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

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том 21, № 6' 2022

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

Лекции

Клинические исследования

Экспериментальные и лабораторные исследования

Обзоры

История медицины

Протоколы общества онкологов

Юбилеи

Информация. Хроника

Том 21, № 6' 2022
СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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

сайт: www.siboncoj.ru

Журнал издается при поддержке
Национального союза «Ассоциация онкологов России»

Издается с мая 2002 г.
Подписной индекс по каталогу
ООО «Урал-пресс округ» – 46827.

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

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

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

Журнал включен в РЖ и БД ВИНИТИ, 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 28.12.2022 г.
Формат 60x84 1/8.
Бумага офсетная №1. Печать офсетная.
Гарнитура Times New Roman Cyr
Печ. л. 23,75; усл. печ. л. 22,1; уч.-изд. л. 23,25.
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, № 6 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. Москва, Россия)*
Л.А. Коломиец, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*
М.А. Красильников, *д.б.н., профессор (г. Москва, Россия)*
А.В.Лисица, *д.б.н., академик РАН, профессор (г. Москва, Россия)*
Н.В. Литвяков, *д.б.н. (г. Томск, Россия)*
Л.Н. Любченко, *д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)*
В.М. Моисеенко, *д.м.н., профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)*
С.А. Некрылов, *д.и.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. Тюляндин, *д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)*
В.В. Удут, *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. Кжышковска, *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)*

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

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL
ISSUED ONCE IN TWO MONTHS

Vol. 21, № 6 2022

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: 28.12.2022
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

Editor-in-Chief:
E.L. Choynzonov, *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. Imyanitov, *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. Perelmuter, *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. 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

Новогоднее поздравление от главного редактора 5

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Валькова Л.Е., Дяченко А.А., Мерабишвили В.М., Богданов Д.В., Березин А.В., Потехина Е.Ф., Вальков М.Ю. Влияние пандемии COVID-19 на показатели заболеваемости злокачественными опухолями, подлежащими скринингу в рамках диспансеризации (популяционное исследование) 7

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Добродеев А.Ю., Костромицкий Д.Н., Тарасова А.С., Афанасьев С.Г., Бабышкина Н.Н., Пономарева А.А., Ермоленко Р.В., Фролова И.Г., Черемисина О.В. Непосредственные результаты неоадъювантной химиотерапии у больных метастатическим колоректальным раком с изолированным поражением печени 17

Панкова О.В., Таширева Л.А., Родионов Е.О., Миллер С.В., Геращенко Т.С., Письменный Д.С., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Перельмутер В.М. Эффективность предоперационной терапии в группах с высоким и низким риском гематогенного метастазирования при плоскоклеточном раке и аденокарциноме легкого 25

Щеголева А.А., Третьякова М.С., Воробьев Р.С., Ананина О.А., Бокова У.А., Денисов Е.В. Генетические особенности опухолей невыявленной первичной локализации 38

Тыринова Т.В., Баторов Е.В., Аристова Т.А., Ушакова Г.Ю., Сизикова С.А., Денисова В.В., Останин А.А., Черных Е.Р. Супрессорные клетки миелоидного происхождения у больных множественной миеломой на этапе иммунной реконституции и после высокодозной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток 47

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Невская К.В., Ефимова Л.В., Корда П.В., Долгашева Д.С., Ибрагимова М.К., Меняйло М.Е., Удут Е.В., Литвяков Н.В., Першина А.Г. Оптимизация метода исследования маммосферообразования для оценки IL-6 индуцированной стволовой пластичности дифференцированных клеток рака молочной железы 59

Федоров А.А., Простакишина Е.А., Патышева М.Р., Фролова А.А., Ямщиков П.С., Ларионова И.В., Стахеева М.Н., Дорофеева М.С., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л., Кжышковска Ю.Г., Чердынцева Н.В. Изменение функционального профиля моноцитов крови при раке молочной железы. (на англ. языке) 68

Данилко К.В., Еникеева К.И., Кабиров И.Р., Максимова С.Ю., Вишняков Д.С., Кжышковска Ю.Г., Павлов В.Н. Морфологическая гетерогенность внутриопухолевых макрофагов в опухоли предстательной железы (на англ. языке) 81

Rahmah N.A., Harliansyah H., Suyatna F.D., Kanoko M., Rustamadji P., Prihartono J., Bustami A., Haryono S.J., Hernowo B.S. Куркумин снижает пролиферацию клеток рака молочной железы через белки RASSF1A, Bax и caspase-3 (на англ. языке) 91

Бакина О.В., Чжоу В.Р., Лернер М.И. Бикомпонентные янус-наночастицы ZnO-Ag с высокой противоопухолевой активностью *in vitro* *99*

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

Пикин О.В., Рябов А.Б., Александров О.А., Колбанов К.И., Глушко В.А., Бармин В.В., Багров В.А., Мартынова Д.Е. Эпителиальные опухоли вилочковой железы с диссеминацией по плевре: роль циторедуктивной хирургии 106

ОБЗОРЫ

Саприна О.А., Шпицер И.М. Планирование реконструкции челюстно-лицевой области свободным реваскуляризированным малоберцовым аутотрансплантатом: прошлое, настоящее, будущее. Литературный обзор 114

Ахметзянов Ф.Ш., Егоров В.И., Абдулганиева Г.Р. Химиолучевая терапия локализованного колоректального рака: взгляд со стороны (на англ. языке) 124

Белявская В.А., Чердынцева Н.В., Кжышковска Ю.Г., Литвяков Н.В. *Микробиом, имунная система и рак:* три стороны одной медали 131

Veena S.C., Mohammed V., Veerabathiran R. Систематический обзор исследований ассоциации рака яичников и предстательной железы с мутациями генов *BRCA1* и *BRCA2* (на англ. языке) 145

Мнихович М.В., Шехтер М.А., Безуглова Т.В., Скафи К.Х., Артемьева К.А., Мишина Е.С. Гликоделин – потенциальный биомаркер злокачественных опухолей 156

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Скоропад В.Ю., Кудрявцев Д.Д., Шитарева В.Н., Жаворонкова Е.С. Полный лечебный патоморфоз рака желудка после одного цикла неоадъювантной химиотерапии по схеме FLOT (клиническое наблюдение) 164

Камалов А.К., Рябов А.Б., Хомяков В.М., Волченко Н.Н., Колобаев И.В., Костырыгин А.К., Соболев Д.Д., Уткина А.Б., Аксенов С.А., Макурина М.П. Трансхиатальная лапароскопическая энуклеация лейомиомы нижнегрудного отдела пищевода. Клиническое наблюдение 170

ХРОНИКА. ИНФОРМАЦИЯ

Коломиец Л.А., Красильников С.Э., Мусаева Н.Э., Юкальчук Д.Ю., Чуруксаева О.Н., Жуйкова Л.Д., Чернорубашкина Н.М., Таширева Л.А., Ходжахова М.А-К., Жаркова О.В., Александрова Е.Н., Журман В.Н., Гречкина А.А., Сисакян В.Г., Павлова Д.О., Пшевлоцкий Э.М., Гофман А.А., Тархов А.В., Терещенко А.В., Бюксель Н.А., Филиппов А.А., Кушлинский Д.Н. Резолюция совещания экспертов в области лечения рака эндометрия на территории Сибири и Дальнего Востока 177

Ершов К.Г., Захаров В.Н., Иванова Ф.Г., Карле Е.В., Ким Г.В., Мамонтов К.Г., Мауль Е.В., Непомнящих Д.Л., Останина И.Б., Парсаданова Э.Л., Поршенников И.А., Расулов Р.И., Рягузов М.Е., Турганова М.В., Хайс С.Л., Хлобыстин Р.Ю., Юкальчук Д.Ю. К решению проблем ведения пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК). Консенсус экспертов Сибири и Дальнего Востока 184

ЮБИЛЕИ

К 70-летию со дня рождения академика РАН, профессора Е.Л. Чойнзонова 190

CONTENTS

New year message from the editor-in-chief 6

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Valkova L.E., Dyachenko A.A., Merabishvili V.M., Bogdanov D.V., Berezin A.V., Potekhina E.F., Valkov M.Yu. Impact of the COVID-19 pandemic on cancer incidence in patients undergoing cancer screening during annual health checkup (population-based study) 7

CLINICAL STUDIES

Dobrodeev A.Yu., Kostromitsky D.N., Tarasova A.S., Afanasyev S.G., Babyshkina N.N., Ponomaryeva A.A., Ermolenko **R.V., Frolova I.G., Cheremisina O.V.** Short-term outcomes of neoadjuvant chemotherapy in colorectal cancer patients with isolated liver metastasis 17

Pankova O.V., Tashireva L.A., Rodionov E.O., Miller S.V., Gerashchenko T.S., Pismenny D.S., Zavyalova M.V., Denisov E.V., Perelmuter V.M. Efficacy of preoperative therapy in patients with high and low risk of distant metastasis in non-small cell lung cancer 25

Schegoleva A.A., Tretyakova M.S., Vorobyov R.S., Ananina O.A., Bokova U.A., Denisov E.V. Genetic features of cancer of unknown primary 38

Tyrinova T.V., Batorov E.V., Aristova T.A., Ushakova G.Yu., Sizikova S.A., Denisova V.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Myeloid-derived suppressor cells in multiple myeloma patients at the immune recovery and after high-dose chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation 47

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

Nevskaya K.V., Efimova L.V., Korda P.V., Dolgasheva D.S., Ibragimova M.K., Menyailo M.E., Udut E.V., Litviakov N.V., Pershina A.G. Optimization of mammosphere formation assay for quantification of IL6-induced stemness in differentiated breast cancer cells 59

Fedorov A.A., Prostakishina E.A., Patysheva M.R., Frolova A.A., Iamshchikov P.S., Larionova I.V., Stakheyeva M.N., Dorofeeva M.S., Bragina O.D., Choynzonov E.L., Kzhyshkowska J.G., Cherdyntseva N.V. Changes in blood monocyte functional profile in breast cancer 68

Danilko K.V., Enikeeva K.I., Kabirov I.R., Maksimova S.Y., Vishnyakov D.S., Kzhyshkowska J.G., Pavlov V.N. Morphological heterogeneity of intratumoral macrophages in prostate tumors 81

Rahmah N.A., Harliansyah H., Suyatna F.D., Kanoko M., Rustamadji P., Prihartono J., Bustami A., Haryono S.J., Hernowo B.S. Curcumin as an anti-proliferative agent in breast cancer through RASSF1A, Bax, and caspase-3 protein 91

Bakina O.V., Zhou V.R., Lerner M.I. Bicomponent ZnO-Ag janus nanoparticles with high antitumor activity *in vitro* 99

PRACTICE OF ONCOLOGY

Pikin O.V., Ryabov A.B., Aleksandrov O.A., Kolbanov K.I., Glushko V.A., Barmin V.V., Bagrov V.A., Martynova D.E. Epithelial tumors of the thymus with pleural dissemination: the potential role of surgery 106

REVIEWS

Saprina O.A., Shpitser I.M. Planning of maxillofacial reconstruction with free revascularized fibular autograft: past, present, and future: Literary review 114

Akhmetzyanov F.Sh., Egorov V.I., Abdulganieva G.R. Chemoradiation therapy for localized colorectal cancer: a view from the outside 124

Belyavskaya V.A., Cherdyntseva N.V., Kzhyshkovska J.G., Litvyakov N.V. Microbiome, immune system and cancer: three sides of the one medal 131

Veena S.C., Mohammed V., Veerbathiran R. A systematic review on the association between ovarian and prostate cancer with *BRCA1* and *BRCA2* gene 145

Mnikhovich M.V., Shekhter M.A., Bezuglova T.V., Skafi K.Kh., Artemyeva K.A., Mishina E.S. Glycodelin is a potential biomarker for malignant tumors 156

CASE REPORTS

Skoropad V.Yu., Kudriavtsev D.D., Shitareva V.N., Zhavoronkova E.S. Clinical case of pathological complete response of gastric cancer after one cycle of neoadjuvant chemotherapy with flot regimen 164

Kamalov A.K., Ryabov A.B., Khomyakov V.M., Volchenko N.N., Kolobaev I.V., Kostrygin A.K., Sobolev D.D., Utkina A.B., Aksenov S.A., Makurina M.P. Transhiatal laparoscopic enucleation of lower thoracic esophageal leiomyoma 170

CHRONICLE. INFORMATION

Kolomiets L.A., Krasil'nikov S.E., Musaeva N.E., Yukal'chuk D.Yu., Churuksaeva O.N., Zhuykova L.D., Chernorubashkina N.M., Tashireva L.A., Hodzhahova M.A-K., Zharkova O.V., Aleksandrova E.N., Zhurman V.N., Grechkina A.A., Sisakyan V.G., Pavlova D.O., Pshevlocky E.M., Gofman A.A., Tarhov A.V., Tereshchenko A.V., Byuksel' N.A., Filippov A.A., Kushlinsky D.N. Resolution of the meeting of experts in the field of the treatment of endometrial cancer in Siberia and the Russian Far East 177

Ershov K.G., Zaharov V.N., Ivanova F.G., Karle E.V., Kim G.V., Mamontov K.G., Maul' E.V., Nepomnyashchih D.L., Ostanina I.B., Parsadanova E.L., Porshennikov I.A., Rasulov R.I., Ryaguzov M.E., Turganova M.V., Hajs S.L., Hlobystin R.Yu., Yukal'chuk D.Yu. To solving problems of management of patients with hepatocellular carcinoma (HCC). Consensus of experts of Siberia and the Russian Far East 184

ANNIVERSANES

Academician RAS, professor E.L. Choynzonov – 70 years 190

Дорогие друзья, коллеги!

На пороге одного из самых любимых и радостных праздников в году хочется вспомнить и поблагодарить всех тех, кто принимал участие в подготовке выпусков «Сибирского онкологического журнала» в 2022 году.

Несомненно, успех журнала является результатом плодотворного труда авторов, рецензентов, редакционной коллегии. И секрет успеха журнала, его высокой популярности заключается в умении определять актуальные темы, проблемы и представлять результаты научных исследований.

На журнал возложена непростая миссия – донести до читателя информацию о новых технологиях и прорывных научных исследованиях в фундаментальной и клинической медицине. Мы стараемся аккумулировать все актуальные достижения в области онкологии и делать их достоянием ученых и практических врачей.

Надо отметить, что мы продолжаем делать ставку на качество наших публикаций, расширяя пул рецензентов для более тщательного и строгого отбора статей.

Благодаря усилиям такой большой команды «Сибирский онкологический журнал» занимает ведущее место среди современных изданий медицинского профиля по освещению проблем в области онкологии.

В наших планах не останавливаться на достигнутом, добиваться дальнейших успехов, расширять круг новых интересных тем и талантливых авторов.

Впереди нас ждут новые ответственные дела. Уверен, что вместе мы достигнем еще более значимых результатов.

Пусть в ваших домах царят мир, любовь и тепло семейного очага, а загаданное в новогоднюю ночь непременно сбудется!

С наилучшими пожеланиями,
главный редактор
«Сибирского онкологического журнала»,
академик РАН, профессор

Е.Л. Чойнзонов

Dear friends and colleagues,

On the eve of one of the most beloved and joyful holidays of the year, I would like to remember and thank all those who took part in the preparation of the issues of the Siberian Journal of Oncology in 2022.Undoubtedly, the success of the journal is the result of the fruitful work of the authors, reviewers, and the editorial board. The secret of the success and high popularity is the ability to identify hot topics and present the results of scientific research.

The journal's mission is to provide the scientific community with information about innovative technologies and breakthrough research in fundamental and clinical medicine. We try to accumulate all the latest achievements in the field of oncology and make them available to scientists and practitioners.

It should be noted that we continue to rely on the quality of our publications, expanding the pool of reviewers for a more thorough and rigorous selection of articles. Thanks to the efforts of such a large team, the Siberian Journal of Oncology occupies a leading position among modern medical publications in covering problems in the field of oncology. Our plans are not to rest on our laurels, to achieve further success, to expand the range of new interesting topics and talented authors.

New responsible tasks lie ahead of us. I am sure that together we will achieve even more significant results.

May peace, love and the warmth of the hearth reign in your homes, and the wishes made on New Year's Eve will certainly come true!

With best wishes,

Prof. E.L. Choynzonov
Editor-in-chief of
Siberian Journal of Oncology

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-7-16
УДК: 616-006.04:616.9

Для цитирования: *Валькова Л.Е., Дяченко А.А., Мерабишвили В.М., Богданов Д.В., Березин А.В., Потехина Е.Ф., Вальков М.Ю.* Влияние пандемии COVID-19 на показатели заболеваемости злокачественными опухолями, подлежащими скринингу в рамках диспансеризации (популяционное исследование). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 7–16. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-7-16
For citation: *Valkova L.E., Dyachenko A.A., Merabishvili V.M., Bogdanov D.V., Berezin A.V., Potekhina E.F., Valkov M.Yu.* Impact of the COVID-19 pandemic on cancer incidence in patients undergoing cancer screening duting annual health checkup (population-based study). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 7–16. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-7-16

ВЛИЯНИЕ ПАНДЕМИИ COVID-19 НА ПОКАЗАТЕЛИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ, ПОДЛЕЖАЩИМИ СКРИНИНГУ В РАМКАХ ДИСПАНСЕРИЗАЦИИ (ПОПУЛЯЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Л.Е. Валькова[1], А.А. Дяченко[1], В.М. Мерабишвили[2], Д.В. Богданов[1,3], А.В. Березин[1,3], Е.Ф. Потехина[3], М.Ю. Вальков[1,3]

ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Архангельск, Россия[1]
Россия, 163069, г. Архангельск, пр. Троицкий, 51. E-mail: ludmilla1valkova@yandex.ru[1]
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия[2]
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68[2]
ГБУ АО «Архангельский клинический онкологический диспансер», г. Архангельск, Россия[3]
Россия, 163045, г. Архангельск, пр. Обводный канал, 145, корп. 1[3]

Аннотация

Актуальность. В период пандемии COVID-19 была приостановлена диспансеризация отдельных групп взрослого населения (ДОГВН), что могло привести к ухудшению скрининга ряда злокачественных новообразований (ЗНО). **Цель исследования** – оценить изменения заболеваемости и стадийной структуры ЗНО, включенных в программу скрининга в рамках ДОГВН, во время пандемии COVID-19 по данным Архангельского областного канцер-регистра (АОКР). **Материал и методы.** Оценивали динамику показателей заболеваемости и распределения по стадии при индексных ЗНО (иЗНО) ободочной, прямой кишки, легкого, молочной железы, шейки, тела матки, яичников, предстательной железы и почки в периоды 2018–19 гг. и 2020–21 гг. **Результаты.** Всего отобрано 12354 случая заболевания при девяти иЗНО: в 2018–19 гг. выявлено 6680, в 2020–21 гг. – 5674 (-15,1 %). Наиболее выраженное снижение «грубых» и стандартизованных по возрасту показателей заболеваемости зарегистрировано при раке легкого (-18,0–18,1 %), прямой кишки (-25,1–25,9 %) и шейки матки (-33,6–36,9 %), различия статистически значимы (p<0,001). Снижение было статистически незначимым при раке молочной железы, тела матки, почки. Доля больных I стадии уменьшалась при раке легкого (на 20,0 %, с 14,8 до 11,8 %), прямой кишки (на 20,2 %, с 20,9 до 16,7 %), шейки матки (на 37,1 %, с 53,2 до 33,5 %). При раке предстательной железы и почки зарегистрировано увеличение доли I стадии на 30 % (с 19,5 до 25,4 %) и 17,6 % (с 45,9 до 54,0 %) соответственно. В возрастных группах скрининга в рамках ДОГВН значимое снижение доли ранних стадий в период пандемии COVID-19 наблюдали при раке легкого и шейки матки. **Заключение.** Ограничение ДОГВН в период пандемии привело к уменьшению числа выявленных иЗНО в основном за счет ранних стадий при раке шейки матки, легкого, ободочной и прямой кишки. При других иЗНО эти изменения были не столь явными. В дальнейшем требуется анализ смертности и выживаемости больных иЗНО.

Ключевые слова: диспансеризация взрослого населения, скрининг рака, индексные злокачественные новообразования, пандемия COVID-19, заболеваемость, распределение по стадии.

Валькова Людмила Евгеньевна, ludmilla1valkova@yandex.ru

IMPACT OF THE COVID-19 PANDEMIC ON CANCER INCIDENCE IN PATIENTS UNDERGOING CANCER SCREENING DURING ANNUAL HEALTH CHECKUP (POPULATION-BASED STUDY)

L.E. Valkova[1], A.A. Dyachenko[1], V.M. Merabishvili[2], D.V. Bogdanov[1,3], A.V. Berezin[1,3], E.F. Potekhina[3], M.Yu. Valkov[1,3]

Northern State Medical University of the Ministry of Health of the Russia, Arkhangelsk, Russia[1]
51, Troitsky Ave., 163069, Arkhangelsk, Russia.E-mail: ludmilla1valkova@yandex.ru[1]
N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia, St. Petersburg, Pesochny, Russia[2]
68, Leningradskaya St., 197758, St. Petersburg, Pesochny, Russia[2]
Arkhangelsk Clinical Cancer Center, Arkhangelsk, Russia[3]
145, Obvodny Canal Ave., 163045, Arkhangelsk, Russia[3]

Abstract

Background. During the COVID-19 pandemic, annual adult check-ups have been postponed, resulting in cancer screening disruption. **The aim of the study** was to evaluate changes in the incidence and stage distribution of malignancies included in the screening program during the COVID-19 pandemic using the Arkhangelsk Regional Cancer Registry (ARRC). **Material and Methods.** We assessed the changes of the incidence rates and stage distribution for the colon, rectum, lung, breast, cervix, uterine body, ovary, prostate and kidney cancers over the periods 2018–19 and 2020–21. **Results.** A total of 12354 cases with 9 cancers were selected: 6680 for the period 2018–19 and 5674 (-15.1 %) for the period 2020-21. The most significant decrease in crude and age-standardized incidence rates was registered in patients with lung (-18.0–18.1 %), rectum (-25.1–25.9 %) and cervix (-33.6–36.9 %) cancers, p<0.001. The decrease was not significant in patients with breast, uterine body, and kidney cancers. The proportion of patients with stage I decreased in lung cancer (-20.0 %, from 14.8 % to 11.8 %), rectum (-20.2 %, from 20.9 % to 16.7 %), and uterine cervix (-37.1 %, from 53.2 % to 33.5 %). In prostate and kidney cancers, the proportion of patients with stage I increased by 30 % (from 19.5 % to 25.4 %) and 17.6 % (from 45.9 % to 54.0 %), respectively. A significant reduction in the proportion of early stages during the COVID-19 pandemic was observed in lung and cervical cancer. **Conclusion** Postponed health checkups due to COVID-19 pandemic disruptions have led to substantial reductions in new cancers being diagnosed, mainly for cervical, lung, colon and rectal cancers. No significant changes were observed for other cancers. Further analysis of mortality and survival of cancer patients is required.

Key words: health checkup, cancer screening, COVID-19 pandemic, cancer incidence, stage distribution.

Введение

Диспансеризация отдельных групп взрослого населения (ДОГВН) введена с 2013 г. В рамках ДОГВН проводятся мероприятия, направленные на раннюю диагностику хронических неинфекционных заболеваний, являющихся основной причиной инвалидности и преждевременной смертности населения РФ [1]. К числу таких заболеваний относятся злокачественные новообразования (ЗНО). В рамках различных редакций ДОГВН [2–5] проводится скрининг ЗНО ободочной и прямой кишки, легкого, молочной железы, шейки и тела матки, яичников, предстательной железы, почек. Эпидемиологический анализ по данным Архангельского областного канцер-регистра (АОКР) показал, что после введения ДОГВН в 2013–2019 гг. увеличивались грубые показатели заболеваемости при всех вышеуказанных ЗНО, стандартизованные – при всех, кроме рака легкого. Обнаружено увеличение доли I стадии при шести из девяти анализируемых ЗНО, но анализ динамики трендов позволил его связать с ДОГВН только при раке молочной железы, шейки матки и предстательной железы [6].

В марте 2020 г. в связи с распространением инфекции COVID-19 ДОГВН была приостановлена [7]. Для желающих пройти диспансеризацию в этот период были организованы особые условия (отдельный вход, непосещение регистратуры). При этом пациенты в возрасте 65 лет и старше, а также страдающие хроническими заболеваниями могли быть приглашены для медосмотра и диспансеризации только после снятия всех ограничений [8].

В 2020 г. в России зарегистрирована144 691 смерть от коронавирусной инфекции, а в 2021 г. – 465 525 смертей от COVID-19, что позволило этому заболеванию выйти на второе место среди причин смерти (19 %) после сердечно-сосудистых заболеваний; ЗНО (283 180 случаев, 12 %) впервые за долгое время оказались на третьем месте [9]. Наиболее высокой была смертность от коронавирусной инфекции в старших возрастных подгруппах. По сравнению с 2019 г. стандартизованный по воз-

расту показатель заболеваемости ЗНО в целом по России в 2020 г. снизился на 13 % – с 250 до 217 на 100 000 населения. Это снижение произошло, главным образом, среди населения в возрасте 70+ лет, где убыль составила 16–15 % [10, 11].

Использование данных канцер-регистров, собирающих в электронном виде индивидуальную информацию обо всех больных ЗНО, проживающих на определенной территории, в отличие от обобщенных данных форм государственной отчётности, позволяет проводить углубленный анализ статистических показателей при раке [12]. Качество данных Архангельского областного регистра рака (АОКР) проверено международными аудитами, на основе его данных проводились исследования, результаты которых опубликованы в России и за рубежом.

Можно предположить, что высокая смертность от COVID-19 и связанное с пандемией ограничение доступа населения к диспансеризации были конкурентными причинами снижения заболеваемости ЗНО.

Цель исследования – оценить изменения заболеваемости и стадийной структуры ЗНО, включенных в программу скрининга в рамках диспансеризации взрослого населения во время пандемии COVID-19, в том числе в различных возрастных группах, по данным Архангельского областного канцер-регистра.

Материал и методы

Исследование продолжает серию работ, направленных на изучение статистики ЗНО, включенных в программу скрининга в рамках ДОГВН [6, 13, 14]. Индексные ЗНО (иЗНО) включают девять видов рака, на которые в рамках диспансеризации был направлен скрининг в рамках первого ее этапа.

Индивидуальные данные обо всех зарегистрированных в 2018–2021 гг. случаях рака ободочной кишки (С18), ректосигмоидного соединения и прямой кишки (С19–20), трахеи, бронхов и легкого (С33–34), молочной железы (С50), шейки матки (С53), тела матки (С54), яичников (С56–57), предстательной железы (С61) и почки (С64) для анализа были получены в деперсонифицированном виде из базы данных АОКР. В данные включались: идентификационный номер, пол, дата рождения, дата установления диагноза, топография и морфология по Международной классификации болезней для онкологии 3 пересмотра, 1 версии (МКБО-3.1), стадии по классификации UICC/AJCC TNM 8 версии (2017).

Периоды 2018–19 гг. и 2020–21 гг. сравнивали по следующим показателям: грубый, стандартизованный по возрасту (мировой стандарт ВОЗ, 2001 [15]) показатели заболеваемости, распределение по стадии при первичной диагностике. Использовали данные о численности населения, Росстата. Для расчётов использовали программу Excel, а также пакет статистических программ Stata 15.1, StataCorp LLC, 2017. Статистически значимыми считали различия между показателями и пропорциями на уровне $p<0,05$.

Результаты

Всего отобрано 12 354 случая заболевания при девяти иЗНО: в 2018–19 гг. выявлено 6680, в 2020–21 гг. – 5674 (-15,1 %). Динамика основных статистических показателей заболеваемости иЗНО в Архангельской области (АО) в период пандемии в сравнении с предыдущим двухлетним периодом отображена в табл. 1.

Снижение числа новых случаев рака в период после начала пандемии COVID-19 в АО произошло при всех иЗНО. Наиболее выраженное снижение «грубых» и стандартизованных по возрасту показателей заболеваемости зарегистрировано при раке легкого (-18,0–18,1 %), прямой кишки (-25,1–25,9 %) и шейки матки (-33,6–36,9 %), различия статистически значимы ($p<0,001$). Снижение было статистически незначимым при раке молочной железы, тела матки, почки.

Статистически значимые изменения в распределении по стадии во время пандемии COVID-19 произошли при раке легкого, шейки матки, тела матки, предстательной железы, почки (табл. 2). При этом наиболее выраженное снижение доли больных I стадии выявлено при раке легкого – с 14,8 до 11,8 % (темп прироста -20,0 %,), прямой кишки – с 20,9 до 16,7 % (темп прироста -20,2 %,) и шейки матки – с 53,2 до 33,5 % (темп прироста -37,1 %,). При раке предстательной железы и почки зарегистрирован прирост доли I стадии на 30 % (с 19,5 до 25,4 %) и 17,6 % (с 45,9 до 54,0 %) соответственно.

Доля больных с IV стадией возрастала в 2020–21 гг. при восьми иЗНО, наиболее существенно при раке почки (с 19,0 до 24,2 %, темп прироста +27,4 %), раке шейки матки (с 7,8 до 10,2 %, темп прироста +29,9 %, доля III стадии – с 20,4 до 36,7 %, темп прироста +79,8 %,), раке яичников (с 13,4 до 19,7 %, темп прироста +47,2 %,). При раке тела матки доля больных с IV стадией не изменилась (прирост +6,6 %), но возросла вдвое (с 8,3 до 16,2 %) доля III стадии. Доля больных с неустановленной/неизвестной стадией в целом была низкой и стабильной.

Статистика изменений стадийной структуры иЗНО в период коронавирусной пандемии по возрастным группам 0–39, 40–65 и 65+ лет представлена на рис. 1. Значимые неблагоприятные изменения стадийной структуры иЗНО, выражавшиеся в снижении доли I стадии и увеличении доли распространенных опухолей, в возрастных группах скрининга при ДОГВН в 2020–21 гг. по сравнению с предыдущим двухлетним периодом наблюдались при раке легкого, шейки матки, тела матки. В воз-

Таблица 1/Table 1

Динамика числа вновь выявленных случаев, грубых и стандартизованных по возрасту (мировой стандарт 2000 г.) показателей заболеваемости иЗНО в АО в периоды 2018–19 гг. и 2020–21 гг. Данные АОКР

Variations of the number of newly diagnosed cases, crude and age-standardized (World standard 2000) cancer incidence rates for the periods 2018–19 and 2020–21. ARCR data

Вид иЗНО/ Types of iMN	2018–2019			2020–2021				
	n	Грубый/ Crude	Мировой стандарт/ World standard	n	% изм./ % change	Грубый/ Crude	% изм./ % change	Мировой стандарт/ World standard	% изм./ % change
C18	946	41,1	24,1	875	-7,5	38,6	-6,1	21,6	-10,4
C19–20	675	29,3	16,5	498	-26,2	22,0	-25,1	12,2	-25,9
C33–34	1281	55,6	34,1	1033	-19,4	45,6	-18,1	27,9	-18,0
C50	1090	88,9	61,1	999	-8,3	82,8	-6,9	57,0	-6,7
C53	421	34,3	34,4	275	-34,7	22,8	-33,6	21,7	-36,9
C54	408	33,3	21,8	394	-3,4	32,7	-1,9	21,2	-2,8
C56–57	299	24,4	18,4	259	-13,4	21,5	-12,0	15,5	-15,9
C61	1044	96,5	70,7	878	-15,9	82,4	-14,6	57,5	-18,7
C64	516	22,4	14,9	463	-10,3	20,4	-8,9	13,9	-6,9

Примечание: иЗНО – индексные злокачественные новообразования; АО – Архангельская область; АОКР – Архангельский областной канцер-регистр; Коды иЗНО: C18 – ободочная кишка; C19–20 – ректосигмоидное соединение и прямая кишка; C33–34 – трахея, бронхи, легкое; C50 – молочная железа; C53 – шейка матки; C54 – тело матки; C56–57– яичники.

Note: iMN – index of malignant neoplasms; AR – Arkhangelsk region; ARCR – Arkhangelsk Regional Cancer Registry; CODES: C18 – colon; C19–20 – rectosigmoid junction and rectum; C33–34 – trachea, bronchi, lung; C50 – breast; C53 – cervix; C54 – body of uterus; C56–57 – ovaries.

Таблица 2/Table 2

Динамика распределения по стадии иЗНО в АО в периоды 2018–19 гг. и 2020–21 гг. Данные АОКР

Variations of the stage distribution of MNs in AO over the periods 2018–19 and 2020–21 ARCR data

иЗНО/стадии/iMNs/Stages	2018–2019		2020–2021		% изм.	P
	n	%	n	%		
C18	**946**	**100,0**	**875**	**100,0**	*-7,5*	
I	143	15,1	136	15,5	2,8	
II	330	34,9	273	31,2	-10,6	0,460
III	173	18,3	180	20,6	12,5	
IV	243	25,7	237	27,1	5,4	
Неизвестна/unknown	57	6,0	49	5,6	-7,1	
C19–20	**675**	**100,0**	**498**	**100,0**	*-26,2*	
I	141	20,9	83	16,7	-20,2	
II	187	27,7	116	23,3	-15,9	0,063
III	175	25,9	155	31,1	20,1	
IV	149	22,1	123	24,7	11,9	
Неизвестна/unknown	23	3,4	21	4,2	23,8	
C33–34	**1281**	**100,0**	**1033**	**100,0**	*-19,4*	
I	189	14,8	122	11,8	-20,0	
II	98	7,7	71	6,9	-10,2	<0,0001
III	353	27,6	250	24,2	-12,2	
IV	493	38,5	498	48,2	25,3	
Неизвестна/unknown	148	11,6	92	8,9	-22,9	
C50	1090	100,0	999	100,0	*-8,3*	
I	281	25,8	265	26,5	2,9	
II	483	44,3	436	43,6	-1,5	0,947
III	221	20,3	194	19,4	-4,2	
IV	95	8,7	93	9,3	6,8	
Неизвестна/unknown	10	0,9	11	1,1	20,0	

C53	421	100,0	**275**	**100,0**	*-34,7*	
I	224	53,2	92	33,5	-37,1	
II	70	16,6	50	18,2	9,4	**<0,0001**
III	86	20,4	101	36,7	79,8	
IV	33	7,8	28	10,2	29,9	
Неизвестна/unknown	8	1,9	4	1,5	-23,5	
C54	**408**	**100,0**	**394**	**100,0**	*-3,4*	
I	285	69,9	261	66,2	-5,2	
II	47	11,5	33	8,4	-27,3	**0,010**
III	34	8,3	64	16,2	94,9	
IV	28	6,9	26	6,6	-3,8	
Неизвестна/unknown	14	3,4	10	2,5	-26,0	
C56–57	**299**	**100,0**	**259**	**100,0**	*-13,4*	
I	106	35,5	87	33,6	-5,2	
II	42	14,0	25	9,7	-31,3	0,157
III	92	30,8	84	32,4	5,4	
IV	40	13,4	51	19,7	47,2	
Неизвестна/unknown	19	6,4	12	4,6	-27,1	
C61	**1044**	**100,0**	**878**	**100,0**	*-15,9*	
I	204	19,5	223	25,4	30,0	
II	447	42,8	332	37,8	-11,7	**0,008**
III	151	14,5	119	13,6	-6,3	
IV	209	20,0	187	21,3	6,4	
Неизвестна/unknown	33	3,2	17	1,9	-38,7	
C64	**516**	**100,0**	**463**	**100,0**	*-10,3*	
I	237	45,9	250	54,0	17,6	
II	46	8,9	33	7,1	-20,0	**<0,0001**
III	109	21,1	51	11,0	-47,9	
IV	98	19,0	112	24,2	27,4	
Неизвестна/unknown	26	5,0	17	3,7	-27,1	

Примечание: иЗНО – индексные злокачественные новообразования; АО – Архангельская область; АОКР – Архангельский областной канцер-регистр; Коды иЗНО: С18 – ободочная кишка; С19–20 – ректосигмоидное соединение и прямая кишка; С33–34 – трахея, бронхи, легкое; С50 – молочная железа; С53 – шейка матки; С54 – тело матки; С56–57– яичники.

Note: iMN – index of malignant neoplasms; AR – Arkhangelsk region; ARCR – Arkhangelsk Regional Cancer Registry; CODES: C18 – colon; C19–20 – rectosigmoid junction and rectum; C33–34 – trachea, bronchi, lung; C50 – breast; C53 – cervix; C54 – body of uterus; C56–57 – ovaries.

растной группе 40–64 года при раке легкого, шейки и тела матки увеличился удельный вес распространенных опухолей с 39,8 до 48,7 %, с 35,3 до 53,7 % и с 13,8 до 19,7 % соответственно. Удельный вес I стадии при раке шейки матки снизился с 69,8 до 43,4 % и с 39,1 до 29,3 % в возрастных подгруппах 0–39 и 40–64 года соответственно.

В возрастной подгруппе до 40 лет при раке ободочной кишки выявлено значимое увеличение доли IV стадии с 16,3 до 27,6 %, при раке прямой кишки – снижение доли I стадии с 28,3 до 13,0 %. В возрастной подгруппе 65+ лет значимое ухудшение стадийной структуры, выражавшееся в снижении доли I стадии с 14,9 до 11,5 % и увеличении доли IV стадии с 35,3 до 47,2 %, выявлено при раке легкого. При раке молочной железы, яичников, предстательной железы значимых изменений в распределении по стадиям при сравнении двух периодов не обнаружено. Доля I стадии возросла (в возрастных подгруппах 0–39 лет и 40–64 года достоверно) при одновременном увеличении удельного веса распространенных стадий при раке почки.

Обсуждение

Представлен основанный на данных популяционного канцер-регистра анализ изменений заболеваемости и стадийной структуры злокачественных новообразований, подлежащих скринингу в рамках ДОГВН (иЗНО), после приостановки последней в период пандемии COVID-19. Мы установили, что в период пандемии показатели заболеваемости снизились при всех иЗНО, наиболее значительно – при раке легкого, прямой кишки, шейки матки. При этом явные и значимые неблагоприятные изменения стадийной структуры, выражавшиеся в снижении удельного веса ранних и увеличении распространенных стадий, особенно в возрастных

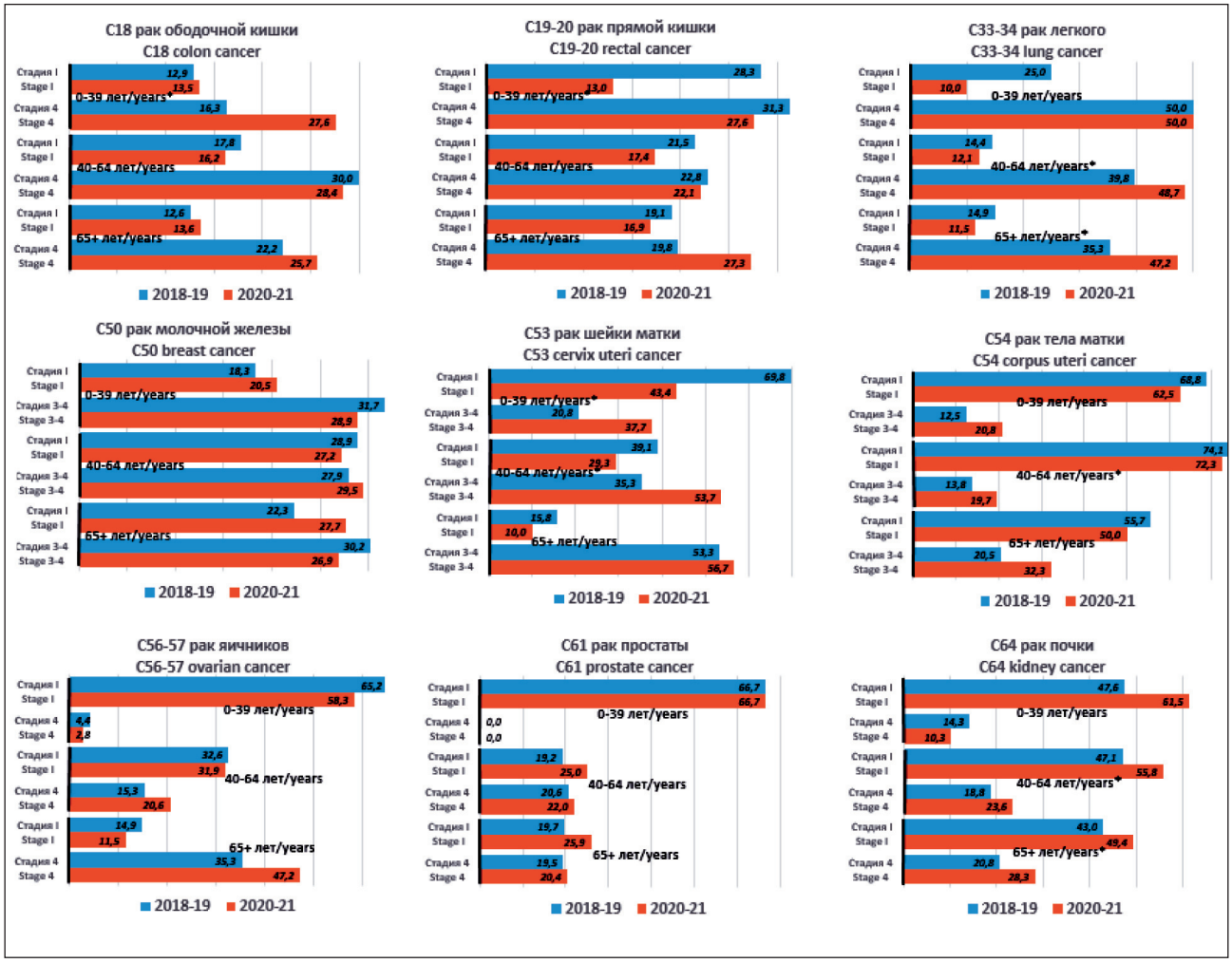


Рис. 1. Динамика доли I и IV стадии при первичной диагностике иЗНО в период пандемии COVID-19 в 2020–21 гг. в сравнении с периодом 2018–19 гг. в Архангельской области РФ. Для визуальных ЗНО представлена динамика доли III–IV стадии. Данные АОКР. Примечание: * – статистически значимые различия (p<0,05)

Fig. 1. Changes in the proportion of stages 1 and 4 in the primary diagnosis of MN during the COVID-19 pandemic in 2020–21 compared to the period 2018–2019 in the Arkhangelsk region of the Russian Federation. For visualized malignant neoplasms, the changes in the proportion of stages 3–4 are presented. AOCR data. Note: * – statistically significant changes (p<0.05)

подгруппах скрининга, обнаружены при раке шейки матки и легкого.

В период пандемии вся система здравоохранения России и других стран испытывала давление, снижалась ее эффективность в первичной диагностике ЗНО. В масштабах РФ в 2020 г. было зарегистрировано почти на 100 000 меньше случаев ЗНО по сравнению с 2019 г. [16]. Приостановка скрининга в рамках ДОГВН [7], видимо, является основной причиной выраженного снижения числа выявленных случаев рака шейки матки за счет катастрофического уменьшения доли доклинических стадий. Их доля сократилась почти вдвое в возрастной группе до 40 лет. Подобные изменения, вызванные ограничениями скрининга рака шейки матки в период пандемии, зарегистрированы и в других странах. Предполагается, что в дальнейшем это может привести к выявлению значительного количества запущенных случаев [17, 18].

Значимое снижение на 19,4 % числа выявленных случаев рака легкого произошло в первую очередь за счет ранних стадий (-20,0 % случаев I стадии, -10,2 % II стадии в период пандемии) у больных 40 лет и старше. Подобные результаты были получены в других странах: так, в Дании во время локдауна по поводу коронавирусной пандемии отмечалось снижение заболеваемости раком легкого на 24 % [19]. В России это, в первую очередь, можно объяснить отменой либо ограничением профилактических рентгенологических исследований органов грудной клетки в рамках ДОГВН в этот период. Однако ранее отмечалось, что доля ранних стадий и заболеваемость раком легкого не изменялись на протяжении 6 лет после введения ДОГВН по сравнению с предыдущим шестилетним периодом [6]. Другой, наиболее вероятной, причиной может быть то, что лица с невыраженными симптомами могли не посещать медицинские учреждения, в

периоды, когда уровень циркулирующего вируса в обществе был выше. Рак легкого также можно обнаружить случайно при рентгенографии органов грудной клетки по другим поводам, и поэтому, если пациенты обращались реже из-за страха заразиться COVID-19, то случайный рак на ранних стадиях с большей вероятностью мог быть пропущен [20].

Снижение на 15 % и более числа новых случаев было равномерным для всех стадий и возрастных групп скрининга в нашем исследовании при колоректальном раке. Данные согласуются с другими опубликованными результатами. Так, по данным анализа, включавшего 25 исследований, скрининг колоректального рака снизился на 28–100 % в разных странах и в разное время после начала пандемии COVID-19. В этот период со 100 % загрузкой продолжали работать только от 2 до 2,5 % больниц и скрининговых центров, а более 77 % из них ограничили свою деятельность до уровня менее 10 % от их нормальной загрузки. Также число колоноскопий для дообследования снизилось на 65,7 %, контрольных колоноскопий – на 45–79 %, плановых колоноскопий – на 60–81 % [21]. В то же время увеличение доли поздних стадий в период пандемии было небольшим и статистически незначимым. Большинство авторов ожидают отсроченный эффект задержки первичной диагностики рака прямой и ободочной кишки после окончания пандемии [22]. Требуется дальнейшее прослеживание уровней заболеваемости и распределения по стадии при колоректальном раке, чтобы в полной мере оценить последствия пандемии COVID-19.

В нашем исследовании не выявлено значимых изменений числа новых случаев заболеваемости и первичного распределения по стадии при раке молочной железы, несмотря на то, что условия скрининга в рамках ДОГВН в целом соответствуют условиям популяционного скрининга в других странах. В странах с длительной историей популяционного скрининга уменьшение числа скрининговых маммографических исследований составляло, по данным метаанализа, от 51 до 77 % [23–25]. В Нидерландах в связи с приостановкой программы скрининга рака молочной железы и перезапуском с ограниченными возможностями частота выявленных при скрининге опухолей молочной железы снизилась на 67 % в течение 9–35 нед 2020 г. [26]. В то же время, однако, по данным ряда популяционных исследований, на горизонте 2020 г. это не привело к значимому увеличению пропорции запущенных случаев [26, 27].

