kristeleit R.S., Ma L., Bell-McGuinn K.M., Brenton J.D., Cragun J.M., Oaknin A., Ray-Coquard I., Harrell M.I., Mann E., Kaufmann S.H., Floquet A., Leary A., Harding T.C., Goble S., Maloney L., Isaacson J., Allen A.R., Rolfe L., Yelensky R., Raponi M., McNeish I.A. Rucaparib in relapsed, platinum-sensitive high-grade ovarian carcinoma (ARIEL2 Part 1): an international, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017; 18(1): 75–87. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30559-9.
25. Ledermann J., Harter P., Gourley C., Friedlander M., Vergote I., Rustin G., Scott C.L., Meier W., Shapira-Frommer R., Safra T., Matei D., Fielding A., Spencer S., Dougherty B., Orr M., Hodgson D., Barrett J.C., Matulonis U. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2014; 15(8): 852–61. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70228-1.
26. Farmer H., McCabe N., Lord C.J., Tutt A.N., Johnson D.A., Richardson T.B., Santaros A.M., Dillon K.J., Hickson I., Knights C., Martin N.M., Jackson S.P., Smith G.C., Ashworth A. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature.* 2005; 434(7035): 917–21. doi: 10.1038/nature03445.
27. The European Medicines Agency [Internet]. 2014. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003726/human_med_001831.jsp&mid=WC06b01ac058001d124 [cited 2022 Jan 11].
28. Mirza M.R., Monk B.J., Herrstedt J., Oza A.M., Mahner S., Redondo A., Fabbro M., Ledermann J.A., Lorusso D., Vergote I., Ben-Baruch N.E., Marth C., Mady R., Christensen R.D., Berek J.S., Dörum A., Tinker A.V., du Bois A., González-Martín A., Follana P., Benigno B., Rosenberg P., Gilbert L., Rimel B.J., Buscema J., Balser J.P., Agarwal S., Matulonis U.A.; ENGOT-OV16/NOVA Investigators. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2016; 375(22): 2154–64. doi: 10.1056/NEJMoa1611310.
29. Coleman R.L., Oza A.M., Lorusso D., Aghajanian C., Oaknin A., Dean A., Colombo N., Weberpals J.L., Clamp A., Scambia G., Leary A., Holloway R.W., Gancedo M.A., Fong P.C., Goh J.C., O'Malley D.M., Armstrong D.K., Garcia-Donas J., Swisher E.M., Floquet A., Konecny G.E., McNeish I.A., Scott C.L., Cameron T., Maloney L., Isaacson J., Goble S., Grace C., Harding T.C., Raponi M., Sun J., Lin K.K., Giordano H., Ledermann J.A.; ARIEL3 investigators. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2017; 390(10106): 1949–61. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32440-6. Erratum in: *Lancet.* 2017; 390(10106): 1948.
30. Essel K.G., Behbakht K., Lai T., Hand L., Evans E., Dvorak J., Ding K., Konecny G., Moore K.N. PARPi after PARPi in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol Rep.* 2021; 35: 100699. doi: 10.1016/j.gore.2021.100699.
31. Pujade-Lauraine E., Ledermann J.A., Selle F., Gebski V., Penson R.T., Oza A.M., Korach J., Huzarski T., Poveda A., Pignata S., Friedlander M., Colombo N., Harter P., Fujiwara K., Ray-Coquard I., Banerjee S., Liu J., Lowe E.S., Bloomfield R., Pautier P.; SOLO2/ENGOT-Ov21 investigators. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017; 18(9): 1274–84. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30469-2.
32. Pujade-Lauraine E., Selle F., Scambia G., Asselain B., Marme F., Lindemann K., Colombo N., Madry R., Glasspool R.M., Dubot C., Oaknin A., Zamagni C., Heitz F., Gladiéff L., Rubio-Perez M.J., Scallo P., Blakeley C., Shaw B., Ray-Coquard I.L., Redondo A. Maintenance olaparib rechallenge in patients (pts) with ovarian carcinoma (OC) previously treated with a PARP inhibitor (PARPi): phase IIIb OREO/ENGOT Ov-38 trial. *Annals of Oncology.* 2021; 32: 1308–9. doi: 10.1016/j.annonc.2021.08.2110.
33. McMullen M., Karakasis K., Madariaga A., Oza A.M. Overcoming Platinum and PARP-Inhibitor Resistance in Ovarian Cancer. *Cancers (Basel).* 2020; 12(6): 1607. doi: 10.3390/cancers12061607.
34. Chiappa M., Guffanti F., Bertoni F., Colombo I., Damia G. Overcoming PARPi resistance: Preclinical and clinical evidence in ovarian cancer. *Drug Resist Updat.* 2021; 55: 100744. doi: 10.1016/j.drug.2021.100744.

Поступила/Received 11.02.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 06.07.2022

Принята к публикации/Accepted 25.06.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Виллерт Алиса Борисовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения онкогинекологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: avillert@yandex.ru. SPIN-код: 1975-0042. Researcher ID (WOS): J-3140-2017. Author ID (Scopus): 16039933700. ORCID: 0000-0002-2773-1917.

Коломиец Лариса Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением онкогинекологии, 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: 6316-1146. Researcher ID (WOS): C-8573-2012. Author ID (Scopus): 7004921120. ORCID: 0000-0002-6854-8940.

Фесик Евгения Анатольевна, кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6622-7291. Researcher ID (WOS): D-2335-2012.

Иванова Анна Александровна, кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия).

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 (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3513-1888. Researcher ID (WOS): C-9275-2012. Author ID (Scopus): 8354141400. ORCID: 0000-0003-4595-4177.

Чуруксаева Ольга Николаевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения онкогинекологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): C-8601-2012. Author ID (Scopus): 6504391579. ORCID: 0000-0003-3439-8830.

ВКЛАД АВТОРОВ

Виллерт Алиса Борисовна: разработка концепции и анализ научной работы, клиническая работа, составление черновика рукописи.

Коломиец Лариса Александровна: разработка концепции и анализ научного направления, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Фесик Евгения Анатольевна: клиническая часть работы, связанная с патоморфологическими методиками, внесением ценного интеллектуального содержания.

Иванова Анна Александровна: клиническая часть работы, связанная с молекулярно-генетическими методиками, внесением ценного интеллектуального содержания.

Юнусова Наталья Валерьевна: внесение ценного интеллектуального содержания.

Чуруксаева Ольга Николаевна: клиническая часть работы, внесение ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Alisa B. Villert, MD, PhD, Senior Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: avillert@yandex.ru. Researcher ID (WOS): J-3140-2017. Author ID (Scopus): 16039933700. ORCID: 0000-0002-2773-1917.

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

Evgenia A. Fesik, MD, PhD, Pathologist, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2335-2012.

Anna A. Ivanova, MD, PhD, Clinical Diagnostic Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Natalia V. Yunusova, MD, DSc, Leading Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; 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). Researcher ID (WOS): C-9275-2012. Author ID (Scopus): 8354141400. ORCID: 0000-0003-4595-4177.

Olga N. Churuksaeva, MD, DSc, Senior Researcher, Department of Oncogynecology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8601-2012. Author ID (Scopus): 6504391579. ORCID: 0000-0003-3439-8830.

AUTHOR CONTRIBUTION

Alisa B. Villert: study conception, drafting of the manuscript.