Пандемия COVID-19 и связанные с нею ограничительные мероприятия в нашем анализе не привели к значимому снижению показателей заболеваемости при раке яичников и тела матки, но, в целом, стали причиной увеличения доли запущенных стадий в старших возрастных группах. Эти виды иЗНО были включены в анализ, поскольку в числе исследований в рамках 1 этапа ДОГВН в 2013–17 гг. применялось ультразвуковое исследование малого таза и забрюшинного пространства [1, 2], однако в анализируемый двухлетний период до пандемии УЗИ малого таза для ранней диагностики рака тела матки и яичников уже не проводилось. Ранее было показано, что после введения ДОГВН при указанных заболеваниях не изменялись ни заболеваемость, ни распределение по стадии при первичной диагностике [6]. Большинство симптомов рака яичников неясны, и у пациентов нет неотложных жалоб, требующих немедленного обследования, поэтому можно предположить, что пандемия COVID-19 замедлила первичную диагностику из-за снижения доступа к медицинской помощи и более значимая пропорция запущенных случаев может ожидаться в ближайшие годы. В ряде других опубликованных клинических и популяционных исследований получены аналогичные результаты [28, 29].

Пандемия COVID-19 оказала негативное влияние как на раннюю диагностику из-за сокращения участия в программах скрининга, так и на время от постановки диагноза до хирургического вмешательства/лучевой терапии при раке предстательной железы [30], что может привести к более высокой смертности от рака предстательной железы в следующие годы [31]. Число новых случаев рака предстательной железы в нашем исследовании уменьшилось на 15,9 % без существенных изменений в распределении по стадии. В большинстве других сообщений, напротив, указывается на некоторое увеличение пропорции распространенных стадий [32, 33].

В нашем исследовании снижение числа новых случаев рака почки в период пандемии составило -10,3 %, что меньше, чем при других иЗНО. Более того, в этот период произошло увеличение доли больных с I стадией на 17,6 % при одновременном увеличении пропорции метастатического рака на 27,4 %, главным образом, в старших возрастных группах. Рак почки не является опухолью, подлежащей рутинному скринингу в общей популяции. Заболевание на ранней стадии часто представляет собой случайную находку во время рутинных ультразвуковых исследований (УЗИ), проводимых по другим показаниям, и чаще не имеет симптомов. Широкое использование УЗИ брюшной полости, в том числе проводимого при госпитализациях по поводу COVID-19 для исследования легких функциональных симптомов, могло позволить более часто диагностировать небольшие почечные образования, обычно поддающиеся радикальному лечению [34]. Тем не менее необходимо повторное исследование динамики заболеваемости и распределения по стадии при раке почки в дальнейшем.

Важным достоинством нашего исследования является его популяционный характер, включение в анализ всех зарегистрированных на территории Архангельской области больных. Это позволя-

ет избежать ошибок отбора, характерных для клинических исследований, и обеспечивает высокую статистическую мощность. Сведения об изменениях заболеваемости и распределения по стадии индексных ЗНО во время пандемии коронавирусной инфекции важны как для организации онкологической помощи, так и для улучшения организации диспансеризации в регионе и на федеральном уровне.

В период пандемии COVID-19 снижалось не только число обращений за медицинской онкологической помощью, особенно в период локдаунов и для населения старше 65 лет, но и существенно затруднялась работа по регистрации вновь выявленных заболеваний. Недоучет новых случаев, отмеченный и в других публикациях [31, 35], является потенциальным ограничением нашего исследования.

Таким образом, пандемия COVID-19 поразному повлияла на анализируемые показатели при иЗНО, приведя к резкому уменьшению диагностированных случаев и неблагоприятным изменениям в стадийной структуре при раке шейки матки, легкого, ободочной и прямой кишки. В высокой степени это может быть объяснено ограничением доступа к диспансеризации. При других иЗНО эти изменения были не столь явными. В дальнейшем требуется анализ смертности и выживаемости больных иЗНО.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации* от 3 декабря 2012 г. № 1006н. «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения» [*Order of the Ministry of Health of the Russian Federation* No. 1006n dated December 3, 2012. «On the approval of the procedure for the medical examination of certain groups of the adult population». (in Russian)]. [Internet]. URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70255634/ [cited 2022 July 1].

2. *Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации* от 3 февраля 2015 г. № 36ан «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения» [*Order of the Ministry of Health of the Russian Federation* № 36 an dated February 3, 2015 "On approval of the procedure for medical examination of certain groups of the adult population"] [Internet]. [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 36an dated February 3, 2015 "On approval of the procedure for medical examination of certain groups of the adult population". (in Russian)]. [Internet]. URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70783132/. [cited 2022 July 4].

3. *Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации* от 26 октября 2017 г. № 869н «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения» [*Order of the Ministry of Health of the Russian Federation* № 869n dated October 26, 2017 "On approval of the procedure for conducting medical examinations of certain groups of the adult population". (in Russian)]. [Internet]. URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71730314/. [cited 2022 July 4].

4. *Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации* от 13 марта 2019 г. № 124н «Об утверждении порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения» [*Order of the Ministry of Health of the Russian Federation* № 124n dated March 13, 2019 "On approval of the procedure for preventive medical examination and medical examination of certain groups of the adult population". (in Russian)]. [Internet]. URL: https://minzdrav.gov.ru/documents/9637-prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rossiyskoy-federatsii-ot-13-03-2019-124n-ob-utverzhdenii-poryadka-provedeniya-profilakticheskogo-meditsinskogo-osmotra-i-dispanserizatsii-opredelennyh-grupp-vzroslogo-naseleniya [cited 2022 July 4].

5. *Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации* (Министерство здравоохранения РФ) от 27 апреля 2021 г. № 404н «Об утверждении Порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения» [*Order of the Ministry of Health of the Russian Federation* (Ministry of Health of the Russian Federation) dated April 27, 2021 № 404n "On approval of the Procedure for preventive medical examination and medical examination of certain groups of the adult population". (in Russian)]. [Internet]. URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/401314440/. [cited 2022 July 4].

6. *Валькова Л.Е., Левит М.Л., Мерабишвили В.М., Панкратьева А.Ю., Дубовиченко Д.М., Агаева А.В., Рыжов А.Ю., Потехина Е.Ф., Вальков М.Ю.* Первичная эпидемиологическая оценка эффективности диспансеризации отдельных групп взрослого населения в роли скрининга онкологических заболеваний по данным Архангельского областного канцер-регистра. Research'n Practical Medicine Journal. 2019; 6(4): 187–99. [*Valkova L.E., Levit M.L., Merabishvili V.M., Pankrateva A.Yu., Dubovichenko D.M., Agaeva A.V., Ryzhov A.Yu., Potekhina E.F., Valkov M.Yu.* Primary epidemiological evaluation of the effectiveness of the All-National Dispensarization as a cancer screening by the data of the Arkhangelsk Regional Cancer Registry. Research and Practical Medicine Journal. 2019; 6(4): 187–99. (in Russian)]. https://doi.org/10.17709/2409-2231-2019-6-4-20.

7. *Распоряжение Правительства Российской Федерации* от 21 марта 2020 г. № 710-р «О временном приостановлении проведения Всероссийской диспансеризации взрослого населения» [*Decree of the Government of the Russian Federation* № 710-r dated March 21, 2020 "On the temporary suspension of the All-Russian medical examination of the adult population". (in Russian)]. [Internet]. URL: https://base.garant.ru/73781079/. [cited 2022 July 4].

8. *Временные методические рекомендации* по организации проведения медицинских осмотров и диспансеризации в условиях сохранения рисков распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19). [*Temporary methodological recommendations* on the organization of medical examinations and medical examinations in conditions of preserving the risks of the spread of a new coronavirus infection (COVID-19). (in Russian)]. [Internet]. URL: https://static0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/050/945/original/06072020_MR_DISP_v1.pdf. [cited 2022 July 4].

9. *Число умерших по причинам смерти* в 2021 г. Федеральная служба государственной статистики. [*The number of deaths due to causes of death* in 2021. Federal State Statistics Service. (in Russian)]. [Internet]. URL: https://rosstat.gov.ru/folder/12781. [cited 2022 July 4].

10. *Злокачественные новообразования в России* в 2019 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2020. 252 с. [*Cancer incidence and mortality in Russia* in 2019. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2020. 252 p. (in Russian)].

11. *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 tumors in Russia* in 2020 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2021. 252 p. (in Russian)].

12. *Вальков М.Ю., Карпунов А.А., Коулман М.П., Аллемани К., Панкратьева А.Ю., Потехина Е.Ф., Валькова Л.Е., Гржибовский А.М.* Популяционный раковый регистр как ресурс для науки и практического здравоохранения. Экология человека. 2017; (5): 54–62.[*Valkov M.Yu., Karpunov A.A., Coleman M.P., Allemani C., Pankratieva A. Yu., Potekhina E.F., Valkova L.E., Grjibovski A.M.* The population-based cancer registry as a resource for research and practical healthcare. Human Ecology. 2017; (5): 54–62. (in Russian)].

13. *Валькова Л.Е., Левит М.Л., Мерабишвили В.М., Панкратьева А.Ю., Крупина М.В., Дубовиченко Д.М., Агаева А.В., Рыжов А.Ю., Потехина Е.Ф., Вальков М.Ю.* Динамика смертности от злокачественных новообразований, регистрируемых в ходе диспансеризации отдельных групп взрослого населения: популяционное исследование по данным Архангельского областного канцер-регистра. Research and Practical Medicine Journal. 2020; 7(4): 175–82. [*Valkova L.E., Levit M.L., Merabishvili V.M., Pankrateva A.Yu., Krupina M.V., Dubovichenko D.M., Agaeva A.V., Ryzhov A.Yu., Potekhina E.F., Valkov M.Yu.* Cancer mortality trends after implementation of the national programme for dispensarization of certain groups of the adult population: a population-based study from Arkhangelsk, north-western Russia. Research and Practical Medicine Journal. 2020; 7(4): 175–82. (in Russian)]. https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-4-14.

14. *Валькова Л.Е., Мерабишвили В.М., Панкратьева А.Ю., Агаева А.В., Рыжов А.Ю., Потехина Е.Ф., Щербаков А.М., Дяченко А.А., Ворошилов Ю.А, Вальков М.Ю.* Выживаемость больных ЗНО, включенными в программу первого этапа диспансеризации

отдельных групп взрослого населения: эпидемиологический анализ на основе данных канцер-регистра. Вопросы онкологии. 2021; 67(4): 501–10. [*Valkova L.E., Merabishvili V.M., Pankrat'eva A.Yu., Agaeva A.V., Voroshilov Yu.A., Valkov M.Y.* Survival among cancers screened at the first stage of dispanserization of certain groups of the adult population: a population-based epidemiological analysis. Problems in Oncology. 2021; 67(4): 501–10. (in Russian)]. doi: 10.37469/0507-3758-2021-67-4-501-510.

15. *Ahmad O.B., Boschi-Pinto C., Lopez A.D., Murray Ch.* Age standardization of rates: a new world standard GPE discussion paper series [Internet]. WHO. 2001. URL: https://www.researchgate.net/publication/203609941_Age_Standardization_of_Rates_A_New_WHO_Standard (in Russian)]. [Cited 2022 July 1].

16. *Стилиди И.С., Заридзе Д.Г., Максимович Д.М., Дзитиев Д.М.* Снижение заболеваемости злокачественными опухолями – еще одно последствие эпидемии COVID-19. Общественное здоровье. 2022; 2(1): 5–14. [*Stilidi I.S., Zaridze D.G., Maksimovich D.M., Dzitiev D.M.* The decrease in the incidence of malignant tumors as a consequence of the epidemic of COVID-19. Public Health. 2022; 2(1): 5–14. (in Russian)]. doi: 10.21045/2782 1676 2022 2 1-5-14.

17. *Davies J.M., Spencer A., Macdonald S., Dobson L., Haydock E., Burton H., Angelopoulos G., Martin-Hirsch P., Wood N.J., Thangavelu A., Hutson R., Munot S., Flynn M., Smith M., DeCruze B., Myriokefalitaki E., Sap K., Winter-Roach B., Macdonald R., Edmondson R.J.* Cervical cancer and COVID-an assessment of the initial effect of the pandemic and subsequent projection of impact for women in England: A cohort study. BJOG. 2022; 129(7): 1133–9. doi: 10.1111/1471-0528.17098.

18. *Wentzensen N., Clarke M.A., Perkins R.B.* Impact of COVID-19 on cervical cancer screening: Challenges and opportunities to improving resilience and reduce disparities. Prev Med. 2021; 151. doi: 10.1016/j.ypmed.2021.106596.

19. *Skovlund C.W., Friis S., Dehlendorff C., Nilbert M.C., Mørch L.S.* Hidden morbidities: drop in cancer diagnoses during the COVID-19 pandemic in Denmark. Acta Oncol. 2021; 60(1): 20–3. doi: 10.1080/0284186X.2020.1858235.

20. *Maxwell S.S., Weller D.* Lung cancer and Covid-19: lessons learnt from the pandemic and where do we go from here? NPJ Prim Care Respir Med. 2022; 32(1): 19. doi: 10.1038/s41533-022-00283-x.

21. *Mazidimoradi A., Tiznobaik A., Salehiniya H.* Impact of the COVID-19 Pandemic on Colorectal Cancer Screening: a Systematic Review. J Gastrointest Cancer. 2022; 53(3): 730–44. doi: 10.1007/s12029-021-00679-x.

22. *Castonguay M., El Sayed R., Richard C., Vachon M.F., Nassabein R., Charpentier D., Tehfé M.* COVID-19 Impact on Diagnosis and Staging of Colorectal Cancer: A Single Tertiary Canadian Oncology Center Experience. Curr Oncol. 2022; 29(5): 3282–90. doi: 10.3390/curroncol29050268.

23. *Zhou J.Z., Kane S., Ramsey C., Akhondzadeh M., Banerjee A., Shatsky R., Gold K.A.* Comparison of Early- and Late-Stage Breast and Colorectal Cancer Diagnoses During vs Before the COVID-19 Pandemic. JAMA Netw Open. 2022; 5(2). doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.48581.

24. *Fedorenko C.R., Kreizenbeck K.L., Ramsey S.D.* Stage at cancer diagnosis during the COVID-19 pandemic in western Washington state. J Clin Oncol. 2021; 39(28): 145–5 DOI: 10.1200/JCO.2020.39.28.

25. *Mayo M., Potugari B., Bzeih R., Scheidel C., Carrera C., Shellenberger R.A.* Cancer Screening During the COVID-19 Pandemic: A Systematic Review and Meta-analysis. Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes. 2021; 5(6): 1109–17. doi: 10.1016/j.mayocpiqo.2021.10.003.

26. *Eijkelboom A.H., de Munck L., Lobbes M.B.I., Carla H., Wesselingfg Pieter J., Westenend J., Paez C.G., Pijnappel R.M., Verkooijen H.M., Broeders M.J.M., Siesling S., On behalf of the NABON COVID-19 Consortium and the COVID and Cancer-NL Consortium.* Impact of the COVID-19 pandemic on diagnosis, stage, and initial treatment of breast cancer in The Netherlands: a population-based study. J Hematol Oncol. 2021; 14(1): 64. https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2021.106602.

27. *Vrdoljak E., Balja M.P., Marušić Z., Avirović M., Blažičević V., Tomasović Č., Čerina D., Bajić Ž., Miše B.P., Lovasić I.B., Flam J., Tomić S.* COVID-19 Pandemic Effects on Breast Cancer Diagnosis in Croatia: A Population- and Registry-Based Study. Oncologist. 2021; 26(7): 1156–60. doi: 10.1002/onco.13791.

28. *Jacome L.S., Deshmukh S.K., Thulasiraman P., Holliday N.P., Singh S.* Impact of COVID-19 Pandemic on Ovarian Cancer Management: Adjusting to the New Normal. Cancer Manag Res. 2021; 13: 359–66. doi: 10.2147/CMAR.S287152.

29. *Sole-Sedeno J., Miralpeix Rovira E., Espuelas S., Castella J., Fabrego B., Salvado A., Mancebo G.* Impact of COVID pandemic in the diagnosis of endometrial and ovarian cancers. Int J Gynecol Cancer. 2021; 31: 183–4.

30. *Ferrari A., Sanchis-Gomar F., Mattiuzzi C., Henry B.M., Lippi G.* Is COVID-19 impacting prostate cancer screening? A survey of prostate-specific antigen test requests during a local outbreak. EJIFCC. 2021; 32(1): 69–77.

31. *Ward Z.J., Walbaum M., Walbaum B., Guzman M.J., Jimenez de la Jara J., Nervi B., Atun R.* Estimating the impact of the COVID-19 pandemic on diagnosis and survival of five cancers in Chile from 2020 to 2030: a simulation-based analysis. Lancet Oncol. 2021; 22(10): 1427–37. doi: 10.1016/S1470-2045(21)00426-5.

32. *Nossiter J., Morris M., Parry M.G., Sujenthiran A., Cathcart P., van der Meulen J., Aggarwal A., Payne H., Clarke N.W.* Impact of the COVID-19 pandemic on the diagnosis and treatment of men with prostate cancer. BJU Int. 2022; 130(2): 262–70. doi: 10.1111/bju.15699.

33. *Jain A., Macneil J., Kim L., Patel M.I.* The effect of COVID-19 on prostate cancer testing in Australia. BMC Urol. 2022; 22(1): 88. doi: 10.1186/s12894-022-01043-2.

34. *Herts B.R., Silverman S.G., Hindman N.M., Uzzo R.G., Hartman R.P., Israel G.M., Baumgarten D.A., Berland L.L., Pandharipande P.V.* Management of the Incidental Renal Mass on CT: A White Paper of the ACR Incidental Findings Committee. J Am Coll Radiol. 2018; 15(2): 264–73. doi: 10.1016/j.jacr.2017.04.028.

35. *Мерабишвили В.М.* Коронавирусы и рак в России. Вопросы онкологии 2022; 68(4): 381–92. [*Merabishvili V.M.* Covid and cancer in Russia. Problems in Oncology. 2022; 68(4): 381–92. doi: 10.37469/0507-3758-2022-68-4-381-392. (in Russian)].

Поступила/Received 15.09.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 28.11.2022
Принята к публикации/Accepted 08.12.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Валькова Людмила Евгеньевна, ассистент кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии, ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России (Архангельск, Россия). E-mail: ludmilla1valkova@yandex.ru. SPIN-код: 7044-1926. Researcher ID (WOS): AAH-8508-2020. Author ID (Scopus): 57196951564. ORCID: 0000-0003-0808-9508.

Дяченко Андрей Андреевич, ассистент кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии, ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России (Архангельск, Россия). SPIN-код: 5887-5750. Researcher ID (WOS): GRJ-0976-2022. ORCID: 0000-0001-8421-5305.

Мерабишвили Вахтанг Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, председатель научно-методического Совета по развитию информационных систем онкологической службы Северо-Западного федерального округа России, заведующий научной лабораторией онкологической статистики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5705-6327. Researcher ID (WOS): AAB-5901-2020. ORCID: 0000-0002-1521-4550.

Богданов Дмитрий Васильевич, ассистент, институт общественного здоровья, здравоохранения и социальной работы, ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России; главный врач, ГБУ АО «Архангельский клинический онкологический диспансер» (г. Архангельск, Россия).

Березин Андрей Владимирович, доцент кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии, ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России; заместитель главного врача, ГБУ АО «Архангельский клинический онкологический диспансер» (г. Архангельск, Россия).

Потехина Елена Федоровна, руководитель организационно-методического отдела, ГБУ АО «Архангельский клинический онкологический диспансер» (г. Архангельск, Россия).

Вальков Михаил Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии, ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-радиотерапевт дневного стационара радиотерапевтического, ГБУ АО «Архангельский клинический онкологический диспансер» (г. Архангельск, Россия). SPIN-код: 8608-8239. Researcher ID (WOS): L-4441-2018. Author ID (Scopus): 6506508968. ORCID: 0000-0003-3230-9638.

ВКЛАД АВТОРОВ

Валькова Людмила Евгеньевна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, написание черновика статьи.
Дяченко Андрей Андреевич: статистическая обработка, критический пересмотр и правка черновика статьи.
Мерабишвили Вахтанг Михайлович: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, написание черновика статьи, окончательное утверждение публикуемой версии статьи.
Богданов Дмитрий Васильевич: статистическая обработка, критический пересмотр и правка черновика статьи.
Березин Андрей Владимирович: статистическая обработка, критический пересмотр и правка черновика статьи.
Потехина Елена Федоровна: представление данных для статистической обработки материала, критический пересмотр и правка черновика статьи.
Вальков Михаил Юрьевич: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, написание черновика статьи, окончательное утверждение публикуемой версии статьи.

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

ABOUT THE AUTHORS

Lyudmila E. Valkova, Assistant of the Department of Radiology, Radiation Therapy and Oncology, Northern State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Arkhangelsk, Russia). E-mail: ludmilla1valkova@yandex.ru. Researcher ID (WOS): AAH-8508-2020. Author ID (Scopus): 57196951564. ORCID: 0000-0003-0808-9508.
Andrey A. Dyachenko, Assistant of the Department of Radiology, Radiation Therapy and Oncology, Northern State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Arkhangelsk, Russia). Researcher ID (WOS): GRJ-0976-2022. ORCID: 0000-0001-8421-5305.
Vakhtang M. Merabishvili, MD, Professor, Chairman of the Scientific and Methodological Council for the Development of Information Systems of the Oncological Service of the North-West Region of Russia, Head of the Scientific Laboratory of Cancer Statistics, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia (St. Petersburg, Pesochny, Russia). Researcher ID (WOS): AAB-5901-2020. ORCID: 0000-0002-1521-4550.
Dmitry V. Bogdanov, Assistant, Institute of Public Health, Health Care and Social Work, Northern State Medical University of the Ministry of Health of the Russia; Chief Physician of the Arkhangelsk Clinical Oncology Center JSC (Arkhangelsk, Russia).
Andrey V. Berezin, Associate Professor of the Department of Radiation Diagnostics, Radiation Therapy and Oncology, Northern State Medical University of the Ministry of Health of the Russia; Deputy Chief Physician, Arkhangelsk Clinical Cancer Center (Arkhangelsk, Russia).
Elena F. Potekhina, Head of the Organizational and Methodological Department, Arkhangelsk Clinical Cancer Center (Arkhangelsk, Russia).
Mikhail Yu. Valkov, MD, Professor, Head of the Department of Radiation Diagnostics, Radiation Therapy and Oncology, Northern State Medical University of the Ministry of Health of the Russia; radiotherapist, radiotherapy day hospital, Arkhangelsk Clinical Cancer Center (Arkhangelsk, Russia). Researcher ID (WOS): L-4441-2018. Author ID (Scopus): 6506508968. ORCID: 0000-0003-3230-9638.

AUTHOR CONTRIBUTION

Lyudmila E. Valkova: study conception, statistical data processing, drafting of the manuscript.
Andrey A. Dyachenko: statistical processing, critical revision and editing of the manuscript.
Vakhtang M. Merabishvili: study conception, statistical processing, drafting of the manuscript, final approval of the published version of the manuscript.
Dmitry V. Bogdanov: statistical processing, critical revision and editing of the draft manuscript.
Andrey V. Berezin: statistical processing, critical revision and editing of the draft manuscript.
Elena F. Potekhina: presentation of data for statistical processing of the material, critical revision and editing of the draft manuscript.
Mikhail Yu. Valkov: study conception, statistical processing, drafting of the manuscript, 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: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-17-24
УДК: 616.34-006.6-033.2-08:616.36:615.28

Для цитирования: *Добродеев А.Ю., Костромицкий Д.Н., Тарасова А.С., Афанасьев С.Г., Бабышкина Н.Н., Пономарева А.А., Ермоленко Р.В., Фролова И.Г., Черемисина О.В.* Непосредственные результаты неоадъювантной химиотерапии у больных метастатическим колоректальным раком с изолированным поражением печени. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 17–24. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-17-24

For citation: *Dobrodeev A.Yu., Kostromitsky D.N., Tarasova A.S., Afanasyev S.G., Babyshkina N.N., Ponomaryeva A.A., Ermolenko R.V., Frolova I.G., Cheremisina O.V.* Short-term outcomes of neoadjuvant chemotherapy in colorectal cancer patients with isolated liver metastasis. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 17–24. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-17-24

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МЕТАСТАТИЧЕСКИМ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ С ИЗОЛИРОВАННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

А.Ю. Добродеев[1], Д.Н. Костромицкий[1], А.С. Тарасова[1], С.Г. Афанасьев[1], Н.Н. Бабышкина[1,2], А.А. Пономарева[1], Р.В. Ермоленко[1], И.Г. Фролова[1], О.В. Черемисина[1]

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия[1]
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: dobrodeev@oncology.tomsk.ru[1]
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия[2]
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2[2]

Аннотация

Цель исследования – изучить непосредственную эффективность и переносимость неоадъювантной химиотерапии у больных колоректальным раком (КРР) с изолированным метастатическим поражением печени. **Материал и методы.** С 2020 г. в отделении абдоминальной онкологии НИИ онкологии ТНИМЦ проводится пилотное исследование, в которое вошло 23 больных КРР с метастазами в печень. Комбинированное лечение включало 3 курса неоадъювантной химиотерапии (НАХТ) по схеме FOLFOXIRI + цетуксимаб (20 больных с wtKRAS) и FOLFOXIRI + бевацизумаб (3 больных с mtKRAS). После завершения НАХТ у всех больных выполнялась симультанная лапароскопическая резекция кишки с открытой резекцией печени. **Результаты.** Объективный ответ со стороны метастазов в печени достиг 100 % (полная регрессия – 8,7 %, частичная регрессия – 91,3 %), со стороны первичной опухоли – 100 % (частичная регрессия). Общая токсичность НАХТ составила 53,6 % и соответствовала I–II степени, наиболее часто наблюдались тошнота/рвота (27,5 %), полинейропатия (10,1 %), кожные реакции (10,1 %), гепатотоксичность (5,8 %). Хирургическое лечение у всех больных выполнено в радикальном объеме (R0). Послеоперационные осложнения развились у 19 (82,6 %) больных, из них у 18 (78,3 %) наблюдалась фебрильная температура (1 ст. по Clavien–Dindo), обусловленная применением во время операции на печени биполярной коагуляции, у 1 (4,4 %) больного сформировался желчный свищ класса b (3 A/B ст. по Clavien–Dindo). Послеоперационной летальности не было. Полный патоморфологический ответ со стороны метастазов в печени составил 4,4 % (TRG1 по Mandard), со стороны первичной опухоли в большинстве случаев регистрировалась TRG 3 – 87 %. **Заключение.** Комбинированное лечение больных КРР с метастазами в печень, включающее НАХТ по схеме FOLFOXIRI и таргетную терапию, характеризуется удовлетворительной переносимостью, оказывает выраженное повреждающее действие на опухоль и не влияет на течение послеоперационного периода. Для оценки отдаленных результатов лечения необходимы дальнейшие исследования.

Ключевые слова: колоректальный рак; метастазы в печень; неоадъювантная химиотерапия; хирургическое лечение.

Добродеев Алексей Юрьевич, dobrodeev@oncology.tomsk.ru

SHORT-TERM OUTCOMES OF NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IN COLORECTAL CANCER PATIENTS WITH ISOLATED LIVER METASTASIS

A.Yu. Dobrodeev[1], D.N. Kostromitsky[1], A.S. Tarasova[1], S.G. Afanasyev[1], N.N. Babyshkina[1,2], A.A. Ponomaryeva[1], R.V. Ermolenko[1], I.G. Frolova[1], O.V. Cheremisina[1]

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia[1]
5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia.
E-mail: dobrodeev@oncology.tomsk.ru[1]
Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia[2]
2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia[2]

Abstract

The purpose of the study was to assess the short-term efficacy and tolerability of neoadjuvant chemotherapy (NAC) in colorectal cancer (CRC) patients with isolated liver metastasis. **Material and Methods.** Since 2020, a pilot study including 23 CRC patients with liver metastasis has been conducted at the Abdominal Cancer Department of the Cancer Research Institute (Tomsk, Russia). The combined treatment modality included 3 cycles of NAC according to FOLFOXIRI + cetuximab (20 patients with wtKRAS) and FOLFOXIRI + bevacizumab (3 patients with mtKRAS) regimens followed by simultaneous laparoscopic colorectal resection and open liver resection. **Results.** For liver metastases, the objective response rate reached 100 % (complete response: 8.7 %, partial response: 91.3 %). For the primary tumor, the objective response rate was 100 % (partial response). The overall NAC toxicity rate was 53.6 %. The major I–II grade toxicities included nausea/vomiting (27.5 %), polyneuropathy (10.1 %), skin reaction (10.1 %), hepatotoxicity (5.8 %), and corresponded to I–II grade. R0 resection was performed in all patients. Postoperative complications were observed in 19 (82.6 %) patients; of them 18 (78.3 %) had a febrile temperature (grade 1, according to the Clavien–Dindo classification) due to the use of bipolar coagulation during liver surgery, and 1 (4.4 %) patient developed a biliary fistula (3 A/B grade according to Clavien–Dindo). No postoperative death occurred. For liver metastasis, pathological complete response rate was 4.4 % (TRG1 according to Mandard); for the primary tumor, in most cases was TRG 3 – 87 %. **Conclusion.** Combined treatment modality, including NAC with FOLFOXIRI regimen and targeted therapy for CRC with liver metastases, is well tolerated, has a significant damaging effect on the tumor, and does not affect the course of the postoperative period. Further studies are required to assess the long-term treatment outcomes.

Key words: colorectal cancer; liver metastases; neoadjuvant chemotherapy; surgery.

Введение

Колоректальный рак (КРР) в Российской Федерации занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости и смертности [1]. Неудовлетворительные показатели выживаемости обусловлены тем, что на момент постановки диагноза практически у половины больных КРР выявляются метастазы в печени. При метастатическом КРР (мКРР) единственно возможным вариантом лечения первичной опухоли и метастазов в печени является оперативное вмешательство [2–4], которое позволяет добиться 5-летней выживаемости у 30–45 % больных. Однако только в 20 % случаев возможно хирургическое удаление метастатических очагов с «чистыми» краями резекции (R0).

Перспективным подходом к лечению мКРР является применение мультимодального метода [5, 6], включающего рациональное сочетание неоадъювантной химиотерапии (НАХТ), таргетной терапии и хирургического лечения. Противоопухолевая лекарственная терапия на предоперационном этапе позволяет оценить чувствительность опухоли к химиотерапии *in vivo*, проводить отбор больных на операцию, сократить размеры первичной опухоли и метастазов в печени, повысить резектабельность и возможность выполнения паренхимосберегающих оперативных вмешательств. В последние годы наиболее широко проводится химиотерапия с использованием дуплетов (FOLFOX, XELOX и FOLFIRI) с добавлением таргетных препаратов (бевацизумаб, цетуксимаб и панитумумаб), воздействующих на различные опухолевые рецепторы. При этом объективный ответ опухоли достигает 44,8–62 % [7, 8].

С целью повышения эффективности лечения в настоящее время активно используются триплеты, включающие фторпиримидины, оксалиплатин и иринотекан. Так, в исследовании GONO [9] в результате применения триплета FOLFOXIRI частота радикальных резекций печени была достоверно

выше (36 %), чем при использовании дуплета FOLFIRI (12 %), хотя и за счет большей, но управляемой токсичности, включая периферическую нейропатию и нейтропению. По данным многоцентрового рандомизированного исследования III фазы TRIBE 2 [10], у больных нерезектабельным мКРР с изолированным поражением печени медиана времени до прогрессирования в группе FOLFOXIRI + бевацизумаб была достоверно выше, чем в группе FOLFIRI + бевацизумаб (19,2 *vs* 16,4 мес). Наиболее частыми нежелательными явлениями при использовании триплета и дуплета были нейтропения (50 % *vs* 21 %) и диарея (17 % *vs* 5 %) ($p<0,05$). Вместе с тем, течение послеоперационного периода в группах не отличалось, и значимых различий в летальности не выявлено.

Таким образом, несмотря на большое количество исследований, посвященных лечению больных мКРР с изолированным поражением печени, до настоящего времени остается много вопросов, связанных с выбором оптимального режима химиотерапии и назначением биологических противоопухолевых агентов, оценкой эффективности и переносимости проводимого лечения, что представляет собой актуальную задачу современной клинической онкологии.

Целью исследования явилось изучение непосредственной эффективности и переносимости неоадъювантной химиотерапии у больных КРР с изолированным метастатическим поражением печени.

Материал и методы

В отделении абдоминальной онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2020 г. проводится пилотное исследование, в которое было включено 23 больных мКРР с изолированным поражением печени (табл. 1). В рамках комбинированного лечения при wtKRAS применялось 3 курса НАХТ по схеме FOLFOXIRI + цетуксимаб (20 больных), при mtKRAS (3 больных) – 3 курса НАХТ по схеме FOLFOXIRI + бевацизумаб. После завершения неоадъювантного лечения у всех больных выполнялась симультанная лапароскопическая резекция кишки с открытой резекцией печени. Средний возраст больных составил 49,3 (40,3–58) года. Соотношение мужчин и женщин ≈ 1:1. Наиболее часто опухолью поражались сигмовидная кишка (47,8 %) и ректосигмоидный переход (21,7 %). Среднее количество метастазов в печени – 3 (1–11). Морфологический тип опухоли – аденокарцинома различной степени дифференцировки. Общее состояние всех больных соответствовало 0–1 баллу по шкале ECOG.

Обследование до начала лечения включало: спиральную компьютерную томографию (СКТ) органов грудной клетки и органов брюшной полости, магнитно-резонансную томографию (МРТ) органов малого таза, видеоколоноскопию с биопсией опухоли для морфологического исследования, исследование опухолевых маркеров (РЭА). Эффективность неоадъювантного лечения анализировали с использованием шкалы RECIST 1.1 – полная регрессия, частичная регрессия, стабилизация процесса и прогрессирование (по данным СКТ органов брюшной полости и МРТ органов малого таза). Нежелательные явления химиотерапии оценивались по критериям NCI CTCAE (v.4.03). Особенности течения послеоперационного периода анализировались с учетом степени тяжести нежелательных явлений на основании шкалы Clavien–Dindo (2004). Лечебный патоморфоз в первичной опухоли и метастазах в печени изучен по схеме A.M. Mandard.

Для статистической обработки полученных результатов применялся пакет программ “Statistica for Windows” (версия 8.0). Описание качественных данных проводилось с использованием абсолютных и относительных значений, количественные данные представлены в виде медианы и квартилей (25 и 75 %). С целью анализа количественных данных измерений вида «до-после» применялся критерий Уилкоксона. Статистически значимыми считались различия на уровне $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Неоадъювантное лечение в запланированном объеме было завершено у всех больных – всего у 23 пациентов проведено 69 курсов. После проведения неоадъювантного лечения объективный ответ первичной опухоли составил 100 % и был представлен во всех случаях частичной регрессией, по метастазам в печени ответ также достиг 100 %, включая полную регрессию – 8,7 % и частичную регрессию – 91,3 % (табл. 2). По данным литературы, при использовании химиотерапии по схеме FOLFOXIRI объективный ответ со стороны метастатических очагов в печени составляет 66 % (полная регрессия – 8 %, частичная регрессия – 58 %) [9]. Более высокие показатели объективного ответа в нашем исследовании обусловлены тем, что дополнительно к химиотерапии проводилась таргетная терапия.

Анализ уровня онкомаркеров показал, что в результате канцероцидного действия неоадъювантного лечения отмечено значимое снижение уровня РЭА ($p<0,05$). Так, если до НАХТ средний уровень РЭА составлял 155,8 нг/мл (122,4–176,9), то после 3 курсов противоопухолевого лекарственного лечения он снизился до 4,1 нг/мл (3,3–5,2).

Общая токсичность НАХТ составила 53,6 %. Нежелательные явления были представлены следующим образом: в большинстве случаев встречалась тошнота/рвота – 19 (27,5 %), одинаково часто отмечались полинейропатия и кожная токсичность – по 7 (10,1 %), реже регистрировалась гепатотоксичность – 4 (5,8 %). Во всех случаях нежелательные явления соответствовали I и II степени.

Таблица 1/Table 1

Общая характеристика больных
General characteristics of patients

Parameter/Параметр	Number of patients /Количество больных
Возраст больных, лет/Age of patients, years	49,3 (40,3–58 %)
Пол/Gender	
Мужчины/Men	10 (43,5 %)
Женщины /Women	13 (56,5 %)
Локализация первичной опухоли/Localization of the primary tumor	
Рак печеночного изгиба толстой кишки/Cancer of the hepatic flexure of the colon	1 (4,4 %)
Рак поперечно–ободочной кишки/Cancer of the transverse colon	1 (4,4 %)
Рак нисходящего отдела толстой кишки/Cancer of the descending colon	2 (8,7 %)
Рак сигмовидной кишки/Cancer of the sigmoid colon	11 (47,8 %)
Рак ректосигмоидного перехода/Cancer of the rectosigmoid junction	5 (21,7 %)
Рак верхне–, среднеампулярного отдела прямой кишки/ Cancer of the upper–, middle of ampulla rectum	3 (13 %)
Количество метастазов в печени/Number of liver metastases	
1–3	13 (56,5 %)
4–6	4 (17,4 %)
7–9	4 (17,4 %)
10–11	2 (8,7 %)

Таблица 2/Table 2

Непосредственная эффективность химиотерапии
Short–term response to chemotherapy

Объективный ответ/ Objective response	Первичная опухоль/ Primary tumor	Метастазы в печени/ Liver metastases
Полная регрессия/ Complete response	–	2 (8,7 %)
Частичная регрессия/Partial response	23 (100 %)	21 (91,3 %)
Стабилизация/ Stable disease	–	–
Прогрессирование/Progression	–	–

Таблица 3/Table 3

Хирургическое лечение больных мКРР
Surgical treatment of patients with mCRC

Первичная опухоль/Primary tumor		Метастазы в печени/Metastases in the liver	
Правосторонняя гемиколэктомия/ Right hemicolectomy	1 (4,4 %)	Анатомическая резекция печени/ Anatomical liver resection	11 (47,8 %)
Резекция поперечно-ободочной кишки/ Resection of the transverse colon	1 (4,4 %)	Атипичная резекция печени/ Atypical liver resection	8 (34,8 %)
Левосторонняя гемиколэктомия/ Left hemicolectomy	2 (8,7 %)	Левосторонняя гепатэктомия/ Left hepatectomy	2 (8,7 %)
Резекция сигмовидной кишки/ Resection of the sigmoid colon	13 (56,5 %)	Правосторонняя гепатэктомия/ Right Hepatectomy	1 (4,4 %)
Передняя резекция прямой кишки/ Anterior resection of the rectum	6 (26 %)	Правосторонняя трисекционэктомия/ Right trisectionectomy	1 (4,4 %)

Таблица 4/Table 4

Лечебный патоморфоз опухоли
Pathological tumor response

Tumor regression grade (TRG %)	Первичная опухоль/ Primary tumor	Метастазы в печени/ Metastases in the liver
Grade 1 (TRG 1 %)	–	1 (4,4 %)
Grade 2 (TRG 2 %)	–	4 (17,4 %)
Grade 3 (TRG 3 %)	20 (87 %)	16 (69,5 %)
Grade 4 (TRG 4 %)	3 (13 %)	2 (8,7 %)
Grade 5 (TRG 5 %)	–	–

Хирургическое лечение у всех больных мКРР выполнено в объеме R0-резекций (табл. 3). Следует отметить, что среднее время операции составило 203 мин (181–380), при этом средний объем кровопотери – 370 мл (270–950). Интраоперационных осложнений, связанных с проведением неоадъювантного лечения, не было. В послеоперационном периоде перистальтика появлялась через 9 ч (7–12), а первый стул отмечался через 32 ч (24–56). После резекций печени осложнения развились у 19 (82,6 %) больных, из них у 18 (78,3 %) на протяжении 3–4 дней была фебрильная температура (1 ст. по Clavien–Dindo), которая купировалась симптоматической терапией (антипиретики). Гипертермия, по нашему мнению, была обусловлена способом разделения печеночной паренхимы во время операции – использованием биполярной коагуляции, приводящей к некрозу ткани на поверхности среза печени. В случаях, когда применялся ультразвуковой или водоструйный деструктор, подобных осложнений не отмечалось. Данный факт подтверждается рядом исследований [5, 8, 11]. Кроме того, у 1 (4,4 %) больного сформировался желчный свищ класса b (3 A/B ст. по Clavien–Dindo), что потребовало госпитализации и дренирования биломы под контролем УЗИ. По прошествии 4 нед на фоне консервативной терапии свищ закрылся, и больной выписан из стационара. Послеоперационных колоректальных осложнений не зафиксировано.

В большинстве специализированных центров частота послеоперационных осложнений остается высокой, достигая 22–45 %. В последние годы отмечается заметное снижение количества легочных, инфекционных, геморрагических осложнений и печеночной недостаточности, однако частота билиарных осложнений после резекций печени практически не изменилась и составляет 3–12 % [11, 12]. Послеоперационной летальности в нашем исследовании не было, хотя, по данным литературы, смертность в раннем послеоперационном периоде достигает 3–8 % [10, 13].

При оценке лечебного патоморфоза (табл. 4) показано, что в печени наиболее выраженное поражение опухоли, соответствующее TRG 1 и TRG 2, зафиксировано в 4,4 и 17,4 % случаев соответственно. Со стороны первичной опухоли в большинстве случаев регистрировалась TRG 3 – 87 %. При сопоставлении клинического и патоморфологического ответа метастазов в печени установлено, что из 2 (8,7 %) полных ответов по данным СКТ при гистологическом исследовании в послеоперационном периоде в 1 (4,4 %) случае полный ответ был подтвержден, а в 1 (4,4 %) случае сохранились единичные опухолевые клетки (TRG2). По данным S. Benoist et al. [14], также выявлены несоответствия между частотой клинического и патоморфологического ответа, в связи с чем полный ответ по СКТ не означает излечения и требует резекции пораженных участков печени.

В литературе широко обсуждаются оптимальное количество курсов неоадъювантного лечения, его эффективность и переносимость. Так, в исследовании D.G. Blazer et al. [15] после проведения 5 курсов НАХТ полный патоморфологический ответ метастазов в печень достиг 9 %. В свою очередь, по данным R. Adam et al. [16], после 9 курсов НАХТ полный ответ, подтвержденный морфологически, составил только 4 %. Вместе с тем, ранее было установлено [17], что применение 2–4 курсов НАХТ, включающих фторпиримидины и оксалиплатин, в комбинации с бевацизумабом является эффективным, но при увеличении количества курсов объективный ответ опухоли не усиливается, а повышается частота послеоперационных печеночных осложнений [6, 18–20]. Кроме того, в случае полного рентгенологического ответа метастазов в печени после НАХТ появляются большие вопросы по выбору тактики лечения [21, 22], так как, с одной стороны, доказана необходимость резекции всех опухолей [14, 23], обнаруженных до начала системного лечения, а с другой стороны, возникают объективные трудности в идентификации этих поражений во время операции [5, 6].

Таким образом, в настоящее время возможности лечения больных мКРР с изолированным поражением печени значительно улучшились за счет появления современных эффективных схем химиотерапии и таргетных препаратов, оказывающих выраженное цитотоксическое действие на опухолевые клетки. Однако только хирургическое лечение позволяет надеяться на излечение больных мКРР. Несмотря на то, что полный патоморфологический ответ обеспечивает лучший прогноз, следует избегать избыточного неоадъювантного лечения, приводящего к исчезновению печеночных метастазов, так как это снижает возможности хирургического лечения и увеличивает количество послеоперационных осложнений.

Заключение

Лечение больных мКРР с изолированным поражением печени требует комбинированного подхода с использованием химио-, таргетной терапии и хирургического лечения. Проведение 3 курсов неоадъювантной противоопухолевой лекарственной терапии (FOLFOXIRI + цетуксимаб/бевацизумаб) характеризуется удовлетворительной переносимостью, оказывает выраженное повреждающее действие как на первичную опухоль, так и на метастазы в печени и не влияет на течение послеоперационного периода. Непосредственные результаты комбинированного лечения мКРР являются обнадеживающими, для оценки отдаленных показателей необходимы дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Злокачественные новообразования в России* в 2018 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2019. 250 с. [*Malignant tumors in Russia* in 2018 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. Moscow, 2019. 250 p. (in Russian)].

2. *Kelly M.E., Spolverato G., Lê G.N., Mavros M.N., Doyle F., Pawlik T.M., Winter D.C.* Synchronous colorectal liver metastasis: a network meta-analysis review comparing classical, combined, and liver-first surgical strategies. J Surg Oncol. 2015; 111(3): 341–51. doi: 10.1002/jso.23819.

3. *Valdimarsson V.T., Syk I., Lindell G., Sandström P., Isaksson B., Rizell M., Norén A., Ardnor B., Sturesson C.* Outcomes of Simultaneous Resections and Classical Strategy for Synchronous Colorectal Liver Metastases in Sweden: A Nationwide Study with Special Reference to Major Liver Resections. World J Surg. 2020; 44(7): 2409–17. doi: 10.1007/s00268-020-05475-5.

4. *Добродеев А.Ю., Костромицкий Д.Н., Афанасьев С.Г., Тарасова А.С., Августинович А.В.* Современные подходы к хирургическому лечению больных колоректальным раком с метастазами в печени. Анналы хирургической гепатологии. 2022; 27(1): 80–6. [*Dobrodeev A.Y., Kostromitsky D.N., Afanasyev S.G., Tarasova A.S., Avgustinovich A.V.* Modern approaches to surgical treatment of patients with colorectal cancer liver metastases. Annals of HPB Surgery. 2022; 27(1): 80–6. (in Russian)]. doi: 10.16931/1995-5464.2022-1-80-86.

5. *Ayez N., Lalmahomed Z.S., Eggermont A.M., Ijzermans J.N., de Jonge J., van Montfort K., Verhoef C.* Outcome of microscopic incomplete resection (R1) of colorectal liver metastases in the era of neoadjuvant chemotherapy. Ann Surg Oncol. 2012; 19(5): 1618–27. doi: 10.1245/s10434-011-2114-4.

6. *Chow F.C., Chok K.S.* Colorectal liver metastases: An update on multidisciplinary approach. World J Hepatol. 2019; 11(2): 150–72. doi: 10.4254/wjh.v11.i2.150.

7. *Hurwitz H., Fehrenbacher L., Novotny W., Cartwright T., Hainsworth J., Heim W., Berlin J., Baron A., Griffing S., Holmgren E., Ferrara N., Fyfe G., Rogers B., Ross R., Kabbinavar F.* Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. N Engl J Med. 2004; 350(23): 2335–42. doi: 10.1056/NEJMoa032691.