Larisa A. Kolomiets: study conception, research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Evgenia A. Fesik: pathomorphological analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Anna A. Ivanova: molecular genetic analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Natalia V. Yunusova: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Olga N. Churuksaeva: data collection and analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Bahadoram M., Barahman M., Davoodi M., Hassanzadeh S. Острый холецистит как первое проявление первичного плоскоклеточного рака желчного пузыря: клинический случай. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 165–169. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-165-169

For citation: Bahadoram M., Barahman M., Davoodi M., Hassanzadeh S. Acute cholecystitis as the first manifestation of primary pure squamous cell carcinoma of the gallbladder; a case report. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 165–169. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-165-169

ACUTE CHOLECYSTITIS AS THE FIRST MANIFESTATION OF PRIMARY PURE SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE GALLBLADDER. A CASE REPORT

M. Bahadoram¹, M. Barahman¹, M. Davoodi², S. Hassanzadeh¹

Department of Radiation Oncology and Firoozgar Clinical Research Development Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: shak.hassanzadeh@gmail.com¹

Hemat Highway, Tehran, Iran 14665-354¹

Department of Radiology, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran²

Vali-e Asr Ave., Tehran, Iran 1416753955²

Abstract

Background. SCC of the gallbladder is characterized by more rapid and invasive growth with infiltration of the adjacent organs and less spread to the lymph nodes compared to adenocarcinoma of the gallbladder. It is a rare neoplasm that accounts for 1.4–12.7 % of gallbladder tumors. SCC of the gallbladder has a poor prognosis. Symptoms usually appear later when the disease has progressed and the malignancy has reached advanced stages. Therefore, usually, the patients expire soon following the diagnosis. The etiology of the SCC of the gallbladder is complex and is mostly associated with gallstones. **Case description.** We report a case of a 56-year-old man that had been suffering from colicky abdominal pain in the right upper quadrant for about two weeks before his admission. He did not have nausea, vomiting, shortness of breath, fever, lack of appetite, or weight loss. After evaluation, a diagnosis of acute cholecystitis was established and antibiotic therapy was initiated. However, he did not respond to medical therapy and underwent surgery. A tumor mass was detected during surgery. Therefore, cholecystectomy and extended right hepatectomy were performed. The pathological evaluation of the biopsy specimen revealed squamous cell carcinoma. Consequently, he underwent radiotherapy and chemotherapy and was followed up for two years. He acquired complete tumor remission. **Conclusion.** The present case highlights the requirement of considering further investigation on the histogenesis of SCC of the gallbladder.

Key words: primary squamous cell carcinoma of the gallbladder, periodic acid Schiff reaction, extended right hepatectomy.

ОСТРЫЙ ХОЛЕЦИСТИТ КАК ПЕРВОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОГО ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

M. Bahadoram¹, M. Barahman¹, M. Davoodi², S. Hassanzadeh¹

Отделение радиационной онкологии и Центр развития клинических исследований Firoozgar, Иранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран¹

Hemat Highway, Тегеран, Иран 14665-354. E-mail: shak.hassanzadeh@gmail.com¹

Отделение радиологии, больница Шариати, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран²

Vali-e Asr Ave., Тегеран, Иран 1416753955²

Аннотация

Актуальность. По сравнению с аденокарциномой плоскоклеточный рак желчного пузыря (ПРЖП) характеризуется более быстрым и инвазивным ростом с инфильтрацией соседних органов и более редким поражением лимфатических узлов. Это редкое новообразование, на долю которого приходится 1,4–12,7 % опухолей желчного пузыря. ПРЖП имеет плохой прогноз. Симптомы обычно появляются на поздних стадиях заболевания, в связи с чем пациенты часто умирают вскоре после постановки диагноза. Этиология ПРЖП сложная и в основном связана с наличием конкрементов в желчном пузыре. **Описание случая.** Пациент, 56 лет, поступил в стационар с жалобами на коликообразные боли в правом подреберье, которые возникли примерно за 2 нед до госпитализации; тошноты, рвоты, одышки, лихорадки, отсутствия аппетита или потери веса не отмечал. После обследования установлен диагноз острого холецистита и начата антибактериальная терапия, которая не дала положительных результатов, и пациенту была выполнена операция, при ревизии обнаружена опухоль желчного пузыря, что явилось показанием для холецистэктомии и расширенной правосторонней гемигепатэктомии. При гистологическом исследовании биопсийного материала выявлен плоскоклеточный рак. После операции назначена лучевая терапия и химиотерапия. При динамическом наблюдении в течение 2 лет отмечается полная ремиссия опухоли. **Заключение.** Представленный клинический случай подчеркивает необходимость дальнейшего изучения гистогенеза плоскоклеточного рака желчного пузыря.