8. *Ardito F., Panettieri E., Vellone M., Ferrucci M., Coppola A., Silvestrini N., Arena V., Adducci E., Capelli G., Vecchio F.M., Giovannini I., Nuzzo G., Giuliante F.* The impact of R1 resection for colorectal liver metastases on local recurrence and overall survival in the era of modern chemotherapy: An analysis of 1,428 resection areas. Surgery. 2019; 165(4): 712–20. doi: 10.1016/j.surg.2018.09.005.

9. *Falcone A., Ricci S., Brunetti I., Pfanner E., Allegrini G., Barbara C., Crinò L., Benedetti G., Evangelista W., Fanchini L., Cortesi E., Picone V., Vitello S., Chiara S., Granetto C., Porcile G., Fioretto L., Orlandini C., Andreuccetti M., Masi G.; Gruppo Oncologico Nord Ovest.* Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. J Clin Oncol. 2007; 25(13): 1670–6. doi: 10.1200/JCO.2006.09.0928.

10. *Cremolini C., Antoniotti C., Rossini D., Lonardi S., Loupakis F., Pietrantonio F., Bordonaro R., Latiano T.P., Tamburini E., Santini D., Passardi A., Marmorino F., Grande R., Aprile G., Zaniboni A., Murgioni S., Granetto C., Buonadonna A., Moretto R., Corallo S., Cordio S., Antonuzzo L., Tomasello G., Masi G., Ronzoni M., Di Donato S., Carlomagno C., Clavarezza M., Ritorto G., Mambrini A., Roselli M., Cupini S., Mammoliti S., Fenocchio E., Corgna E., Zagonel V., Fontanini G., Ugolini C., Boni L., Falcone A.; GONO Foundation Investigators.* Upfront FOLFOXIRI plus bevacizumab and reintroduction after progression versus mFOLFOX6 plus bevacizumab followed by FOLFIRI plus bevacizumab in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer (TRIBE2): a multicentre, open-label, phase 3, randomised, controlled trial. Lancet Oncol. 2020; 21(4): 497–507. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30862-9.

11. *Raoux L., Maulat C., Mokrane F.Z., Fares N., Suc B., Muscari F.* Impact of the strategy for curative treatment of synchronous colorectal cancer liver metastases. J Visc Surg. 2020; 157(4): 289–99. doi: 10.1016/j.jviscsurg.2019.10.007.

12. *Чардаров Н.К., Багмет Н.Н., Скипенко О.Г.* Билиарные осложнения после резекций печени. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2010; (8): 61–8. [*Chardarov N.K., Bagmet N.N., Skipenko O.G.* Biliary complications after liver resections. Pirogov Russian Journal of Surgery. 2010; (8): 61–8. (in Russian)].

13. *Baltatzis M., Chan A.K., Jegatheeswaran S., Mason J.M., Siriwardena A.K.* Colorectal cancer with synchronous hepatic metastases: Systematic review of reports comparing synchronous surgery with sequential bowel-first or liver-first approaches. Eur J Surg Oncol. 2016; 42(2): 159–65. doi: 10.1016/j.ejso.2015.11.002.

14. *Benoist S., Brouquet A., Penna C., Julié C., El Hajjam M., Chagnon S., Mitry E., Rougier P., Nordlinger B.* Complete response of colorectal liver metastases after chemotherapy: does it mean cure? J Clin Oncol. 2006; 24(24): 3939–45. doi: 10.1200/JCO.2006.05.8727.

15. *Blazer D.G., Kishi Y., Maru D.M., Kopetz S., Chun Y.S., Overman M.J., Fogelman D., Eng C., Chang D.Z., Wang H., Zorzi D., Ribero D., Ellis L.M., Glover K.Y., Wolff R.A., Curley S.A., Abdalla E.K., Vauthey J.N.* Pathologic response to preoperative chemotherapy: a new outcome end point after resection of hepatic colorectal metastases. J Clin Oncol. 2008; 26(33): 5344–51. doi: 10.1200/JCO.2008.17.5299.

16. *Adam R., Wicherts D.A., de Haas R.J., Aloia T., Lévi F., Paule B., Guettier C., Kunstlinger F., Delvart V., Azoulay D., Castaing D.* Complete pathologic response after preoperative chemotherapy for colorectal liver metastases: myth or reality? J Clin Oncol. 2008; 26(10): 1635–41. doi: 10.1200/JCO.2007.13.7471.

17. *Ribero D., Wang H., Donadon M., Zorzi D., Thomas M.B., Eng C., Chang D.Z., Curley S.A., Abdalla E.K., Ellis L.M., Vauthey J.N.* Bevacizumab improves pathologic response and protects against hepatic injury in patients treated with oxaliplatin-based chemotherapy for colorectal liver metastases. Cancer. 2007; 110(12): 2761–7. doi: 10.1002/cncr.23099.

18. *Karoui M., Penna C., Amin-Hashem M., Mitry E., Benoist S., Franc B., Rougier P., Nordlinger B.* Influence of preoperative chemotherapy on the risk of major hepatectomy for colorectal liver metastases. Ann Surg. 2006; 243(1): 1–7. doi: 10.1097/01.sla.0000193603.26265.c3.

19. *Nakano H., Oussoultzoglou E., Rosso E., Casnedi S., Chenard-Neu M.P., Dufour P., Bachellier P., Jaeck D.* Sinusoidal injury increases morbidity after major hepatectomy in patients with colorectal liver metastases receiving preoperative chemotherapy. Ann Surg. 2008; 247(1): 118–24. doi: 10.1097/SLA.0b013e31815774de.

20. *Kishi Y., Zorzi D., Contreras C.M., Maru D.M., Kopetz S., Ribero D., Motta M., Ravarino N., Risio M., Curley S.A., Abdalla E.K., Capussotti L., Vauthey J.N.* Extended preoperative chemotherapy does not improve pathologic response and increases postoperative liver insufficiency after hepatic resection for colorectal liver metastases. Ann Surg Oncol. 2010; 17(11): 2870–6. doi: 10.1245/s10434-010-1166-1.

21. *Zendel A., Lahat E., Dreznik Y., Zakai B.B., Eshkenazy R., Ariche A.* "Vanishing liver metastases" – A real challenge for liver surgeons. Hepatobiliary Surg Nutr. 2014; 3(5): 295–302. doi: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.09.13.

22. *Kuhlmann K., van Hilst J., Fisher S., Poston G.* Management of disappearing colorectal liver metastases. Eur J Surg Oncol. 2016; 42(12): 1798–1805. doi: 10.1016/j.ejso.2016.05.005.

23. *Brouquet A., Abdalla E.K., Kopetz S., Garrett C.R., Overman M.J., Eng C., Andreou A., Loyer E.M., Madoff D.C., Curley S.A., Vauthey J.N.* High survival rate after two-stage resection of advanced colorectal liver metastases: response-based selection and complete resection define outcome. J Clin Oncol. 2011; 29(8): 1083–90. doi: 10.1200/JCO.2010.32.6132.

Поступила/Received 22.11.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 02.12.2022
Принята к публикации/Accepted 12.12.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

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

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

Тарасова Анна Сергеевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1554-3063. Researcher ID (WOS): V-1388-2018. ORCID: 0000-0001-6247-3434.

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): 21333316900. ORCID: 0000-0002-4701-0375.
Бабышкина Наталия Николаевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2738-9275. Author ID (Scopus): 26641099700. Researcher ID (WOS): A-7526-2012. ORCID: 0000-0002-0562-3878.
Пономарева Анастасия Алексеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3185-5606. Researcher ID (WOS): D-8734-2012. Author ID (Scopus): 37116096000. ORCID: 0000-0003-2060-4840.
Ермоленко Роман Владимирович, врач-рентгенолог отделения лучевой диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5040-2558. Researcher ID (WOS): HCH-5503-2022. ORCID: 0000-0002-9112-6041.
Фролова Ирина Георгиевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением лучевой диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9800-9777. ORCID: 0000-0001-5227-006X.
Черемисина Ольга Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая эндоскопическим отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9579-2691. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

ВКЛАД АВТОРОВ

Добродеев Алексей Юрьевич: концепция и дизайн исследования, написание текста статьи.
Костромицкий Дмитрий Николаевич: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста статьи.
Тарасова Анна Сергеевна: сбор и обработка материала.
Афанасьев Сергей Геннадьевич: редактирование.
Бабышкина Наталия Николаевна: статистическая обработка, редактирование.
Пономарева Анастасия Алексеевна: сбор и обработка материала.
Ермоленко Роман Владимирович: сбор и обработка материала.
Фролова Ирина Георгиевна: редактирование.
Черемисина Ольга Владимировна: редактирование.

Финансирование

Работа поддержана грантом РНФ № 22-15-00212 от 13.05.2022 «Транскриптомные и протеомные маркеры прогноза и эффективности терапии метастатического рака толстой кишки».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Aleksey Yu. Dobrodeev, MD, DSc, Leading Researcher, Abdominal Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: dobrodeev@oncology.tomsk.ru. Researcher ID (WOS): B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200. ORCID: 0000-0002-2748-0644.
Dmitry N. Kostromitsky, MD, PhD, Abdominal Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0001-5691-2349.
eLibrary SPIN-код: 9466-6641. ORCID: 0000-0001-5691-2349.
Anna S. Tarasova, MD, PhD, Abdominal Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): V-1388-2018. ORCID: 0000-0001-6247-3434.
Sergey G. Afanasyev, MD, DSc, Professor, Head of Abdominal Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 21333316900. ORCID: 0000-0002-4701-0375.
Natalia N. Babyshkina, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course in clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 26641099700. Researcher ID (WOS): A-7526-2012. ORCID: 0000-0002-0562-3878.
Anastasia A. Ponomareva, PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-8734-2012. Author ID (Scopus): 37116096000. ORCID: 0000-0003-2060-4840.

Roman V. Ermolenko, MD, Radiologist, Diagnostic Imaging Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): HCH-5503-2022. ORCID: 0000-0002-9112-6041.
Irina G. Frolova, MD, DSc, Professor, Head of Diagnostic Imaging Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0001-5227-006X.
Olga V. Cheremisina, MD, DSc, Head of Endoscopy Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0001-7234-4708.

AUTHOR CONTRIBUTION

Aleksey Yu. Dobrodeev: study conception and design, writing of the manuscript.
Dmitry N. Kostromitsky: study conception and design, data collection and analysis, statistical analysis, writing of the manuscript.
Anna S. Tarasova: data collection and analysis.
Sergey G. Afanasyev: editing of the manuscript.
Natalia N. Babyshkina: statistical analysis, editing of the manuscript.
Anastasia A. Ponomareva: data collection and analysis.
Roman V. Ermolenko: data collection and analysis.
Irina G. Frolova: editing of the manuscript.
Olga V. Cheremisina: editing of the manuscript.

Funding

The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-15-00212 dated May 13, 2022 "Transcriptomic and proteomic markers for the prognosis and effectiveness of therapy for metastatic colon cancer".

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-25-37
УДК: 616.24-006.61-033.2-08:611-018.5

Для цитирования: *Панкова О.В., Таширева Л.А., Родионов Е.О., Миллер С.В., Геращенко Т.С., Письменный Д.С., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Перельмутер В.М.* Эффективность предоперационной терапии в группах с высоким и низким риском гематогенного метастазирования при плоскоклеточном раке и аденокарциноме легкого. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 25–37. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-25-37
For citation: *Pankova O.V., Tashireva L.A., Rodionov E.O., Miller S.V., Gerashchenko T.S., Pismenny D.S., Zavyalova M.V., Denisov E.V., Perelmuter V.M.* Efficacy of preoperative therapy in patients with high and low risk of distant metastasis in non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 25–37. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-25-37

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ В ГРУППАХ С ВЫСОКИМ И НИЗКИМ РИСКОМ ГЕМАТОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ И АДЕНОКАРЦИНОМЕ ЛЕГКОГО

О.В. Панкова, Л.А. Таширева, Е.О. Родионов, С.В. Миллер, Т.С. Геращенко, Д.С. Письменный, М.В. Завьялова, Е.В. Денисов, В.М. Перельмутер

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: pancova@oncology.tomsk.ru

Аннотация

Для подбора оптимального лечения немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) важно прогнозировать риск отдаленного метастазирования и эффективность терапии. Влияние неоадъювантной химиотерапии (НАХТ) на гематогенное метастазирование остается малоизученным. В исследовании оценивали возможность прогнозирования и эффективность различных вариантов пред- и интраоперационной терапии в группах больных с высоким и низким риском гематогенного метастазирования НМРЛ, разделенных на основании оценки морфологических изменений эпителия бронхов мелкого калибра, расположенных вблизи первичной опухоли. **Материал и методы.** У 171 больного НМРЛ (T1–4N0–3M0) в бронхах мелкого калибра, взятых на расстоянии 3–5 см от опухоли, определяли различные варианты морфологических изменений бронхиального эпителия (изолированная базальноклеточная гиперплазия (БКГ+ПМ-Д-), базальноклеточная гиперплазия в сочетании с плоскоклеточной метаплазией (БКГ+ПМ+Д-), плоскоклеточная метаплазия с дисплазией (БКГ-ПМ+Д+)). В предварительных исследованиях показано, что маркерами высокого риска гематогенного метастазирования НМРЛ является обнаружение БКГ+ПМ-Д- или БКГ-ПМ+Д в мелких бронхах, низкого – БКГ+ПМ+Д- и БКГ-ПМ-Д-. В предоперационном периоде 52,6 % больных (90/171) получили 2–3 курса НАХТ и 41,1 % (37/90) больных получили однократную интраоперационную лучевую терапию (ИОЛТ) в дозе 10–15 Гр. В послеоперационном периоде 47,4 % (81/171) больных получали адъювантную химиотерапию (АХТ) препаратами платины. **Результаты.** Оба варианта лечения (НАХТ+ИОЛТ+ и НАХТ+ИОЛТ–) эффективно снижали частоту гематогенных метастазов в группе высокого риска в течение первых 2 лет наблюдения по сравнению с группой высокого риска, в которой не проводилась терапия. За время наблюдения в группе низкого риска гематогенные метастазы возникали редко, независимо от варианта лечения. Адъювантная химиотерапия не влияет на частоту гематогенных метастазов. Безметастатическая и общая выживаемость были лучше в группе с низким риском гематогенного метастазирования или при использовании схемы НАХТ+ИОЛТ+. **Заключение.** Увеличение безметастатической и общей выживаемости связано с сочетанием варианта терапии НАХТ и ИОЛТ.

Ключевые слова: НМРЛ, метастазирование, НАХТ, ИОЛТ, базальноклеточная гиперплазия, дисплазия.

Панкова Ольга Владимировна, pancova@oncology.tomsk.ru

EFFICACY OF PREOPERATIVE THERAPY IN PATIENTS WITH HIGH AND LOW RISK OF DISTANT METASTASIS IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

O.V. Pankova, L.A. Tashireva, E.O. Rodionov, S.V. Miller, T.S. Gerashchenko, D.S. Pismenny, M.V. Zavyalova, E.V. Denisov, V.M. Perelmuter

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia. E-mail: pancova@oncology.tomsk.ru

Abstract

Background. To select the optimal treatment for non-small cell lung cancer (NSCLC), it is important to predict the risk of distant metastasis and the effectiveness of therapy. The effect of neoadjuvant chemotherapy (NAC) on distant metastasis remains poorly understood. In this study we evaluated the feasibility of predicting the risk of distant metastasis and effectiveness of various treatment options for pre- and intraoperative therapy in NSCLC patients with high and low risk of distant metastasis, divided based on the assessment of morphological changes in the epithelium of small bronchi located near the primary tumor. **Material and Methods.** The study included 171 patients with NSCLC (T1-4N0-3M0). Various premalignant lesions: isolated basal cell hyperplasia (BCH+SM-D-), basal cell hyperplasia with squamous cell metaplasia (BCH+SM+D-) and squamous cell metaplasia with dysplasia (BCH-SM+D+) were identified in the bronchial epithelium of small bronchi taken at a distance of 3–5 cm from the tumor. Preliminary studies have shown that the detection of BCH+SM-D- or BCH-SM+D-in small bronchi are the markers of high risk of NSCLC distant metastasis, and the detection of BCH+SM+D- and BCH-SM-D- are the markers of low risk of NSCLC distant metastasis. 52.6 % of patients (90/171) received 2–3 courses of neoadjuvant chemotherapy (NAC), 41.1 % (37/90) of patients underwent intraoperative radiation therapy (IORT) at a single dose of 10–15 Gy and 47.4 % (81/171) of patients received platinum-based adjuvant chemotherapy (AC). **Results.** Both treatment options (NAC+IORT+ and NAC+IORT–) effectively reduced the incidence of distant metastases in the high-risk group patients during the first 2 years of follow-up compared with the high-risk group patients who did not received therapy. In the low-risk group patients, distant metastases rarely occurred, regardless of the treatment option. Adjuvant chemotherapy was found to have no influence on the frequency of distant metastases. Metastasis-free and overall survival rates were better in the low-risk group patients or in patients who received the NAC+IORT+ regimen. **Conclusion.** Combination of NAC and IORT resulted in the increase in metastasis-free and overall survival rates.

Key words: NSCLC, metastasis, NAC, IORT, basal cell hyperplasia, dysplasia.

Введение

Несмотря на совершенствование хирургических и терапевтических методов лечения и активные исследования в области молекулярной диагностики рака легкого, он по-прежнему занимает ведущее место в структуре онкологической заболеваемости [1], а 5-летняя выживаемость составляет всего 10–20 % [2]. 5-летняя выживаемость у пациентов с резектабельным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) составляет от 25 до 75 % [3].

Существуют рандомизированные исследования и метаанализы, обобщающие эффективность различных стратегий терапии рака легкого. Химиотерапия улучшает выживаемость пациентов с НМРЛ IB–III стадии, независимо от того, назначается она до или после операции. Однако при адъювантной химиотерапии выживаемость составляет около 5 % в течение 5 лет [4]. В шести рандомизированных исследованиях, посвященных изучению результатов сочетанной и последовательной терапии у пациентов с местнораспространенным НМРЛ, было установлено, что сочетанная терапия увеличивает 3-летнюю общую выживаемость (ОВ) на 5,7 % и 5-летнюю ОВ на 4,5 %.

Частота местных рецидивов оказалась значительно ниже, когда после неоадъювантной терапии была добавлена резекция [5]. Роль резекции в ведении пациентов со стадией IIIA после неоадъювантной терапии является предметом широких дебатов. На данный момент проведено лишь несколько рандомизированных исследований, сравнивающих хирургическое вмешательство с радиотерапией после неоадъювантной химиотерапии [5–8]. Их результаты широко обсуждались в двух недавних метаанализах [9, 10]. Ни один из них не показал улучшения 2- и 4-летней ОВ. Более того, при добавлении радиотерапии к неоадъювантному лечению [5, 7] значительно увеличилась только 3-летняя выживаемость без прогрессирования (PFS). Интересно, что медиана выживаемости и показатели 5-летней ОВ увеличивались с годами, начиная с 19,4 против 17,4 мес в самом раннем

опубликованном исследовании [8] до 49,4 против 34,6 мес в последнем [7].

Отдельно существует проблема выделения прогностических групп пациентов с НМРЛ с высокой и низкой вероятностью достижения хорошего эффекта НАХТ. В настоящее время НАХТ рекомендуется операбельным пациентам с IIIA стадией со статусом N2 в качестве этапа комбинированного лечения [11]. При использовании химиотерапии в неоадъювантном режиме наблюдается лучшая переносимость, чем в послеоперационном периоде, повышается ее эффективность при неизмененном кровоснабжении опухоли до операции, а также повышается возможность проведения всех запланированных курсов химиотерапии, что позволяет использовать НАХТ и при более ранних стадиях [12]. Что касается значимости НАХТ для увеличения безметастатической и общей выживаемости, в проведенном метаанализе 15 рандомизированных контролируемых исследований продемонстрировано снижение относительного риска смерти на 13 % (ОР 0,87; 95 % ДИ 0,78–0,96, p=0,007), что представляет собой абсолютное улучшение выживаемости на 5 % в течение 5 лет (от 40 до 45 %) для пациентов с резектабельным НМРЛ IB–IIIA стадии, независимо от режима химиотерапии (в большинстве на основе препаратов платины). В этом же исследовании было установлено, что безрецидивная выживаемость (ОР 0,85; 95 % ДИ 0,76–0,94, p=0,002) и общая выживаемость (ОР 0,69; 95 % ДИ 0,58–0,82, p<0,0001) были улучшены за счет предоперационной химиотерапии [13].

Неоадъювантная химиотерапия (НАХТ) показала преимущество в выживаемости, хотя доказательств этому гораздо меньше, чем в случае адъювантной химиотерапии. Lim et al. [14] опубликовали метаанализ для косвенного сравнения влияния предоперационной и послеоперационной химиотерапии у пациентов с операбельным раком легкого. Они включили 32 исследования (22 с послеоперационной и 10 с пери- или предоперационной химиотерапией), в которые были включены пациенты с НМРЛ IA–IV стадии. Результаты показали отсутствие различий в общей выживаемости и выживаемости, свободной от болезни.

Ранее мы обнаружили, что пациентов с НМРЛ возможно разделить на группы с высоким и низким риском развития гематогенных метастазов (ГМ) на основе оценки морфологических изменений в эпителии бронхов мелкого калибра, расположенных на расстоянии 3–5 см от первичной опухоли [15].

Представляет интерес анализ эффективности предоперационной терапии с нескольких позиций. Во-первых, какова эффективность комбинации НАХТ и интраоперационной лучевой терапии? Во-вторых, какова значимость клинических и морфологических характеристик НМРЛ для достижения положительного эффекта предоперационной терапии? И, наконец, зависит ли эффективность предоперационной терапии НМРЛ от принадлежности пациентов к разным группам риска развития гематогенных метастазов. Данное исследование посвящено решению этих задач.

Материал и методы исследования

Дизайн исследования представлен на рис. 1.

В исследование был включен 171 больной НМРЛ (T1–4N0–3M0). Гистологический диагноз рака легкого был поставлен в соответствии с классификацией аденокарциномы легкого IASLC/ATS/ERS [16] и критериями ВОЗ [17] и был подтвержден иммуногистохимическим исследованием с использованием панели антител: TTf-1 (clone 8G7G3/1, Dako), Napsin A (Rabbit Polyclonal), p63 (Rabbit Polyclonal, Leica), CK7 (clone OV-TL 12/30, Dako), CEA (clone AMT28, Dako) and CK20 (clone Ks 20.08, Dako). Срок наблюдения за пациентами составил 10 лет либо меньше, если пациент погиб.

Распространенность опухолевого процесса определяли согласно международной классификации по системе TNM [18]. Клинико-морфологические параметры пациентов с НМРЛ в зависимости от наличия или отсутствия гематогенных метастазов представлены в табл. 1.

В предоперационном периоде 52,6 % больных (90/171) получали НАХТ по схеме: паклитаксел 175 мг/м^2 внутривенно 1 день/карбоплатин AUC 6 внутривенно 1 день. Проводилось 2–3 курса с интервалом в 3 нед. Во время проведения радикальной операции 41,1 % (37/90) пациентов однократно получали ИОЛТ в дозе 10–15 Гр.

В послеоперационном периоде 47,4 % (81/171) пациентов получили АХТ препаратами платины: 37,0 % (30/81) – винорелбин/карбоплатин, 32,1 % (26/81) – паклитаксел/карбоплатин, 23,5 % (19/81) – гемцитабин/карбоплатин, 4,9 % (4/81) – иринотекан/карбоплатин, 2,5 % (2/81) – этопозид/цисплатин.

Для оценки варианта изменений бронхиального эпителия при НМРЛ исследовали фрагменты ткани удаленного легкого с бронхом мелкого калибра (d=0,5–2 мм), взятого на расстоянии 3–5 см от опухоли. Ткани опухоли фиксировали в 10 % нейтральном формалине в течение 24 ч, промывали смесью изопропанола и заливали в парафин. Срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологический анализ проводили на световом микроскопе Axio Scope A1 (Carl Zeiss). Выявление базальноклеточной гиперплазии (БКГ), плоскоклеточной метаплазии (ПМ) и дисплазии (Д) в бронхиальном эпителии (рис. 2) проводили с использованием стандартных рекомендаций.

Все анализы проводились с использованием Prizm 9 (GraphPad, США). Различия между группами пациентов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, скорректированного критерия χ^2 Йейтса и точного критерия Фишера. Метод

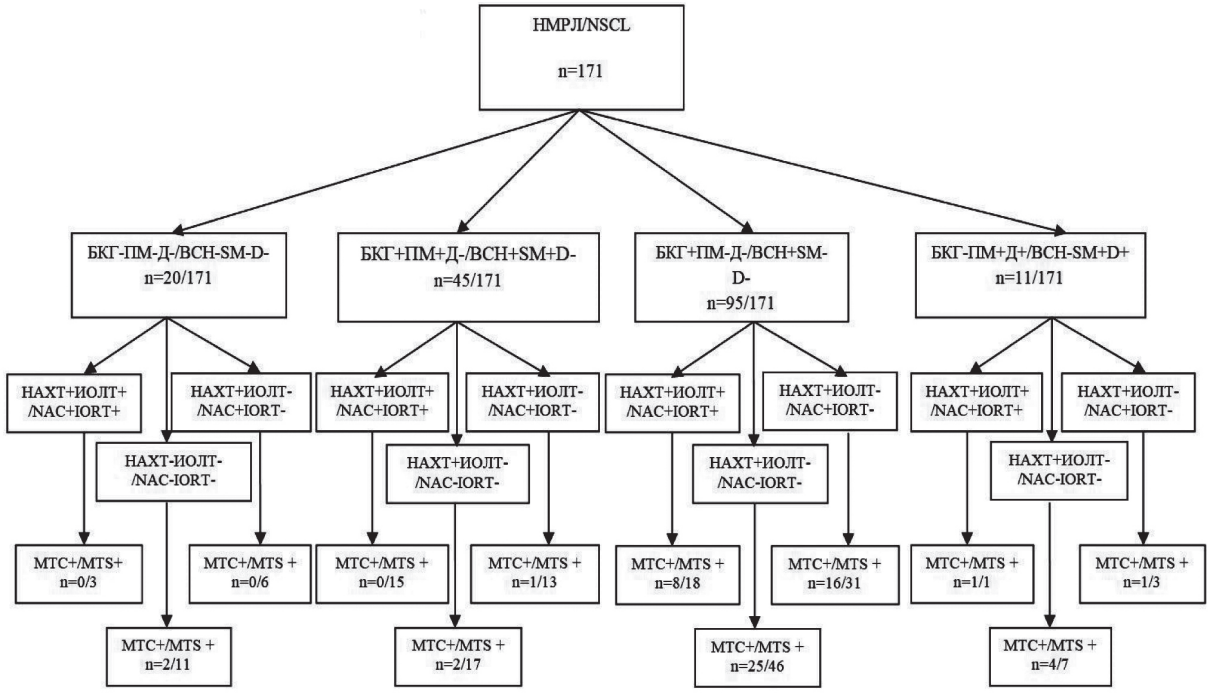


Рис. 1. Дизайн исследования. Примечание: БКГ – базальноклеточная гиперплазия; Д – дисплазия; ИОЛТ – интраоперационная лучевая терапия; НАХТ – неоадъювантная химиотерапия; НМРЛ – немелкоклеточная карцинома легкого; МТС – метастазы; ПМ – плоскоклеточная метаплазия

Fig. 1. Study design. Note: BCH – basal cell hyperplasia; D – dysplasia; IORT – intraoperative radiation therapy; NAC – neoadjuvant chemotherapy; NSCLC – non small cell lung cancer; MTS – metastasis; SM – squamous cell metaplasia

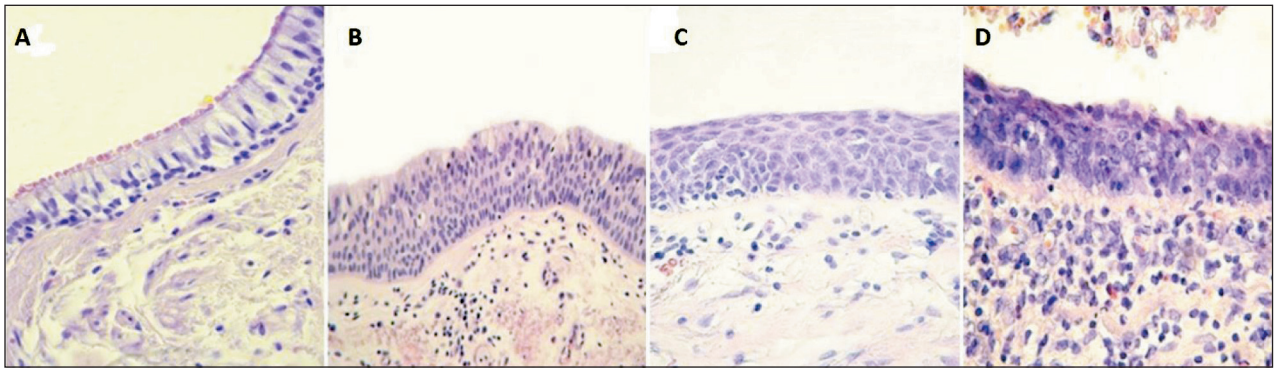


Рис. 2. Различные типы изменений бронхиального эпителия: A – нормальный бронхиальный эпителий; B – базальноклеточная гиперплазия; C – плоскоклеточная метаплазия; D –дисплазия III степени. Окраска гематоксилином и эозином, ×200

Fig. 2. Normal bronchial epithelium and premalignant lesions: A – normal bronchial epithelium; B – basal cell hyperplasia; C – squamous cell metaplasia. D – dysplasia grade III. Hematoxylin-eosin staining, ×200

Каплана–Мейера был использован для построения кривых выживаемости и расчета общей выживаемости и выживаемости без метастазов. Для проверки различий в выживаемости использовали логарифмический ранговый критерий. Модель пропорциональных рисков Кокса использовалась для выявления факторов риска, связанных с выживаемостью. Результаты считались статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты

Сопоставление вариантов морфологических изменений бронхов мелкого калибра, смежных с опухолью, с частотой развития гематогенных метастазов позволило выделить группы высокого и низкого риска. По результатам проведенного исследования гематогенные метастазы НМРЛ были выявлены в 35,1 % (60/171) случаев. При плоскоклеточном раке они возникли у 39,4 % (41/104), а при аденокарциноме легкого – у 28,3 % (19/67); $p=0,13$) больных. Как при плоскоклеточном раке, так и при аденокарциноме легкого чаще всего гематогенные метастазы наблюдались тогда, когда в бронхах мелкого калибра определялась «изолированная» базальноклеточная гиперплазия (БКГ+ПМ-Д-), – 51,6 % (49/95). При других вариантах морфологических изменений бронхиального эпителия гематогенные метастазы отмечались

Таблица 1/Table 1

Клинико-патологические параметры больных НМРЛ
Clinical and pathological parameters of patients NSCLC

Параметр/Parameter	Число пациентов/Number of patients (n=171)
Пол/Gender	
Муж/Males	143 (83,6 %)
Жен/Females	28 (16,4 %)
Возраст, лет/Age, years	57,8±6,3
Курение/Smoking	
Да/Yes	128 (74,9 %)
Нет/No	43 (25,1 %)
Гистологический тип опухоли/Histology	
Плоскоклеточный рак/Squamous cell carcer	107 (62,6 %)
Аденокарцинома/Adenocarcinoma	64 (37,4 %)
Стадия/Stage	
IB	14 (8,2 %)
IIA	9 (5,3 %)
IIB	34 (19,9 %)
IIIA	84 (49,1 %)
IIIB	30 (17,5 %)
Размер опухоли/Tumor size	
T1–2	51 (29,8 %)
T3–4	120 (70,2 %)
Степень злокачественности/Grade of malignancy	
G1	10 (5,9 %)
G2	104 (60,8 %)
G3	57 (33,3 %)
Синхронные лимфогенные метастазы/Lymphatic metastases	
Да/Yes	82 (48,0 %)
Нет/No	89 (52,0 %)
Рецидив/ Relapse	
Да/Yes	23 (13,5 %)
Нет/No	148 (86,5 %)
НАХТ/NAC	
Да/Yes	90 (52,6 %)
Нет/No	81 (47,4 %)
Эффект НАХТ/NAC effect	
Частичная регрессия/Partial Regression	34/90 (37,8 %)
Стабилизация/Stabilization	56/90 (62,2 %)
ИОЛТ/IORT	
Да/Yes	37 (21,6 %)
Нет/No	134 (78,4 %)

Таблица 2/Table 2

Частота развития гематогенных метастазов в зависимости от варианта лечения
Frequency of distant metastases depending on treatment options

Метод лечения/Type of treatment		Срок наблюдения/Observation period		
		2 года/2 years	5 лет/5 years	10 лет/10 years
НАХТ+ИОЛТ+/ NAC+IORT+ (n=37)	1	0/37 (0 %) p_{1-3}=0,01	5/37 (13,5 %) p_{1-3}=0,06	9/37 (24,3 %) p_{1-3}=0,001
НАХТ+ИОЛТ/NAC+IORT- (n=53)	2	1/53 (1,9 %) p_{2-3}=0,01	14/53 (26,4 %) p_{1-2}=0,19	18/53 (33,9 %) p_{1-2}=0,81
НАХТ-ИОЛТ-/NAC-IORT- (n=81)	3	12/81 (14,8 %)	24/81 (29,6 %) p_{2-3}=0,84	33/81 (40,7 %) p_{2-3}=0,47

у 14,5 % (11/76) пациентов (χ^2=25,52, p=0,0000, OR=0,16 95 % CI (0,07–0,36)).

При плоскоклеточном раке легкого гематогенные метастазы диагностировались в 78,1 % (32/41) случаев у больных группы с «изолированной» базальноклеточной гиперплазией (БКГ+ПМ-Д). У пациентов групп БКГ+ПМ+Д- и БКГ-ПМ-Д- в эпителии бронхов мелкого калибра отдаленные метастазы были выявлены в 7,3 % (3/41) случаев, (p=0,0000 по отношению к группе БКГ+ПМ-Д-). В группе больных с дисплазией, сочетающейся с плоскоклеточной метаплазией (БКГ-ПМ+Д+), гематогенные метастазы были диагностированы в 14,6 % (6/41) случаев.

Гематогенные метастазы аденокарциномы легкого также чаще всего наблюдались у больных с «изолированной» базальноклеточной гиперплазией бронхиального эпителия (БКГ+ПМ-Д-) в бронхах мелкого калибра – 89,5 % (17/19) случаев. При других вариантах морфологических изменений в бронхах мелкого калибра – БКГ+ПМ+Д- и БКГ-ПМ-Д- – гематогенные метастазы возникли в 10,5 % ((2/19); p=0,0000 по отношению к группе БКГ+ПМ-Д-) случаев.

Эффективность пред/интраоперационной терапии в профилактике гематогенных метастазов НМРЛ

Результаты исследования показали профилактический эффект дооперационной терапии. Частоту возникновения гематогенных метастазов оценивали через 2 года, 5 и 10 лет наблюдения. В течение двух лет наблюдения гематогенные метастазы значимо реже наблюдались в группах пациентов, получивших комбинированную терапию (НАХТ+ИОЛТ+) или только химиотерапию (НАХТ+ИОЛТ-). У пациентов, не получивших дооперационного лечения, гематогенные метастазы регистрировались уже в течение первых двух лет. Преимущество комбинированной терапии отмечалось и в течение пяти лет наблюдения: на уровне тенденции гематогенные метастазы встречались реже (13,5 %), чем в группах сравнения (26,4 и 29,6 %). Эффект терапии нивелировался через десять лет наблюдения (табл. 2).

Для оценки зависимости эффекта терапии от принадлежности пациентов к группам высокого и низкого риска метастазирования были сформированы группы наблюдения в зависимости от изменений бронхиального эпителия в мелких бронхах и от вида предоперационной терапии (табл. 3).

Через два года после лечения ГМ возникли у 7,6 % (13/171) больных НМРЛ. Чаще всего они были диагностированы у пациентов из группы с высоким риском прогрессирования (БКГ+ПМ-Д-). В группе БКГ+ПМ-Д- отдаленные метастазы возникли только у тех больных, которым не проводилась пред- и интраоперационная терапия (21,3 % (10/47). Однако у пациентов этой группы с высоким риском метастазирования, получивших либо неоадъювантную химиотерапию, либо сочетанную терапию, гематогенные метастазы отсутствовали (0 % (0/30) и 0 % (0/18) соответственно) (табл. 3). В группах низкого риска гематогенного метастазирования при сочетании базальноклеточной гиперплазии и плоскоклеточной метаплазии (БКГ+ПМ+Д-) обнаружен один случай (2,2 %) гематогенного метастазирования, причем когда какой-либо терапии не проводилось (5,9 % (1/17)). У пациентов с нормальным эпителием в бронхах

Таблица 3/Table 3

Частота развития гематогенных метастазов НМРЛ через 2 года, 5 и 10 лет в зависимости от вида терапии и вариантов морфологических изменений

The frequency of development of hematogenous metastases of NSCLC after 2 years, 5 years and 10 years

Метод лечения/Type of therapy	Морфологические изменения/Morphological changes				$P_{метод\ лечения/type\ of\ treatment}$
	2 года/2 years				
	БКГ+ПМ-Д-/ BCH+SM-D-	БКГ+ПМ+Д-/ BCH+SM+D-	БКГ-ПМ+Д+/ BCH-SM+D+	БКГ-ПМ-Д-/ BCH-SM-D-	
НАХТ+ИОЛТ+/NAC+IORT+	0/18	0/15	0/1	0/3	p=1,0000
НАХТ+ИОЛТ-/NAC+IORT-	0/30	0/13	1/3	0/6	p=0,1085
НАХТ-ИОЛТ-/NAC-IORT-	10/47	1/17	1/7	0/11	p=0,2045
$p_{тип\ изменений}/p_{type\ of\ changes}$	p=0,0033	p=0,4307	p=0,6850	p=1,0000	
5 лет/5 years					
НАХТ+ИОЛТ+/NAC+IORT+	7/18	0/15	0/1	0/3	p=0,0278
НАХТ+ИОЛТ-/NAC+IORT-	12/30	0/13	1/3	0/6	p=0,0181
НАХТ-ИОЛТ-/NAC-IORT-	22/47	1/17	1/7	0/11	p=0,0007
$p_{тип\ изменений}/p_{type\ of\ changes}$	p=0,7745	p=0,4307	p=0,6850	p=1,0000	
10 лет/10 years					
НАХТ+ИОЛТ+/NAC+IORT+	9/18	0/15	0/1	0/3	p=0,0057
НАХТ+ИОЛТ-/NAC+IORT-	16/30	1/13	1/3	0/6	p=0,0074
НАХТ-ИОЛТ-/NAC-IORT-	24/47	2/17	5/7	2/11	p=0,0044
$p_{тип\ изменений}/p_{type\ of\ changes}$	p=0,9704	p=0,4058	p=0,2795	p=0,4028	

(БКГ-ПМ-Д-) гематогенные метастазы НМРЛ не наблюдались независимо от варианта терапии или ее отсутствия (табл. 3).

Через пять лет наблюдения ГМ возникли у 25,6 % (44/171) больных НМРЛ. В группе БКГ+ПМ-Д- отдаленные метастазы регистрировались в 46,8 % (22/47) случаев у тех больных, которым не проводилась пред- и интраоперационная терапия, у 40,0 % (12/30) больных, получивших только неоадъювантную химиотерапию, и у 38,8 % (7/18) – сочетанное лечение (табл. 3). В группе с дисплазией бронхиального эпителия в мелких смежных бронхах (БКГ-ПМ+Д+) появление гематогенных метастазов существенно не зависело от варианта терапии или ее отсутствия (табл. 3). В группах низкого риска при увеличении срока наблюдения до 5 лет новых случаев развития гематогенных метастазов обнаружено не было (табл. 3).

Через десять лет наблюдения гематогенные метастазы были выявлены уже у 35,1 % (60/171) больных НМРЛ. В группе БКГ+ПМ-Д- они возникали независимо от того, получали больные пред- и интраоперационную терапию или нет (НАХТ+ИОЛТ+ – 50,0 % (9/18) и НАХТ+ИОЛТ- – 53,3 % (16/30), НАХТ-ИОЛТ- – 51,1 % (24/47), p=0,9704) (табл. 3). Аналогичная картина наблюдалась и в группе БКГ-ПМ+Д+ (p=0,2795) (табл. 3). В группе пациентов с низким риском гематогенного метастазирования (БКГ+ПМ+Д-) метастазы наблюдались только в 7,7 % (1/13) случаев, когда проводилась НАХТ без ИОЛТ, и в 11,7 % (2/17) – когда терапия не проводилась (НАХТ-ИОЛТ-). Через 10 лет в группе БКГ-ПМ-Д- отдаленные метастазы развились у 18,2 % (2/11) больных, которым терапию не проводили (НАХТ-ИОЛТ-). Следует подчеркнуть, что в группах пациентов с низким риском гематогенного метастазирования (БКГ+ПМ+Д- и БКГ-ПМ-Д-) при проведении комбинированной предоперационной терапии через 10 лет гематогенные метастазы по-прежнему отсутствовали (табл. 3).

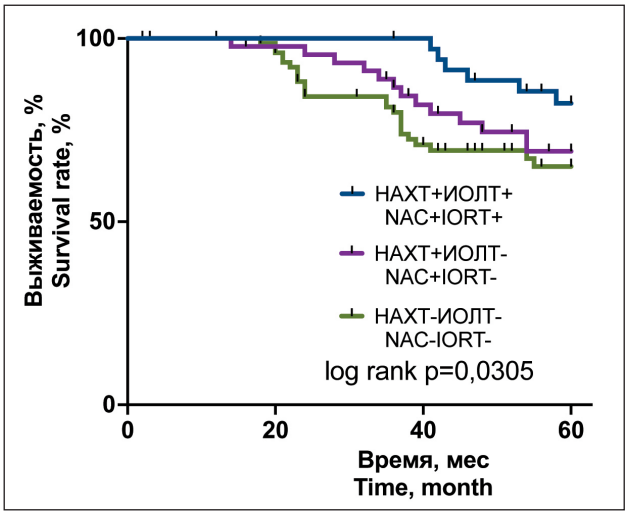


Рис. 3. Безметастатическая пятилетняя выживаемость больных НМРЛ в зависимости от варианта терапии
Fig. 3. Five-year metastatic-free survival depending on the characteristics of the treatment of patients with NSCLC

Таким образом, в группе низкого риска гематогенные метастазы возникают достоверно реже в течение 5 и 10 лет независимо от варианта пред/интраоперационного лечения или его отсутствия. При этом оба варианта лечения (НАХТ+ИОЛТ+ и НАХТ+ИОЛТ-) эффективно уменьшают частоту появления гематогенных метастазов в группе высокого риска в течение первых 2 лет наблюдения по сравнению с группой, в которой терапии не было. Через 5 и 10 лет оба варианта терапии были не эффективны в предотвращении возникновения гематогенных метастазов в группе высокого риска метастазирования.

Оценка 5-летней безметастатической выживаемости подтверждает полезность НАХТ в комбинации с ИОЛТ или только НАХТ для увеличения длительности безметастатического периода по сравнению с группой, в которой лечение не проводилось (рис. 3).

Медиана пятилетней безметастатической выживаемости ни в одной группе не была достигнута. Лучшие показатели пятилетней безметастатической выживаемости (процент пациентов, не имеющих гематогенных метастазов на момент окончания наблюдения) были в группе больных, получавших комбинированную терапию (82,3 %), по сравнению с группами пациентов, получавших только НАХТ (69,2 %) или не получавших терапию (65,1 %) (p=0,0305).

Оценка значимости факторов прогноза общей выживаемости при НМРЛ

Однофакторный анализ показал связь более короткой общей выживаемости пациентов с наличием гематогенных метастазов ((ОР(95 %ДИ) 3,60 (2,30–5,64), p=0,0000), отсутствием предоперационной НАХТ в комбинации с ИОЛТ (ОР(95 %ДИ) 2,75 (1,42–5,33), p=0,0024), стадией IIIA (ОР(95 %ДИ) 1,79 (1,01–5,04), p=0,0280), обнаружения в респираторном эпителии бронхов, смежных с опухолью, изолированной базальноклеточной гиперплазии (ОР(95 %ДИ) 2,48 (1,01–6,14), p=0,0008). Причем предиктивная значимость комбинированной терапии в прогнозе лучшей общей выживаемости подтвердилась и в многофакторном анализе (табл. 4).

Графики выживаемости, построенные по методу Каплан–Майера, подтверждают связь указанных выше факторов прогноза с продолжительностью жизни пациентов с НМРЛ (рис. 4). Медиана общей выживаемости пациентов группы высокого риска не зависит от варианта терапии (НАХТ+ИОЛТ+ – 72 мес, НАХТ+ИОЛТ- – 65 мес и НАХТ-ИОЛТ- – 60 мес). Оценка влияния вида терапии или ее отсутствия на длительность общей выживаемости в группе низкого риска

Таблица 4/Table 4

Однофакторный и многофакторный Кокс-регрессионный анализ связи клинических и патологических параметров с общей выживаемостью больных НМРЛ

Univariate and multivariate Cox regression analysis of the relationship of clinical and pathological parameters with overall survival of patients with NSCLC

Признак/Feature	Значение/Meaning	Общая выживаемость/Overall survival			
		Однофакторный/Univariate		Многофакторный/Multifactorial	
		ОР/Hazard ratio (95 % ДИ/CI)	p_1	ОР/Hazard ratio (95 % ДИ/CI)	p_2
Риск гематогенного метастазирования/ Risk for distant metastasis	Низкий/Low	Ref		Ref	
	Высокий/High	2,02 (1,24–3,29)	0,0043	1,06 (0,75–1,32)	0,1156
Тип изменений в бронхах/ Type of bronchial changes	БКГ-ПМ-Д-/BCH-SM-D-	Ref		Ref	
	БКГ+ПМ-Д-/BCH+SM-D-	2,48 (1,01–6,14)	0,0008	2,88 (0,90–9,17)	0,0636
	БКГ+ПМ+Д-/BCH+SM+D-	1,79 (0,70–4,56)	0,7740	3,92 (0,93–12,01)	0,1488
	БКГ-ПМ+Д+/BCH-SM+D+	2,41 (0,81–7,19)	0,4594	1,94 (0,56–5,30)	0,7371
Гистотип/Histotype	Плоскоклеточный рак/ Squamous cell cancer	Ref		Ref	
	Аденокарцинома/ Adenocarcinoma	1,19 (0,75–1,89)	0,4571	1,22 (0,70–2,12)	0,4813
Рецидивы/Relapse	Нет/No	Ref		Ref	
	Да/Yes	1,08 (0,58–2,00)	0,7949	1,90 (0,77–4,65)	0,1571
Гематогенные метастазы/ Distant metastases	Нет/No	Ref		Ref	
	Да/Yes	3,60 (2,30–5,64)	0,0000	3,79 (1,99–7,27)	0,0001
Метод лечения/ Type of treatment	НАХТ+ИОЛТ+/NAC+IORT+	Ref		Ref	
	НАХТ+ИОЛТ-/NAC+IORT-	1,83 (0,89–3,74)	0,7087	1,99 (0,92–4,20)	0,6229
	НАХТ-ИОЛТ-/NAC-IORT-	2,75 (1,42–5,33)	0,0024	3,23 (1,48–7,04)	0,0019
Пол/Gender	Муж/Male	Ref		Ref	
	Жен/Female	0,47 (0,21–1,02)	0,0586	0,72 (0,28–1,79)	0,4810
Размер опухоли/ Tumor size	T1–2	Ref		Ref	
	T3–4	1,80 (0,67–2,23)	0,5091	1,39 (0,51–3,69)	0,3631
Стадия/Stage	IB	Ref		Ref	
	IIA	1,14 (0,22–5,75)	0,7093	0,83 (0,12–5,68)	0,6352
	IIB	0,84 (0,25–2,72)	0,5516	1,25 (0,37–4,19)	0,4661
	IIIA	1,79 (1,01–5,04)	0,0280	1,86 (0,60–5,70)	0,2159
	IIIB	0,87 (0,27–2,79)	0,6327	0,74 (0,21–2,54)	0,3276
Синхронные лимфогенные метастазы/ Lymphatic metastases	Нет/No	Ref		Ref	
	Да/Yes	1,53 (0,98–2,36)	0,0564	0,67 (0,36–1,26)	0,2200
АХТ/ACT	Нет/No	Ref		Ref	
	Да/Yes	1,14 (0,74–1,77)	0,5361	0,77 (0,43–1,38)	0,3931
Статус курения/ Smoking status	Курит/Smoking	Ref		Ref	
	Не курит/Non-smoking	1,62 (0,94–2,78)	0,0765	0,75 (0,43–1,31)	0,3172
Степень злокачественности/ Grade of malignancy	1–2	Ref		Ref	
	3	1,21 (0,75–1,94)	0,3397	0,37 (0,09–1,42)	0,1295

Примечание: p_1 – достоверность параметра в однофакторном анализе; p_2 – достоверность параметра в многофакторном анализе.