Ключевые слова: первичный плоскоклеточный рак желчного пузыря, периодическая кислая реакция Шиффа, расширенная правосторонняя гепатэктомия.

Introduction

Carcinoma of the gallbladder is mostly seen in females and older ages and is the fifth most common cancer of the gastrointestinal (GI) system [1–5]. Primary carcinoma of the gallbladder has various histological subtypes. Adenocarcinoma is the most common subtype which accounts for 80–95 % of all primary carcinomas. Adenocarcinoma itself has different patterns including papillary, tubular, mucinous, or signet-cell. In addition, squamous cell carcinoma (SCCs)/adenosquamous cell carcinomas (ASCs) account for 2–10 % of all primary carcinomas. The other less common subtypes include undifferentiated carcinoma and small cell carcinoma/poorly differentiated endocrine carcinoma which account for 2–7 % and <4 % of primary carcinomas, respectively. Furthermore, some rare subtypes consist of tumors such as sarcomas or lymphomas [6, 7]. We report a case of a 56-year-old male that was diagnosed with acute cholecystitis but did not respond to medical therapy. Therefore, he underwent surgery and a mass of the gallbladder was detected. The pathological evaluation of the biopsy specimen revealed squamous cell carcinoma (SCC).

Case Presentation

A 56-year-old male visited our clinic with a two-week history of right upper quadrant (RUQ) pain. The pain would increase while laying down and had a colicky nature. The patients denied having nausea, vomiting, shortness of breath, fever, lack of appetite or, weight loss. His medical history included a history of rheumatology disorder since a year ago. On physical examination, there were RUQ tenderness and positive Murphy's sign, and the gallbladder was palpable. The examination of the other parts of the abdomen was normal. The vital signs of the patient were normal; blood pressure – 110/80 mm Hg, heart rate – 82 beats/min, respiratory rate – 16/min, a body temperature of 37.5 °C.

Complete blood count revealed leukocytosis with a white blood cell count of around $12,000 \times 10^3/\mu\text{L}$.

Abdominal sonography was performed and revealed that the liver had normal size and echogenicity, and the gallbladder had increased wall thickness and contained some small stones (about 9–10 mm in size). Based on the clinical diagnosis of acute cholecystitis, treatment with ceftriaxone (1 gr/intravenously (IV)/twice daily) and metronidazole (500 mg/IV/every eight hours TDS) was initiated. The patient underwent cholecystectomy since he showed no response to treatment after four days of medical therapy. On surgery, a mass in the fundus and body of the gallbladder with some extension to the fourth segment of the liver was detected. Therefore, cholecystectomy and an extended right hepatectomy were performed. Drainage was achieved with the closed suction method.

The biopsy specimens were sent for pathology evaluation. The microscopic examination of the gallbladder wall showed pathological changes caused by chronic cholecystitis along with a range of neoplastic alterations. The neoplastic tissue comprised of neoplastic cells with a squamous pattern containing polymorphism in the nuclei, greater nucleus to cytoplasm ratio, and hyperchromatosis which was accompanied by a proliferation of horny cells. The inflammatory reaction of huge multi-nuclei horny cells was remarkable. The extension of this tissue was observed to superficial muscular layers. Subsequently, the diagnosis of differentiated SCC was established (Fig. 1). In addition, periodic acid-Schiff (PAS) staining of the cancerous cells was negative.