Note: p_1 – significance of the parameter in univariate analysis, p_2 – significance of the parameter in multivariate analysis.

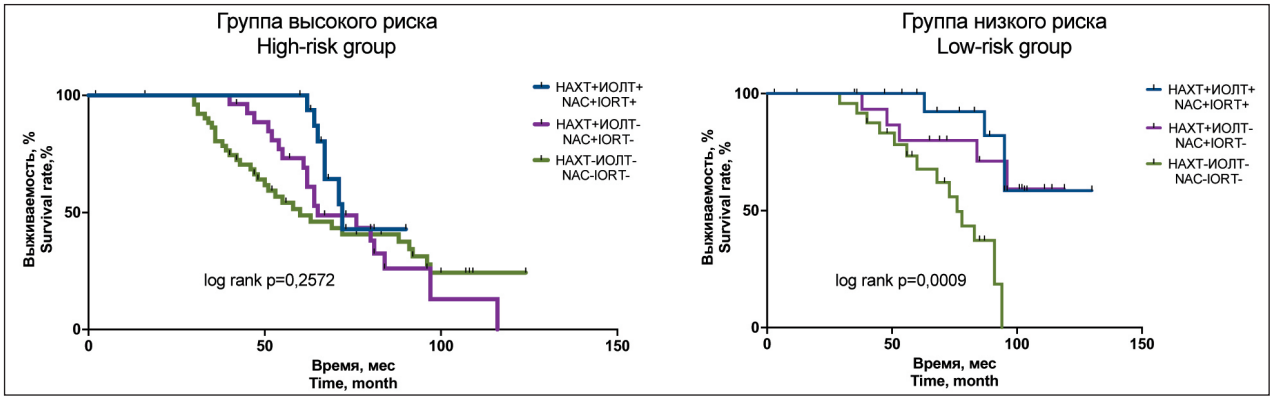


Рис. 4. Общая выживаемость в группах больных НМРЛ с высоким и низким риском гематогенного метастазирования в зависимости от варианта терапии

Fig.4. Overall survival curves in groups of NSCLC patients with high and low risk of hematogenous metastasis, depending on the treatment option

подчеркивает значимость предоперационной терапии и особенно сочетания НАХТ и ИОЛТ. Медиана выживаемости в группах НАХТ+ИОЛТ+ и НАХТ+ИОЛТ- не была достигнута, а процент выживших на конец периода наблюдения составлял 58 и 59 % соответственно. В группе пациентов, не получавших терапии (НАХТ-ИОЛТ-), медиана общей выживаемости составляла 76 мес.

Эффективность адъювантной терапии в профилактике гематогенного метастазирования НМРЛ

Частота развития гематогенных метастазов НМРЛ не зависела от того, проводилась больным АХТ или нет, а в случаях ее проведения и от варианта терапии (рис. 5).

АХТ проводилась у 51,7 % (31/60) больных с гематогенными метастазами НМРЛ. В группе низкого риска метастазирования (БКГ-ПМ-Д-) АХТ проводилась в 45,0 % (9/20) случаев. ГМ возникли у 2/20 (10,0 %) больных, в одном из случаев проводилась АХТ, в другом – нет (рис. 5). В другой группе с низким риском развития гематогенных метастазов (БКГ+ПМ+Д-) АХТ проводили в 44,4 % (20/45) случаев. Отдаленные метастазы были обнаружены всего у 6,7 % (3/45) пациентов (в одном случае АХТ не проводилась, и в двух она была проведена) (рис. 5).

В группе высокого риска развития гематогенных метастазов (БКГ+ПМ-Д-) АХТ проводилась у 51,6 % (49/95) больных. Отдаленные метастазы развились в 43,8 % (21/48) случаев, когда больным проводилась адъювантная химиотерапия, и в 59,5 % (28/47) – когда последней не было (рис. 5). Пациентам другой группы с высоким риском развития гематогенных метастазов (БКГ-ПМ+Д+) адъювантную химиотерапию провели в 45,5 % (5/11) случаев. Из них гематогенные метастазы развились в 40 % (2/5) случаев. У больных, которым АХТ не проводили, ГМ возникли у 66,7 % (4/6) человек. Очевидно, что независимо от принадлежности пациентов с НМРЛ к разным группам риска, выделенным по морфологическим изменениям респираторного эпителия в мелких бронхах, смежных с опухолью, адъювантная химиотерапия существенно не влияла на частоту развития гематогенных метастазов.

Обсуждение

Оценка эффективности предоперационной терапии для профилактики гематогенного метастазирования, с одной стороны, показала целесообраз-

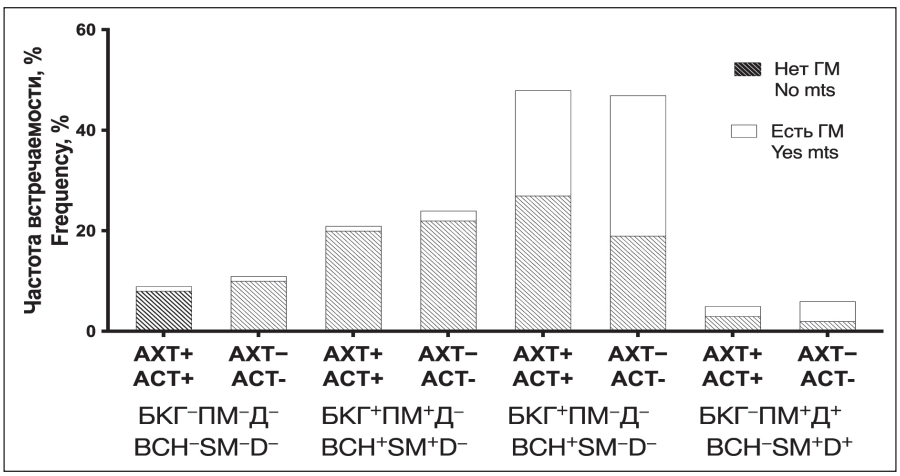


Рис. 5. Частота гематогенного метастазирования в зависимости от варианта изменений эпителия бронхов и адъювантной химиотерапии

Fig. 5. The frequency of hematogenous metastasis depending on the variant of changes in the bronchial epithelium and adjuvant chemotherapy

ность использования сочетания НАХТ и ИОЛТ при НМРЛ, с другой – большое значение стратификации пациентов на группы низкого и высокого риска гематогенного метастазирования. Ограниченная ценность прогностического значения величины первичной опухоли и грэйда демонстрируется тем, что эти параметры не оказались среди факторов, связанных с общей выживаемостью. Результаты работы показали, что характер морфологических изменений респираторного эпителия в мелких бронхах, смежных с первичной опухолью, имеет более значимое и самостоятельное значение.

Профилактический эффект предоперационной и/или интраоперационной лучевой терапии зависел как от ее варианта, так и от принадлежности пациентов к группам низкого и высокого риска гематогенного метастазирования. Особенно отчетлива такая зависимость через 2 года после операции, хотя и через 5 лет она тоже прослеживается. Прежде всего, результаты показывают, что комбинация химио- и радиационной терапии эффективнее, чем одна химиотерапия, и что любой из этих вариантов терапии имеет преимущество в сравнении с группой, в которой терапия не проводилась.

Обращает внимание высокое прогностическое значение отсутствия каких-либо морфологических изменений в эпителии бронхов. Любой вариант примененной предоперационной терапии предотвращал развитие метастазов в этой группе, и только при отсутствии терапии они возникали у части больных через 5 лет наблюдения. Отсутствие морфологических изменений респираторного эпителия в обсуждаемой группе, по-видимому, является не только следствием меньшей выраженности воспаления в бронхах. Можно предположить, что в этой конститутивно обособленной группе пациентов воспаление, вызываемое патогенами, не склонно к хронизации и завершается при элиминации возбудителя. Параллельно с этим в эпителии завершаются проявления регенераторной гиперплазии респираторного эпителия и не складываются условия для его плоскоклеточной метаплазии и/или дисплазии.

Важен результат оценки эффективности адъювантной терапии. Оказалось, что независимо от групп риска, определяемых по характеру морфологических изменений в эпителии мелких бронхов, назначение адъювантной терапии не вызвало уменьшения частоты возникновения гематогенных метастазов. То есть использованные варианты адъювантной терапии существенно не влияли на диссеминированные и «дремлющие» опухолевые клетки в местах будущих метастазов, как и на формирование метастатических ниш – микроокружения этих опухолевых клеток.

Отсутствие связи эффективности адъювантной терапии с принадлежностью к группам риска гематогенного метастазирования является дополнительным аргументом для обсуждения механизмов различия эффектов предоперационной терапии в группах низкого и высокого риска. Очевидно, что эффективность предоперационной терапии связана с воздействием на первичную опухоль. Причем правомочна гипотеза, что имеет значение не только непосредственное повреждающее действие на опухолевые клетки, но и влияние на микроокружение и в целом на паренхиматозно-стромальные отношения. От микроокружения, как известно, зависят инвазивность и способность клеток к интравазации – первому звену метастатического процесса. Подобный взгляд позволяет объяснить вероятность наличия сложной цепи причинно-следственных отношений между эпителиально-мезенхимальными отношениями в мелких бронхах, расположенных вблизи опухоли, и риском гематогенного метастазирования НМРЛ.

Таким образом, выделение групп риска гематогенного метастазирования НМРЛ на основе оценки вариантов морфологических изменений в эпителии мелких бронхов, расположенных вблизи опухоли, позволяет прогнозировать общую выживаемость пациентов, а также оптимизировать терапию НМРЛ. Неоадъювантная химиотерапия, сочетанная с интраоперационным облучением, увеличивает общую выживаемость при НМРЛ в группе высокого риска. Проведение персонализированного пред- интраоперационного комбинированного химиолучевого лечения в группах пациентов с высоким риском развития гематогенных метастазов НМРЛ позволит эффективно проводить профилактику их развития. В то же время правомочно рассмотрение вопроса о необходимости оптимизации неоадъювантной и адъювантной терапии в группах с высоким риском для предотвращения метастазирования через 5 и 10 лет, а у пациентов с низким риском более взвешенно определять показания для периоперационной химиотерапии. Важный результат исследования – обнаруженные закономерности характерны как для плоскоклеточного рака, так и для аденокарциномы легких.

Заключение

Проведенное исследование подтверждает известный в онкологии феномен высокой степени независимости собственно опухолевой и метастатической болезни. Действительно, при одной и той же нозологической форме – НМРЛ – наблюдается разделение на группы высокого и крайне низкого риска развития гематогенных метастазов. Для понимания сущности различий этих групп риска представляется наиболее перспективным изучение конститутивных особенностей иммуновоспалительных реакций, определяющих про- или противометастатические эффекты микроокружения опухоли. Предстоит изучение фундаментальных механизмов, лежащих в основе разного течения опухолевой болезни и ассоциированных с характе-

ром морфологических изменений в респираторном эпителии мелких бронхов, смежных с первичной опухолью. Независимо от степени понимания механизмов, лежащих в основе различий групп высокого и низкого риска метастазирования, возможны, с одной стороны, повышение эффективности профилактики в группе высокого риска и, с другой стороны, значимое улучшение качества жизни в группе с низким риском метастазирования благодаря неназначению химиотерапии последним.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Uprety D., Mandrekar S.J., Wigle D., Roden A.C., Adjei A.A.* Neoadjuvant Immunotherapy for NSCLC: Current Concepts and Future Approaches. J Thorac Oncol. 2020; 15(8): 1281–97. doi: 10.1016/j.jtho.2020.05.020.

2. *SEER*Explorer: An interactive website* for SEER cancer statistics [Internet]. Surveillance Research Program, National Cancer Institute. URL: https://seer.cancer.gov/explorer/. [Cited 2021 Sep 27].

3. *Goldstraw P., Crowley J., Chansky K., Giroux D.J., Groome P.A., Rami-Porta R., Postmus P.E., Rusch V., Sobin L.; International Association for the Study of Lung Cancer International Staging Committee; Participating Institutions.* The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. J Thorac Oncol. 2007; 2(8): 706–14. doi: 10.1097/JTO.0b013e31812f3c1a. Erratum in: J Thorac Oncol. 2007; 2(10): 985.

4. *Le Chevalier T.* Adjuvant chemotherapy for resectable non-small-cell lung cancer: where is it going? Ann Oncol. 2010; 21(7): 196–8. doi: 10.1093/annonc/mdq376.

5. *Albain K.S., Swann R.S., Rusch V.W., Turrisi A.T., Shepherd F.A., Smith C., Chen Y., Livingston R.B., Feins R.H., Gandara D.R., Fry W.A., Darling G., Johnson D.H., Green M.R., Miller R.C., Ley J., Sause W.T., Cox J.D.* Radiotherapy plus chemotherapy with or without surgical resection for stage III non-small-cell lung cancer: a phase III randomised controlled trial. Lancet. 2009; 374(9687): 379–86. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60737-6.

6. *van Meerbeeck J.P., Kramer G.W., Van Schil P.E., Legrand C., Smit E.F., Schramel F., Tjan-Heijnen V.C., Biesma B., Debruyne C., van Zandwijk N., Splinter T.A., Giaccone G.; European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Lung Cancer Group.* Randomized controlled trial of resection versus radiotherapy after induction chemotherapy in stage IIIA-N2 non-small-cell lung cancer. J Natl Cancer Inst. 2007; 99(6): 442–50. doi: 10.1093/jnci/djk093.

7. *Eberhardt W.E., Pöttgen C., Gauler T.C., Friedel G., Veit S., Heinrich V., Welter S., Budach W., Spengler W., Kimmich M., Fischer B., Schmidberger H., De Ruysscher D., Belka C., Cordes S., Hepp R., Lütke-Brintrup D., Lehmann N., Schuler M., Jöckel K.H., Stamatis G., Stuschke M.* Phase III Study of Surgery Versus Definitive Concurrent Chemoradiotherapy Boost in Patients With Resectable Stage IIIA(N2) and Selected IIIB Non-Small-Cell Lung Cancer After Induction Chemotherapy and Concurrent Chemoradiotherapy (ESPATUE). J Clin Oncol. 2015; 33(35): 4194–201. doi: 10.1200/JCO.2015.62.6812.

8. *Johnstone D.W., Byhardt R.W., Ettinger D., Scott C.B.* Phase III study comparing chemotherapy and radiotherapy with preoperative chemotherapy and surgical resection in patients with non-small-cell lung cancer with spread to mediastinal lymph nodes (N2); final report of RTOG 89-01. Radiation Therapy Oncology Group. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2002; 54(2): 365–9. doi: 10.1016/s0360-3016(02)02943-7.

9. *Ren Z., Zhou S., Liu Z., Xu S.* Randomized controlled trials of induction treatment and surgery versus combined chemotherapy and radiotherapy in stages IIIA-N2 NSCLC: a systematic review and meta-analysis. J Thorac Dis. 2015; 7(8): 1414–22. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.08.14.

10. *Pöttgen C., Eberhardt W., Stamatis G., Stuschke M.* Definitive radiochemotherapy versus surgery within multimodality treatment in stage III non-small cell lung cancer (NSCLC) – a cumulative meta-analysis of the randomized evidence. Oncotarget. 2017; 8(25): 41670–8. doi: 10.18632/oncotarget.16471.

11. *Лактионов К.К., Артамонова Е.В., Борисова Т.Н., Бредер В.В., Бычков Ю.М., Владимирова Л.Ю., Волков Н.М., Ергнян С.М., Жабина А.С., Кононец П.В., Кузьминов А.Е., Левченко Е.В., Малихова О.А., Маринов Д.Т., Миллер С.В., Моисеенко Ф.В., Мочальникова В.В., Новиков С.Н., Пикин О.В., Реутова Е.В., Родионов Е.О., Сакаева Д.Д., Семенова А.И., Смолин А.В., Сотников В.М., Тузиков С.А., Туркин И.Н., Тюрин И.Е., Чхиквадзе В.Д., Колбанов К.И., Черниченко А.В., Феденко А.А., Филоненко Е.В., Невольских А.А., Иванов С.А., Хайлова Ж.В., Геворкян Т.Г., Бутенко А.В., Гильмутдинова И.Р., Гриднева И.В., Еремушкин М.А., Зернова М.А., Каспаров Б.С., Ковлен Д.В., Кондратьева К.О., Кончугова Т.В., Короткова С.Б., Крутов А.А., Обухова О.А., Пономаренко Г.Н., Семиглазова Т.Ю., Степанова А.М., Ткаченко Г.А., Хуламханова М.М.* Злокачественное новообразование бронхов и легкого. Современная Онкология. 2021; 23(3): 369–402. [*Laktionov K.K., Artamonova E.V., Borisova T.N., Breder V.V., Bychkov Iu.M., Vladimirova L.Iu., Volkov N.M., Ergnian S.M., Zhabina A.S., Kononets P.V., Kuz'minov A.E., Levchenko E.V., Malikhova O.A., Marinov D.T., Miller S.V., Moiseenko F.V., Mochal'nikova V.V., Novikov S.N., Pikin O.V., Reutova E.V., Rodionov E.O., Sakaeva D.D., Semenova A.I., Smolin A.V., Sotnikov V.M., Tuzikov S.A., Turkin I.N., Tiurin I.E., Chkhikvadze V.D., Kolbanov K.I., Chernichenko A.V., Fedenko A.A., Filonenko E.V., Nevol'skikh A.A., Ivanov S.A., Khailova Zh.V., Gevorkian T.G., Butenko A.V., Gil'mutdinova I.R., Gridneva I.V., Eremushkin M.A., Zernova M.A., Kasparov B.S., Kovlen D.V., Kondrat'eva K.O., Konchugova T.V., Korotkova S.B., Krutov A.A., Obukhova O.A., Ponomarenko G.N., Semiglazova T.Iu., Stepanova A.M., Tkachenko G.A., Khulamkhanova M.M.* Malignant neoplasm of the bronchi and lung: Russian clinical guidelines. Journal of Modern Oncology. 2021; 23 (3): 369–402. (in Russian).] doi: 10.26442/18151434.2021.3.201048.

12. *Zheng Y., Jaklitsch M.T., Bueno R.* Neoadjuvant Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer. Surg Oncol Clin N Am. 2016; 25(3): 567–84. doi: 10.1016/j.soc.2016.02.010.

13. *NSCLC Meta-analysis Collaborative Group.* Preoperative chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. Lancet. 2014; 383(9928): 1561–71. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62159-5.

14. *Lim E., Harris G., Patel A., Adachi I., Edmonds L., Song F.* Preoperative versus postoperative chemotherapy in patients with resectable non-small cell lung cancer: systematic review and indirect comparison meta-analysis of randomized trials. J Thorac Oncol. 2009; 4(11): 1380–8. doi: 10.1097/JTO.0b013e3181b9ecca.

15. *Pankova O.V., Tashireva L.A., Rodionov E.O., Miller S.V., Tuzikov S.A., Pismenny D.S., Gerashchenko T.S., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V., Denisov E.V., Perelmuter V.M.* Premalignant Changes in the Bronchial Epithelium Are Prognostic Factors of Distant Metastasis in Non-Small Cell Lung Cancer Patients. Front Oncol. 2021; 11: 771802. doi: 10.3389/fonc.2021.771802.

16. *Travis W.D., Brambilla E., Noguchi M., Nicholson A.G., Geisinger K., Yatabe Y., Ishikawa Y., Wistuba I., Flieder D.B., Franklin W., Gazdar A., Hasleton P.S., Henderson D.W., Kerr K.M., Nakatani Y., Petersen I., Roggli V., Thunnissen E., Tsao M.* Diagnosis of lung adenocarcinoma in resected specimens: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. Arch Pathol Lab Med. 2013; 137(5): 685–705. doi: 10.5858/arpa.2012-0264-RA.

17. *Nicholson A.G., Tsao M.S., Beasley M.B., Borczuk A.C., Brambilla E., Cooper W.A., Dacic S., Jain D., Kerr K.M., Lantuejoul S., Noguchi M., Papotti M., Rekhtman N., Scagliotti G., van Schil P., Sholl L., Yatabe Y., Yoshida A., Travis W.D.* The 2021 WHO Classification of Lung Tumors: Impact of Advances Since 2015. J Thorac Oncol. 2022; 17(3): 362–87. doi: 10.1016/j.jtho.2021.11.003.

18. *Sobin L.H., Gospodarowicz M.K., Wittekind C.* TNM classification of malignant tumors [Internet]. New York: Wiley-Blackwell. URL: http://www.uicc.org/sites/main/files/private/TNM_Classification_of_Malignant_Tumours_Website_15%20MAy2011.pdf. [cited 2022 Jun 30].

Поступила/Received 07.07.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 05.10.2022
Принята к публикации/Accepted 24.10.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Панкова Ольга Владимировна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: pancova@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 3355-7118. Researcher ID (WOS): C-8216-2012. Author ID (Scopus): 6603043604. ORCID: 0000-0002-5510-1808.

Таширева Любовь Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 4371-5340. Researcher ID (WOS): C-8222-2012. Author ID (Scopus): 55234960400. ORCID: 0000-0003-2061-8417.
Родионов Евгений Олегович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7650-2129. Researcher ID (WOS): B-7280-2017. Author ID (Scopus): 57189622130. ORCID: 0000-0003-4980-8986.
Миллер Сергей Викторович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6510-9849. Researcher ID (WOS): C-8970-2012. Author-ID (Scopus): 56525429400. ORCID: 0000-0002-5365-9840.
Геращенко 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. ORCID 0000-0002-7283-0092.
Письменный Дмитрий Сергеевич, кандидат медицинских наук, врач клинико-лабораторной диагностики отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7441-0790. ORCID: 0000-0001-8973-8439.
Завьялова Марина Викторовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1229-0323. Researcher ID (WOS): C-8580-2012. Author ID (Scopus): 36711031100. ORCID: 0000-0001-9429-9813.
Денисов Евгений Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9498-5797. ORCID: 0000-0003-2923-9755.
Перельмутер Владимир Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6252-5319. Researcher ID (WOS): C-8227-2012. Author ID (Scopus): 8091317300. ORCID: 0000-0002-7633-9620.

ВКЛАД АВТОРОВ

Панкова Ольга Владимировна: разработка концепции, проекта и дизайна работы, написание черновика статьи.
Таширева Любовь Александровна: статистическая обработка результатов исследования.
Родионов Евгений Олегович: набор клинического материала, анализ научной работы.
Миллер Сергей Викторович: набор клинического материала, анализ научной работы; критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Геращенко Татьяна Сергеевна: анализ научной работы, написание черновика статьи.
Письменный Дмитрий Сергеевич: обзор материала, поиск и анализ источников литературы.
Завьялова Марина Викторовна: редактирование статьи, обсуждение результатов исследования.
Денисов Евгений Владимирович: редактирование статьи, обсуждение результатов исследования.
Перельмутер Владимир Михайлович: руководство научной работой; критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование
Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №20-75-10060).
Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Olga V. Pankova, DSc, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8216-2012. Author ID (Scopus): 6603043604. ORCID: 0000-0002-5510-1808.
Liubov A. Tashireva, MD, PhD, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8222-2012. Author ID (Scopus): 55234960400. ORCID: 0000-0003-2061-8417.
Evgeniy O. Rodionov, MD, PhD, Senior Researcher, Thoracic Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): B-7280-2017. Author ID (Scopus): 57189622130. ORCID: 0000-0003-4980-8986.
Sergey V. Miller, MD, DSc, Leading Researcher, Thoracic Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8970-2012. Author-ID (Scopus): 56525429400. ORCID: 0000-0002-5365-9840.

Tatiana S. Gerashchenko, MD, PhD, Researcher, Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID 0000-0002-7283-0092.
Dmitry S. Pismenny, MD, PhD, doctor of clinical and laboratory diagnostics, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0001-8973-8439.
Marina V. Zavyalova, MD, DSc, Leading Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8580-2012. Author ID (Scopus): 36711031100. ORCID: 0000-0001-9429-9813.
Evgeny V. Denisov, PhD, Head of Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID 0000-0003-2923-9755
Vladimir M. Perelmuter, MD, Professor, Chief Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8227-2012. Author ID (Scopus): 8091317300. ORCID: 0000-0002-7633-9620.

AUTHOR CONTRIBUTION

Olga V. Pankova: design and concept of the study, drafting of the manuscript.
Liubov A. Tashireva: statistical data analysis.
Evgeniy O. Rodionov: clinical data collection, data analysis.
Sergey V. Miller: clinical data collection, data analysis, critical review with valuable intellectual content.
Tatiana S. Gerashchenko: data collection and analysis, drafting of the manuscript.
Dmitry S. Pismenny: data collection and analysis.
Marina V. Zavyalova: editing of the manuscript, discussion of the study results.
Evgeny V. Denisov: editing of the manuscript, discussion of the study results.
Vladimir M. Perelmuter: supervision, data analysis, critical review with valuable intellectual content

Funding
The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (№20-75-10060).
Conflict of interests
The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-38-46
УДК: 616-006-033.2:575.113

Для цитирования: *Щеголева А.А., Третьякова М.С., Воробьев Р.С., Ананина О.А., Бокова У.А., Денисов Е.В.* Генетические особенности опухолей невыявленной первичной локализации. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 38–46. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-38-46
For citation: *Schegoleva A.A., Tretyakova M.S., Vorobyov R.S., Ananina O.A., Bokova U.A., Denisov E.V.* Genetic features of cancer of unknown primary. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 38–46. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-38-46

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕЙ НЕВЫЯВЛЕННОЙ ПЕРВИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

А.А. Щеголева, М.С. Третьякова, Р.С. Воробьев, О.А. Ананина, У.А. Бокова, Е.В. Денисов

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: shegolmay@gmail.com

Аннотация

Введение. Опухоли невыявленной первичной локализации (ОНПЛ) представляют собой метастатические очаги, для которых стандартное диагностическое исследование не позволяет определить первичный опухолевый очаг на момент постановки диагноза. Частота выявления ОНПЛ невысокая, однако данное заболевание характеризуется агрессивностью течения, низкой эффективностью лечения и плохой выживаемостью. Поэтому понимание биологии и механизмов формирования этих злокачественных новообразований является важной задачей. **Цель исследования** – идентификация генетических нарушений, характерных для ОНПЛ. **Материал и методы.** В исследовании использовалось полноэкзомное секвенирование образцов ОНПЛ. **Результаты.** В ОНПЛ обнаружены однонуклеотидные изменения в гене эфринового рецептора *EPHA8*. Помимо этого, для ОНПЛ были характерны аберрации числа копий ДНК в хромосомных регионах, содержащих гены *ID2*, *FOXD4*, *ZMYND11*, *ZNF596*, *KIDINS220*, *LRRN1, GEMIN4, CEP72, TPPP* и *MXRA5.* Функциональное аннотирование вышеуказанных генов показало их вовлеченность в транскрипцию, биогенез микроРНК, клеточный цитоскелет, адгезию, ремоделирование внеклеточного матрикса, пролиферацию, апоптоз и эпителиально-мезенхимальный переход. **Заключение.** Для ОНПЛ характерны нарушения генов, вовлеченных в регуляцию различных биологических процессов, главным образом клеточной миграции.

Ключевые слова: метастаз, невыявленный первичный очаг, мутация, ген, секвенирование.

GENETIC FEATURES OF CANCER OF UNKNOWN PRIMARY

A.A. Schegoleva, M.S. Tretyakova, R.S. Vorobyov, O.A. Ananina, U.A. Bokova, E.V. Denisov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia. E-mail: shegolmay@gmail.com

Abstract

Background. Cancer of unknown primary (CUP) is a metastatic lesion with difficult identification of the primary tumor site using standard diagnostic approaches. Although the incidence of CUP is not high, this type of cancer often shows a high aggressiveness and therapy resistance and results in poor patient survival. The mechanisms of CUP origin are not clear, and further studies are needed. **This study aims to** analyze the mutational landscape of CUP and identify specific genetic alterations. **Material and Methods.** Whole exome sequencing was used to analyze the mutational landscape of CUP. **Results.** CUP had single nucleotide variants (SNVs) in the *EPHA8* (ephrin receptor) gene. CUP also harbored copy number variations (CNAs) in the *ID2*,

Щеголева Анастасия Алексеевна, shegolmay@gmail.com

FOXD4, *ZMYND11*, *ZNF596*, *KIDINS220*, *LRRN1, GEMIN4, CEP72, TPPP,* and *MXRA5* genes. According to functional enrichment analysis, these genes are involved in the regulation of transcription, biogenesis of microRNA, cellular cytoskeleton, adhesion, extracellular matrix remodeling, proliferation, apoptosis, and epithelial-mesenchymal transition. **Conclusion.** Cancer of unknown primary harbors mutations in the genes that regulate different biological processes particularly cell motility.

Key words: cancer of unknown primary, mutation, gene, sequencing.

Введение

Опухоли невыявленной первичной локализации (ОНПЛ) – метастатическое проявление злокачественных новообразований, при котором первичный очаг не выявляется по данным анамнеза и/или результатам диагностических исследований [1]. Каждый год выявляются около 3–5 % новых случаев ОНПЛ от общего числа злокачественных новообразований [2]. Из-за небольшой численности и высокой гетерогенности ОНПЛ отсутствует понимание их биологии и механизмов образования. Тем не менее все случаи ОНПЛ имеют общие черты: раннее и агрессивное распространение, плохой прогноз и непредсказуемый метастатический характер [3, 4].

Опухоли невыявленной первичной локализации условно делят на 2 типа: с благоприятным (15–20 %; медиана выживаемости 10–16 мес) и неблагоприятным (80–95 %; 3–6 мес) течением [5, 6]. Первый вариант клинического течения характерен для плоскоклеточного рака с поражением шейных лимфоузлов, низкодифференцированных нейроэндокринных карцином, карциномы Меркеля, метастазов аденокарциномы в подмышечные лимфоузлы и др. Неблагоприятное течение ОНПЛ связывают с такими факторами, как мужской пол, множественные метастазы аденокарциномы в головной мозг, печень, кости, легкие и низкодифференцированный рак [5, 7].

Механизмы формирования ОНПЛ пока плохо изучены. Согласно одной из гипотез, ОНПЛ является метастазом, сформированным на ранней стадии опухолевого процесса и развивающимся параллельно с первичным новообразованием [8]. По другой гипотезе ОНПЛ – это отдельная группа опухолей с фенотипическими и генотипическими особенностями [9]. Согласно данной гипотезе, формирование ОНПЛ может быть связано с ошибками эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) вследствие возникновения генетических нарушений, приводящих к фиксации клеток в гибридном состоянии и приобретения ими высокого туморогенного и инвазивного потенциалов [10].

Секвенирование нового поколения (next-generation sequencing, NGS) рассматривается как один из основных инструментов выявления генетических изменений, вовлеченных в патогенез и прогрессирование злокачественных новообразований. Ранние работы по анализу мутационного профиля ОНПЛ показали, что наиболее часто нарушения встречаются в *TP53*, *KRAS*, *PIK3CA*, *ALK*, *EGFR*, *RET*, *FGFR1*, *NTRK1* и других генах [1, 11–13]. Для ОНПЛ также характерны гиперэкспрессия генов *MYC*, *ERBB2*/*HER2*, *EGFR* и *BCL2* [14] и белковая гиперэкспрессия металлопротеиназ MMP2, MMP9 и TIMP1 [15].

Цель исследования – поиск генетических нарушений, характерных для ОНПЛ.

Материал и методы

В исследование включено 7 пациентов с ОНПЛ (табл. 1). Метастазы были обнаружены в лимфатических узлах (n=5) и легком (n=2). Хирургическим путем получены образцы метастазов (n=7). В процессе диагностики у 5 пациентов выявлены микроочаги первичной опухоли: рак почки, легкого, слюнных желез и брюшины. В связи с этим нами принято решение о переводе данных пациентов в группу сравнения (n=5).

Исследование выполнялось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации (1964 г., дополненной в 1975 и 1983 гг.) и одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. От пациентов получено информированное согласие на добровольное участие.

Выделение ДНК проводилось с использованием набора DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, США). Полученные образцы ДНК (n=7) подвергали ультразвуковой фрагментации до 180 п.н. и использовали для подготовки экзомных библиотек с помощью набора SureSelect XT v. 7.0 (Agilent, США). ДНК библиотеки пулировали и разводили до необходимой концентрации согласно протоколу Illumina (США). Пулированные образцы секвенировали на платформе NextSeq 2000 (Illumina, США) в режиме двуконцевого чтения по 100 п.н.

Биоинформатический анализ данных проводился с помощью пайплайна GATK [16]. Байесовская статистика и апостериорная вероятность использовались для определения (calling) генотипов. Генетические варианты, в частности однонуклеотидные замены (SNVs), аннотировали с помощью инструмента ANNOVAR [17]. Отбор генов-драйверов канцерогенеза проводился с использованием ресурса IntOGen [18]. Для предсказания функциональной значимости мутаций в генах использовали инструменты SIFT и PolyPhen2 [19]. Для детекции аберраций числа копий ДНК (CNAs) применялся инструмент CNVkit с использованием метода циркулярной бинарной сегментации (circular binary segmentation, CBS) и скрытой Марковской модели (Hidden Markov Model, HMM) [20–22]. Расчеты

Таблица 1/Table 1

Клинико-патологические параметры пациентов, включенных в исследование

Clinical and pathological parameters of patients included in the study

Код/ The code	Локализация метастазов/ Localization of metastases	Первичный очаг/ Primary tumor	Пол/ Gender	Возраст/ Age	Стадия/ Stage	TNM	Неоадъювантная химиотерапия/ Neoadjuvant chemotherapy
1	Лимфоузлы/ Lymph nodes	Плоскоклеточный рак слюнной железы/ Squamous cell carcinoma of the salivary gland	Ж/W	69	III	T3N1M0	Нет/No
2	Легкое/ Lung	Немуцинозный микроинвазивный рак легкого/ Non-mucinous microinvasive lung cancer	M/M	66	IV	T2NxM1	Нет/ No
3	Шейные лимфоузлы/ Neck lymph nodes	Не выявлен/ Not identified	M/M	44	IV	TxNxM1	Нет/ No
4	Легкое/ Lung	Мелкоклеточный рак легкого/ Small cell lung cancer	Ж/W	63	IV	T1NxM1	Нет/ No
5	Шейные лимфоузлы/ Neck lymph nodes	Светкоклеточный рак почки/ Clear cell renal cell carcinoma	M/M	69	IV	T2N3M1	Нет/ No
6	Шейные лимфоузлы/ Neck lymph nodes	Не выявлен/ Not identified	Ж/W	41	IV	TxNxM1	Да/ Yes
7	Лимфоузлы/ Lymph nodes	Рак брюшины/ Peritoneal cancer	Ж/W	58	IV	TisN1M1	Нет/ No

проводились как в рамках исходных регионов экзомной панели Agilent SureSelect v7, так и с исключением регионов, входящих в трек Duke Excluded Regions на основании данных о картировании и уникальности с ENCODE и переразмеченных для референсного генома GRCh38/hg38. В итоговом анализе использовались только общие пересечения полученных с помощью разных методов и предобработки исходных данных CNA-сегменты. Частоту нарушений генов интереса в злокачественных новообразованиях получали из базы данных cBioPortal.

Результаты

В работе учитывались только генетические варианты, затрагивающие экзонные области генов и имеющие функциональное влияние на белковые продукты согласно биоинформатическому анализу. Сравнение профиля генетических нарушений проводилось между пациентами (n=2), у которых очаг не был обнаружен в ходе детального инструментального анализа, и больными, у которых последующее диагностическое обследование выявило микроочаги первичной опухоли.

Для пациентов с ОНПЛ были характерны нарушения в гене эфринового рецептора EPHA8 (табл. 2). Согласно базе данных cBioPortal, соматические нарушения в гене *EPHA8* встречаются в 1,3 % различных злокачественных новообразований. В исследуемых образцах мутации были представлены несинонимичным SNV и SNV с образованием стоп-кодона (stopgain). Инструмент

Таблица 2/Table 2

SNVs, характерные для ОНПЛ

SNVs specific for CUP

Ген/ Gene	Хромосома: позиция/ Chromosome: position	Замена/ Change	Тип мутации/ Mutation type	SIFT	Polyphen2	ExAC	cBioPortal
EPHA8	chr1:22593620	C>T	stopgain	.	.	0,0001	2,1 %
	chr1:22601701	C>G	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	T	P	.	

Примечание: chr – хромосома; stopgain – замена с образованием стоп-кодона; SIFT и Polyphen2 – инструменты для предсказания функциональной значимости мутаций (T – tolerant, P – pathogenic); ExAC – база данных о частоте встречаемости герминальных генетических вариантов в популяциях человека; cBioPortal – база данных о частоте встречаемости соматических генетических вариантов у онкологических больных.

Note: chr – a chromosome; stopgain – nucleotide change with the formation of a stop codon; SIFT and Polyphen 2 are tools for predicting the functional significance of mutations (T – tolerant , P – pathogenic); ExAC - database on the frequency of occurrence of germline genetic variants in human populations; cBioPortal – a database on the frequency of occurrence of somatic genetic variants in cancer patients.

Таблица 3/Table 3

SNVs в генах-драйверах канцерогенеза, характерные для ОНПЛ

SNVs in cancer driver genes specific for CUP

Ген/ Gene	Хромосо-ма: позиция/ Chromosome: position	Замена/ Change	Тип мутации/ Mutation type	SIFT	Polyphen2	ExAC	cBioPortal
HSPG2	chr1:21890485	G>T	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	D	.	4,7 %
PTPN13	chr4:86762995	G>T	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	D	0,0038	3,4 %
KMT2C	chr7: 152252087	C>A	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	D	.	8,7 %
MET	chr7:116699902	C>A	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	P	0,00003314	2,6 %
ZNF680	chr7:64521784	A>AT	frameshift insertion	.	.	.	1,3 %
RET	chr10:43128192	T>G	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	D	.	2,5 %
BCL9L	chr11:118900780	G>A	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	D	.	2,4 %
CBL	chr11:119273924	G>T	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	P	.	1,6 %
POLE	chr12:132641819	C>T	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	T	D	0,000008327	3,6 %
CDKN1B	chr12:12717874	G>C	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	T	B	.	0,9 %
FLT3	chr13:28023459	T>A	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	T	D	.	3,1 %
ING1	chr13:110715537	CTG>C	frameshift deletion	.	.	0,00000825	1,0 %
DICER1	chr14:95133439	T>C	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	B	0,0018	2,9 %
COL1A1	chr17:50199881	G>C	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	B	.	2,9 %
RNF213	chr17:80263763	G>A	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	P	.	5,1 %
EFTUD2	chr17:44879596	A>G	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	B	.	1,5 %
TP53	chr17: 7674250	C>A	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	D	.	37,0 %
SETBP1	chr18:44953148	G>C	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	T	B	.	3,5 %
CNOT3	chr19:54149598	G>C	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	T	D	.	1,6 %
SMC1A	chrX:53415142	C>A	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	D	.	2,2 %
AR	chrX:67717535	G>T	Несинонимичная SNV/ Nonsynonymous SNV	D	D	.	2,1 %

Примечание: chr – хромосома; frameshift insertion – инсерция со сдвигом рамки считывания; frameshift deletion – делеция со сдвигом рамки считывания; SIFT и Polyphen2 – инструменты для предсказания функциональной значимости мутаций (D – deleterious, T – tolerant, P – pathogenic, B – benign); ExAC – база данных о частоте встречаемости герминальных генетических вариантов в популяциях человека; cBioPortal – база данных о частоте встречаемости соматических генетических вариантов у онкологических больных.

Note: chr – a chromosome; SIFT and Polyphen 2 are tools for predicting the functional significance of mutations (D – deleterious, T – tolerant, P – pathogenic, B – benign); ExAC - database on the frequency of occurrence of germline genetic variants in human populations; cBioPortal – a database on the frequency of occurrence of somatic genetic variants in cancer patients.

Таблица 4/Table 4

CNAs, характерные для ОНПЛ
CNAs characteristic of CUP

Хромосома: регион и позиция/ Chromosome: region and position			Тип мутации/ Mutation type	Гены, входящие в регион/ Genes located on in the region	cBioPortal
Chr2	2p25.1	7220102–8731313	Амплификация/Amplification	*ID2*	0,9 %
			Делеция/Deletion		0,3 %
			Амплификация/ Amplification	*KIDINS220*	1,0 %
			Делеция/Deletion		0,3 %
Chr3	3p26.2	3845079–3845341	Делеция/Deletion	*LRRN1*	0,9 %
Chr5	5p15.33	664496–664996	Амплификация/Amplification	*CEP72*	4,4 %
				TPPP	4,4 %
Chr8	8p23.3	243951–244457	Делеция/Deletion	*ZNF596*	4,1 %
Chr9	9p24.3	52745–116710	Амплификация/Amplification	*FOXD4*	1,2 %
Chr10	10p15.3	179367–179867	Амплификация /Amplification	*ZMYND11*	1,0 %
			Делеция/Deletion		0,3 %
Chr17	17p13.3	745033–747876	Делеция/Deletion	*GEMIN4*	0,9 %
ChrX	Xp22.33	3325102–3329943	Амплификация/Amplification	*MXRA5*	1,0 %
			Делеция/Deletion		0,3 %

Примечание: chr – хромосома; cBioPortal – база данных о частоте встречаемости соматических генетических вариантов у онкологических больных.

Note: chr – a chromosome; cBioPortal – a database on the frequency of occurrence of somatic genetic variants in cancer patients.

для предсказания функциональной значимости мутаций, Polyphen2, обозначил несинонимичный SNV как патогенный вариант.

Используя инструмент IntOGen, среди генов, мутации которых были обнаружены в ОНПЛ, были выделены гены-драйверы канцерогенеза, характерные для различных злокачественных новообразований. Так, в одном случае ОНПЛ мутации были обнаружены в 26 генах-драйверах канцерогенеза, среди которых 21 ген был уникален по сравнению с контрольной группой (*HSPG2*, *PTPN13*, *KMT2C*, *MET*, *ZNF680*, *RET*, *BCL9L*, *CBL*, *POLE, CDKN1B*, *FLT3*, *ING1*, *DICER1*, *COL1A1*, *RNF213*, *EFTUD2*, *TP53*, *SETBP1*, *CNOT3*, *SMC1A* и *AR*) (табл. 3). С помощью инструментов SIFT и Polyphen2 обнаружено, что большинство генетических нарушений характеризуются как патогенные.

Помимо SNVs в ОНПЛ были обнаружены следующие CNAs: делеции и амплификации регионов 2p25.1, 10p15.3 и Xp22.33, делеции хромосомных участков 3p26.2, 8p23.3 и 17p13.3 и амплификации регионов 5p15.33 и 9p24.3 (табл. 4). В данных регионах локализованы гены, кодирующие факторы транскрипции ID2 (Inhibitor of DNA binding 2), FOXD4 (Forkhead Box D4), ZMYND11 (Zinc finger MYND-type containing 11) и ZNF596 (Zinc finger protein 596), трансмембранные белки KIDINS220 (Kinase D Interacting Substrate 220) и LRRN1 (Leucine Rich Repeat Neuronal 1), регулятор биогенеза микроРНК GEMIN4 (Gem Nuclear Organelle Associated Protein 4), компоненты клеточного цитоскелета CEP72 (Centrosomal Protein 72) и TPPP (Tubulin Polymerization Promoting Protein) и протеогликан, участвующий в адгезии и ремоделировании внеклеточного матрикса MXRA5 (Matrix-remodeling associated 5). Согласно базе данных cBioPortal, амплификации регионов в генах *ID2*, *KIDINS220*, *CEP72*, *TPPP*, *FOXD4*, *ZMYND11* и *MXRA5* встречаются в 0,9, 1,0, 4,4, 4,4, 1,2, 1,0 и 1,0 % случаев с различными злокачественными новообразованиями соответственно. Частота делеций генов *ID2*, *KIDINS220*, *LRRN1*, *ZNF596*, *ZMYND11, GEMIN4* и *MXRA5* составляет 0,3, 0,3, 0,9, 4,1, 0,3, 0,9 и 0,3 % соответственно (табл. 4).

Обсуждение

Механизмы возникновения ОНПЛ до сих пор неизвестны. Одной из причин ОНПЛ могут быть нарушения в генах-регуляторах клеточной миграции, в частности эпителиально-мезенхимального перехода [10]. Предполагается, что появление мутаций в данных генах приводит к фиксации клеток в состоянии гибридного ЭМП и приобретению ими способности к инвазии и метастазированию [10]. Соответственно, исследование мутационного профиля ОНПЛ актуально и может пролить свет не только на природу данного типа злокачественных новообразований, но и выявить новые гены-регуляторы миграции и инвазии опухолевых клеток.