The patient underwent a thorough evaluation to find the primary source of the tumor. The investigations were negative and the documents suggested that the gallbladder was the origin of the tumor. The patient was then referred to the oncology department to continue his treatment of advanced-stage SCC of

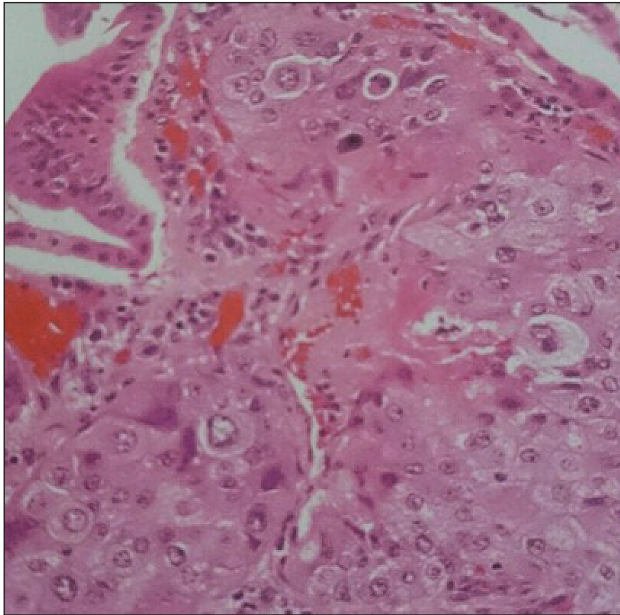


Fig. 1. Microphoto. Squamous cell carcinoma of the gallbladder, $\times 200$

Рис. 1. Микрофото. Плоскоклеточный рак желчного пузыря, $\times 200$

the gallbladder. He acquired complete tumor remission two months after the completion of conformal radiation therapy. He also underwent radiotherapy, chemotherapy, and follow-up for two years after his surgery.

Discussion

SCC of the gallbladder is characterized by more rapid and invasive growth with infiltration of the adjacent organs and less spread to the lymph nodes compared to adenocarcinoma of the gallbladder [2, 3]. Symptoms usually appear later when the disease has progressed and the malignancy has reached advanced stages, for example, when the liver or adjacent organs have been invaded and the lymph nodes are involved. Therefore, usually, the patients expire soon following the diagnosis. SCC of the gallbladder has a poor prognosis and is more prevalent in Chile, Japan, and northern India. The etiology of the SCC of the gallbladder is complex and is mostly associated with gallstones [1, 6, 8]. Secondary SCC of the gallbladder develops from the invasion of the neighboring structures or distant organs and is relatively more common than primary SCC of the gallbladder which originates from the gallbladder [8]. The lesion shows certain biological characteristics such as rapid growth, early metastatic dissemination, and diffuse local or regional infiltration. These tumors attach to the gallbladder along the fossa and grow to form large infiltrative masses. These masses invade the liver and adjacent organs (such as the abdomen, duodenum, and transverse colon) by direct expansion [8, 9]. This pattern was also observed and confirmed in our case. Despite its local and regional infiltration, SCC does not

metastasize to the lymph nodes and seldom seeds in the peritoneum [10]. However, hepatic metastases, as seen in our case, are more commonly found in SCC than in adenocarcinoma of the gallbladder [8–10].

Most studies report that a pre-existing squamous epithelium that becomes metaplastic is usually from the origin of the squamous cells in the SCC of the gallbladder. However, other studies state that the squamous differentiation of the adenocarcinoma cells is the origin of SCC of the gallbladder through the expression of mixed phenotypes within a single tumor [8–10]. A characteristic of SCC is that its duplication time is half of that in adenocarcinoma; therefore, the expansion of the cells in SCC occurs more rapidly [7, 8].