Предыдущие исследования показали, что для ОНПЛ характерны нарушения *TP53*, *KRAS*, *CDKN2A*, *EGFR*, *KEAP1*, *SMARCA4*, *BRAF*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDK4*, *ERBB2*, *MET*, *AKT1*, *ERBB2*, *IDH2*, *PIK3CA*, *PTCH1*, *FGFR1*, *MDM2* и других генов, вовлеченных в регуляцию широкого круга кле-

точных процессов, в том числе ЭМП, миграции и инвазии [6, 12, 23–25]. Однако в данных исследованиях использовалось таргетное NGS с фокусом на десятки/сотни генов, наиболее часто мутирующих в злокачественных новообразованиях. При таком подходе исключается вероятность выявления нарушений в других генах, в том числе в редко встречающихся типах рака.

В представленном исследовании мутационный профиль ОНПЛ был изучен с помощью полноэкзомного секвенирования. Согласно полученным данным, обнаружены несинонимичные SNVs в генах-драйверах канцерогенеза *TP53* и *MET*, что согласуется с данными литературы.

В ОНПЛ также обнаружены SNVs в гене *EPHA8*. EPHA8 является эфриновым тирозинкиназным мембранным рецептором, опосредующим передачу сигналов в клетки [26]. Повышенная экспрессия EPHA8 связана с плохим прогнозом у больных раком желудка, раком молочной железы и с метастазами рака яичников [26–28]. Нокдаун гена *EPHA8* приводил к повышению апоптоза и снижению пролиферации, миграции и инвазии клеток рака желудка и рака молочной железы [26, 27].

Помимо SNVs, для ОНПЛ были характерны делеции и амплификации регионов 2p25.1 (*ID2* и *KIDINS220*), 10p15.3 (*ZMYND11*) и Xp22.33 (*MXRA5*), только делеции хромосомных участков 3p26.2 (*LRRN1*), 8p23.3 (*ZNF596*) и 17p13.3 (*GEMIN4*) или амплификации регионов 5p15.33 (*CEP72* и *TPPP*) и 9p24.3 (*FOXD4*) (табл. 4). Амплификация гена *TPPP* ранее была описана в клетках рака мочевого пузыря и связана с прогрессированием заболевания [29]. Мутации гена *MXRA5* обнаружены у больных немелкоклеточным раком легкого [30].

Для некоторых генов, нарушения которых обнаружены в ОНПЛ, известна роль в миграции, инвазии и метастазировании различных злокачественных опухолей. Гены *ID2*, *ZMYND11* и *KIDINS220* описаны как опухолевые супрессоры, нокаут которых способствует увеличению пролиферации, миграции, инвазии и ЭМП *in vitro* и метастазированию *in vivo* клеток рака молочной железы, легкого, поджелудочной железы, предстательной железы и почек [31–37]. Гипоэкспрессия *ID2, KIDINS220* и *ZMYND11* связана с высокой частотой отдаленного метастазирования и низкими показателями общей выживаемости больных раком поджелудочной железы, молочной железы и предстательной железы [31, 35–38].

Гены *LRRN1, MXRA5, CEP72, TPPP , FOXD4* и *MXRA5* описаны как онкогены, активация которых приводит к снижению апоптоза, увеличению пролиферации, росту, миграции, инвазии, эпителиально-мезенхимальному переходу *in vitro* и метастазированию *in vivo* клеток колоректального рака, рака поджелудочной железы, желудка, легкого, почки и мочевого пузыря [29, 39–45]. Высокий уровень экспрессии генов *MXRA5, LRRN1* и *CEP72* связан с худшей общей и безрецидивной выживаемостью больных раком поджелудочной железы, желудка, толстой кишки и немелкоклеточным раком легкого [39–42, 46, 47]. Повышенная экспрессия белка MXRA5 коррелирует с развитием метастазов колоректального рака в сальник [48]. Для генов *GEMIN4* и *ZNF596* в литературе нет данных об их вовлеченности в миграцию и метастазирование, однако генетические варианты *GEMIN4* связаны с риском развития рака предстательной железы, желудка и легкого [49–51].

Таким образом, в ОНПЛ обнаружены нарушения в генах, вовлеченных в регуляцию транскрипции, биогенез микроРНК, клеточного цитоскелета, адгезии, ремоделирования внеклеточного матрикса, пролиферации, апоптоза, эпителиально-мезенхимального перехода и миграции. Для подтверждения функциональной значимости обнаруженных генов и генетических вариантов необходимы дальнейшие исследования на моделях *in vitro* и *in vivo*.

Заключение

Для ОНПЛ характерны нарушения генов, вовлеченных в регуляцию различных биологических процессов, главным образом клеточной миграции.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Kato S., Alsafar A., Walavalkar V., Hainsworth J., Kurzrock R.* Cancer of Unknown Primary in the Molecular Era. Trends Cancer. 2021; 7(5): 465–77. doi: 10.1016/j.trecan.2020.11.002.

2. *Urban D., Rao A., Bressel M., Lawrence Y.R., Mileshkin L.* Cancer of unknown primary: a population-based analysis of temporal change and socioeconomic disparities. Br J Cancer. 2013; 109(5): 1318–24. doi: 10.1038/bjc.2013.386.

3. *Rassy E., Pavlidis N.* The currently declining incidence of cancer of unknown primary. Cancer Epidemiol. 2019; 61: 139–41. doi: 10.1016/j.canep.2019.06.006.

4. *Fizazi K., Greco F.A., Pavlidis N., Daugaard G., Oien K., Pentheroudakis G.; ESMO Guidelines Committee.* Cancers of unknown primary site: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2015; 26 Suppl 5: 133–8. doi: 10.1093/annonc/mdv305.

5. *Pavlidis N., Khaled H., Gaafar R.* A mini review on cancer of unknown primary site: A clinical puzzle for the oncologists. J Adv Res. 2015; 6(3): 375–82. doi: 10.1016/j.jare.2014.11.007.

6. *Rassy E., Assi T., Pavlidis N.* Exploring the biological hallmarks of cancer of unknown primary: where do we stand today? Br J Cancer. 2020; 122(8): 1124–32. doi: 10.1038/s41416-019-0723-z.

7. *Alshareeda A.T., Al-Sowayan B.S., Alkharji R.R., Aldosari S.M., Al Subayyil A.M., Alghuwainem A.* Cancer of Unknown Primary Site: Real Entity or Misdiagnosed Disease? J Cancer. 2020; 11(13): 3919–31. doi: 10.7150/jca.42880.

8. *Klein C.A.* Parallel progression of primary tumours and metastases. Nat Rev Cancer. 2009; 9(4): 302–12. doi: 10.1038/nrc2627.

9. *El Rassy E., Pavlidis N.* The current evidence for a biomarker-based approach in cancer of unknown primary. Cancer Treat Rev. 2018; 67: 21–8. doi: 10.1016/j.ctrv.2018.04.011.

10. *Denisov E.V., Perelmuter V.M.* A fixed partial epithelial-mesenchymal transition (EMT) triggers carcinogenesis, whereas asymmetrical division of hybrid EMT cells drives cancer progression. Hepatology. 2018; 68(3): 807–10. doi: 10.1002/hep.29784.

11. *Lombardo R., Tosi F., Nocerino A., Bencardino K., Gambi V., Ricotta R., Spina F., Siena S., Sartore-Bianchi A.* The Quest for Improving

Treatment of Cancer of Unknown Primary (CUP) Through Molecularly-Driven Treatments: A Systematic Review. Front Oncol. 2020; 10: 533. doi: 10.3389/fonc.2020.00533.

12. *Ross J.S., Wang K., Gay L., Otto G.A., White E., Iwanik K., Palmer G., Yelensky R., Lipson D.M., Chmielecki J., Erlich R.L., Rankin A.N., Ali S.M., Elvin J.A., Morosini D., Miller V.A., Stephens P.J.* Comprehensive Genomic Profiling of Carcinoma of Unknown Primary Site: New Routes to Targeted Therapies. JAMA Oncol. 2015; 1(1): 40–9. doi: 10.1001/jamaoncol.2014.216. Erratum in: JAMA Oncol. 2019; 5(8): 1232.

13. *Laprovitera N., Riefolo M., Ambrosini E., Klec C., Pichler M., Ferracin M.* Cancer of Unknown Primary: Challenges and Progress in Clinical Management. Cancers (Basel). 2021; 13(3): 451. doi: 10.3390/cancers13030451.

14. *Natoli C., Ramazzotti V., Nappi O., Giacomini P., Palmeri S., Salvatore M., Landriscina M., Zilli M., Natali P.G., Tinari N., Iacobelli S.* Unknown primary tumors. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer. 2011; 1816(1): 13–24. doi: 10.1016/j.bbcan.2011.02.002.

15. *Karavasilis V., Malamou-Mitsi V., Briasoulis E., Tsanou E., Kitsou E., Kalofonos H., Fountzilas G., Fotsis T., Pavlidis N.* Matrix metalloproteinases in carcinoma of unknown primary. Cancer. 2005; 104(10): 2282–7. doi: 10.1002/cncr.21454.

16. *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.

17. *Wang K., Li M., Hakonarson H.* ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. Nucleic Acids Res. 2010; 38(16): 164. doi: 10.1093/nar/gkq603.

18. *Martínez-Jiménez F., Muiños F., Sentís I., Deu-Pons J., Reyes-Salazar I., Arnedo-Pac C., Mularoni L., Pich O., Bonet J., Kranas H., Gonzalez-Perez A., Lopez-Bigas N.* A compendium of mutational cancer driver genes. Nat Rev Cancer. 2020; 20(10): 555–72. doi: 10.1038/s41568-020-0290-x.

19. *Liberzon A., Birger C., Thorvaldsdóttir H., Ghandi M., Mesirov J.P., Tamayo P.* The Molecular Signatures Database (MSigDB) hallmark gene set collection. Cell Syst. 2015; 1(6): 417–25. doi: 10.1016/j.cels.2015.12.004.

20. *Talevich E., Shain A.H., Botton T., Bastian B.C.* CNVkit: Genome-Wide Copy Number Detection and Visualization from Targeted DNA Sequencing. PLoS Comput Biol. 2016; 12(4). doi: 10.1371/journal.pcbi.1004873.

21. *Olshen A.B., Bengtsson H., Neuvial P., Spellman P.T., Olshen R.A., Seshan V.E.* Parent-specific copy number in paired tumor-normal studies using circular binary segmentation. Bioinformatics. 2011; 27(15): 2038–46. doi: 10.1093/bioinformatics/btr329.

22. *Venkatraman E.S., Olshen A.B.* A faster circular binary segmentation algorithm for the analysis of array CGH data. Bioinformatics. 2007; 23(6): 657–63. doi: 10.1093/bioinformatics/btl646.

23. *Varghese A.M., Arora A., Capanu M., Camacho N., Won H.H., Zehir A., Gao J., Chakravarty D., Schultz N., Klimstra D.S., Ladanyi M., Hyman D.M., Solit D.B., Berger M.F., Saltz L.B.* Clinical and molecular characterization of patients with cancer of unknown primary in the modern era. Ann Oncol. 2017; 28(12): 3015–21. doi: 10.1093/annonc/mdx545.

24. *Löffler H., Pfarr N., Kriegsmann M., Endris V., Hielscher T., Lohneis P., Folprecht G., Stenzinger A., Dietel M., Weichert W., Krämer A.* Molecular driver alterations and their clinical relevance in cancer of unknown primary site. Oncotarget. 2016; 7(28): 44322–9. doi: 10.18632/oncotarget.10035.

25. *Gatalica Z., Xiu J., Swensen J., Vranic S.* Comprehensive analysis of cancers of unknown primary for the biomarkers of response to immune checkpoint blockade therapy. Eur J Cancer. 2018; 94: 179–86. doi: 10.1016/j.ejca.2018.02.021.

26. *Wang G.H., Ni K., Gu C., Huang J., Chen J., Wang X.D., Ni Q.* EphA8 inhibits cell apoptosis via AKT signaling and is associated with poor prognosis in breast cancer. Oncol Rep. 2021; 46(2): 183. doi: 10.3892/or.2021.8134.

27. *Wang Y., Zhou N., Li P., Wu H., Wang Q., Gao X., Wang X., Huang J.* EphA8 acts as an oncogene and contributes to poor prognosis in gastric cancer via regulation of ADAM10. J Cell Physiol. 2019; 234(11): 20408–19. doi: 10.1002/jcp.28642.

28. *Liu X., Xu Y., Jin Q., Wang W., Zhang S., Wang X., Zhang Y., Xu X., Huang J.* EphA8 is a prognostic marker for epithelial ovarian cancer. Oncotarget. 2016; 7(15): 20801–9. doi: 10.18632/oncotarget.8018.

29. *Chang Y.H., Lin P.H., Chen C.C., Weng W.H., Yu K.J., Liu C.Y., Hsieh C.H., Chang T.H., Shao I.H., Kan H.C., Chuang C.K., Pang S.T.* Gain of TPPP as a predictor of progression in patients with bladder cancer. Exp Ther Med. 2021; 22(5): 1204. doi: 10.3892/etm.2021.10638.

30. *Xiong D., Li G., Li K., Xu Q., Pan Z., Ding F., Vedell P., Liu P., Cui P., Hua X., Jiang H., Yin Y., Zhu Z., Li X., Zhang B., Ma D., Wang Y., You M.* Exome sequencing identifies MXRA5 as a novel cancer gene frequently mutated in non-small cell lung carcinoma from Chinese patients. Carcinogenesis. 2012; 33(9): 1797–805. doi: 10.1093/carcin/bgs210.

31. *Mao W., Wang K., Sun S., Wu J., Chen M., Geng J., Luo M.* ID2 Inhibits Bladder Cancer Progression and Metastasis via PI3K/AKT Signaling Pathway. Front Cell Dev Biol. 2021; 9: 738364. doi: 10.3389/fcell.2021.738364.

32. *Peng W., Chen J., He R., Tang Y., Jiang J., Li Y.* ID2 inhibits lung adenocarcinoma cell malignant behaviors by inhibiting the activation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. Tissue and Cell. 2022; 8: 101950. doi: https://doi.org/10.1016/j.tice.2022.101950.

33. *Chen J.T., Hsu Y.L., Hsu Y.C., Tseng Y.H., Liu M.H., Weng C.W., Lin C.H., Pan S.H., Chen J.J.W., Wang C.C.* Id2 exerts tumor suppressor properties in lung cancer through its effects on cancer cell invasion and migration. Front Oncol. 2022; 12: 801300. doi: 10.3389/fonc.2022.801300.

34. *Bolik J., Krause F., Stevanovic M., Gandraß M., Thomsen I., Schacht S.S., Rieser E., Müller M., Schumacher N., Fritsch J., Wichert R., Galun E., Bergmann J., Röder C., Schafmayer C., Egberts J.H., Becker-Pauly C., Saftig P., Lucius R., Schneider-Brachert W., Barikbin R., Adam D., Voss M., Hitzl W., Krüger A., Strilic B., Sagi I., Walczak H., Rose-John S., Schmidt-Arras D.* Inhibition of ADAM17 impairs endothelial cell necroptosis and blocks metastasis. J Exp Med. 2022; 219(1). doi: 10.1084/jem.20201039.

35. *Wen H., Li Y., Xi Y., Jiang S., Stratton S., Peng D., Tanaka K., Ren Y., Xia Z., Wu J., Li B., Barton M.C., Li W., Li H., Shi X.* ZMYND11 links histone H3.3K36me3 to transcription elongation and tumour suppression. Nature. 2014; 508(7495): 263–8. doi: 10.1038/nature13045.

36. *Cai S., Sun Z., Sun P.H., Gao X., Ji K., Tian X., Ji J., Hao C., Soliman F., Liu C., Al-Sarireh B., Griffiths P., Hiscox S., Jiang W.G., Ye L.* Reduced kinase D-interacting substrate of 220 kDa (Kidins220) in pancreatic cancer promotes EGFR/ERK signalling and disease progression. Int J Oncol. 2021; 58(6): 34. doi: 10.3892/ijo.2021.5214.

37. *Cui J., Yuan Y., Shanmugam M.K., Anbalagan D., Tan T.Z., Sethi G., Kumar A.P., Lim L.H.K.* MicroRNA-196a promotes renal cancer cell migration and invasion by targeting BRAM1 to regulate SMAD and MAPK signaling pathways. Int J Biol Sci. 2021; 17(15): 4254–70. doi: 10.7150/ijbs.60805.

38. *Plotnik J.P., Hollenhorst P.C.* Interaction with ZMYND11 mediates opposing roles of Ras-responsive transcription factors ETS1 and ETS2. Nucleic Acids Res. 2017; 45(8): 4452–62. doi: 10.1093/nar/gkx039.

39. *Zhang Y., Liu Q., Yang S., Liao Q.* Knockdown of LRRN1 inhibits malignant phenotypes through the regulation of HIF-1α/Notch pathway in pancreatic ductal adenocarcinoma. Mol Ther Oncolytics. 2021; 23: 51–64. doi: 10.1016/j.omto.2021.08.012.

40. *Liu B., Zhang Y., Fan Y., Wang S., Li Z., Deng M., Li C., Wang J., Ma R., Wang X., Wang Y., Xu L., Hou K., Che X., Liu Y., Qu X.* Leucine-rich repeat neuronal protein-1 suppresses apoptosis of gastric cancer cells through regulation of Fas/FasL. Cancer Sci. 2019; 110(7): 2145–55. doi: 10.1111/cas.14042.

41. *Ni J., Wang J., Fu Y., Yan C., Zhu M., Jiang Y., Chen J., Ding Y., Fan X., Li G., Jin G.* Functional genetic variants in centrosome-related genes CEP72 and YWHAG confer susceptibility to gastric cancer. Arch Toxicol. 2020; 94(8): 2861–72. doi: 10.1007/s00204-020-02782-7.

42. *Li X., Dong P., Wei W., Jiang L., Guo S., Huang C., Liu Z., Chen J., Zhou F., Xie D., Liu Z.* Overexpression of CEP72 Promotes Bladder Urothelial Carcinoma Cell Aggressiveness via Epigenetic CREB-Mediated Induction of SERPINE1. Am J Pathol. 2019; 189(6): 1284–97. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.02.014. Erratum in: Am J Pathol. 2021; 191(6): 1151–2.

43. *Chen Q., Yang C., Chen L., Zhang J.J., Ge W.L., Yuan H., Meng L.D., Huang X.M., Shen P., Miao Y., Jiang K.R.* YY1 targets tubulin polymerisation-promoting protein to inhibit migration, invasion and angiogenesis in pancreatic cancer via p38/MAPK and PI3K/AKT pathways. Br J Cancer. 2019; 121(11): 912–21. doi: 10.1038/s41416-019-0604-5.

44. *Chen C., Aihemaiti M., Zhang X., Qu H., Jiao J., Sun Q., Yu W.* FOXD4 induces tumor progression in colorectal cancer by regulation of the SNAI3/CDH1 axis. Cancer Biol Ther. 2018; 19(11): 1065–71. doi: 10.1080/15384047.2018.1480291.

45. *Ma C.G., Xu W.H., Xu Y., Wang J., Liu W.R., Cao D.L., Wang H.K., Shi G.H., Zhu Y.P., Qu Y.Y., Zhang H.L., Ye D.W.* Identification and validation of novel metastasis-related signatures of clear cell renal cell carcinoma using gene expression databases. Am J Transl Res. 2020; 12(8): 4108–26.

46. *He Y., Chen X., Liu H., Xiao H., Kwapong W.R., Mei J.* Matrix-remodeling associated 5 as a novel tissue biomarker predicts poor prognosis in non-small cell lung cancers. Cancer Biomark. 2015; 15(5): 645–51. doi: 10.3233/CBM-150504.

47. *Yuan Y., Chen J., Wang J., Xu M., Zhang Y., Sun P., Liang L.* Development and Clinical Validation of a Novel 4-Gene Prognostic Signature Predicting Survival in Colorectal Cancer. Front Oncol. 2020; 10: 595. doi: 10.3389/fonc.2020.00595.

48. *Wang G.H., Yao L., Xu H.W., Tang W.T., Fu J.H., Hu X.F., Cui L., Xu X.M.* Identification of MXRA5 as a novel biomarker in colorectal cancer. Oncol Lett. 2013; 5(2): 544–8. doi: 10.3892/ol.2012.1038.

49. *Liu J., Liu J., Wei M., He Y., Liao B., Liao G., Li H., Huang J.* Genetic variants in the microRNA machinery gene GEMIN4 are associated with risk of prostate cancer: a case-control study of the Chinese Han population. DNA Cell Biol. 2012; 31(7): 1296–302. doi: 10.1089/dna.2011.1600.

50. *Song X., Zhong H., Wu Q., Wang M., Zhou J., Zhou Y., Lu X., Ying B.* Association between SNPs in microRNA machinery genes and gastric cancer susceptibility, invasion, and metastasis in Chinese Han population. Oncotarget. 2017 Sep; 8(49): 86435–46. doi: 10.18632/oncotarget.21199.

51. *Fang X., Yin Z., Li X., Xia L., Zhou B.* Polymorphisms in GEMIN4 and AGO1 Genes Are Associated with the Risk of Lung Cancer: A Case-Control Study in Chinese Female Non-Smokers. Int J Environ Res Public Health. 2016; 13(10): 939. doi: 10.3390/ijerph13100939.

Поступила/Received 09.08.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 11.11.2022
Принята к публикации/Accepted 28.11.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Щеголева Анастасия Алексеевна, младший научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: shegolmay@gmail.com. SPIN-код: 5523-8156. Researcher ID (WOS): AAG-8916-2020. Author ID (Scopus): 57207985399. ORCID: 0000-0002-2633-9884.

Третьякова Мария Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия)**,** SPIN-код: 5207-8330. Researcher ID (WOS): AAL-6195-2021. Author ID (Scopus): 56967923800. ORCID: 0000-0001-7385-6609.

Воробьев Ростислав Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): AAA-4397-2022. Author ID (Scopus): 57204941220. ORCID: 0000-0002-5705-8479.

Ананина Ольга Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3697-1111. Researcher ID (WOS): D-8708-2012. Author ID (Scopus): 56366338100. ORCID: 0000-0001-8002-3189.

Бокова Устинья Анатольевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3546-0527. Researcher ID (WOS): AAX-9705-2021. Author ID (Scopus): 57226147765. ORCID: 0000-0003-2179-5685.

Денисов Евгений Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия), SPIN-код: 9498-5797. Researcher ID (WOS): Q-3820-2016. Author ID (Scopus): 26653961800. ORCID: 0000-0003-2923-9755.

ВКЛАД АВТОРОВ

Щеголева Анастасия Алексеевна: проведение инструментальных исследований, анализ и систематизация экспериментальных данных, подбор и анализ литературных источников, написание черновика статьи, написание итогового варианта статьи.
Третьякова Мария Сергеевна: подбор и анализ литературных источников, написание черновика статьи.
Воробьев Ростислав Сергеевич: анализ и систематизация экспериментальных данных.
Ананина Ольга Александровна: сбор материала и клинико-патологических характеристик пациентов.
Бокова Устинья Анатольевна: подбор и анализ литературных источников, написание черновика статьи.
Денисов Евгений Владимирович: критический пересмотр рукописи, редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-515-16002) и при использовании оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Anastasia A. Schegoleva, 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: shegolmay@gmail.com. Researcher ID (WOS): AAG-8916-2020. Author ID (Scopus): 57207985399. ORCID: 0000-0002-2633-9884.

Maria S. Tretyakova, Junior 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): AAL-6195-2021. Author ID (Scopus): 56967923800. ORCID: 0000-0001-7385-6609.

Rostislav S. Vorobyov, Junior 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): AAA-4397-2022. Author ID (Scopus): 57204941220. ORCID: 0000-0002-5705-8479.
Olga A. Ananina, MD, PhD, Senior Researcher of the Epidemiology Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-8708-2012. Author ID (Scopus): 56366338100. ORCID: 0000-0001-8002-3189.
Ustinia A. Bokova, 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): AAX-9705-2021. Author ID (Scopus): 57226147765. ORCID: 0000-0003-2179-5685.
Evgeny V. Denisov, PhD, Head of the Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): Q-3820-2016. Author ID (Scopus): 26653961800. ORCID: 0000-0003-2923-9755.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Anastasia A. Schegoleva: instrumental research, data collection and analysis, drafting of the manuscript, writing the final version of the manuscript.
Maria S. Tretyakova: data collection and analysis, drafting of the manuscript.
Rostislav S. Vorobyov: analysis and systematization of experimental data.
Olga A. Ananina: clinicopathological data collection and analysis.
Ustinia A. Bokova: data collection and analysis, drafting of the manuscript.
Evgeny V. Denisov: critical revision of manuscript for important intellectual content, editing of the final version of the article with the introduction of valuable intellectual content.

Funding

The study was supported by RFBR (project #18-515-16002) and was carried out on The Core Facility "Medical Genomics" (Tomsk NRMC).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-47-58
УДК: 616-006.448-08:576

Для цитирования: *Тыринова Т.В., Баторов Е.В., Аристова Т.А., Ушакова Г.Ю., Сизикова С.А., Денисова В.В., Останин А.А., Черных Е.Р.* Супрессорные клетки миелоидного происхождения у больных множественной миеломой на этапе иммунной реконституции и после высокодозной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 47–58. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-47-58
For citation: *Tyrinova T.V., Batorov E.V., Aristova T.A., Ushakova G.Yu., Sizikova S.A., Denisova V.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R.* Myeloid-derived suppressor cells in multiple myeloma patients at the immune recovery and after high-dose chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 47–58. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-47-58

СУПРЕССОРНЫЕ КЛЕТКИ МИЕЛОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ НА ЭТАПЕ ИММУННОЙ РЕКОНСТИТУЦИИ И ПОСЛЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Т.В. Тыринова, Е.В. Баторов, Т.А. Аристова, Г.Ю. Ушакова, С.А. Сизикова, В.В. Денисова, А.А. Останин, Е.Р. Черных

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14. E-mail: tyrinova@bk.ru

Аннотация

Введение. Супрессорные клетки миелоидного происхождения (МС) играют важную роль в ограничении иммунного ответа и ассоциируются с неблагоприятным прогнозом при онкопатологии. Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при проведении высокодозной химиотерапии (ВХТ) и трансплантации аутологичных ГСК (ауто-ТГСК) у больных множественной миеломой (ММ) сопровождается существенным возрастанием субпопуляций МС в периферической крови и продукте афереза. Однако изменение содержания этих клеток в посттрансплантационном периоде и их роль на этапе иммунной реконституции остаются неисследованными. **Цель исследования** – изучить динамику содержания циркулирующих МС, экспрессию супрессорной молекулы аргиназа-1 (Arg1) у пациентов с ММ в первые 12 мес после ВХТ и ауто-ТГСК и зависимость между содержанием МС и исходами трансплантации. **Материал и методы.** В исследование включены 44 пациента с ММ, которым проведена ВХТ с ауто-ТГСК. Методом проточной цитометрии в периферической крови пациентов оценивали относительное содержание гранулоцитарных МС (Г-МС), моноцитарных МС (М-МС) и МС ранних стадий дифференцировки (Р-МС), а также экспрессию Arg1 в каждой из субпопуляций МС. **Результаты.** На момент выхода из лейкопении после ауто-ТГСК (день +12 – +16, лейкоциты >1×10^9/л) возрастали доля М-МС (p_U=0,038), а также относительное (p_U=0,003) и абсолютное (p_U<0,0001) количество Г-МС, снижаясь через 6 мес до предтрансплантационных значений (p_U=0,007, p_U=0,024 и p_U=0,02 соответственно) и сохраняясь на этом же уровне на этапе 12-месячного срока наблюдения. Абсолютное количество Р-МС к моменту выхода из лейкопении транзиторно снижалось (p_U=0,004 *vs* перед ВХТ), постепенно восстанавливаясь к 12 мес (p_U=0,032 *vs* день +12 – +16). Сохранение ремиссии в течение 12 мес при Г-МС<0,17 % на момент выхода из лейкопении выявлялось у 67 ± 11 %, при Г-МС>0,17 % – у 94 ± 6 % пациентов (p=0,049). В течение 12-месячного посттрансплантационного периода увеличивалось содержание М-МС, экспрессирующих Arg1, с тенденцией к более низким значениям на этапе выхода из лейкопении у пациентов с ранним рецидивом ММ (p_U=0,09). **Заключение.** Сопряженность раннего рецидива ММ после ауто-ТГСК с более низким содержанием Г-МС и меньшим количеством $Arg1^+$ М-МС на этапе выхода из лейкопении позволяет предполагать участие МС в ограничении гомеостатической пролиферации в качестве условия более эффективной иммунной реконституции.

Ключевые слова: множественная миелома, трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, выживаемость до развития рецидива, супрессорные клетки миелоидного происхождения, супрессорные молекулы, аргиназа-1, Г-КСФ.

Тыринова Тамара Викторовна, tyrinova@bk.ru

MYELOID-DERIVED SUPPRESSOR CELLS IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS AT THE IMMUNE RECOVERY AND AFTER HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY AND HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

T.V. Tyrinova, E.V. Batorov, T.A. Aristova, G.Yu. Ushakova, S.A. Sizikova, V.V. Denisova, A.A. Ostanin, E.R. Chernykh

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia
14, Yadrintsevskaya St., 630099, Novosibirsk, Russia. E-mail: tyrinova@bk.ru

Abstract

Introduction. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) play an important role in restriction of the immune response and are associated with a poor prognosis in cancer. Mobilization of hematopoietic stem cells (HSCs) before high-dose chemotherapy (HCT) with autologous HSC transplantation (auto-HSCT) is accompanied by a significant increase in MDSC counts in peripheral blood and apheresis product of multiple myeloma (MM) patients. However, quantitative changes of these cells at the post-transplant and their role at the immune recovery remain unexplored. **The study was aimed to** analyze the dynamics of circulating MDSC counts and the expression of suppressor molecule arginase-1 in patients with MM in the first 12 months after HCT and auto-HSCT and evaluate association between MDSCs and transplantation outcomes. **Material and Methods.** The study included 44 MM patients who underwent HCT and auto-HSCT. The relative number of granulocytic MDSCs (G-MDSCs), monocytic MDSCs (M-MDSCs), and early-stage MDSCs (E-MDSCs), as well as the expression of arginase-1 in each of MDSC subsets was evaluated by flow cytometry in patient peripheral blood samples. **Results.** At the engraftment (day +12 – +16, leukocytes >1×10^9/l), M-MDSC relative count was increased (p_U=0.038), as well as the relative (p_U=0.003) and absolute (p_U<0.0001) counts of G-MDSCs, decreasing after 6 months down to pre-transplant values (p_U=0.007, p_U=0.024 and p_U=0.02, respectively) and remaining at the same level at the 12-month follow-up period. The absolute count of E-MDSCs by the time of the engraftment decreased transiently (p_U=0.004 *vs* before HCT), gradually recovering by 12-month follow-up (p_U=0.032 *vs* day +12 – +16). The remission within 12 months in the group with G-MDSCs <0.17 % at the engraftment was observed in 67 ± 11 % of patients, with G-MDSCs >0.17 % – in 94 ± 6 % of patients (p=0.049). During the 12-month post-transplant, the number of M-MDSCs expressing arginase-1 has been increasing, with a tendency to lower values at the engraftment in patients with early MM relapse (p_U=0.09). **Conclusion.** The association of early MM relapse after auto-HSCT with the lower count of G-MDSCs and the lower count of arginase-1$^+$ M-MDSCs at the engraftment suggests that MDSCs is involved in the restriction of homeostatic proliferation as a factor for more effective immune recovery.

Key words: multiple myeloma, autologous hematopoietic stem cell transplantation, time to disease progression, myeloid-derived suppressor cells, suppressor molecules, arginase-1; G-CSF.

Введение

Множественная миелома (ММ) представляет собой В-клеточную опухоль с экспансией моноклональных плазматических клеток в костном мозге и аккумуляцией дисфункциональных моноклональных иммуноглобулинов в периферической крови. ММ составляет примерно 1 % всех опухолей и, несмотря на достижения в клинической онкологии, остается одной из инкурабельных злокачественных опухолей [1].

Развитие и рост опухоли связаны с различными механизмами, которые позволяют клеткам ММ ускользать от иммунного надзора и создают оптимальные условия для опухолевой прогрессии [2]. Исследования последних лет демонстрируют, что важную роль в подавлении системного и локального противоопухолевого иммунного ответа играют супрессорные клетки миелоидного происхождения (МС), представляющие собой гетерогенную популяцию незрелых клеток. У человека описаны 3 основные субпопуляции МС: 1) моноцитарные МС (М-МС), клетки с фенотипом и морфологией, схожей с моноцитами, но отличающиеся низкой экспрессией молекулы MHC II класса (CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$) [3]; 2) гранулоцитарные, или полиморфноядерные МС (Г-МС), фенотипически схожие с нейтрофилами (CD11b$^+$CD33$^+$CD14$^-$CD15$^+$(CD66b$^+$) HLA-DR$^{low/-}$), но характеризующиеся низкой плотностью и выраженной супрессорной активностью в отношении Т-клеток и 3) МС ранних этапов дифференцировки (Р-МС) с фенотипом Lin$^-$(CD3, CD14, CD15, CD19, CD56)HLA-DR$^-$CD33$^+$, функциональные особенности которых пока мало изучены [4].

За счет отличного от зрелых миелоидных клеток профиля экспрессии генов и белков МС проявляют ингибирующее действие в отношении

клеток врожденного и приобретенного иммунитета *in vitro* и *in vivo* с наиболее выраженной супрессорной активностью в отношении Т-клеток [5]. Ингибирующий эффект МС обусловлен деплецией в клеточном микроокружении L-аргинина и L-триптофана (вследствие экспрессии аргиназы-1 (Arg1) и индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) соответственно), генерацией свободных радикалов кислорода, секрецией TGF-β и IL-10 и индукцией регуляторных Т-клеток (Treг) [6, 7]. При этом каждая из субпопуляций МС может использовать различные механизмы ингибирования Т-клеточного ответа [5].

Согласно недавним исследованиям, МС вовлечены в патогенез и прогрессию ММ [8–10]. Так, Г-МС поддерживают стволовые свойства опухолевых клеток ММ и способствуют росту опухоли в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo* [11]. Проведенные нами исследования у пациентов с ММ также свидетельствуют о повышенном содержании в циркуляции Г-МС и М-МС и сопряженности Г-МС с предлеченностью пациентов [12]. Кроме того, нами показано, что Г-КСФ-индуцированная мобилизация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) у больных ММ, получающих высокодозную химиотерапию (ВХТ) с трансплантацией аутологичных ГСК (ауто-ТГСК), приводит к резкому возрастанию всех субпопуляций МС в периферической крови и, соответственно, увеличению их доли в продукте лейкофереза. Каковы динамика содержания МС и их роль на этапах восстановления кроветворения и реконституции иммунной системы у больных МС, остается неясным. С одной стороны, МС могут снижать эффективность иммунной реконституции. С другой стороны, следует учитывать, что восстановление Т-клеток в условиях глубокой лимфопении происходит за счет гомеостатической пролиферации Т-лимфоцитов, что неизбежно приводит к сужению репертуаров Т-клеточных рецепторов и риску рецидива. Соответственно, ограничение цитокин-индуцированной экспансии трансплантируемых зрелых Т-клеток под действием МС может позитивно сказываться на исходах ТГСК. Также открытым остается вопрос о функциональном потенциале МС на фоне патологии и проводимого лечения.

Целью исследования явились изучение динамики содержания циркулирующих МС, оценка супрессорного потенциала МС (на основе анализа экспрессии молекулы Arg1) у пациентов с ММ в первый год после проведения ВХТ и ауто-ТГСК, а также оценка зависимости между содержанием МС и исходами трансплантации в первые 12 мес.

Материал и методы

В исследование включены 44 пациента с ММ в возрасте от 47 до 59 лет (Me – 54 года), из них 26 женщин и 18 мужчин, которым в период с августа 2020 г. по март 2022 г. проведена ВХТ с ауто-ТГСК (табл. 1). У 16 пациентов была диагностирована II стадия ММ, у 28 пациентов – III стадия ММ (классификация Durie–Salmon). У большей части пациентов (21/44) парапротеин в сыворотке крови был представлен иммуноглобулином класса G κ вариант, у 7 пациентов – IgG λ вариант, у 4 пациентов – IgA κ вариант и у 2 пациентов – IgA λ вариант, у 5 пациентов – легкие цепи иммуноглобулинов обнаруживались в моче в виде белка Бенс–Джонса, у 5 пациентов данные отсутствовали. Все исследования проводились после получения письменного информированного добровольного согласия.

Для оценки количественного содержания МС мононуклеарные клетки (МНК) из периферической крови (8–10 мл) выделяли стандартно методом центрифугирования цельной гепаринизированной венозной крови в градиенте плотности фиколлаверографина (p=1,077). При необходимости проводили лизис эритроцитов раствором VersaLyse («Beckman Coulter», Франция) в соответствии с инструкцией.

Методом проточной цитометрии в МНК оценивали относительное содержание Г-МС ($Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^+$), М-МС ($CD14^+HLA\text{-}DR^{low/-}$) и Р-МС ($Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^-$), используя анти-Lineage Cocktail 1 (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD56; FITC, «BD Biosciences», США), анти-CD14 (FITC, «BD Biosciences»), анти-CD33 (PerCP-Cy5.5, «BD Biosciences»), анти-CD66b (APC, «BioLegend», США), анти-HLA-DR (APC-Cy7, «BD Biosciences»; PerCP «BD Biosciences») моноклональные антитела. В качестве негативного контроля использовали изотипические антитела, конъюгированные с аналогичными флуорохромами. Исследование проводили на проточном цитометре BD FACSCanto™ II («BD Biosciences») с использованием параметров прямого и бокового светорассеяния, при этом в область гейтирования включали регион синглетных МНК (лимфоциты и моноциты). На рис. 1 представлен порядок гейтирования для анализа МС. Кратко, для оценки количества Г-МС и Р-МС выделяли синглетные клетки среди всех МНК (R1) по прямому светорассеянию (FSC-H и FSC-A), в котором исследовали популяцию клеток, не несущих линейные маркеры и молекулу MHC II класса HLA-DR. Затем в области $Lin^-HLA\text{-}DR^-$ клеток оценивали распределение клеток по экспрессии CD33 и CD66b молекул. Регион $CD33^+CD66b^+$ клеток относили к Г-МС, регион $CD33^+CD66b^-$ клеток – к Р-МС. Относительное содержание Г-МС и Р-МС вычислялось как доля (%) клеток с фенотипом $Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^+$ и $Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^-$, соответственно, среди МНК. Для оценки количества М-МС из региона синглетных МНК (R1) анализировали распределение CD14 и HLA-DR молекул и клетки с фенотипом $CD14^+HLA\text{-}DR^{low/-}$ относили к М-МС. Анализ проводили после накопления не менее 10 000 событий в регионе $Lin^-HLA\text{-}DR^-$ клеток,

Таблица 1/Table 1

Характеристика пациентов

Patient characteristics

Параметры/Characteristics	Число больных/ Number of patients (n=44)
Пол/Gender	
Муж/Male	18 (41 %)
Жен/Female	26 (59 %)
Возраст, лет/Age, years; Me (min-max)	54 (47–59)
М-протеин/M-protein	
IgG, kappa	21 (48 %)
IgG, lambda	7 (16 %)
IgA, kappa	4 (9 %)
IgA, lambda	2 (5 %)
Белок Бенс-Джонса/Bence-Jones protein	5 (11 %)
Нет данных/no data	5 (11 %)
Стадии ММ/Stage MM (B. Durie, S. Salmon)	
II	16 (36 %)
III	28 (64 %)
Почечная функция/Renal function	
Нормальная (группа А)/Normal (A group)	40 (91 %)
Сниженная (группа В)/Low (B group)	4 (9 %)
Индукционная противоопухолевая терапия/Pre-transplant induction therapy	
1-я линия (Бортезомиб-содержащий режим, PAD, VCD)/ 1st line (Bortezomib-based, PAD, VCD)	32 (73 %)
2-я линия терапии (Леналидомид-содержащий режим, VRD, RD, RCD, монотерапия)/ 2 lines (Lenalidomide-based, VRD, RD, RCD, monotherapy)	12 (27 %)
Ответ на индукционную терапию/Response to induction therapy	
ПО/ОХЧО CR/VGPR	18 (41 %)
ЧО/PR	26 (59 %)
Режим кондиционирования/Melphalane conditioning	
Мелфалан/Melphalane, 200 mg/m^2	40 (91 %)
Мелфалан/Melphalane, 140 mg/m^2	4 (9 %)

Примечание: ПО – полный ответ, ОХЧО – очень хороший частичный ответ, ЧО – частичный ответ.

Note: CR – complete response. VGPR – very good partial response. PR – partial response.

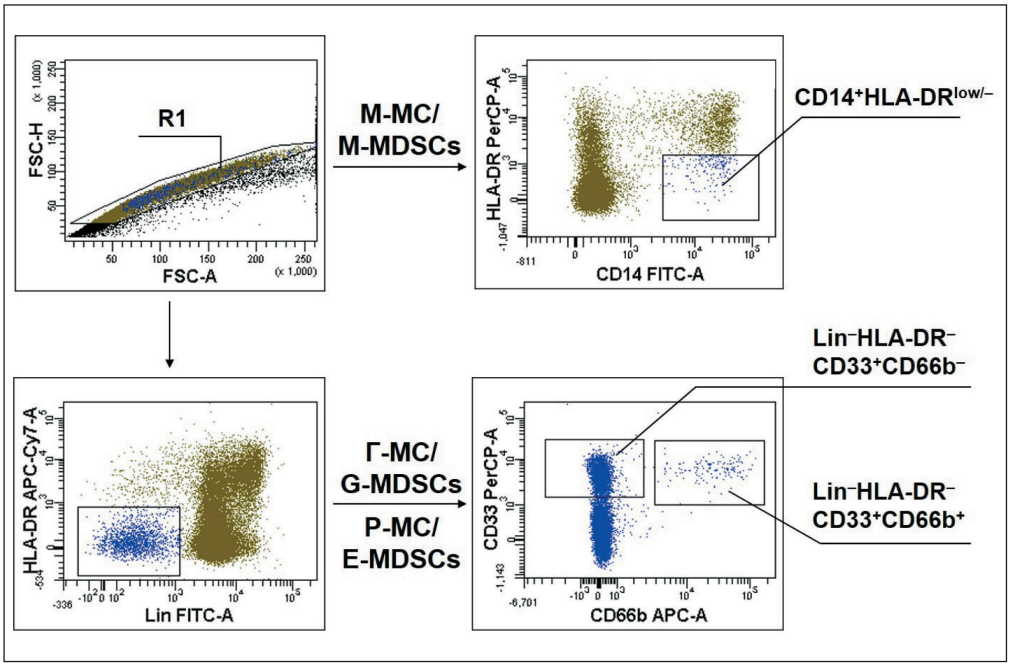


Рис. 1. Стратегия гейтирования субпопуляций МС среди МНК периферической крови. Представлены данные репрезентативного пациента с множественной миеломой

Fig. 1. Gating strategy for the identification of MDSC subsets among the peripheral blood mononuclear cells. Data from a representative multiple myeloma patient are presented

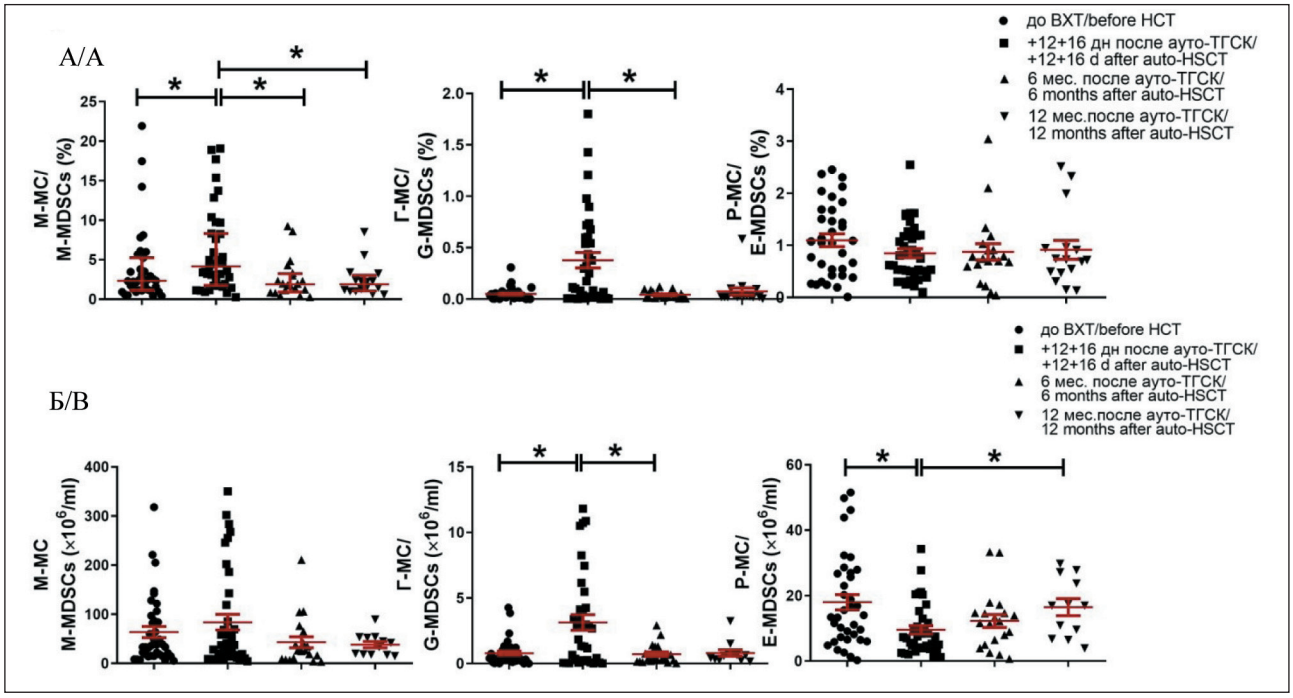


Рис. 2. Миелоидные супрессорные клетки в периферической крови пациентов с множественной миеломой с ауто-ТГСК. В виде индивидуальных значений, медианы и диапазона интерквартильных значений (IQR) представлены данные об относительном (А) и абсолютном количестве (Б) моноцитарных (М-МС), гранулоцитарных (Г-МС) и МС ранних стадий дифференцировки (Р-МС) среди МНК периферической крови пациентов с ММ перед проведением ВХТ и ауто-ТГСК (до ВХТ, n=44), на этапе выхода из лейкопении (+12 +16 день после ауто-ТГСК, n=44), а также через 6 (n=21) и 12 мес (n=17) после ауто-ТГСК.
Примечание: * – p_U, значимость различий между указанными группами. Ось X – точки наблюдения; ось Y – % клеток для А и количество клеток ×10⁶/ml для Б

Fig. 2. Myeloid derived suppressor cells in peripheral blood of multiple myeloma patients with auto-HSCT. Relative (A) and absolute (B) counts of monocytic (M-MDSCs), granulocytic (G-MDSCs) and early-stage MDSCs (E-MDSCs) in patient peripheral blood samples are shown as individual values, median and interquartile range (IQR) before HCT and auto-HSCT (before HCT, n=44), at the engraftment (+12 +16 d after auto-HSCT, n=44), after 6 (n=21) and 12 months (n=17) follwing auto-HSCT.
Note: * – p_U value<0.05. X axe – points of the study, Y axe – cell percentage (%, A) and cell count×10⁶/ml (B)

или – при оценке М-МС – не менее 10 000 событий в регионе $CD14^+$ $HLA\text{-}DR^{low/-}$ клеток.