The extent of SCC of the gallbladder at diagnosis is a determinate factor in the survival rate [8–10]. The majority of patients expire around six months after diagnosis when radical surgery is not performed [5]. This indicates the importance of early diagnosis of SCC of the gallbladder in the survival rate of patients. The surgical method depends on the amount of the local involvement and includes cholecystectomy with a wedge resection of a part of the liver tissue or liver resection with regional lymphadenectomy [2, 8]. In patients with localized lesions without any metastases or peritoneal involvement, radical surgery with resection of the involved organs may be performed. Hepato-pancreatic duodenectomy is the radical surgical method of choice radical operation of choice for SCC of the gallbladder because this is the main dissemination type seen in SCCs [2]. However, the long-term benefits of this treatment are not yet fully known. Postoperative radiotherapy and chemotherapy may be used as adjuvant therapies, but they have unpredictable results that may only be palliative. SCC is usually seen adjacent to adenocarcinoma on the submucosal membranes which gives an altered histological pattern between the adenocarcinoma and SCC surfaces. Therefore, squamous metaplasia of the adenocarcinoma should be considered as an involved factor in the pathogenesis of SCC [8, 9, 11]. Based on this hypothesis, SCC develops as a primary adenocarcinoma that undergoes squamous metaplasia and turns into adenosquamous cell carcinoma. Later, a metaplastic carcinoma proliferates and forms SCC in place of the adenocarcinoma.

Conclusion

The present study reports an invasive and metastatic squamous cell carcinoma of the gallbladder that was formed under the submucosa. Furthermore, PAS staining of cancerous cells was negative and there was no evidence of squamous metaplasia of the epithelium or displaced squamous epithelium. Additionally, no mucin production or rod-shaped structure was seen on the histologic serial sections. This case highlights the requirement of considering further investigation on the histogenesis of SCC of the gallbladder.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Rustagi T., Dasanu C.A. Risk factors for gallbladder cancer and cholangiocarcinoma: similarities, differences and updates. *J Gastrointest Cancer*. 2012; 43(2): 137–47. doi: 10.1007/s12029-011-9284-y.
2. Boutros C., Gary M., Baldwin K., Somasundar P. Gallbladder cancer: past, present and an uncertain future. *Surg Oncol*. 2012; 21(4): 183–91. doi: 10.1016/j.suronc.2012.08.002.
3. Lai C.H., Lau W.Y. Gallbladder cancer--a comprehensive review. *Surgon*. 2008; 6(2): 101–10. doi: 10.1016/s1479-666x(08)80073-x.
4. Wernberg J.A., Lucarelli D.D. Gallbladder cancer. *Surg Clin North Am*. 2014; 94(2): 343–60. doi: 10.1016/j.suc.2014.01.009.
5. Mastoraki A., Papanikolaou I.S., Konstandiadou I., Sakorafas G., Saffioleas M. Facing the challenge of treating gallbladder carcinoma. Review of the literature. *Hepatogastroenterology*. 2010; 57(98): 215–9.
6. Chakrabarti I., Giri A., Ghosh N. Cytohistopathological correlation of a case of squamous cell carcinoma of gallbladder with lymph node metastasis. *Turk Patoloji Derg*. 2014; 30(1): 81–4. doi: 10.5146/tjpath.2013.01180.
7. Kais H., Hershkovitz Y., Sandbank J., Halevy A. Port site metastases in squamous cell carcinoma of the gallbladder. *Isr Med Assoc J*. 2014; 16(3): 177–9.
8. Hosseinzadeh M., Shokripur M., Salahi H. Primary pure squamous cell carcinoma of gallbladder presenting as acute cholecystitis. *Iran J Med Sci*. 2012; 37(4): 271–3.
9. Al-Ramthan A., Ayash E., Asfar S. Squamous cell carcinoma of the gall bladder masquerading as a liver abscess. *Kuwait Medical Journal*. 2014; 46(1): 54–6.
10. Rustagi T., Rai M., Menon M. Ruptured adenosquamous cell carcinoma of the gallbladder: case report and review of literature. *Gastrointestinal cancer research: GCR*. 2011; 4(1): 29–32.
11. Zou Q., Yang Z.L., Yuan Y., Li J.H., Liang L.F., Zeng G.X., Chen S.L. Clinicopathological features and CCT2 and PDIA2 expression in gallbladder squamous/adenosquamous carcinoma and gallbladder adenocarcinoma. *World J Surg Oncol*. 2013; 11: 143. doi: 10.1186/1477-7819-11-143.

Поступила/Received 16.01.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 16.06.2022

Принята к публикации/Accepted 07.07.2022

ABOUT THE AUTHORS

Mohammad Bahadoram, MD, Researcher, Department of Radiation Oncology and Firoozgar Clinical Research Development Center, Iran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). ORCID: 0000-0002-7106-9799.

Maedeh Barahman, MD, Assistant Professor, Department of Radiation Oncology and Firoozgar Clinical Research Development Center, Iran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). ORCID: 0000-0003-0660-0069.

Mohammad Davoodi, MD, Associate Professor, Department of Radiology, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). ORCID: 0000-0001-7319-6196.

Shakiba Hassanzadeh, MD, Researcher, Department of Radiation Oncology and Firoozgar Clinical Research Development Center, Iran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). E-mail: shak.hassanzadeh@gmail.com. ORCID: 0000-0002-5091-5191.

AUTHOR CONTRIBUTION

Mohammad Bahadoram: conducted the primary draft. All authors have read and approved the final content of the manuscript.

Maedeh Barahman: was involved in the diagnosis, management, and follow-up of the patient and critically evaluated the content of the manuscript. All authors have read and approved the final content of the manuscript.

Mohammad Davoodi: was involved in the diagnosis and follow-up of the patient and critically evaluated the content of the manuscript. All authors have read and approved the final content of the manuscript.

Shakiba Hassanzadeh: conducted the secondary and English edit. All authors have read and approved the final content of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical Statement

This study was conducted in accordance to the principals of the World Medical Association Declaration of Helsinki. Informed consent was obtained from the patient for publication of this case report and the accompanying image.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Mohammad Bahadoram, научный сотрудник отделения радиационной онкологии и Центра развития клинических исследований Firoozgar, Иранский университет медицинских наук (Тегеран, Иран). ORCID: 0000-0002-7106-9799.

Maedeh Barahman, доцент отделения радиационной онкологии и Центра развития клинических исследований Firoozgar, Иранский университет медицинских наук (Тегеран, Иран). ORCID: 0000-0003-0660-0069.

Mohammad Davoodi, доцент отделения радиологии, больница Шариати, Тегеранский университет медицинских наук (Тегеран, Иран). ORCID: 0000-0001-7319-6196.

Shakiba Hassanzadeh, научный сотрудник отделения радиационной онкологии и Центра развития клинических исследований Firoozgar, Иранский университет медицинских наук (Тегеран, Иран). E-mail: shak.hassanzadeh@gmail.com. ORCID: 0000-0002-5091-5191.

ВКЛАД АВТОРОВ

Mohammad Bahadoram: составил черновик рукописи.

Maedeh Barahman: участвовала в диагностике, лечении и последующем наблюдении за пациентом и критически оценивала содержание рукописи.

Mohammad Davoodi: участвовал в диагностике и последующем наблюдении за пациентом и критически оценивал содержание рукописи.

Shakiba Hassanzadeh: редактирование.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов..

Этическое соглашение

Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. От пациента получено информированное согласие на публикацию клинического случая и сопроводительного изображения.

**ЗАСЛУЖЕННЫЙ ДЕЯТЕЛЬ НАУКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПРОФЕССОР
ВИКТОР ЕВГЕНЬЕВИЧ ГОЛЬДБЕРГ
(к 65-летию со дня рождения)**



17 июля 2022 г. исполнилось 65 лет Виктору Евгеньевичу Гольдбергу – заслуженному деятелю науки Российской Федерации, доктору медицинских наук, профессору, врачу-онкологу высшей категории.