Для оценки внутриклеточной экспрессии Arg1 после инкубирования МНК с флуорохром-конъюгированными моноклональными антителами к Г-МС, Р-МС, М-МС проводили процедуру пермеабилизации клеток, используя коммерческий набор растворов для фиксации/пермеабилизации Transcription Factor Buffer Set (Becton Dickinson, США) с последующим инкубированием с PE-конъюгированными анти-Arg1 (BD PharMingen, США) моноклональными антителами. Относительное количество МС, экспрессирующих Arg1, оценивали среди $Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^+$, $Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^-$ клеток и $CD14^+HLA\text{-}DR^{low/-}$ клеток.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft) и GraphPad Prism 8. Данные в тексте и на рисунках представлены в виде медианы (Me) и значений интерквартильного диапазона (IQR; LQ – UQ). Для выявления значимых различий использовали непараметрические критерии (U-критерий Манна–Уитни). Анализ выживаемости проведен по методу Каплана–Мейера, для оценки значимости использован log-rank-критерий. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты

На момент ауто-ТГСК пациенты имели статус ECOG 0–1, из них 4 пациента характеризовались нарушением функции почек, ХБП С3 (умеренное снижение скорости клубочковой фильтрации). На момент трансплантации ГСК полный или очень хороший частичный ответ достигнут у 18, частичный ответ – у 26 больных. Время от начала терапии до трансплантации в среднем составило 12,5 мес, при этом у 2 пациентов ауто-ТГСК была проведена в срок до 6 мес от начала терапии, у 29 пациентов – в период от 6 до 12 мес, у 13 пациентов от начала лечения до трансплантации прошло от 12 до 18 мес.

Количество линий предшествующей противоопухолевой терапии до достижения ответа варьировало от 1 до 2. До этапа трансплантации у 32 пациентов ответ достигнут после 1-й линии терапии, у 12 – после 2-й линии. Первую линию индукции ремиссии проводили бортезомиб-содержащими режимами (PAD, VCD. VD). При рецидиве или резистентности к программам 1-й

линии в качестве терапии 2-й линии использовали программы с леналидомидом (VRD, RD, RCD, монотерапия леналидомидом). Мобилизацию ГСК проводили с использованием циклофосфамида 2–4 г/м^2 + Г-КСФ (5 мкг/кг/сут, 4–6 дней). Процедуру афереза проводили на 4, 5, 6-й дни введения Г-КСФ на сепараторах клеток крови ASTEC 204 (Fresenius) и Spectra LRS 07 (COBE) до получения ≥2,0×10^6 CD34$^+$CD45$^+$ клеток/кг (1–3 сеанса). Медиана количества CD34$^+$CD45$^+$ гемопоэтических стволовых клеток составляла 7,3×10^6/кг ((2,3–12,3)×10^6/кг). Ауто-ТГСК проводили с режимом кондиционирования мелфалан 200 мг/м^2 у 40 пациентов и 140 мг/м^2 – у 4 пациентов с нарушением функции почек. Восстановление кроветворения (лейкоциты в ПК выше 1×10^9/л, тромбоциты выше 50×10^9/л) происходило на день (+12 – +16) после трансплантации ГСК. Продолжительность нейтропении (нейтрофилы<0,5×10^9/л) составила от 6 до 12 дней.

Исследование относительного и абсолютного содержания субпопуляций МС (гранулоцитарных, моноцитарных и ранних предшественников) в периферической крови больных ММ было проведено на следующих контрольных точках: 1) перед проведением высокодозной химиотерапии и ауто-ТГСК; 2) на этапе выхода из лейкопении (в дни +12 – +16 после трансплантации при количестве лейкоцитов в ПК более 1×10^9/л); 3) через 6 мес после трансплантации ГСК и 4) через 12 мес после трансплантации ГСК. В первые 12 мес посттрансплантационного периода у 8 из 44 пациентов зарегистрирован рецидив ММ по критериям IMWG (International Myeloma Working Group), у 29 – сохранялся полный или частичный ответ, 5 – еще не достигли контрольной точки, 2 больных были недоступны для наблюдения по техническим причинам. Исследование содержания субпопуляций МС на каждой контрольной точке проводили в случае отсутствия рецидива ММ.

После проведения ауто-ТГСК к моменту восстановления количества лейкоцитов значимо возрастало относительное количество циркулирующих М-МС (p_U=0,038) и Г-МС (p_U=0,003) (рис. 2А). Несмотря на сниженное количество МНК после ВХТ и последующей ауто-ТГСК (по сравнению с предтрансплантационным периодом p_U<0,0001), абсолютное количество Г-МС также существенно повышалось (p_U=0,005). Взаимосвязи между содержанием М-МС в продукте сепарации и в периферической крови после трансплантации не обнаружено. Другие субпопуляции МС в сепарате не определяли в связи с негативным влиянием криоконсервации на жизнеспособность и функциональные свойства Г-МС и Р-МС [13].

Через 6 мес после ауто-ТГСК доля циркулирующих М-МС и Г-МС значимо снижалась (p_U=0,007 и p_U=0,024 соответственно) до предтрансплантационных значений и сохранялась на этом же уровне на этапе 12-месячного наблюдения после ауто-ТГСК. При этом относительное количество М-МС через 12 мес после ауто-ТГСК прямо коррелировало с количеством М-МС в продукте сепарата (R_S=0,874, p=0,0005, n=8).

Для абсолютного содержания М-МС и Г-МС регистрировались аналогичные изменения в посттрансплантационном периоде (рис. 2Б), однако значимые изменения были выявлены только для Г-МС. Через 6 мес после трансплантации у пациентов на фоне восстановления абсолютного количества МНК абсолютное количество Г-МС снижалось (p_U=0,02) и в последующие 6 мес оставалось без значимых изменений.

Относительное и абсолютное количество Р-МС на момент восстановления количества лейкоцитов после ВХТ и ауто-ТГСК, наоборот, было снижено по сравнению с аналогичными показателями перед ВХТ и трансплантацией ГСК, причем статистически значимо для абсолютных значений (p_U=0,004). При этом доля циркулирующих Р-МС среди МНК оставалась на том же уровне в течение всего 12-месячного посттрансплантационного периода, тогда как абсолютное содержание Р-МС на фоне возрастания абсолютного количества МНК также увеличивалось и было значимо выше через 12 мес после ауто-ТГСК по сравнению с периодом восстановления количества лейкоцитов (*vs* (+12 – +16) день после ауто-ТГСК p_U=0,032 (рис. 2Б).

Для того чтобы оценить значимость МС с точки зрения ответа на терапию (ВХТ и ауто-ТГСК), мы провели сравнительный анализ количества трех субпопуляций МС у пациентов с сохранным ответом (полным или частичным) и пациентов с ранним рецидивом ММ (в первые 12 мес посттрансплантационного периода). Изменения в количественном содержании МС перед ВХТ и после ауто-ТГСК (+12 – +16 день) в целом были схожи в обеих группах пациентов (табл. 2). При этом на этапе выхода из лейкопении после ауто-ТГСК пациенты с рецидивом характеризовались тенденцией к почти троекратно меньшему содержанию Г-МС (p_U=0,15) по сравнению с пациентами с полным или частичным ответом после ауто-ТГСК.

Анализ безрецидивной выживаемости в зависимости от медианного значения относительного количества Г-МС на момент восстановления количества лейкоцитов (Me – 0,17 %) показал, что у пациентов с содержанием Г-МС>0,17 % доля больных без раннего рецидива составила 94 ± 6 %, тогда как при значениях Г-МС≤0,17 % этот показатель был значимо ниже – 67 ± 11 % (p=0,049; рис. 3А) при нижнем квартиле безрецидивной выживаемости 7,5 мес. В группе с Г-МС>Me нижний квартиль не был достигнут. Для популяций М-МС и Р-МС таких значимых закономерностей не обнаружено (рис. 3Б, В).

Наряду с количеством МС мы также оценили супрессорный потенциал субпопуляций МС

Таблица 2/Table 2

Содержание субпопуляций МС в периферической крови пациентов ММ с ауто-ТГСК в зависимости от ответа

MDSC subpopulation in peripheral blood in MM patients regarding with response after auto-HSCT

	Перед ВХТ/Before HCT	После ауто-ТГСК (+12+16 день)/ After +12+16 d post-transplant	P_w
Пациенты с полным или частичным ответом на ауто-ТГСК в первые 12 мес после ауто-ТГСК/ Patients with complete or partial response at 12 month post-transplant follow-up (n=29)			
M-MC/M-MDSCs (%)	2,42 (1,24–5,23)	4,50 (3,20–8,25)	p=0,15
Г-МС/G-MDSCs (%)	0,02 (0,01–0,06)	0,27 (0,02–0,71)	p=0,006
P-MC/E-MDSCs (%)	1,05 (0,38–1,47)	0,78 (0,46–1,19)	p=0,33
M-MC/M-MDSCs (×10⁶/ml)	49,5 (31,1–128,1)	58,2 (37,1–119)	p=0,81
Г-МС/G-MDSCs (×10⁶/ml)	0,76 (0,14–1,21)	2,3 (0,18–4,13)	p=0,03
P-MC/E-MDSCs (×10⁶/ml)	15,6 (7,3–28,6)	8,5 (5,3–17,3)	p=0,31
Пациенты с рецидивом ММ в первые 12 мес после ауто-ТГСК/ Patients with MM relapse at 12 month post-transplant follow-up (n=8)			
M-MC/M-MDSCs (%)	2,80 (1,12–6,57)	5,57 (0,98–16,56)	p=0,12
Г-МС/G-MDSCs (%)	0,03 (0,02–0,06)	0,08 (0,005–0,10)	p=0,50
P-MC/E-MDSCs (%)	1,15 (0,60–1,91)	0,43 (0,30–0,87)	p=0,50
M-MC/M-MDSCs (×10⁶/ml)	73,2 (36,3–83,9)	255 (246–268)	p=0,46
Г-МС/G-MDSCs (×10⁶/ml)	0,41 (0,31–1,24)	1,31 (0,43–1,35)	p=0,46
P-MC/E-MDSCs (×10⁶/ml)	24,3 (9,1–51,5)	7,6 (7,5–9,3)	p=0,27

Примечание: данные об относительном (%) и абсолютном количестве (×10⁶/ ml) моноцитарных (М-МС), гранулоцитарных (Г-МС) и ранних (Р-МС) МС среди МНК периферической крови пациентов с ММ представлены в виде медианы и диапазона интерквартильных значений (IQR) перед проведением ВХТ и ауто-ТГСК и на этапе выхода из лейкопении (+12 +16 день после ауто-ТГСК); p – значимость различий показателей по критерию знаков для парных выборок.

Note: relative (%) and absolute (B) numbers of monocytic (M-MDSCs), granulocytic (G-MDSCs) and early-stage MDSCs (E-MDSCs) in patient peripheral blood are shown as median and interquartile range (IQR) before HCT and auto-HSCT (before HCT) and at engraftment (+12 +16 d after auto-HSCT); p – differences according sign-test for paired samples.

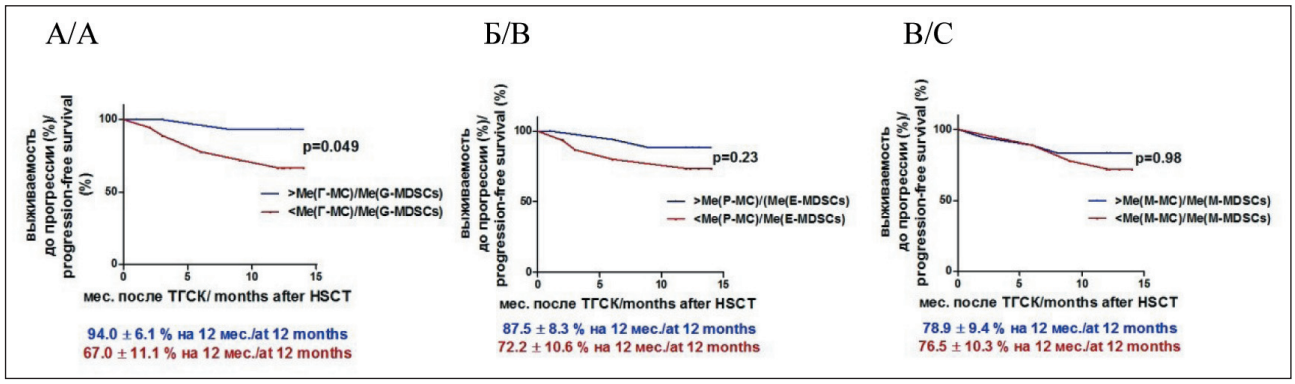


Рис. 3. Анализ выживаемости до прогрессии ММ у больных с ауто-ТГСК в зависимости от содержания МС. Представлены данные по выживаемости до рецидива/прогрессии ММ 37 пациентов после ВХТ и ауто-ТГСК на 12-месячный период наблюдения в зависимости от количества Г-МС (А), Р-МС (Б) и М-МС (В) на этапе выхода из лейкопении. Примечание: >Me – группа пациентов со значениями указанных субпопуляций МС выше медианы для этапа выхода из лейкопении (синяя кривая); <Me – пациенты со значениями указанных субпопуляций МС ниже медианы для этапа выхода из лейкопении (красная кривая). p – значимость различий между кривыми. Под графиками представлены данные о частоте пациентов с ремиссией ММ в первые 12 мес посттрансплантационного периода в группах с относительным содержанием указанных субпопуляций МС выше (синим цветом) и ниже (красным цветом) медианных значений данного параметра на этапе выхода из лейкопении. Ось X – количество мес, ось Y – % пациентов в ремиссии

Fig. 3. Progression-free survival in MM patients with auto-HSCT regarding with the number of MDSCs. Data are presented as survival to MM relapse/progression of 37 patients after HCT and auto-HSCT at 12-month follow-up in relation to the number of G-MDSCs (A), E-MDSCs (B) and M-MDSCs (C) at the engraftment. Note: >Me – patients with the values of the indicated MDSC subsets above the median at the engraftment (blue curve); <Me – patients with the values of the indicated MDSC subsets below the median at the engraftment (red curve). p – significance between the curves. Below the graphs the frequencies of MM patients with remission within the 12 post-transplant months in groups with the relative number of the indicated MDSC subsets above (in blue) and below (in red) the median values at the engraftment are given. X axe – number of months, Y axe – percentage of patients in remission

на основе анализа экспрессии внутриклеточной молекулы Arg1. После ВХТ и ауто-ТГСК (+12 – +16 день) доля Arg1-позитивных М-МС была значимо выше (p_U=0,003) и далее продолжала возрастать на сроках наблюдения 6 и 12 мес (рис. 4). К моменту 12-месячного срока наблюдения в посттрансплантационном периоде количество Arg1-положительных М-МС было более чем в 10 раз выше по сравнению с исходными значениями, наблюдаемыми у пациентов до ВХТ (p_U=0,007). Следует отметить, что в группе пациентов с ранним рецидивом доля М-МС, экспрессирующих Arg1, на момент выхода из лейкопении характеризовалась тенденцией к более низким значениям по сравнению с аналогичным показателем в группе пациентов, сохраняющих ответ в первые 12 мес посттрансплантационного периода (Me (IQR) 2,16 (1,31–5,31) *vs* 8,05 (4,4–19,1) %; p_U=0,09). Количество Г-МС и Р-МС, экспрессирующих Arg1, возрастало в посттрансплантационном периоде, однако статистически не значимо.

Таким образом, наступление раннего рецидива ММ после ауто-ТГСК сопряжено с более низким содержанием Г-МС, а также меньшим количеством М-МС, экспрессирующих супрессорную молекулу Arg1, что, по-видимому, может иметь значение для более эффективного восстановления Т-клеточного компартмента.

Обсуждение

Проведенное исследование позволило проследить динамику количественного содержания трех субпопуляций МС у больных ММ, а также супрессорный потенциал МС на основе оценки экспрессии Arg1 в ответ на проведение высокодозной химиотерапии и трансплантации аутологичных ГСК. Впервые нами показано, что на момент выхода из лейкопении после ВХТ и ауто-ТГСК на фоне сниженного количества МНК в периферической крови повышается относительное количество М-МС, а также относительное и абсолютное количество Г-МС. Через 6 мес после трансплантации у пациентов с сохранным ответом количество М-МС и Г-МС снижается до предтрансплантационных значений и остается на этом уровне еще в течение следующих 6 мес. Содержание Р-МС, наоборот, снижено на момент выхода из лейкопении, при этом относительное количество держится на одном уровне до 12 мес, а абсолютное количество (на фоне увеличения количества МНК) возрастает через 12 мес после трансплантации. Нами выявлена сопряженность сниженной безрецидивной выживаемости с более низким относительным содержанием циркулирующих Г-МС на этапе восстановления лейкоцитов после проведения ауто-ТГСК. Важным результатом исследования также являются данные о накоплении Arg1-позитивных

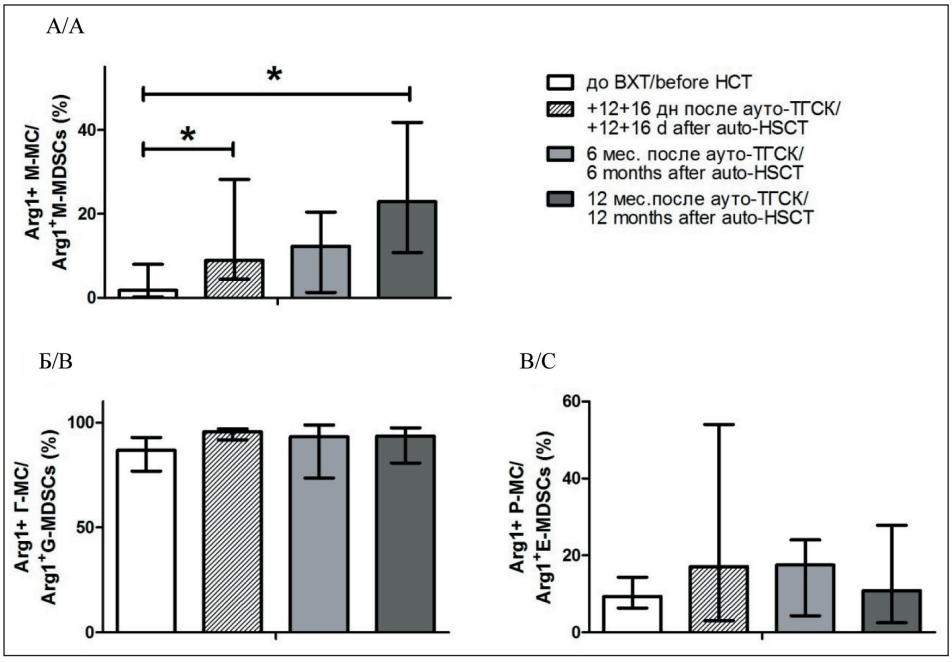


Рис. 4. Экспрессия аргиназы-1 в субпопуляциях МС периферической крови пациентов с множественной миеломой с ауто-ТГСК. В виде медианы и диапазона интерквартильных значений (IQR) представлены данные об экспрессии молекулы Arg1 как процент позитивных клеток среди: А) моноцитарных (М-МС), Б) гранулоцитарных (Г-МС) и В) ранних МС (Р-МС) периферической крови пациентов с ММ перед проведением ВХТ и ауто-ТГСК (до ВХТ, n=14), на этапе выхода из лейкопении (+12 +16 день после ауто-ТГСК, n=21), а также через 6 (n=13) и 12 мес (n=10) после ауто-ТГСК.

Примечание: * – p_U, значимость различий между указанными группами. Ось X – точки наблюдения; ось Y – % клеток

Fig. 4. Arginase-1 expression in circulating MDSC subsets in MM patients with auto-HSCT. Data on the expression of Arg1 are presented as median and interquartile range (IQR) of the percentage of positive cells among A) monocytic (M-MDSCs), B) granulocytic (G-MDSCs), and C) early-stage MDSCs (E-MDSCs) in peripheral blood before HCT and auto-HSCT (before HCT, n=14), at engraftment (+12 +16 d after auto-HSCT, n=21), after 6 (n=13) and 12 months (n=10) after auto-HSCT.

Note: * – p_U value<0.05. X axe – points of the study, Y axe – cell percentage (%)

М-МС после ВХТ и ауто-ТГСК в течение всего 12-месячного периода наблюдения и ассоциации развития раннего рецидива ММ с более низкими значениями данного показателя на момент выхода из лейкопении.

Полученные нами данные о транзиторном повышении субпопуляций МС после проведения режима кондиционирования с мелфаланом и ауто-ТГСК ожидаемы, поскольку стандартный протокол мобилизации ГСК препаратами Г-КСФ сопровождается выходом из костного мозга не только $CD34^+$ стволовых клеток, но также и экспансией в периферической крови и, следовательно, в продукте лейкофереза всех 3 субпопуляций МС [12, 14, 15]. При аллогенных трансплантациях ГСК (алло-ТГСК) МС могут оказывать иммунорегуляторную роль. Показано, что М-МС алло-графтов от здоровых доноров обладают супрессорной активностью в отношении алло-реактивных Т-клеток и усиливают активность Трег, что может иметь важное значение для подавления развития острой реакции «трансплантат против хозяина» после алло-ТГСК [16]. При ауто-ТГСК МС, по-видимому, могут участвовать в иммунной реконституции и восстановлении пула Т-клеток, в том числе влияя на процессы гомеостатической пролиферации Т-клеток в условиях лейкопении. Возможно, что таким образом МС предотвращают неконтролируемую экспансию быстро пролиферирующих клонов зрелых Т-клеток, чем способствуют будущему формированию широкого репертуара Т-клеточных рецепторов, снижая в дальнейшем риск рецидива опухоли и оппортунистических инфекций. Эти предположения были подтверждены полученными нами данными сравнительного исследования содержания МС у пациентов с ранним рецидивом (в первые 12 мес) и пациентов в ремиссии после ВХТ и ауто-ТГСК. Развитие рецидива в первые 12 мес после ауто-ТГСК ассоциировалось со сниженным содержанием МС на момент восстановления количества лейкоцитов и прежде всего Г-МС.

По данным S.E. Lee et al. [17], меньшее время до развития рецидива ММ и худший исход трансплантации ГСК ассоциировались с повышенным количеством М-МС до трансплантации, при этом количество МС после трансплантации уже не оказывало существенной роли на прогноз. Эти результаты расходятся с нашими данными, которые демонстрируют схожие значения количества МС перед ВХТ у пациентов независимо от исхода трансплантации в первые 12 мес. Такие различия могут быть связаны с разным режимом проведения индукционной предтрансплантационной противоопухолевой терапии, а также временем до проведения ТГСК. Характерно, что в исследовании S.E. Lee et al. М-МС и Р-МС после трансплантации не обладали супрессорным действием в отношении аутологичных Т-клеток и NKT-клеток. Авторы предположили, что эти клетки относятся к пулу моноцитов или клеток-предшественников миелоидного ряда соответственно. В то же время полученные нами результаты свидетельствуют об увеличении доли Arg-экспрессирующих М-МС после ауто-ТГСК. О важности присутствия клеток с иммуносупрессорным потенциалом может свидетельствовать также обнаруженная нами тенденция к более низким значениям М-МС, экспрессирующих Arg1, в группе пациентов с ранним рецидивом.

Ранее C.J. Winstead et al. [18] показали, что отсутствие Трег в течение периода реконституции Т-лимфоцитов приводит к ограничению репертуара Т-клеточных рецепторов и снижению способности развивать полноценный иммунный ответ на чужеродные антигены. Аналогичным образом, выявленное нами более низкое содержание МС в период выхода из лейкопении у пациентов с развитием раннего рецидива может являться причиной чрезмерной выраженности гомеостатической пролиферации, приводящей к ограничению репертуара Т-клеточных рецепторов, и негативно влиять на исходы трансплантации. В то же время присутствие МС на определенных этапах иммунной реконституции может иметь позитивное значение с точки зрения долгосрочной перспективы сохранности противоопухолевого ответа у пациентов с ММ. Подтверждение данной гипотезы, однако, требует дальнейших исследований.

Заключение

Проведенное нами исследование динамики содержания трех субпопуляций МС после ВХТ и ауто-ТГСК продемонстрировало транзиторные изменения количества субпопуляций МС после трансплантации ГСК. При этом количество Г-МС на этапе выхода из лейкопении после ВХТ и ауто-ТГСК может иметь критическое значение с точки зрения сохранности ответа у пациентов с ММ, поскольку более низкий уровень Г-МС на этом этапе (ниже медианных значений) ассоциируется с большей частотой рецидивов в течение 12 мес наблюдения и, соответственно, меньшим временем выживаемости до развития раннего рецидива. Также нами установлено, что по сравнению с исходными значениями доля Arg1-экспрессирующих клеток среди М-МС после ауто-ТГСК возрастает, достигая максимума через 12 мес наблюдения. При этом развитие ранних рецидивов ассоциировано с меньшим количеством этих клеток. Непродолжительный срок наблюдения за пациентами не позволил нам проанализировать сопряженность между содержанием МС с более поздними исходами трансплантации, что является ограничением нашего исследования. Дальнейшего исследования требуют также количественная оценка всех субпопуляций МС в продукте сепарата и взаимосвязь этих показателей с исходами трансплантации ГСК у пациентов с ММ. В целом, полученные

данные о сопряженности рецидива в первые 12 мес с меньшим содержанием Г-МС и Arg1^{+}М-МС в раннем посттрансплантационном периоде позволяют сформулировать новую гипотезу, согласно которой МС способны играть позитивную роль на этапе выхода из лейкопении. Поскольку данный период характеризуется запуском гомеостатической пролиферации содержащихся в продукте афереза Т-клеток, что сопровождается сужением репертуара Т-клеточных рецепторов, можно полагать, что ограничение гомеостатической пролиферации будет способствовать в последующем более эффективной реконституции Т-клеточного компартмента. Однако для подтверждения данной гипотезы необходимы дальнейшие исследования, в том числе включающие оценку экспрессии других молекул (PD-L1, IDO, IL-10 и др.), опосредующих супрессорный потенциал МС, а также изучение влияния МС на гомеостатическую пролиферацию и экспансию Т-лимфоцитов. Указанные исследования позволят более полно раскрыть роль МС в патогенезе рецидивов ММ и их прогностическую значимость для оценки исхода трансплантации ГСК.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Maybury B., Cook G., Pratt G., Yong K., Ramasamy K.* Augmenting Autologous Stem Cell Transplantation to Improve Outcomes in Myeloma. Biol Blood Marrow Transplant. 2016; 22(11): 1926–37. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.06.004.

2. *van de Donk N.W.C.J., Pawlyn C., Yong K.L.* Multiple myeloma. Lancet. 2021; 397(10272): 410–27. doi: 10.1016/S0140-6736-(21)00135-5.

3. *Condamine T., Gabrilovich D.I.* Molecular mechanisms regulating myeloid-derived suppressor cell differentiation and function. Trends Immunol. 2011; 32(1): 19–25. doi: 10.1016/j.it.2010.10.002.

4. *Bronte V., Brandau S., Chen S.H., Colombo M.P., Frey A.B., Greten T.F., Mandruzzato S., Murray P.J., Ochoa A., Ostrand-Rosenberg S., Rodriguez P.C., Sica A., Umansky V., Vonderheide R.H., Gabrilovich D.I.* Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. Nat Commun. 2016; 7: 12150. doi: 10.1038/ncomms12150.

5. *Gabrilovich D.I.* Myeloid-Derived Suppressor Cells. Cancer Immunol Res. 2017; 5(1): 3–8. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0297.

6. *Veglia F., Sanseviero E., Gabrilovich D.I.* Myeloid-derived suppressor cells in the era of increasing myeloid cell diversity. Nat Rev Immunol. 2021; 21(8): 485–98. doi: 10.1038/s41577-020-00490-y.

7. *Hoechst B., Ormandy L.A., Ballmaier M., Lehner F., Krüger C., Manns M.P., Greten T.F., Korangy F.* A new population of myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients induces CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T cells. Gastroenterology. 2008; 135(1): 234–43. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.020. Erratum in: Gastroenterology. 2011; 141(2): 779.

8. *Botta C., Gullà A., Correale P., Tagliaferri P., Tassone P.* Myeloid-derived suppressor cells in multiple myeloma: pre-clinical research and translational opportunities. Front Oncol. 2014; 4: 348. doi: 10.3389/fonc.2014.00348.

9. *Malek E., de Lima M., Letterio J.J., Kim B.G., Finke J.H., Driscoll J.J., Giralt S.A.* Myeloid-derived suppressor cells: The green light for myeloma immune escape. Blood Rev. 2016; 30(5): 341–8. doi: 10.1016/j.blre.2016.04.002.

10. *Bae M.H., Park C.J., Suh C.* Increased Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells in Whole Blood Predict Poor Prognosis in Patients with Plasma Cell Myeloma. J Clin Med. 2021; 10(20): 4717. doi: 10.3390/jcm10204717.

11. *De Veirman K., Menu E., Maes K., De Beule N., De Smedt E., Maes A., Vlummens P., Fostier K., Kassambara A., Moreaux J., Van Ginderachter J.A., De Bruyne E., Vanderkerken K., Van Valckenborgh E.* Myeloid-derived suppressor cells induce multiple myeloma cell survival by activating the AMPK pathway. Cancer Lett. 2019; 442: 233–41. doi: 10.1016/j.canlet.2018.11.002.

12. *Аристова Т.А., Баторов Е.В., Сергеевичева В.В., Сизикова С.А., Ушакова Г.Ю., Гилевич А.В., Шевела Е.Я., Останин А.А., Черных Е.Р.* Миелоидные супрессорные клетки периферической крови у больных множественной миеломой на этапе мобилизации гемопоэтических стволовых клеток. Гематология и трансфузиология. 2021; 66(2): 218–30. [*Aristova T.A., Batorov E.V., Sergeevicheva V.V., Sizikova S.A., Ushakova G.Yu., Gilevich A.V., Shevela E.Y., Ostanin A.A., Chernykh E.R.* Myeloidderived peripheral blood suppressor cells at haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma patients. Russian Journal of Hematology and Transfusiology. 2021; 66(2): 218–30. (in Russian)]. doi: 10.35754/0234-5730-2021-66-2-218-230.

13. *Kotsakis A., Harasymczuk M., Schilling B., Georgoulias V., Argiris A., Whiteside T.L.* Myeloid-derived suppressor cell measurements in fresh and cryopreserved blood samples. J Immunol Methods. 2012; 381(1–2): 14–22. doi: 10.1016/j.jim.2012.04.004.

14. *Lv M., Zhao X.S., Hu Y., Chang Y.J., Zhao X.Y., Kong Y., Zhang X.H., Xu L.P., Liu K.Y., Huang X.J.* Monocytic and promyelocytic myeloid-derived suppressor cells may contribute to G-CSF-induced immune tolerance in haplo-identical allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Am J Hematol. 2015; 90(1): 9–16. doi: 10.1002/ajh.23865.

15. *Gyger M., Stuart R.K., Perreault C.* Immunobiology of allogeneic peripheral blood mononuclear cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor. Bone Marrow Transplant. 2000; 26(1): 1–16. doi: 10.1038/sj.bmt.1702464.

16. *Demosthenous C., Sakellari I., Douka V., Papayanni P.G., Anagnostopoulos A., Gavriilaki E.* The Role of Myeloid-Derived Suppressor Cells (MDSCs) in Graft-versus-Host Disease (GVHD). J Clin Med. 2021; 10(10): 2050. doi: 10.3390/jcm10102050.

17. *Lee S.E., Lim J.Y., Kim T.W., Ryu D.B., Park S.S., Jeon Y.W., Yoon J.H., Cho B.S., Eom K.S., Kim Y.J., Kim H.J., Lee S., Cho S.G., Kim D.W., Lee J.W., Min C.K.* Different role of circulating myeloid-derived suppressor cells in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation. J Immunother Cancer. 2019; 7(1): 35. doi: 10.1186/s40425-018-0491-y.

18. *Winstead C.J., Reilly C.S., Moon J.J., Jenkins M.K., Hamilton S.E., Jameson S.C., Way S.S., Khoruts A.* CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells optimize diversity of the conventional T cell repertoire during reconstitution from lymphopenia. J Immunol. 2010; 184(9): 4749–60. doi: 10.4049/jimmunol.0904076.

Поступила/Received 01.07.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 28.09.2022
Принята к публикации/Accepted 17.10.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тыринова Тамара Викторовна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). E-mail: tyrinova@bk.ru. SPIN-код: 1535-6493. Researcher ID (WOS): H-2404-2014. Author ID (Scopus): 35750892600. ORCID: 0000-0002-7987-2017.

Баторов Егор Васильевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 6316-0759. Researcher ID (WOS): O-2411-2019. Author ID (Scopus): 35768879800. ORCID: 0000-0003-2902-9336.

Аристова Татьяна Андреевна, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0002-4885-8327.

Ушакова Галина Юрьевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0003-1822-6326.

Сизикова Светлана Анатольевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-7109-3839.
Денисова Вера Васильевна, кандидат медицинских наук, заведующая гематологическим отделением с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 5507-1870. Researcher ID (WOS): 54881246800. ORCID: 0000-0003-1951-2260.
Останин Александр Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 3199-0970. Researcher ID (WOS): Y-6591-2018. Author ID (Scopus): 6701440111. ORCID: 0000-0001-6895-938X.
Черных Елена Рэмовна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 8957-0362. Researcher ID (WOS): K-1052-2014. Author ID (Scopus): 7003649977. ORCID: 0000-0003-2346-6279.

ВКЛАД АВТОРОВ

Тыринова Тамара Викторовна: разработка концепции, цитометрический анализ экспрессии изучаемых молекул, статистический анализ и интерпретация данных, написание черновика статьи.
Баторов Егор Васильевич: планирование исследований, цитометрический анализ экспрессии изучаемых молекул, статистический анализ.
Аристова Татьяна Андреевна: рекрутирование пациентов, подготовка биологических образцов, анализ клинических данных.
Ушакова Галина Юрьевна: рекрутирование пациентов, подготовка биологических образцов, анализ клинических данных.
Сизикова Светлана Анатольевна: рекрутирование пациентов, подготовка биологических образцов, анализ клинических данных.
Денисова Вера Васильевна: рекрутирование пациентов, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Останин Александр Анатольевич: анализ данных, утверждение публикуемой версии рукописи.
Черных Елена Рэмовна: разработка концепции, анализ данных, утверждение публикуемой версии рукописи.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках проекта РНФ № 20-75-10132, государственного задания ПНИ № 122012000370-6.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Tamara V. Tyrinova, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). E-mail: tyrinova@bk.ru. Researcher ID (WOS): H-2404-2014. Author ID (Scopus): 35750892600. ORCID: 0000-0002-7987-2017.
Egor V. Batorov, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): O-2411-2019. Author ID (Scopus): 35768879800. ORCID: 0000-0003-2902-9336.
Tatyana A. Aristova, MD, Hematologist, Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-4885-8327.
Galina Yu. Ushakova, MD, PhD, Hematologist, Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-1822-6326.
Svetlana A. Sizikova, MD, PhD, Hematologist of the Hematology Department with a Bone Marrow Transplant Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-7109-3839
Vera V. Denisova, MD, PhD, Head of the Hematology Department with a Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): 54881246800. ORCID: 0000-0003-1951-2260.
Alexander A. Ostanin, MD, Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): Y-6591-2018. Author ID (Scopus): 6701440111. ORCID: 0000-0001-6895-938X.
Elena R. Chernykh, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): K-1052-2014. Author ID (Scopus): 7003649977. ORCID: 0000-0003-2346-6279.

AUTHOR CONTRIBUTION

Tamara V. Tyrinova: study conception, cytometric analysis of molecule expression, statistical data analysis and data interpretation, drafting of the manuscript.
Egor V. Batorov: study design, cytometric analysis of molecule expression, statistical data analysis.
Tatyana A. Aristova: patient recruiting, preparation of biological samples, clinical data analysis.
Galina Yu. Ushakova: patient recruiting, preparation of biological samples, clinical data analysis.
Svetlana A. Sizikova: patient recruiting, preparation of biological samples, clinical data analysis.
Vera V. Denisova: patient recruiting, critical revision of the manuscript for important intellectual content.
Alexander A. Ostanin: data analysis, final revision of the manuscript.
Elena R. Chernykh: study conception, data analysis, final revision of the manuscript.

Funding

The study was carried out within the Russian Science Foundation grant (No 20-75-10132) and the framework No 122012000370-6.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-59-67
УДК: 618.19-006.6:577.2:571.27

Для цитирования: *Невская К.В., Ефимова Л.В., Корда П.В., Долгашева Д.С., Ибрагимова М.К., Меняйло М.Е., Удут Е.В., Литвяков Н.В., Першина А.Г.* Оптимизация метода исследования маммосферообразования для оценки IL-6 индуцированной стволовой пластичности дифференцированных клеток рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 59–67. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-59-67

For citation: *Nevskaya K.V., Efimova L.V., Korda P.V., Dolgasheva D.S., Ibragimova M.K., Menyailo M.E., Udut E.V., Litviakov N.V., Pershina A.G.* Optimization of mammosphere formation assay for quantification of IL6-induced stemness in differentiated breast cancer cells. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 59–67. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-59-67

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ МАММОСФЕРООБРАЗОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ IL-6 ИНДУЦИРОВАННОЙ СТВОЛОВОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

К.В. Невская[1], Л.В. Ефимова[1], П.В. Корда[1], Д.С. Долгашева[2], М.К. Ибрагимова[2], М.Е. Меняйло[2], Е.В. Удут[1], Н.В. Литвяков[1,2], А.Г. Першина[1]

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия[1]
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2. E-mail: nevskayaksenia@gmail.com[1]
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия[2]
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5[2]

Аннотация

Цель исследования – оптимизация метода оценки образования маммосфер после индуцированной интерлейкином 6 (IL6) стволовой пластичности у дифференцированных ($CD44^-$) опухолевых клеток линии рака молочной железы человека T47D. **Материал и методы.** Проведена оценка жизнеспособности, цитофлуориметрического профиля клеток и их способности к маммосферообразованию при различной исходной конфлюентности (40–50 % и 70–80 %) и методах снятия с поверхности пластика (использование TrypLE, аккутазы, скребка для клеток). Жизнеспособность клеток оценивали методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентно-меченного АннексинV и йодистого пропидия. Динамику изменения экспрессии поверхностных маркеров клеток оценивали методом проточной цитометрии с флуоресцентно-мечеными антителами к CD24 и CD44. **Результаты**. Применение скребка для снятия клеток приводило к существенному повышению количества клеток с цитофлуориметрическими признаками раннего и позднего апоптоза по сравнению с использованием TrypLE и аккутазы. Использование TrypLE приводило к снижению количества $CD44^+$ клеток, тогда как аккутаза не влияла на представленность данного маркера. Количество маммосфер и их средний диаметр не отличались между исследуемыми группами. Стимуляция дифференцированных ($CD44^-CD24^+$) клеток линии T47D IL6 уже через 24 ч приводила к появлению популяций $CD44^+CD24^+$ прогениторных и $CD44^+CD24^{-/low}$ опухолевых стволовых клеток. Дифференцированные клетки после стимуляции IL6 в течение 24 ч образовывали в 3 раза больше маммосфер по сравнению с контролем. **Заключение.** Для оценки маммосферообразования целесообразно использовать клетки с конфлюентностью до 80 % и применять аккутазу для снятия с поверхности пластика. Для стимуляции стволовой пластичности у дифференцированных клеток линии T47D достаточной является их инкубация с IL6 в течение 24 ч.

Ключевые слова: рак молочной железы, маммосферообразование, интерлейкин 6, стволовая пластичность.

Невская Ксения Владимировна, nevskayaksenia@gmail.com

OPTIMIZATION OF MAMMOSPHERE FORMATION ASSAY FOR QUANTIFICATION OF IL6-INDUCED STEMNESS IN DIFFERENTIATED BREAST CANCER CELLS

K.V. Nevskaya[1], L.V. Efimova[1], P.V. Korda[1], D.S. Dolgasheva[2], M.K. Ibragimova[2], M.E. Menyailo[2], E.V. Udut[1], N.V. Litviakov[1,2], A.G. Pershina[1]

Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia[1]
2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia. E-mail: nevskayaksenia@gmail.com[1]
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia[2]
5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia[2]

Abstract

The aim of the study was mammosphere assay optimization for quantification of IL6-induced stemness in differentiated ($CD44^-$) T47D breast cancer cells. **Material and Methods.** The effect of three commonly used cell-detaching methods (TrypLE, accutase, cell scrapper) at various confluence (40–50 % and 70–80 %) on cell viability, phenotypic profile and mammosphere formation was tested. The cell viability was examined using AnnexinV/propidium iodide assay. The phenotypic profile was analyzed by flow cytometry with fluorescent markers CD24 and CD44. **Results.** Detachment of the cells using scrapper led to substantial increase in early apoptotic and late apoptotic cells in comparison with TrypLE and accutase. Dissociation with TrypLE reduced the percentage of detected $CD44^+$ positive cells, whereas accutase saved the surface marker. The number of mammosphere and their diameter did not differ between groups. Incubation of differentiated ($CD44^-CD24^+$) T47D cells with IL-6 for 24 hours resulted in an appearance of $CD44^+CD24^+$ and $CD44^+CD24^{-/low}$ subpopulation. Furthermore, the differentiated cells after 24 hours of IL6 exposure formed 3 times more mammospheres compared to the control. **Conclusion.** Usage of cells with confluence of no more than 80 % and accutase for detachment of cells is recommended for mammosphere assay. Incubation of $CD44^-CD24^+$ T47D cells with IL6 for 24 hours is sufficient for stimulation of stemness plasticity.

Key words: breast cancer, mammosphere formation assay, IL6, stemness.

Введение

Метастазирование является одной из наиболее серьезных проблем в лечении рака. Согласно современным представлениям, способность дифференцированных опухолевых клеток к переходу в опухолевые стволовые клетки (ОСК), т.е. их стволовая пластичность или дедифференцировка, играет определяющую роль в инициации образования метастазов [1–3]. Изучение процесса дедифференцировки опухолевых клеток важно как при исследовании фундаментальных механизмов канцерогенеза, так и для оценки эффективности новых антиметастатических препаратов. Для подтверждения дедифференцировки, произошедшей под действием определенных факторов, *in vitro* используют такие методы, как оценка маммосферообразования, определение уровня экспрессии генов и фенотипического профиля клеток с маркерами стволовых клеток.

Анализ образования маммосфер позволяет оценить количество и функциональную активность клеток, способных инициировать опухолевый рост [4]. Стандартный протокол анализа образования маммосфер включает в себя получение суспензии единичных клеток, рассадку на плашки со сверхнизким прикреплением и оценку образования сфероидов размером более 35–100 мкм через 5–14 дней в зависимости от клеточной линии и дизайна эксперимента [5–7]. Одним из основных вариабельных факторов при постановке экспериментов по оценке маммосферообразования является способ снятия клеток с поверхности флакона. В большинстве работ для снятия клеток с поверхности пластика используют растворы ферментов – трипсина, TrypLE или аккутазы [8, 9]. Однако существуют протоколы, предлагающие использование скребка для клеток (скрепера) в качестве альтернативы ферментам [10, 11]. Также остается неизученным вопрос о влиянии исходной конфлюентности клеток перед снятием с поверхности пластика на их способность образовывать маммосферы. Известно, что увеличение конфлюентности может приводить к изменению экспрессии маркеров на поверхности клетки, в том числе и маркеров стволовых клеток [12], что важно для определения субпопуляций клеток и сортинга дифференцированных опухолевых клеток. Влияние конфлюентности на экспрессию цитофлуориметрических маркеров стволовых клеток и маммосферообразование ранее изучены не были. Таким образом, для получения достоверных

результатов важно оптимизировать метод маммосферообразования, а именно, оценить влияние конфлюентности и выбрать способ снятия клеток, позволяющий сохранить жизнеспособность и представленность рецепторов на мембране клеток. Это позволит минимизировать риск включения в анализ стволовых раковых клеток экспрессирующих CD44, но потерявших данный рецептор в процессе снятия с поверхности пластика.

Целью исследования явилась оптимизация метода оценки образования маммосфер после индуцированной интерлейкином 6 (IL6) стволовой пластичности у дифференцированных ($CD44^-$) опухолевых клеток линии рака молочной железы человека T47D.

Материал и методы

Эксперименты были выполнены на клетках линии T47D (люминальный рак молочной железы типа А), любезно предоставленной А.А. Нуштаевой, ИБХФМ СО РАН, Новосибирск. Клетки (3–10 пассажа) культивировали в полной питательной среде RPMI-1640 (Gibco, США) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США), глутамина (Gibco, США), гентамицина (Gibco, США), амфотерицина В (Синтез, Россия) (ППС RPMI-1640). Клетки с низкой (40–50 %) и высокой (70–80 %) конфлюентностью снимали с поверхности пластика 3 способами: с использованием TrypLE (Gibco, США), аккутазы (Stemcell Technologies, США) или скребка для клеток (Cell Scraper, Corning). Определение фенотипического профиля клеток проводили с использованием антител PE anti-human CD44 (клон BJ18, Sony Biotechnology, США) и APC anti-human CD24 (клон ML5, Sony Biotechnology, США) на проточном цитофлуориметре CytoFlex (Beckman Coulter, США), для исключения мертвых клеток из анализа проводили окрашивание 4', 6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI, Thermo Fisher Scientific, США). Жизнеспособность клеток определяли с помощью набора AnnexinV:FITC Assay kit (Bio-Rad, Австрия).

Для оценки способности к образованию маммосфер 1 тыс. клеток в 1 мл среды Mammocult Basal Medium (Stemcell Technologies, США) с добавлением 10 % Mammocult proliferation supplement (Stemcell Technologies, США), 4 мкг/мл гепарина (Sigma, США), 0,48 мкг/мл гидрокортизона (Stemcell Technologies, США), антибиотика-антимикотика (Gibco, США) рассаживали в лунки 12-луночного планшета. Для уменьшения адгезии клеток к пластику дно лунок планшета предварительно покрывали 1 % агарозой (Хеликон, Россия). Для получения одноклеточной суспензии клетки предварительно пропускали через клеточное сито с размером пор 40 мкм (Corning). Планшеты инкубировали в CO_2-инкубаторе в течение 7 дней, после чего получали фотографии всех лунок с помощью сканирующего микроскопа Leica DMi8 (Leica, Германия). Количество и диаметр маммосфер определяли, используя программное обеспечение ImageJ методом, предложенным Vlachou et al. [13] с модификациями.

Для изучения динамики дедифференцировки клеток под влиянием IL6 клетки линии T47D с конфлюентностью 70–80 % снимали с поверхности пластика с использованием аккутазы, окрашивали флуоресцентно-меченными антителами PE anti-human CD44 и APC anti-human CD24 и отбирали фракцию $CD44^-$ на клеточном сортере SH800 (Sony, США). Далее 50 тыс. клеток рассаживали в лунки 6-луночного планшета в 1 мл ППС RPMI-1640. Для индукции дедифференцировки в экспериментальные лунки добавляли 50 нг/мл IL6 (Abcam, США). Через 1, 3, 7 и 10 дней клетки снимали с поверхности лунок, проводили цитофлуориметрическую оценку экспрессии CD44 и CD24, а также изучали способность клеток образовывать маммосферы.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Сравнение количественных данных проводили при помощи t-критерия Стьюдента. Для выявления достоверности различий в случае множественных сравнений использовали однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA). Достоверность различий считали значимой при $p<0,05$.

Результаты

Для оценки роли влияния исходной конфлюентности в монослое и выбора метода снятия клеток с пластика оценивали жизнеспособность, фенотипический профиль клеток и их способность образовывать маммосферы. Согласно полученным данным, использование TrypLE и аккутазы приводило к сопоставимым показателям жизнеспособности клеток (рис. 1). Можно отметить, что количество клеток с признаками раннего апоптоза (AnV^+PI^-) и позднего апоптоза (AnV^+PI^+) при использовании ферментативных методов снятия клеток (TrypLE и аккутазы) было выше при конфлюентности 40–50 % по сравнению с конфлюентностью 70–80 % ($p<0,05$). При использовании TrypLE количество клеток с цитофлуориметрическими признаками апоптоза составило 27,47 ± 3,59 % при низкой конфлюентности и 16,64 ± 0,59 % при высокой конфлюентности, при использовании аккутазы – 24,72 ± 2,28 % и 18,98 ± 1,38 % соответственно.

Снятие клеток с использованием скребка приводило к существенному повышению количества клеток с цитофлуориметрическими признаками раннего и позднего апоптоза вне зависимости от исходного уровня конфлюентности. В случае низкой конфлюентности 63,58 ± 5,94 % клеток имели признаки апоптоза, в случае высокой конфлюентности – 62,67 ± 4,60 %. Дополнительным недостатком данного метода снятия клеток с пластика было отсутствие возможности получить одноклеточную

суспензию, необходимую для корректной оценки образования маммосфер, ни тщательным пипетированием, ни продавливанием через иглу шприца G26, ни обработкой ДНКазой. В связи с этим в дальнейшем для оценки экспрессионного профиля клеток и способности образовывать маммосферы применяли клетки, снятые с поверхности пластика ферментативными методами.

Анализ профиля экспрессии поверхностных маркеров клеток показал, что при использовании аккутазы популяция представлена преимущественно $CD44^{-}CD24^{+}$ клетками, 14,0 ± 0,33 % клеток имеют фенотип $CD44^{+}CD24^{+}$, а популяция стволовых клеток ($CD44^{+}CD24^{-/low}$) составляет 2,95 ± 0,21 %. При использовании TrypLE наблюдали уменьшение доли $CD24^{+}CD44^{+}$ клеток до 4,15 ± 0,28 % и

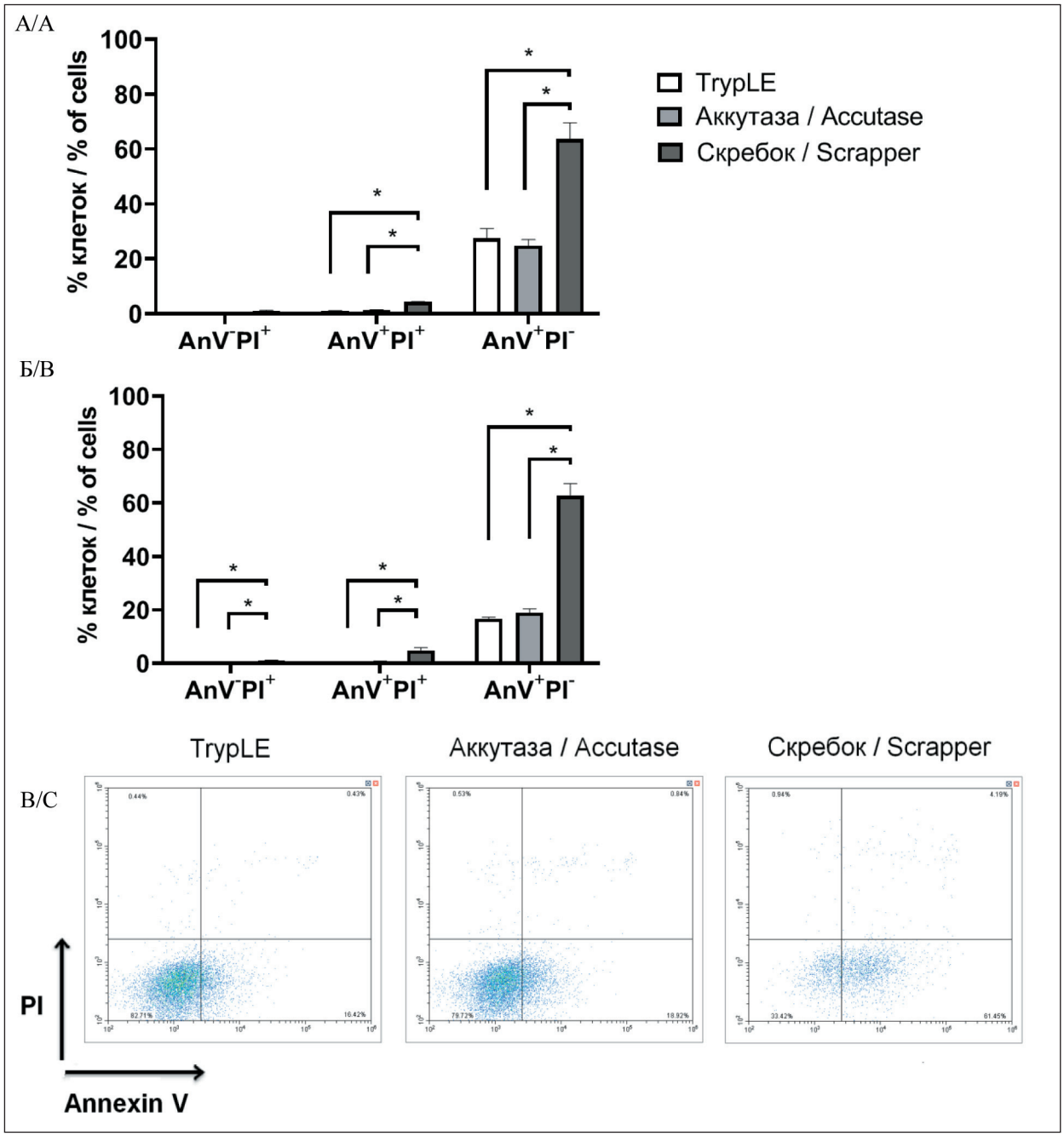


Рис. 1. Количество клеток линии T47D с цитофлуориметрическими признаками раннего апоптоза ($AnV+PI^{-}$), некроза ($AnV^{-}PI^{+}$) и позднего апоптоза ($AnV^{+}PI^{+}$) при различных методах снятия с поверхности пластика: А – клетки с низкой конфлюентностью (40–50 %); Б – клетки с высокой конфлюентностью (70–80 %); В – репрезентативные гистограммы цитофлуориметрических признаков некроза, раннего и позднего апоптоза в исследуемых группах. Данные представлены как среднее ± SD, n=3.
Примечание: * – p<0,05

Fig. 1. The effects of various cell-detaching methods on cell viability according to annexin V/PI staining protocol for flow cytometry: early apoptotic cells (AnV+PI), necrotic cells ($AnV^{-}PI^{+}$), late apoptotic cells ($AnV^{+}PI^{+}$). A – low confluence (40–50 %), Б – high confluence (70–80 %), B – representative flow cytometry histograms early apoptotic cells, necrotic cells, late apoptotic cells. Each data point presents mean ± SD from three experiments. Note: * – p-value<0.05

3,42 ± 0,31 % при низкой и высокой конфлюентности соответственно (рис. 2), что может быть связано со слущиванием рецепторов CD44 и CD24 с поверхности под действием TrypLE.

Результаты оценки количества маммосфер, образуемых клетками при различной исходной конфлюентности и методах снятия с поверхности пластика (рис. 3), показали, что количество маммосфер и их средний диаметр не отличались между исследуемыми группами. Однако учитывая, что сохранение CD44 рецепторов на мембране необходимо для выделения популяции дифференцированных клеток методом флуоресцентно-активированной сортировки клеток (FACS) с использованием антител, для проведения дальнейших экспериментов клетки выращивали до

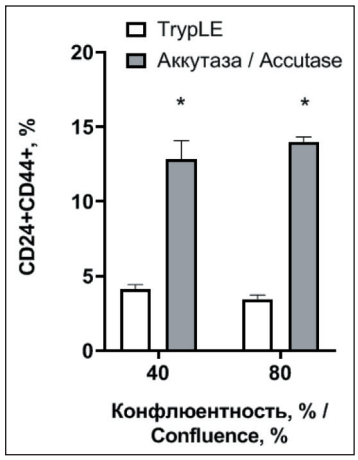


Рис. 2. Зависимость профиля клеток линии T47D от конфлюентности и метода снятия с поверхности пластика. Данные представлены как среднее ± SD, n=3. Примечание: * – p<0,05
Fig. 2. The dependence of a phenotypic profile of T47D cells on various confluence and cell-detaching methods. Each data point presents the mean and standard deviation of three replicates. Note: * – p-value<0.05

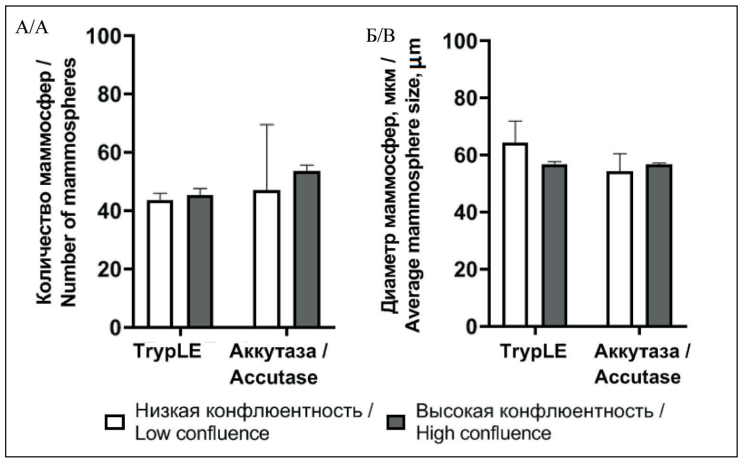


Рис. 3. Маммосферообразование при различной конфлюентности клеток и способах снятия с поверхности пластика: А – количество маммосфер в исследуемых группах; Б – диаметр маммосфер в исследуемых группах. Данные представлены как среднее ± SD, n=3. Примечание: * – p<0,05
Fig. 3. The mammosphere formation under different cell confluence and cell-detaching methods. A – the number of mammospheres, B – average mammosphere size. Each data point presents the mean and standard deviation of three replicates. Note: * – p-value<0.05

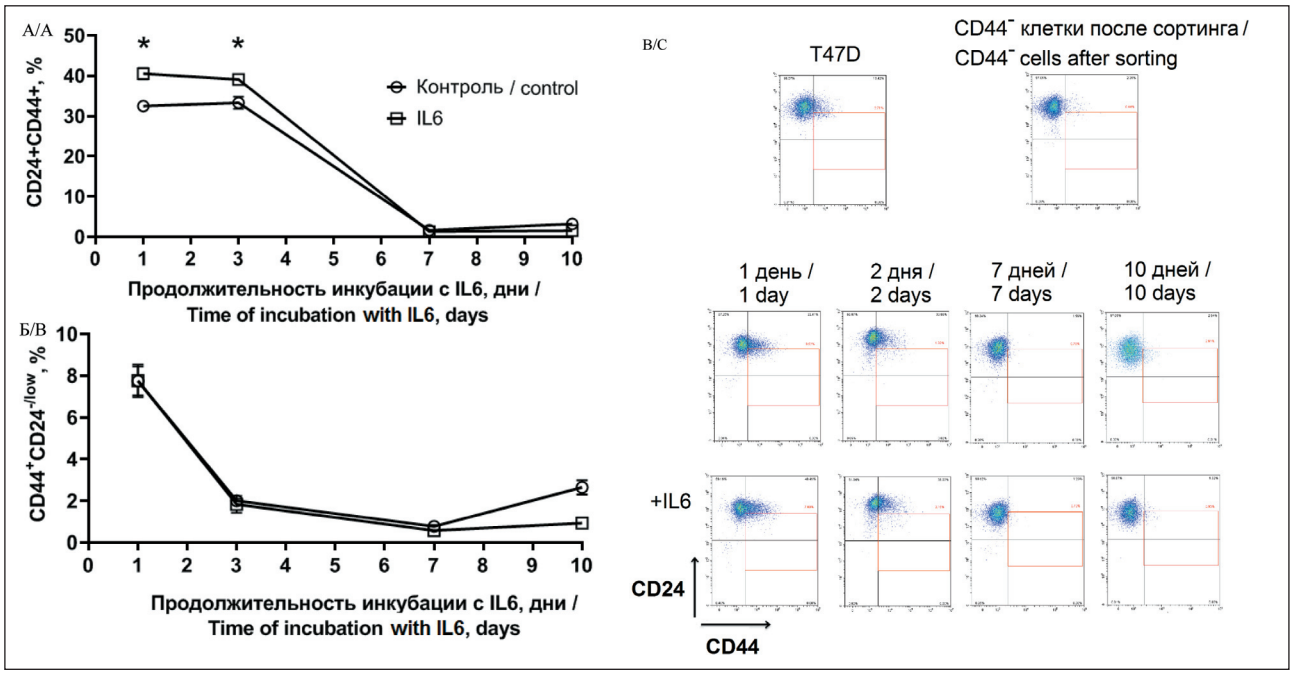


Рис. 4. Влияние продолжительности инкубации после внесения IL6 на фенотипический профиль клеток: А – количество $CD24^{+}CD44^{+}$ клеток; Б – количество $CD24^{-/low}CD44^{+}$ клеток; В – репрезентативные гистограммы изменения фенотипического профиля клеток линии T47D в течение 10 дней инкубации. Примечание: * – p<0,05
Fig. 4. The effect of incubation time after IL-6 addition on phenotypic profile of the cells. A – the percentage of $CD44^{+}$ $CD24^{+}$ cells, B – the percentage of $CD24^{-/low}CD44^{+}$ cells, C – representative flow cytometry histograms of T47D cells after IL6 exposure for 10 days. Each data point presents the mean and standard deviation of three replicates. Note: * – p-value<0.05

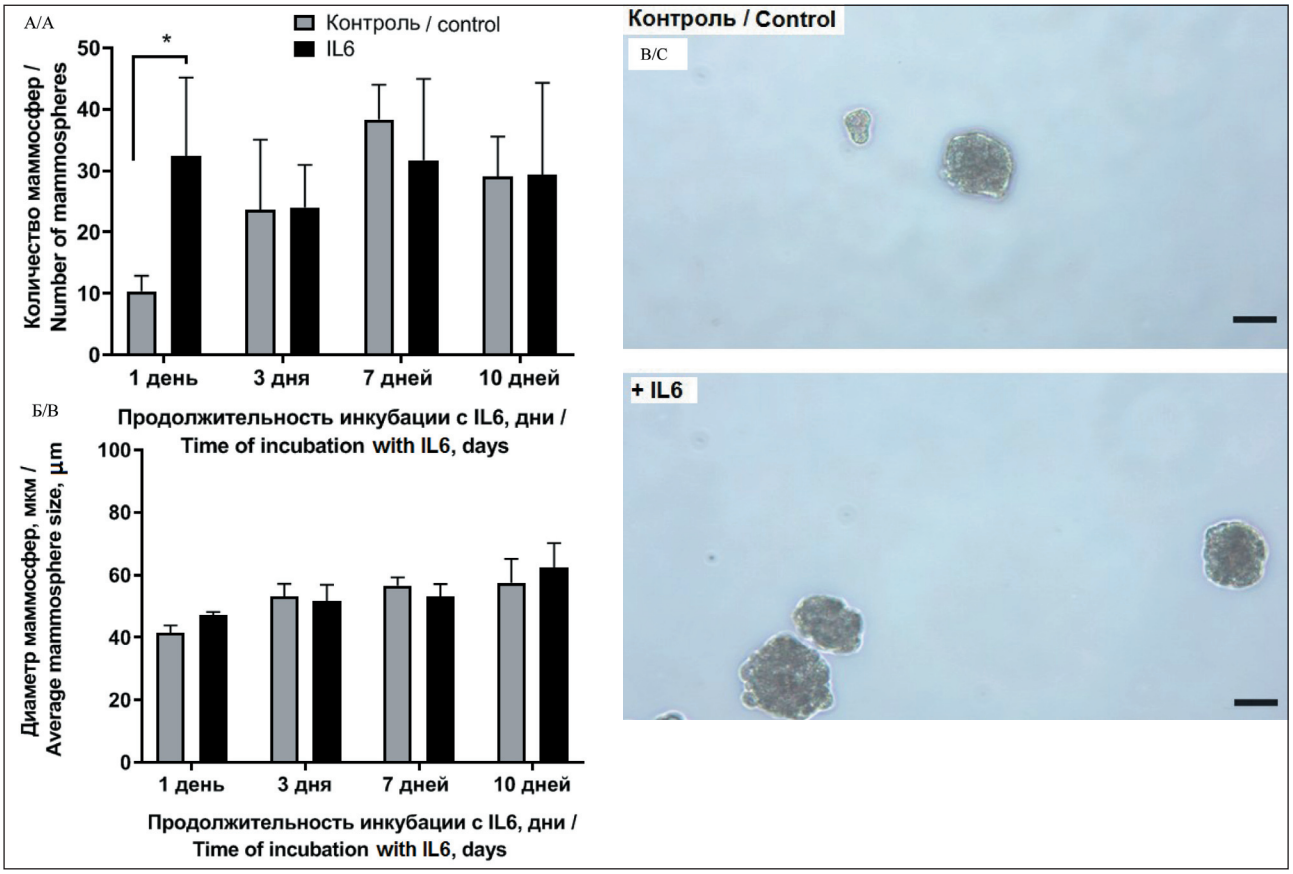


Рис. 5. Влияние продолжительности инкубации после внесения IL6 на способность $CD44^{-}CD24^{+}$ клеток линии T47D к маммосферообразованию: А – количество маммосфер; Б – диаметр маммосфер; В – репрезентативные фотографии маммосфер после инкубации с IL6 в течение 1 сут. Данные представлены как среднее ± SD, n=3. Длина отрезка 20 мкм.
Примечание: * – p<0,05

Fig. 5. The effect of incubation time after IL-6 addition on mammosphere formation by $CD44^{-}CD24^{+}$ cells. A – the number of mammospheres, B – average mammosphere size, C – Representative images of mammosphere formed by the cells after incubation with IL6 for 1 day. Each data point presents the mean and standard deviation of three replicates. Note: * – p-value<0.05

70–80 % конфлюентности и снимали с использованием аккутазы.

Вторая часть эксперимента была направлена на изучение динамики изменения экспрессии поверхностных маркеров и способности к маммосферообразованию $CD44^{-}CD24^{+}$ клеток линии T47D (выделенных методом FACS) при инкубации с индуктором дедифференцировки IL6. Уже через 24 ч инкубации $CD44^{-}CD24^{+}$ клеток наблюдали появление $CD44^{+}$ клеток (рис. 4). При стимуляции IL6 доля $CD44^{+}CD24^{+}$ клеток составила 40,52 ± ± 1,41 % и была выше, чем для клеток без стимуляции (32,44 ± 0,51 %) ($p<0,05$). Популяция опухолевых стволовых клеток $CD44^{+}CD24^{-/low}$ также возрастала по сравнению с исходной линией без сортировки (2,95 ± 0,21 %) и составила 7,76 ± 0,77 % при добавлении IL6 и 7,75 ± 0,69 % без добавления IL6. К 3-м сут доля $CD44^{+}CD24^{+}$ клеток не изменялась как в опытных, так и в контрольных образцах, однако популяция $CD44^{+}CD24^{-/low}$ снижалась по сравнению с 1-ми сут. К 7-м сут инкубации с IL6 процент $CD44^{+}CD24^{+}$ клеток резко снижался и к 10-м сут оставался ниже базального уровня экспрессии, характерного для линии T47D.

Анализ способности дифференцированных клеток образовывать маммосферы показал, что клетки после стимуляции IL6 в течение 24 ч образовывали в 3 раза больше маммосфер (рис. 5) по сравнению с контролем (дифференцированными клетками без добавления IL6). Увеличение продолжительности инкубации клеток с IL6 не влияло на их способность образовывать маммосферы (рис. 5А). В то же время при увеличении времени инкубации клеток в контроле (без добавления IL6) до 7 дней наблюдали тенденцию к увеличению количества образуемых маммосфер, что может быть связано со способностью клеток T47D вырабатывать эндогенный эстроген, который способен стимулировать пролиферацию ESR+ опухолевых клеток линии T47D. Интересно отметить, что $CD44^{-}CD24^{+}$ клетки как при стимуляции IL6, так и без стимуляции образовывали меньше маммосфер, чем клетки исходной линии T47D, что можно объяснить отсутствием ОСК – $CD44^{+}CD24^{-}$. Продолжительность инкубации с IL6 не влияла на диаметр маммосфер (рис. 5Б).

Обсуждение

Полученные результаты об использовании аккутазы как оптимального реагента для снятия клеток линии T47D с поверхности пластика согласуются с данными Y. Quan et al. [14], полученными на линии клеток рака молочной железы MCF7. Важно отметить, что обработка TrypLE приводила к значительной потере CD44 рецепторов на поверхности клеток, тогда как количество CD24 рецепторов не изменялось. Это обусловлено тем, что в структуре CD44 содержится длинный трансмембранный домен, имеющий сайты протеолитического расщепления [15]. В то же время CD24 представляет собой сравнительно небольшой белок, закрепленный в мембране за счет гликозилфосфатидилинозитольного якоря. Известно, что TrypLE является трипсиноподобной протеазой и может воздействовать на сайты протеолитического расщепления CD44. Тогда как в составе аккутазы концентрация протеолитических ферментов ниже, так как их действие реализуется в комбинации с коллагенолитическими ферментами. Использование аккутазы позволяет получить одноклеточную суспензию, необходимую для оценки маммосферообразования, и сохранить рецепторы на поверхности клетки для иммунной сортировки, поэтому является предпочтительным методом для выделения популяции дифференцированных клеток с целью дальнейшего исследования индукторов или блокаторов дедифференцировки.

Влияние цитокинов семейства интерлейкина 6 (преимущественно IL6 и онкостатина M) на дедифференцировку показано в широком спектре исследований. IL6 и онкостатин M способны индуцировать дедифференцировку с образованием ОСК или ОСК-подобных клеток посредством воздействия на сигнальные пути (STAT3, STAT1, ERK1/2, PI3K/AKT) и активации факторов транскрипции (Snail, Twist, Zeb1, Slug, Nrf2) [16]. Однако при проведении экспериментальных исследований ключевым остается вопрос о продолжительности инкубации с индуктором.

Согласно полученным данным, стимуляция дифференцированных ($CD44^{-}CD24^{+}$) клеток линии T47D IL6 уже через 24 ч приводит к появлению новых популяций $CD44^{+}CD24^{+}$ и $CD44^{+}CD24^{-/low}$, т.е. является достаточной для индукции дедифференцировки. Полученные данные хорошо согласуются с результатами N.R. West et al. [17], показавшими, что увеличение количества $CD44^{+}CD24^{-/low}$ клеток линии T47D происходит в течение первых 48 ч стимуляции онкостатином M. Аналогично, на дифференцированных клетках линии HMEC ($CD44^{-}CD24^{+}$) показано, что через 48 ч стимуляции онкостатином M появляются популяции прогениторных $CD44^{+}CD24^{+}$ и стволовых клеток $CD44^{+}CD24^{-}$. Однако поддержание стволового состояния опухолевых стволовых клеток требует постоянного воздействия онкостатином M, в противном случае клетки снова начинают дифференцироваться к исходному фенотипу [18].

Крайне интересным наблюдением является то, что через 7 сут инкубации $CD44^{-}CD24^{+}$ клеток линии T47D происходит резкое сокращение популяции $CD44^{+}CD24^{+}$ ниже базального уровня, характерного для клеток линии T47D. В связи с этим важным представляется изучить их способность восстанавливать популяционный состав, характерный для исходной линии T47D. Наши данные показывают, что, в отличие от онкостатина M [18], длительная инкубация с IL6 приводит к дифференцировке $CD44^{+}$ клеток. Аналогичные результаты опубликованы G. Xie et al. [19]: через 10 дней инкубации $CD44^{-}$ клеток с добавлением IL6 доля $CD44^{+}$ была значительно ниже, чем в исходной линии.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют сократить время индукции стволовой пластичности дифференцированных клеток рака молочной железы с использованием IL6 до 24 ч, а также исключить необходимость проведения дополнительной замены среды и повторного добавления дорогостоящего цитокина для проведения анализа маммосферообразования.

Заключение

Для оценки образования маммосфер после IL6 индуцированной дедифференцировки $CD44^{-}$ клеток линии рака молочной железы человека T47D целесообразным является применение аккутазы для снятия клеток с поверхности пластика. Конфлюентность клеток, используемых для постановки эксперимента, может достигать 80 %. Для стимуляции стволовой пластичности у дифференцированных клеток линии T47D достаточной является их инкубация с IL6 в течение 24 ч.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Fumagalli A., Oost K.C., Kester L., Morgner J., Bornes L., Bruens L., Spaargaren L., Azkanaz M., Schelfhorst T., Beerling E., Heinz M.C., Postrach D., Seinstra D., Sieuwerts A.M., Martens J.W.M., van der Elst S., van Baalen M., Bhowmick D., Vrisekoop N., Ellenbroek S.I.J., Suijkerbuijk S.J.E., Snippert H.J., van Rheenen J.* Plasticity of Lgr5-Negative Cancer Cells Drives Metastasis in Colorectal Cancer. Cell Stem Cell. 2020; 26(4): 569–78. doi: 10.1016/j.stem.2020.02.008.

2. *Hanahan D.* Hallmarks of Cancer: New Dimensions. Cancer Discov. 2022; 12(1): 31–46. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.

3. *Litviakov N., Ibragimova M., Tsyganov M., Kazantseva P., Deryusheva I., Pevzner A., Doroshenko A., Garbukov E., Tarabanovskaya N., Slonimskaya E.* Amplifications of stemness genes and the capacity of breast tumors for metastasis. Oncotarget. 2020; 11(21): 1988–2001. doi: 10.18632/oncotarget.27608.

4. *Bhandary L., Bailey P.C., Chang K.T., Underwood K.F., Lee C.J., Whipple R.A., Jewell C.M., Ory E., Thompson K.N., Ju J.A., Mathias T.M., Pratt S.J.P., Vitolo M.I., Martin S.S.* Lipid tethering of breast tumor cells reduces cell aggregation during mammosphere formation. Sci Rep. 2021; 11(1): 3214. doi: 10.1038/s41598-021-81919-9.

5. *Bailey P.C., Lee R.M., Vitolo M.I., Pratt S.J.P., Ory E., Chakrabarti K., Lee C.J., Thompson K.N., Martin S.S.* Single-Cell Tracking of Breast Cancer Cells Enables Prediction of Sphere Formation from Early Cell Divisions. iScience. 2018; 8: 29–39. doi: 10.1016/j.isci.2018.08.015.

6. *Lombardo Y., de Giorgio A., Coombes C.R., Stebbing J., Castellano L.* Mammosphere formation assay from human breast cancer tissues and cell lines. J Vis Exp. 2015; (97): 52671. doi: 10.3791/52671.

7. *Montales M.T., Rahal O.M., Kang J., Rogers T.J., Prior R.L., Wu X., Simmen R.C.* Repression of mammosphere formation of human breast cancer cells by soy isoflavone genistein and blueberry polyphenolic

acids suggests diet-mediated targeting of cancer stem-like/progenitor cells. Carcinogenesis. 2012; 33(3): 652–60. doi: 10.1093/carcin/bgr317.

8. *Iriondo O., Rábano M., Domenici G., Carlevaris O., López-Ruiz J.A., Zabalza I., Berra E., Vivanco M.* Distinct breast cancer stem/progenitor cell populations require either HIF1α or loss of PHD3 to expand under hypoxic conditions. Oncotarget. 2015; 6(31): 31721–39. doi: 10.18632/oncotarget.5564.

9. *Kessel S.L., Chan L.L.* A High-Throughput Image Cytometry Method for the Formation, Morphometric, and Viability Analysis of Drug-Treated Mammospheres. SLAS Discov. 2020; 25(7): 723–33. doi: 10.1177/2472555220922817.

10. *Gallegos K.M., Patel J.R., Llopis S.D., Walker R.R., Davidson A.M., Zhang W., Zhang K., Tilghman S.L.* Quantitative Proteomic Profiling Identifies a Potential Novel Chaperone Marker in Resistant Breast Cancer. Front Oncol. 2021; 11: 540134. doi: 10.3389/fonc.2021.540134.

11. *Wang D., Naydenov N.G., Dozmorov M.G., Koblinski J.E., Ivanov A.I.* Anillin regulates breast cancer cell migration, growth, and metastasis by non-canonical mechanisms involving control of cell stemness and differentiation. Breast Cancer Res. 2020; 22(1): 3. doi: 10.1186/s13058-019-1241-x.

12. *Ren J., Wang H., Tran K., Civini S., Jin P., Castiello L., Feng J., Kuznetsov S.A., Robey P.G., Sabatino M., Stroncek D.F.* Human bone marrow stromal cell confluence: effects on cell characteristics and methods of assessment. Cytotherapy. 2015; 17(7): 897–911. doi: 10.1016/j.jcyt.2015.03.607.

13. *Vlachou T., Aobuli X., D'Elia E., Santoro A., Moroni M.C., Pelicci P.G.* Quantification of Self-renewal in Murine Mammosphere Cultures. J Vis Exp. 2019; (153). doi: 10.3791/60256.

14. *Quan Y., Yan Y., Wang X., Fu Q., Wang W., Wu J., Yang G., Ren J., Wang Y.* Impact of cell dissociation on identification of breast cancer stem cells. Cancer Biomark. 2012–2013; 12(3): 125–33. doi: 10.3233/CBM-130300.

15. *Zöller M.* CD44: can a cancer-initiating cell profit from an abundantly expressed molecule? Nat Rev Cancer. 2011; 11(4): 254–67. doi: 10.1038/nrc3023.

16. *Abaurrea A., Araujo A.M., Caffarel M.M.* The Role of the IL-6 Cytokine Family in Epithelial-Mesenchymal Plasticity in Cancer Progression. Int J Mol Sci. 2021; 22(15): 8334. doi: 10.3390/ijms22158334.

17. *West N.R., Murray J.I., Watson P.H.* Oncostatin-M promotes phenotypic changes associated with mesenchymal and stem cell-like differentiation in breast cancer. Oncogene. 2014; 33(12): 1485–94. doi: 10.1038/onc.2013.105.

18. *Junk D.J., Bryson B.L., Smigiel J.M., Parameswaran N., Bartel C.A., Jackson M.W.* Oncostatin M promotes cancer cell plasticity through cooperative STAT3-SMAD3 signaling. Oncogene. 2017; 36(28): 4001–13. doi: 10.1038/onc.2017.33.

19. *Xie G., Yao Q., Liu Y., Du S., Liu A., Guo Z., Sun A., Ruan J., Chen L., Ye C., Yuan Y.* IL-6-induced epithelial-mesenchymal transition promotes the generation of breast cancer stem-like cells analogous to mammosphere cultures. Int J Oncol. 2012; 40(4): 1171–9. doi: 10.3892/ijo.2011.1275.

Поступила/Received 15.09.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 08.11.2022
Принята к публикации/Accepted 28.11.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Невская Ксения Владимировна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник центра биологических исследований и биоинженерии центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: nevskayaksenia@gmail.com. SPIN-код: 1405-0472. Researcher ID (WOS): L-7279-2016. Author ID (Scopus): 55865615000. ORCID: 0000-0003-1659-8812.

Ефимова Лина Викторовна, младший научный сотрудник центра биологических исследований и биоинженерии центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5569-5343. Researcher ID (WOS): L-7345-2016. Author ID (Scopus): 57190033913. ORCID: 0000-0002-7168-1419.

Корда Полина Викторовна, студентка медико-биологического факультета, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): AEA-5054-2022. ORCID: 0000-0001-8887-536X.

Долгашева Дарья Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия). SPIN-код: 3580-3460. Researcher ID (WOS): AEC-9454-2022. ORCID: 0000-0002-6763-920X.

Ибрагимова Марина Константиновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; научный сотрудник лаборатории генетических технологий центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Томск, Россия). SPIN-код: 2340-1628. Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.

Меняйло Максим Евгеньевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия). SPIN-код: 6929-4298. Researcher ID (WOS): Q-9605-2016. Author ID (Scopus): 5718343883. ORCID: 0000-0003-4630-4934.

Удут Елена Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1713-8040. Researcher ID (WOS): O-9807-2015. Author ID (Scopus): 6507329853. ORCID: 0000-0002-6104-4782.

Литвяков Николай Васильевич, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; научный сотрудник лаборатории генетических технологий центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2546-0181. Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.

Першина Александра Геннадьевна, кандидат биологических наук, заведующая центром биологических исследований и биоинженерии центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7755-5984. Researcher ID (WOS): C-3053-2015. Author ID (Scopus): 35108090500. ORCID: 0000-0001-7604-9722.

ВКЛАД АВТОРОВ

Невская Ксения Владимировна: культивирование клеток, проточная цитофлуориметрия, анализ полученных данных, подготовка текста публикации.

Ефимова Лина Викторовна: оценка маммосферообразования.
Корда Полина Викторовна: оценка маммосферообразования.
Долгашева Дарья Сергеевна: сбор образцов для клеточного сортинга.
Ибрагимова Марина Константиновна: анализ опубликованной литературы.
Меняйло Максим Евгеньевич: сбор образцов для клеточного сортинга.
Удут Елена Владимировна: научное редактирование текста.
Литвяков Николай Васильевич: анализ опубликованной литературы по теме исследования, научное редактирование текста.
Першина Александра Геннадьевна: разработка дизайна эксперимента, анализ полученных данных, подготовка текста публикации.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение от 29.09.2021 № 075-15-2021-1073).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Ksenia V. Nevskaya, MD, PhD, Researcher at the Center for Biological Research and Bioengineering of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). E-mail: nevskayaksenia@gmail.com. Researcher ID (WOS): L-7279-2016. Author ID (Scopus): 55865615000. ORCID: 0000-0003-1659-8812.
Lina V. Efimova, Junior Researcher at the Center for Biological Research and Bioengineering of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): L-7345-2016. Author ID (Scopus): 57190033913. ORCID: 0000-0002-7168-1419.
Polina V. Korda, Student, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AEA-5054-2022, ORCID: 0000-0001-8887-536X
Daria S. Dolgasheva, Junior Researcher at the Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AEC-9454-2022. ORCID: 0000-0002-6763-920X.
Marina K. Ibragimova, PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Researcher of the Laboratory of Genetic Technologies of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.
Maksim E. Menyailo, MD, PhD, Researcher at the Laboratory of Biology of Tumor Progression, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): Q-9605-2016. Author ID (Scopus): 5718343883. ORCID: 0000-0003-4630-4934.
Elena V. Udut, MD, Professor, Head of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): O-9807-2015. Author ID (Scopus): 6507329853. ORCID: 0000-0002-6104-4782.
Nikolai V. Litvyakov, DSc, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Researcher of the Laboratory of Genetic Technologies of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.
Alexandra G. Pershina, PhD, Head of the Center for Biological Research and Bioengineering of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-3053-2015. Author ID (Scopus): 35108090500. ORCID: 0000-0001-7604-9722.

AUTHOR CONTRIBUTION

Kseniya V. Nevskaya: cell culture, flow cytometry, data analysis, manuscript preparation.
Lina V. Efimova: mammosphere formation assay.
Polina V. Korda: mammosphere formation assay.
Daria S. Dolgasheva: collection of samples for cell sorting.
Marina K. Ibragimova: literature analysis.
Maxim E. Menyailo: collection of samples for cell sorting.
Elena V. Udut: manuscript preparation and editing.
Nikolay V. Litviakov: manuscript preparation and editing.
Alexandra G. Pershina: concept and design of the study, manuscript preparation and editing.

Funding

The study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement № 075-15-2021-1073, 29.09.2021).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-68-80
УДК: 618.19-006.6:612.1

Для цитирования: *Федоров А.А., Простакишина Е.А., Патышева М.Р., Фролова А.А., Ямщиков П.С., Ларионова И.В., Стахеева М.Н., Дорофеева М.С., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л., Кжышковска Ю.Г., Чердынцева Н.В.* Изменение функционального профиля моноцитов крови при раке молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 68–80. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-68-80
For citation: *Fedorov A.A., Prostakishina E.A., Patysheva M.R., Frolova A.A., Iamshchikov P.S., Larionova I.V., Stakheyeva M.N., Dorofeeva M.S., Bragina O.D., Choynzonov E.L., Kzhyshkowska J.G., Cherdyntseva N.V.* Changes in blood monocyte functional profile in breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 68–80. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-68-80

CHANGES IN BLOOD MONOCYTE FUNCTIONAL PROFILE IN BREAST CANCER

A.A. Fedorov[1], E.A. Prostakishina[2], M.R. Patysheva[1,2], A.A. Frolova[1,2], P.S. Iamshchikov[1,2], I.V. Larionova[1,2], M.N. Stakheyeva[1], M.S. Dorofeeva[2], O.D. Bragina[1], E.L. Choynzonov[1], J.G. Kzhyshkowska[2], N.V. Cherdyntseva[1,2]

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. E-mail: patysheva_mr@onco.tnimc.ru[1]
5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia[1]
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia[2]
36, Lenina St., 634050, Tomsk, Russia[2]

Abstract

The purpose of the study was to identify functional features of circulation monocytes in patients with non-metastatic breast cancer. **Material and Methods.** The study cohort consisted of 10 breast cancer patients treated at Tomsk Cancer Research Institute. 7 healthy female volunteers were enrolled as a control group. CD14+16-, CD14+16+ and CD14-16+ monocytes subsets were obtained from blood by sorting. Whole transcriptome profiling was provided in monocytes from patients and healthy females. Macrophages were differentiated from the obtained monocytes under *in vitro* conditions. The ability of conditioned media obtained from macrophages to influence apoptosis and proliferation of MDA-MB 231 cell line was evaluated. **Results.** Transcriptomic profiling revealed significant changes in monocytes of breast cancer patients. CD14+16- subset showed higher expression of transporters ABCA1 and ABCG1; chemokines CCR1, CRRL2, CXCR4; maturation and differentiation factors Mafb and Jun; endocytosis mediating factors CD163 and Siglec1; proteases and tetrasponins ADAM9, CD151, CD82, and growth factor HBEGF in patient group. Macrophages derived from monocytes of breast cancer patients produced factors that supported proliferation of the MDA-MB 231 cell line, which was not observed for monocytes from healthy volunteers. **Conclusion.** Thus, breast carcinoma has a systemic effect on peripheral blood monocytes, programming them to differentiate into macrophages with tumor supporting capacity.

Key words: monocytes, tumor-associated macrophages, breast cancer, transcriptome, RNA sequencing.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ МОНОЦИТОВ КРОВИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.А. Федоров[1], Е.А. Простакишина[2], М.Р. Патышева[1,2], А.А. Фролова[1,2], П.С. Ямщиков[1,2], И.В. Ларионова[1,2], М.Н. Стахеева[1], М.С. Дорофеева[2], О.Д. Брагина[1], Е.Л. Чойнзонов[1], Ю.Г. Кжышковска[2], Н.В. Чердынцева[1,2]

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия. E-mail: patysheva_mr@onco.tnimc.ru[1]
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5[1]
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия[2]
Россия, 634050, г. Томск, ул. Ленина, 36[2]

Патышева Марина Ринатовна, patysheva_mr@onco.tnimc.ru

Аннотация

Цель исследования – оценить особенности функционального профиля моноцитов периферической крови у больных неметастатической формой рака молочной железы. **Материал и методы.** В исследование вошли 10 больных раком молочной железы II–III стадии (T1–3N0–2M0). В качестве контроля была обследована группа из 7 здоровых женщин. Моноциты были получены из периферической крови путем сортировки популяций с фенотипом CD14+16-, CD14+16+ и CD14-16+. Проведено полнотранскриптомное профилирование полученных моноцитов от больных раком молочной железы и здоровых женщин. Из полученных моноцитов *in vitro* были дифференцированы макрофаги. Проведена оценка способности полученных от макрофагов кондиционных сред влиять на апоптоз и пролиферацию клеток линии MDA-MB 231. **Результаты.** Показано, что транскриптомный профиль моноцитов больных РЖЖ имеет выраженные отличия по сравнению со здоровыми женщинами. Моноциты пациенток с раком молочной железы отличаются повышенной экспрессией мРНК белков-транспортеров ABCA1, ABCG1; хемокинов CCR1, CRRL2, CXCR4; факторов созревания и дифференцировки моноцитов Mafb и Jun; факторов, опосредующих эндоцитоз CD163, Siglec1; протеаз и тетраспонинов ADAM9, CD151, CD82 и ростового фактора HBEGF. Макрофаги, полученные в результате культивирования моноцитов больных раком молочной железы в условиях *in vitro*, продуцировали факторы, которые позволили поддерживать пролиферацию клеточной линии опухолевых клеток, чего не наблюдалось для моноцитов здоровых доноров. **Заключение.** Опухоль молочной железы оказывает системное влияние на моноциты периферической крови, программируя их к дифференцировке в макрофаги с проопухолевой функциональной активностью.

Ключевые слова: моноциты, опухолеассоциированные макрофаги, рак молочной железы, раскриптом, РНК-секвенирование.

Introduction

The immune response to cancer differs from the immune response to viruses and pathogenic microorganisms, due to the fact that tumor cells are not appear to be alien to the patient's body [1]. Cancer cells possess mechanisms that allow them, in addition to evading immune surveillance, to use cells of the immune system to support its growth and development. The tumor microenvironment is able to attract circulating monocytes, which can differentiate into tumor-associated macrophages (TAM) and form an inflammatory infiltrate [2]. Monocyte differentiation into a specific cell type with antitumor or protumor activity is a critical event for the clinical course of disease and increasing therapy effectiveness [3, 4].

Monocytes and macrophages are important components of innate immunity, as they are involved in maintaining tissue homeostasis [3, 5]. Monocytes are a population of circulating white blood cells that enter the blood from the bone marrow. They have the ability to phagocytize, present antigens, secrete chemokines or cytokines, and differentiate depending on tissue microenvironment stimuli [2]. Despite their wide range of functions, monocytes are considered immature immune cells [5]. When ingested into tissues, monocytes are able to differentiate into macrophages, dendritic cells, and suppressor cells of myeloid origin. According to the classification adopted in 2010, the blood monocyte population is divided into three subpopulations depending on the expression of CD14 (one of the components of bacterial wall lipopolysaccharide receptor complex), and CD16 (FcyRIII, a membrane protein of the immunoglobulin superfamily) [6]. There are 3 monocyte subsets: CD14+16-classical, CD14+16+ intermediate, and CD14-16+ non-classical. The percentage of classical, intermediate and non-classical monocytes was 80–90 %, 10–15 % and 2–5 %, respectively [6]. The contribution of each subpopulation to cancer pathogenesis has not yet been elucidated and needs to be studied. The tumor can influence both the cell differentiation and changes in the phenotype of monocytes. The acquisition of immunosuppressive activity is the most common cancer-induced phenotypic change in human peripheral blood monocytes [7]. Typically, this phenomenon coincides with suppression of the MHC class II surface protein HLA-DR, a key mediator of antigen presentation, which is also highly expressed on monocytes of healthy individuals [8, 9].

Among the approaches that are available to resolve questions concerning phenotypic and functional monocyte heterogeneity, gene expression studies are may be particularly valuable [10, 11]. Microarray analysis and next-generation RNA sequencing allow the relative quantification of gene expression. The development of genetic sequencing technology has provided opportunities for a comprehensive study of phenotypic and functional differences between recognized immune cell subtypes, as well as the possibility of identifying new cell subpopulations [11]. The identification of differentially expressed genes in the studied immune cells and monocytes allows comparisons between different cell populations or within the same cell population isolated under different conditions [10, 12]. Microarray analysis is a powerful tool for predicting the functional cell profile. *In vitro* experiments are also important to validate functional predictions based on gene expression data [10]. Thus, the study of circulating monocytes in cancer patients using high-tech research methods is of great importance.

The purpose of the study was to identify functional features of circulation monocytes in patients with non-metastatic breast cancer.

Material and Methods

The study group included 10 female patients aged 35 to 64 years with stage II–III and T1–3N0–2M0 breast cancer (BC). The diagnosis was verified morphologically. All patients had an invasive breast carcinoma of no special type. The molecular subtype of the tumor was determined as part of standard pathology protocols. The distribution of molecular subtypes among patients with breast cancer was as follows: 6 patients with luminal breast cancer type B, and 4 patients with triple-negative breast cancer (TNBC). Patients received 6–8 courses of neoadjuvant chemotherapy doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel or taxotere in accordance to the Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up 2015". All patients were undergoing surgical treatment, radiotherapy, and an adjuvant chemotherapy after neoadjuvant chemotherapy. Whole blood samples were obtained from the healthy volunteers and patients before any treatment procedures. The control group included 7 healthy females aged 37 to 56 years. The study was approved by the ethics committee of the Cancer Research Institute of the Tomsk National Research Medical Center and complied with the Helsinki Declaration of 1964. All patients signed an informed consent to participate in the study.