Виктор Евгеньевич Гольдберг в 1980 г. с отличием окончил лечебный факультет Томского медицинского института и был распределен на должность младшего научного сотрудника в Сибирский филиал Всесоюзного онкологического научного центра АМН СССР (в настоящее время – НИИ онкологии ТНИМЦ). В этом же году поступил в целевую аспирантуру Центрального НИИ гематологии и переливания крови МЗ СССР (г. Москва), где выполнил и в 1983 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Фотометрические параметры гемопоэтических клеток здоровых людей и при гемобластозах». С 1983 г. продолжил работать в Томском НИИ онкологии в должности старшего научного сотрудника отделения химиотерапии, а в 1988 г. избран по конкурсу руководителем этого отделения. В 1993 г. защитил докторскую диссертацию на тему: «Состояние системы крови и механизмы нарушения гемопоэза у больных раком легкого и в динамике противоопухолевой полихимиотерапии». В 1994 г. ему присвоено ученое звание профессора по специальности «онкология». В 2002 г. избран по конкурсу на должность заместителя директора по научной и лечебной работе Томского НИИ онкологии.

Профессор В.Е. Гольдберг внес существенный вклад в клиническую и экспериментальную онкологию, изучение патологии системы крови, раз-

работку проблемы химиотерапии злокачественных новообразований. Проведенные им приоритетные исследования, носящие фундаментальный характер, вскрывают патогенез анемий, развивающихся у онкологических больных и в условиях противоопухолевой химиотерапии, роль отдельных элементов гемопоэз-индуцирующего микроокружения и их взаимодействия в регуляции кроветворения при цитостатических миелодепрессиях. Прикладной аспект его исследований касается разработки патогенетически обоснованных методов фармакологической коррекции цитостатической болезни, создания и изучения новых лекарственных средств для онкологической и гематологической практики, в том числе в рамках международных научных программ.

Профессор В.Е. Гольдберг осуществляет координацию научных исследований в области противоопухолевой химиотерапии в лечебно-профилактических учреждениях онкологического профиля Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера. Им создана научная программа, способствующая совершенствованию диагностики, профилактики и лечения нарушений кроветворения в условиях опухолевого роста и цитостатической терапии, в реализации которой под его руководством принимают участие онкологи, гематологи, патофизиологи, фармакологи из НИУ Сибирского отделения РАН и Сибирского государственного медицинского университета.

В.Е. Гольдберг является автором 311 печатных трудов, в том числе 245 статей, 11 монографий, 22 патентов РФ на изобретения, 8 баз данных. Под его

руководством выполнены и защищены 6 докторских и 26 кандидатских диссертаций. Он принимает активное участие в научно-организационной работе: является членом диссертационного совета по защите докторских диссертаций при НИИ онкологии Томского НИМЦ, заместителем председателя проблемной комиссии «Онкология» Межведомственного научного совета по медицинским проблемам Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера, членом экспертного совета МЗ и СР РФ по безопасности и эффективности новых лекарственных средств, производимых на территории Сибири и Дальнего Востока, заместителем

главного редактора «Сибирского онкологического журнала», членом редакционного совета «Российского онкологического журнала».

Виктору Евгеньевичу Гольдбергу присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации» (2007). Он был награжден нагрудным знаком «Отличник здравоохранения» Минздравсоцразвития Российской Федерации (2002), Почетной грамотой Президиума Сибирского отделения РАМН (2001), почетной медалью Рудольфа Вирхова (2005). Является лауреатом премии Томской области в сфере образования, науки, здравоохранения и культуры (1997).

Сотрудники Научно-исследовательского института онкологии, редколлегия «Сибирского онкологического журнала» сердечно поздравляют Виктора Евгеньевича Гольдберга с юбилеем и желают ему сохранить на долгие годы крепкое здоровье, бодрость духа и увлеченность научными задачами.



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