Assessment of the monocyte functional potential *in vitro*

The stimulation system of primary human macrophages derived from peripheral blood monocytes was used as a model of tumor-associated macrophages (TAMs) [13]. Monocytes were isolated from venous blood using CD14-positive magnetic separation according to the protocol of Myltenyi Biotec (Germany) with an isolation purity of at least 90 % of CD14+ cells. Monocytes obtained from BC patients and healthy donors were cultured for 6 days at the concentration of $1x10^6$ cells/ml in X-Vivo-10 serum-free media (Lonza, Germany) in an optimally selected concentration of the macrophage colony-stimulating factor M-CSF (10 ng/ml) at 37 °C and 7,5 % CO_2. After 6 days of cultivation, conditioned media from the obtained macrophages were selected, filtered through filters with a low protein binding ability. The resulting conditioned media samples were stored at -80°C for no more than 6 months. Before use, the conditioned media were removed from the storage system and thawed at +40°C for 4 hours.

The BC cell line MDA-MB 231 (Russian Collection of Vertebrate Cell Cultures, Institute of Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg) was used as targets. MDA-MB 231 cells were cultured in DMEM medium (PanEco, Russia) with 10 % FCS (BioSera, France), 1 % penicillin, and gentamicin at 37°C and 5.0 % CO_2 until confluence was reached.

Assessment of monocyte conditioned media influence on apoptosis and proliferation of breast cancer cells

To detect the apotosis-inducing ability, confluent MDA-MB 231 cells were supplemented with conditioned media in a volume of 20 % of culture medium total volume. Next, the cells were incubated for 48 hours at 37 °C and 5.0 % CO_2. For the apoptosis analysis, cells were removed with trypsin (PanEco, Russia) and stained for 10 min with FITC-labeled annexin-V and propidium iodide (Biolegend, USA). Fluorescently labeled annexin-V and propidium iodide were evaluated using a CytoFLEX flow cytometer (Beckman Coulter, USA) using standard protocols. The stage of early apoptosis, late apoptosis and necrosis was assessed based on the combination of annexin-V gates and propidium iodide. Data were visualized and analyzed using CytExpert Software 2.0.

To study the conditioned media effect on proliferation, tumor cells were transplanted onto specialized chips of the RTCA iCELLigence system (ACEA Biosciences, Japan). Conditioned media were 20 % of culture medium total volume. A well with MDA-MB 231 cells supplemented with 20 % X-Vivo-10 culture medium (Lonza, Germany) was used as a control. The proliferation of MDA-MB 231 cells of each sample was continuously detected and displayed as graphs in real time for 72 hours. The proliferation index (PI) was calculated and the data were visualized using the RTCA Software Lite software (ACEA Biosciences, Japan).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Statistica version 10 for Windows (StatSoft Inc). Variable distribution was presented as mean ± Standard Deviation (SD). Normal distribution was confirmed using the Kolmogorov Smirnov test for *in vitro* studies. The Student t test was used to detect significant differences between two groups to apoptosis and proliferation analysis via vitro tests.

Next generation sequencing and bioinformatics data analysis

To analyze the transcriptome of monocytes, the peripheral blood of patients with breast cancer and healthy women was used. The fraction of peripheral blood mononuclear cells was obtained from the blood on the Ficoll density gradient (1.077 g/cm^3). Next, monocytes of the classical (CD14+16-), intermediate (CD14+16+), and non-classical (CD14-16+) subpopulations were isolated for the sequencing using flow cytometric sorting. The panel of conjugated monoclonal antibodies against CD45, CD56, CD14, CD16, and 7-AAD markers was used (Table 1).

Table 1/Таблица 1

Panel of antibodies used to sort monocytes from peripheral blood

Панель антител, используемых для сортировки моноцитов из периферической крови

Antibodies, dyes/ Антитела, красители	Clone/ Клон	Isotype/ Изотип	Manufacturer/ Производитель
CD45 – APC-Cy7	2D1	Mouse IgG_1, κ	BD Bioscience
CD56 – PE-Cy7	CMSSB	Mouse / IgG1, κ	eBioscience, Thermo Fisher Scientific
CD14 – FITC	M5E2	Mouse IgG2a, κ	BD Bioscience
7-AAD			BD Bioscience

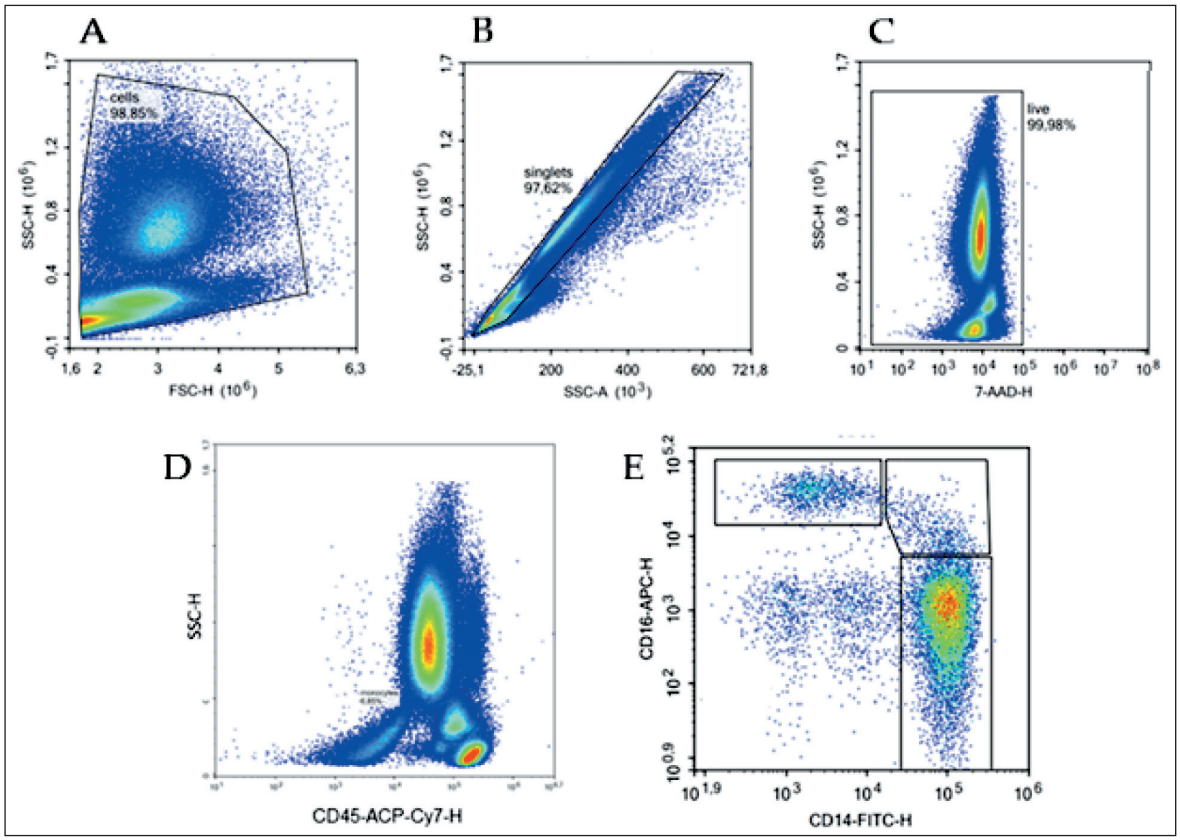


Fig. 1. Flow cytometry gating strategy for identifying monocyte subpopulations: A – leukocyte gate isolation based on forward and side light scatter; B – singlet cell isolation; C – living cells isolation based on 7-AAD staining; D – isolation of monocyte pool of among CD45+ cells; E – isolation of the gate of classical (CD14+16-), intermediate (CD14+16+), and non-classical (CD14-16+) monocytes. Sorting of subpopulations of interest was based on these gates

Рис. 1. Цитофлуориметрическая стратегия гейтирования для идентификации субпопуляций моноцитов: A – выделение гейта лейкоцитов на основе прямого и бокового светорассеивания; B – выделение синглетных клеток; C – выделение живых клеток на основе окрашивания 7-AAD; D – выделение пула моноцитов среди клеток CD45+; E – выделение гейта классических (CD14+16-), промежуточных (CD14+16+) и неклассических (CD14-16+) моноцитов. Сортировка субпопуляций интереса проходила на основе этих гейтов

Samples were analyzed on a MoFlo XDP cell sorter (Beckman Coulter, USA). The target subpopulation for sorting was characterized by the parameters 7-ADD-CD45+CD56-CD14+16- (Fig. 1).

Monocyte sorting was carried out in the Purify 1–2 mode. The sorting efficiency in this mode was 70 %, and the purity of the target population was 98–99 %. At least 600 thousand cells of the target subpopulation were sorted into RLT lysis buffer (Qagen, Germany). Then, total RNA was isolated from the resulting lysate in no more than 60 min using RNAeasy mini kit plus (Qagen, Germany) according to the manufacturer's protocol. The quality of the obtained RNA was assessed using a TapeStation 4150 automated capillary electrophoresis station (Agilent Technology, USA). The RNA integrity index – RIN was 8.5–9.9. Samples of total RNA were stored at -80°C until the next work stage, excluding freezing and thawing stages.

The full transcriptome profile of monocytes was determined with massively parallel sequencing. Libraries for mass parallel sequencing were prepared using the NEXT flex Rapid Directional qRNA-SeqKit kit and the NEXTflex-qRNA-8nt-Barcodes single-ended index kit according to the standard protocol (Perkin Elmer, USA). Ribosomal RNA depletion was performed using the NEBNext® rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat) (New England Bilab, USA). The prepared libraries were pooled, and sequencing was performed on the

NextSeq500 platform (Illumina, USA) with a set of reagents for single-ended reading 1x75 (single read). The number of cycles was 50. As a result, each library had an average of about 5 million reads.

Reads were mapped onto the genome using the STAR 2.5 program [14], The GRCh38 genomic assembly and GENCODE.R34 annotations were used as a reference. After mapping, data obtaining on the number of mapped reads to individual genes was performed using the QoRTs program [15]. After this stage, using the DESeq2 software package, which is part of the R medium, data were obtained on the differential gene expression between the control and experimental groups. Principal component analysis (PCA) also was applied to dimension reduction and assess which patient samples differed from the healthy group. To describe the differential gene expression in monocytes of BC patients compared to monocytes of healthy persons, was used the $\log_2$ of the gene expression difference between comparison groups (2logFoldChange). Using the Enrichr software package [16], enrichment was carried out for biochemical and regulatory pathways using lists of genes ranked by expression level (log2FoldChange) and p-value. The Hallmark gene sets, Reactome, KEGG, and GO databases were used for the experiment. The associations of differentially expressed genes were determined with the STRING database [17]. The data were visualized using the Enrichr and Phantasus programs [18], as well as the R environment tools.

Results

Influence of conditioned media obtained *in vitro* by monocyte cultivation on proliferation and apoptosis of breast cancer cells

The study of monocyte functional potential was carried out using a model system in which monocytes isolated from peripheral blood were transformed into macrophages under *in vitro* conditions under the influence of M-CSF. The conditioned media obtained by macrophage culturing were added to MDA-MB 231 breast cancer cells line. Then their effect on the MDA-MB 231 BC cells proliferation and apoptosis was evaluated.

Apoptosis evaluation of target cells cultured with conditioned macrophage media using the flow cytometry method did not reveal a significant effect of factors produced by macrophages on the death of tumor cells (Table 2). This fact was noted both for a group of macrophages obtained from healthy individuals and from patients with breast cancer (Table 2).

However, the effects of the conditioned media of induced macrophages on the proliferative activity of the MDA-MB 231 tumor line were different for patients with breast cancer and for the group of healthy individuals (Fig. 2). To detect the proliferation ability of target cells, the proliferation index (PI) was calculated. PI is the ratio of indicators of the cell proliferation level in wells with conditioned media to the well indicators. Cell cultivation was carried out under standard conditions.

In the group of healthy women, PI was below sample proliferation baseline and amounted to 3.81 ± 0.047 conventional units (Fig. 2A, B). Conditioned media was not added. PI during tumor cells co-cultivation with macrophage conditioned media of BC patients did not differ from the baseline and was equal to 4.28 ± 0.45 conventional units, which exceeded the PI index of the healthy group with p=0.008 (Fig. 2A, B).

No difference in proliferative activity between macrophages of patients with triple-negative breast cancer and macrophages of patients with type B luminal breast cancer was found (proliferation indexes were 4.0 ± 0.17 and 4.0 ± 0.43, respectively, p=0.642). Thus, the ability of conditioned media obtained from BC patient macrophages to support tumor cells proliferation under *in vitro* conditions was observed. It is notable that the molecular subtype has no pronounced effect on circulating monocytes in the blood. It was suggested that luminal B and triple-negative BC patient monocytes could have transcriptional programs caused by the breast tumor presence and activated upon differentiation into macrophages. To test the hypothesis, transcriptome study of BC patient monocytes was carried out in comparison with healthy women monocytes.

Influence of breast cancer on the transcriptome landscape of monocytes

A transcriptome profile is a set of genes that are expressed in cells at specific times and characterize the biological processes occurring in them. To characterize peripheral blood monocytes, the complete transcriptomic profile of these cells was assessed using massively parallel sequencing in a group of BC patients and healthy women. The transcriptome of CD14+16- breast cancer monocytes was shown to dif-

Table 2/Таблица 2

Results of MDA-MB 231 cell line apoptosis under the influence of macrophage conditioned media in BC patients and healthy individuals

Результаты апоптоза клеток линии MDA-MB 231 под влиянием кондиционных сред макрофагов больных РМЖ и здоровых лиц

Apoptosis phase/ Фаза апоптоза	Group of BC patients/ Группа больных РМЖ	Control group/ Группа контроля	p-value
Initial phase/Начальная	1,5 ± 0,3 %	2,5 ± 0,6 %	0,341
Final phase/Финальная	1,8 ± 0,6 %	2,1 ± 0,4 %	0,763

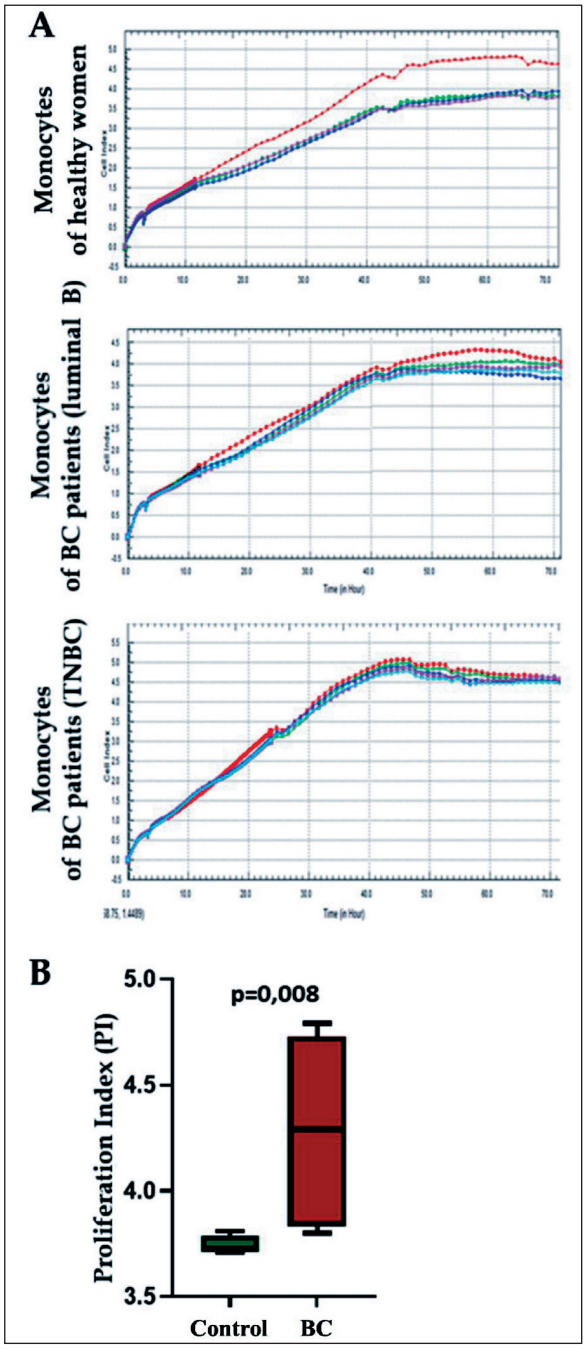


Fig. 2. Influence of macrophage conditioned media of healthy women and breast cancer (BC) patients on MDA-MB 231 cell line proliferation: A – dynamics of changes within 72 hours of MDA-MB 231 cells proliferative activity under the influence of conditioned media obtained from the studied macrophages (red line – sample without the addition of conditioned media, blue, green and crimson line – samples with the addition of conditioned media); B – proliferative index of target cells in BC patient group compared with the control group

Рис. 2. Влияние кондиционных сред макрофагов здоровых женщин и пациенток с РМЖ на пролиферацию клеток линии MDA-MB 231: А – динамика изменения в течение 72 ч пролиферативной активности клеток линии MDA-MB 231 под влиянием кондиционных сред, полученных от макрофагов исследуемых (красная линия – образец без добавления кондиционных сред, синяя, зеленая и малиновая линия – образцы с добавлением кондиционных сред); В – пролиферативный индекс клеток-мишеней в группе больных по сравнению с группой контроля

fer from that of healthy women monocytes. The group of BC patient samples was located separately from a group of healthy volunteer's samples on a PCA plot (Fig. 3A). PCA reveals that the top 2 principal components (PCs) account for 63 % of the total variance, with the first component (PC1) alone accounting for 53,5 % of the variance and showing clear separation between the BC and healthy samples (Fig. 3A).

In breast cancer patients, there was a significant difference in the transcriptome profile between CD14+16- and CD14+16+/CD14-16+monocyte subpopulations. However, no significant difference in the transcriptome profile between CD14+16+ and CD14-16+monocyte subpopulations was found. (Fig. 4 A). In healthy women, no differences between monocyte subpopulations were observed (Fig. 4 B). For breast cancer patients, it is noteworthy that a comparison of the expression of individual genes in each subpopulation revealed a decrease in the level of transcripts of the *S100A8* and *S100A9* genes in CD14+16- (Fig. 4C).

Verification of tissue specificity according to the set of differentially expressed genes using the Jensen tissues database (18) showed that the profile of the detected genes matched the signature of blood monocytes (Fig. 3B). Further gene expression difference analysis with p-value≤0.01 and log2FoldChange≥0.75 showed that patient monocytes were characterized by an increased expression of genes for *ABCA1*, *ABCG1* transporter proteins, *CCR1*, *CRRL2*, *CXCR4* chemokines, *HBEGF* growth factor, *MAFB* and *JUN* factors of maturation and monocyte differentiation, factors mediating endocytosis *CD163*, *Siglec1,* proteases and tetrasponins *ADAM9*, *CD151*, *CD82*, receptors (Fig. 3C). A comprehensive assessment of transcript functional interactions using the STRING database revealed that the most likely factors that ensure tumor cells proliferation can be heparin-binding epidermal growth factor (*HBEGF*), proteases, and *ADAM9*, *CD151*, *CD82* tetrasponins (Fig. 3D) (16). The set of activated signaling pathways typical for patient monocytes was represented by processes characteristic of the immune response, signaling pathways associated with interferons, and the process of neutrophil degranulation. (Fig. 3E).

Discussion

The main function of monocytes in malignant neoplasms is to replenish the pool of tumor-associated macrophages, dendritic cells, and myeloid suppressor cells [2]. It is known that monocytes differentiate into tissues under the influence of autocrine stimuli [19]. Currently, it is assumed that monocytes can have certain transcriptome programs mediated by the tumor presence at the stage of bloodstream circulation [9, 20, 21]. Cancer, as a systemic disease, can affect monocytes at the progenitor level, in circulation, and also during the monocyte migration into tissue [7, 22]. In general, an increased number of peripheral blood monocytes in cancer has been described for

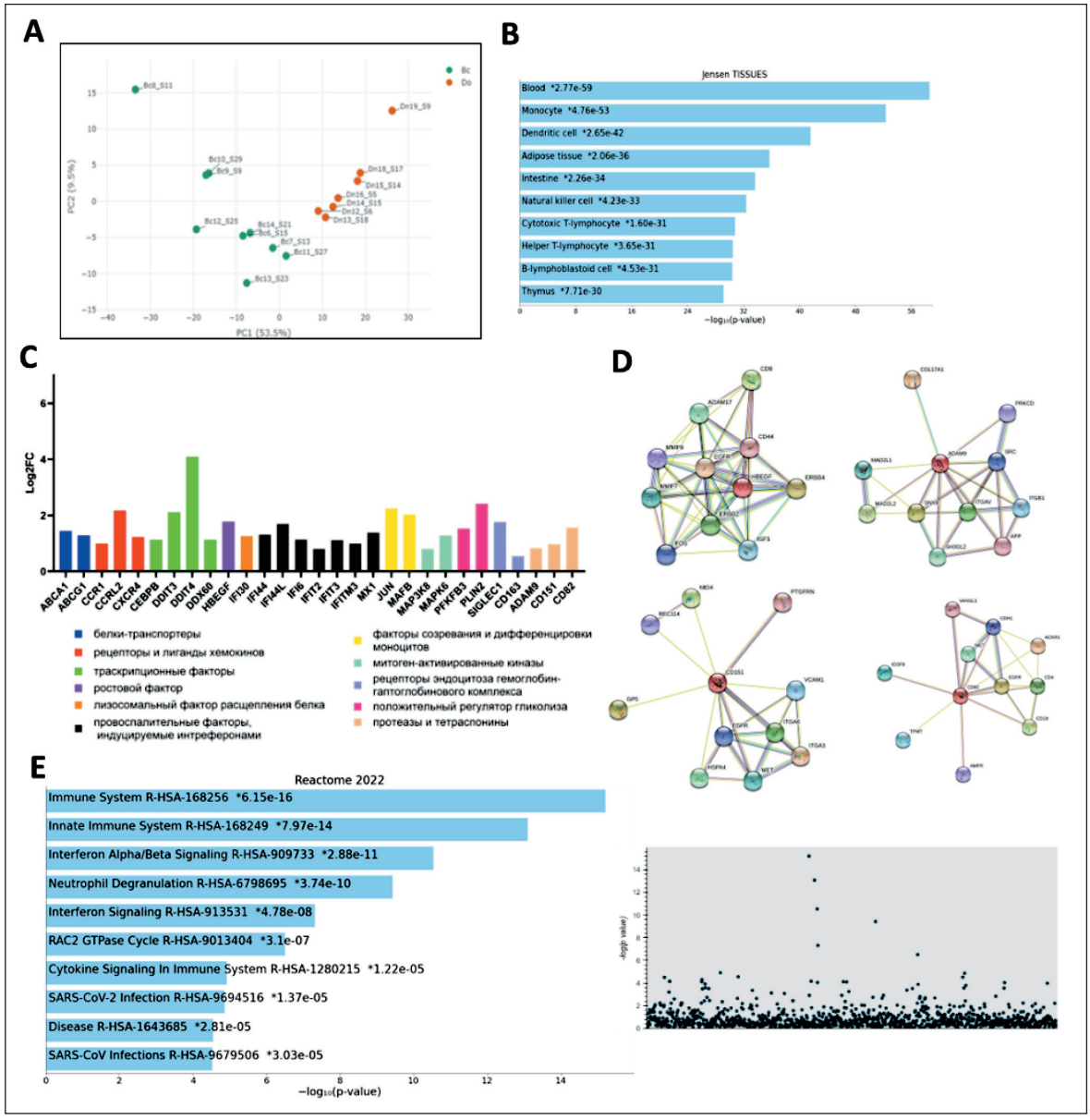


Fig. 3. Transcriptome features of CD14+16- monocytes of BC patients (n=9) in comparison with a group of healthy women (n=7): A – comparison of the transcriptome of monocytes of BC patients and healthy ones using the method of principal components; B – assessment of the tissue affiliation of study objects; C – groups of genes with increased expression in patient monocytes; D – functional associations characteristic of the *HBEGF*, *ADAM9*, *CD151*, and *CD82* genes with increased expression in monocytes of patients; E – signaling pathways characterizing the biological processes of monocytes in BC patients are presented in the form of a histogram and a Manhattan plot

Рис. 3. Особенности транскриптома CD14+16- моноцитов больных РМЖ (n=9) в сравнении с группой здоровых женщин (n=7): A – сравнение транскриптома моноцитов больных РМЖ и здоровых с помощью метода главных компонент; B – оценка тканевой принадлежности исследуемых объектов; C – группы генов с повышенной экспрессией в моноцитах больных; D – функциональные ассоциации, характерные для генов HBEGF, ADAM9, CD151, CD82 с повышенной экспрессией для моноцитов больных; E – сигнальные пути, характеризующие биологические процессы моноцитов больных РМЖ, представлены в виде гистограммы и манхеттен-плота

both humans and laboratory animals [7, 23]. In most carcinomas, monocyte activity is most likely aimed at the tumor support. Thus, patients with the higher monocyte levels in blood have a worse prognosis for pancreatic cancer, gastric cancer, ovarian cancer, and prostate cancer [23–26]. The search for mechanisms of switching the functional activity of monocytes towards antitumor immune response activation is a promising task of cancer immunology.

It is known that TAMs are essential components of the tumor microenvironment [19, 27]. It has been shown that the functional polarization of TAM is aimed at the tumor supporting in the overwhelming majority of BC cases [4, 28]. Thus, the typical M2-type TAM markers are associated with poor prognosis [22, 29–31]. Like all tissue macrophages, TAM have a certain level of heterogeneity and the ability to adapt their phenotype under the influence of growth

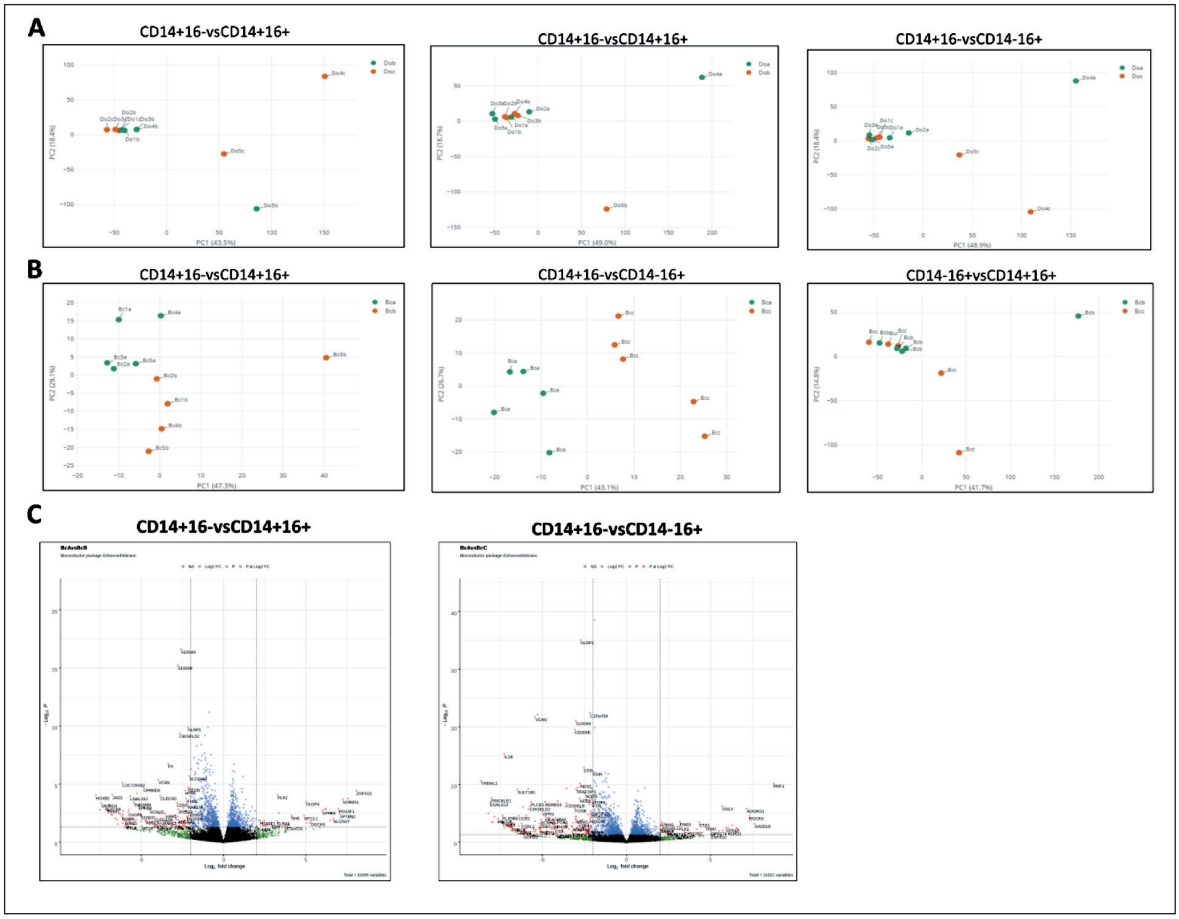


Fig. 4. Differences in transcriptome between CD14+16- (DoA), CD14+16+ (DoB), and CD14-16+ (DoC) monocyte subpopulations in healthy women, n=5 (A) and CD14+16- (Bca), CD14-16+ (Bcc), and CD14+16+ (Bcb) monocyte subpopulations in patients with breast cancer, n=5 (B); C – differential gene expression in CD14+16- (BcA) subpopulation compared with CD14-16+ (BcB) and CD14+16+ (BcC) monocyte subpopulations in BC patients

Рис. 4. Различия в транскриптоме между субпопуляциями моноцитов CD14+16- (DoA), CD14+16+ (DoB) и CD14-16+ (DoC) у здоровых женщин, n=5 (A) и CD14+16- (Bca), CD14-16+ (Bcc) и CD14+16+ (Bcb) у больных РМЖ, n=5 (B); C – дифференциальная экспрессия генов в субпопуляции CD14+16- (BcA) по сравнению с CD14-16+ (BcB) и CD14+16+ (BcC) у больных РМЖ

factors and cytokines produced by tumor cells [32]. TAMs, in turn, secrete growth factors, cytokines, and extracellular matrix components that support tumor progression and increase its malignant potential [20, 33]. Since monocytes are the main plastic resource of tissue OAM, it is important in which direction and how quickly monocytes will differentiate into OAM. In this work, it was shown that monocytes from breast cancer patients differentiated into macrophages, which produced inducers capable of supporting the BC cell line growth. However, the components of conditioned macrophage media obtained from healthy women monocytes reduced the proliferation rate of the breast cancer cell line. Thus, it was noted that monocytes of BC patients, in contrast to healthy individuals, differentiated into macrophages with possible protumor functional activity. A similar observation was shown *in vitro* modeling of triple-negative breast cancer. In that situation, the macrophage introduction into the model increased the tumor cell proliferation [34]. In our study, we found no differences for groups with luminal B and triple negative molecular subtypes. There were no differences in the effect of these two subtypes on the ability of monocyte-derived macrophages to produce proliferation inductors to the MDA-MB 231 cell line. Circulating monocytes are likely susceptible to breast carcinoma without a pronounced effect of the molecular subtype.

To clarify the possible mechanisms of breast tumor influence on circulating monocytes, we studied the transcriptome profile of CD14+16-, CD14+16+, and CD14-16+ monocytes in breast cancer. It should be noted that only in the group with breast cancer, CD14+16- monocytes significantly differed from CD14+16+ and CD14-16+ subpopulations, and were characterized by a decrease in the expression of *S100A8* and *S100A9* genes. Previously, it was shown that a decrease in *S100A8* and *S100A9* production corresponded to extravasation phase of monocytes and neutrophils [35, 36]. A similar phenomenon is associated with the monocyte differentiation into tissue macrophages and dendritic cells [36–38]. Consequently, the monocytes circulating in the peripheral blood of BC patients are prepared for the differentiation phase. It distinguishes them from healthy people monocytes. Thus, the CD14+16- subpopulation may represent a

resource for replenishing the TAM pool in the BC group. According to the obtained results, the presence of breast cancer affects the CD14+16 cell transcriptome. In breast cancer, the expression of *CXCR4*, *CCR1*, and *CCRL2* components of the receptor-ligand complex, which are specific to the stages of monocyte migration into tissues, is increased [39, 40]. It should be noted that patient monocytes contain an increased content of *CD163* and *SIGLEC1* transcripts which indicate the differentiation into M2-like macrophages [19, 20, 41]. In addition, the expression of *MAFB* and *JUN* factors increased in monocytes of the BC group. These factors indicate the monocyte maturation and differentiation into macrophages [42, 43]. The transcriptomic profile of BC patient monocytes indicated a more pronounced readiness for differentiation into macrophages, compared with the normal physiological state of monocytes.

Due to the fact that conditioned media derived from differentiated monocytes supported tumor growth, the research focused on finding monocytic factors that could support or stimulate malignant cell proliferation. According to the obtained data, monocytes have an increased level of expression of *HBEGF* in breast cancer. *HBEGF* is an important ligand of the epidermal growth factor receptor (*EGFR)*. It is noted that HBEGF is a key progression factor in liver, colon, skin, prostate, bladder, and breast tumors [44–46]. It is known that M2-type macrophages secrete higher levels of *HBEGF* compared to M1-type macrophages. By releasing HBEGF, M2 macrophages induce the proliferation of ovarian cancer cells [47]. It has been shown that *HBEGF* is co-expressed with oncostatin M in TAM of breast carcinoma patients, and both ligand plasma levels are strongly correlated [45]. An increase in HBEGF level accompanied TAM infiltration, tumor growth, and tumor spread in this group of patients [45]. In addition, *HBEGF*, along with osteopontin and IL6, supported breast tumor growth *in vitro* [48]. Another possible mechanism for maintaining tumor cells growth may be through exosomes containing tetrasponins and proteases. Thus, macrophages that were co-cultivated in vitro with BC tumor cells secreted tumor growth stimulating exosomes [49]. In monocytes of BC patients, an increase in the expression of *CD151* and *CD82* tetrasponin and *ADAM9* proteasome genes was found. It is known that these components can be found in exosomes that support tumor growth both *in vitro* and *in vivo* [50–53]. Thus, *CD151* and *CD82* tetrasponins and *ADAM9* protease, along with *HBEGF*, may be the factors that provide support for breast tumor growth.

Conclusion

Breast tumor initiates a change in the functional profile of peripheral blood monocytes. Transcriptomic profile changes affect each of the three major monocyte subpopulations. It should be noted that monocytes of the major CD14+16- subpopulation are the most significant in breast cancer pathogenesis due to increased expression of the *HBEGF*, *CD151*, *CD82*, and *ADAM9* genes. The transcriptome program implementation of BC patient monocytes is manifested in the course of their differentiation into macrophages, which can support the growth of breast tumor cells. The data obtained confirm the concept of the formation of a pool of monocytes with the ability to support tumor growth in breast cancer. Identification of uniquely expressed genes in BC patient monocytes opens up the feasibility of searching for new therapeutic targets, diagnostic and prognostic markers.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Goldszmid R.S., Dzutsev A., Trinchieri G.* Host immune response to infection and cancer: unexpected commonalities. Cell Host Microbe. 2014; 15(3): 295–305. doi: 10.1016/j.chom.2014.02.003.

2. *Olingy C.E., Dinh H.Q., Hedrick C.C.* Monocyte heterogeneity and functions in cancer. J Leukoc Biol. 2019; 106(2): 309–22. doi: 10.1002/JLB.4RI0818-311R.

3. *Saqib U., Sarkar S., Suk K., Mohammad O., Baig M.S., Savai R.* Phytochemicals as modulators of M1-M2 macrophages in inflammation. Oncotarget. 2018; 9(25): 17937–50. doi: 10.18632/oncotarget.24788.

4. *Larionova I., Tuguzbaeva G., Ponomaryova A., Stakheyeva M., Cherdyntseva N., Pavlov V., Choinzonov E., Kzhyshkowska J.* Tumor-Associated Macrophages in Human Breast, Colorectal, Lung, Ovarian and Prostate Cancers. Front Oncol. 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.566511.

5. *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.

6. *Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S., Dalod M., Grau V., Hart D.N., Leenen P.J., Liu Y.J., MacPherson G., Randolph G.J., Scherberich J., Schmitz J., Shortman K., Sozzani S., Strobl H., Zembala M., Austyn J.M., Lutz M.B.* Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. Blood. 2010; 116(16): 74–80. doi: 10.1182/blood-2010-02-258558.

7. *Kiss M., Caro A.A., Raes G., Laoui D.* Systemic Reprogramming of Monocytes in Cancer. Front Oncol. 2020; 10: 1399. doi: 10.3389/fonc.2020.01399.

8. *Poschke I., Mougiakakos D., Hansson J., Masucci G.V., Kiessling R.* Immature immunosuppressive CD14+HLA-DR-/low cells in melanoma patients are Stat3hi and overexpress CD80, CD83, and DC-sign. Cancer Res. 2010; 70(11): 4335–45. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3767.

9. *Hamm A., Prenen H., Van Delm W., Di Matteo M., Wenes M., Delamarre E., Schmidt T., Weitz J., Sarmiento R., Dezi A., Gasparini G., Rothé F., Schmitz R., D'Hoore A., Iserentant H., Hendlisz A., Mazzone M.* Tumour-educated circulating monocytes are powerful candidate biomarkers for diagnosis and disease follow-up of colorectal cancer. Gut. 2016; 65(6): 990–1000. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308988.

10. *Cormican S., Griffin M.D.* Human Monocyte Subset Distinctions and Function: Insights From Gene Expression Analysis. Front Immunol. 2020; 11: 1070. doi: 10.3389/fimmu.2020.01070.

11. *Reuter J.A., Spacek D.V., Snyder M.P.* High-throughput sequencing technologies. Mol Cell. 2015; 58(4): 586–97. doi: 10.1016/j.molcel.2015.05.004.

12. *Chen S., Chai X., Wu X.* Bioinformatical analysis of the key differentially expressed genes and associations with immune cell infiltration in development of endometriosis. BMC Genom Data. 2022; 23(1): 20. doi: 10.1186/s12863-022-01036-y.

13. *Kzhyshkowska J., Gudima A., Moganti K., Gratchev A., Orekhov A.* Perspectives for Monocyte/Macrophage-Based Diagnostics of Chronic Inflammation. Transfus Med Hemother. 2016; 43(2): 66–77. doi: 10.1159/000444943.

14. *Dobin A., Davis C.A., Schlesinger F., Drenkow J., Zaleski C., Jha S., Batut P., Chaisson M., Gingeras T.R.* STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. Bioinformatics. 2013; 29(1): 15–21. doi: 10.1093/bioinformatics/bts635.

15. *Hartley S.W., Mullikin J.C.* QoRTs: a comprehensive toolset for quality control and data processing of RNA-Seq experiments. BMC Bioinformatics. 2015; 16(1): 224. doi: 10.1186/s12859-015-0670-5.

16. *Xie Z., Bailey A., Kuleshov M.V., Clarke D.J.B., Evangelista J.E., Jenkins S.L., Lachmann A., Wojciechowicz M.L., Kropiwnicki E., Jagodnik K.M., Jeon M., Ma'ayan A.* Gene Set Knowledge Discovery with Enrichr Curr Protoc. 2021; 1(3): 90. doi: 10.1002/cpz1.90.

17. *Szklarczyk D., Gable A.L., Nastou K.C., Lyon D., Kirsch R., Pyysalo S., Doncheva N.T., Legeay M., Fang T., Bork P., Jensen L.J., von Mering C.* The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measure-

ment sets. Nucleic Acids Res. 2021; 49(D1): 605-12. doi: 10.1093/nar/gkaa1074. Erratum in: Nucleic Acids Res. 2021; 49(18): 10800.

18. *Zenkova D. K.V., Sablina R., Artyomov M., Sergushichev A.* Phantasus: visual and interactive gene expression analysis. 2018. doi: 10.18129/B9.bioc.phantasus.

19. *Noy R., Pollard J.W.* Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. Immunity. 2014; 41(1): 49–61. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.010. Erratum in: Immunity. 2014; 41(5): 866.

20. *Cassetta L., Fragkogianni S., Sims A.H., Swierczak A., Forrester L.M., Zhang H., Soong D.Y.H., Cotechini T., Anur P., Lin E.Y., Fidanza A., Lopez-Yrigoyen M., Millar M.R., Urman A., Ai Z., Spellman P.T., Hwang E.S., Dixon J.M., Wiechmann L., Coussens L.M., Smith H.O., Pollard J.W.* Human Tumor-Associated Macrophage and Monocyte Transcriptional Landscapes Reveal Cancer-Specific Reprogramming, Biomarkers, and Therapeutic Targets. Cancer Cell. 2019; 35(4): 588–602. doi: 10.1016/j.ccell.2019.02.009.

21. *Ramos R.N., Rodriguez C., Hubert M., Ardin M., Treilleux I., Ries C.H., Lavergne E., Chabaud S., Colombe A., Trédan O., Guedes H.G., Laginha F., Richer W., Piaggio E., Barbuto J.A.M., Caux C., Ménétrier-Caux C., Bendriss-Vermare N.* CD163+ tumor-associated macrophage accumulation in breast cancer patients reflects both local differentiation signals and systemic skewing of monocytes. Clin Transl Immunology. 2020; 9(2): 1108. doi: 10.1002/cti2.1108.

22. *Patysheva M., Larionova I., Stakheyeva M., Grigoryeva E., Iamshchikov P., Tarabanovskaya N., Weiss C., Kardashova J., Frolova A., Rakina M., Prostakishina E., Zhuikova L., Cherdyntseva N., Kzhyshkowska J.* Effect of Early-Stage Human Breast Carcinoma on Monocyte Programming. Front Oncol. 2022; 11. doi: 10.3389/fonc.2021.800235.

23. *Sanford D.E., Belt B.A., Panni R.Z., Mayer A., Deshpande A.D., Carpenter D., Mitchem J.B., Plambeck-Suess S.M., Worley L.A., Goetz B.D., Wang-Gillam A., Eberlein T.J., Denardo D.G., Goedegebuure S.P., Linehan D.C.* Inflammatory monocyte mobilization decreases patient survival in pancreatic cancer: a role for targeting the CCL2/CCR2 axis. Clin Cancer Res. 2013; 19(13): 3404–15. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0525.

24. *Pan Y.C., Jia Z.F., Cao D.H., Wu Y.H., Jiang J., Wen S.M., Zhao D., Zhang S.L., Cao X.Y.* Preoperative lymphocyte-to-monocyte ratio (LMR) could independently predict overall survival of resectable gastric cancer patients. Medicine (Baltimore). 2018; 97(52). doi: 10.1097/MD.0000000000013896.

25. *Lu C., Zhou L., Ouyang J., Yang H.* Prognostic value of lymphocyte-to-monocyte ratio in ovarian cancer: A meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2019; 98(24). doi: 10.1097/MD.0000000000015876.

26. *Hayashi T., Fujita K., Tanigawa G., Kawashima A., Nagahara A., Ujike T., Uemura M., Takao T., Yamaguchi S., Nonomura N.* Serum monocyte fraction of white blood cells is increased in patients with high Gleason score prostate cancer. Oncotarget. 2017; 8(21): 35255–61. doi: 10.18632/oncotarget.13052.

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

28. *Fedorov A.A., Ermak N.A., Gerashchenko T.S., Topolnitskii 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): 124–36. doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136.

29. *Jeong H., Hwang I., Kang S.H., Shin H.C., Kwon S.Y.* Tumor-Associated Macrophages as Potential Prognostic Biomarkers of Invasive Breast Cancer. J Breast Cancer. 2019; 22(1): 38–51. doi: 10.4048/jbc.2019.22.e5.

30. *Tiainen S., Tumelius R., Rilla K., Hämäläinen K., Tammi M., Tammi R., Kosma V.M., Oikari S., Auvinen P.* High numbers of macrophages, especially M2-like (CD163-positive), correlate with hyaluronan accumulation and poor outcome in breast cancer. Histopathology. 2015; 66(6): 873–83. doi: 10.1111/his.12607.

31. *Miyasato Y., Shiota T., Ohnishi K., Pan C., Yano H., Horlad H., Yamamoto Y., Yamamoto-Ibusuki M., Iwase H., Takeya M., Komohara Y.* High density of CD204-positive macrophages predicts worse clinical prognosis in patients with breast cancer. Cancer Sci. 2017; 108(8): 1693–700. doi: 10.1111/cas.13287.

32. *Ge Z., Ding S.* The Crosstalk Between Tumor-Associated Macrophages (TAMs) and Tumor Cells and the Corresponding Targeted Therapy. Front Oncol. 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.590941.

33. *Chen Y., Song Y., Du W., Gong L., Chang H., Zou Z.* Tumor-associated macrophages: an accomplice in solid tumor progression. J Biomed Sci. 2019; 26(1): 78. doi: 10.1186/s12929-019-0568-z.

34. *Norton K.A., Jin K., Popel A.S.* Modeling triple-negative breast cancer heterogeneity: Effects of stromal macrophages, fibroblasts and tumor vasculature. J Theor Biol. 2018; 452: 56–68. doi: 10.1016/j.jtbi.2018.05.003.

35. *Eue I., Pietz B., Storck J., Klempt M., Sorg C.* Transendothelial migration of 27E10+ human monocytes. Int Immunol. 2000; 12(11): 1593–604. doi: 10.1093/intimm/12.11.1593.

36. *Viemann D., Strey A., Janning A., Jurk K., Klimmek K., Vogl T., Hirono K., Ichida F., Foell D., Kehrel B., Gerke V., Sorg C., Roth J.* Myeloid-related proteins 8 and 14 induce a specific inflammatory response in human microvascular endothelial cells. Blood. 2005; 105(7): 2955–62. doi: 10.1182/blood-2004-07-2520.

37. *Simkhes Yu.V., Karpov S.M., Baturin V.A., Vyshlova A.* Role of s100 protein in the pathogenesis of pain syndromes. Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics. 2016; 8(4): 62–4. doi: doi.org/10.14412/2074-2711-2016-4-62-64.

38. *Kim J.H., Oh S.H., Kim E.J., Park S.J., Hong S.P., Cheon J.H., Kim T.I., Kim W.H.* The role of myofibroblasts in upregulation of S100A8 and S100A9 and the differentiation of myeloid cells in the colorectal cancer microenvironment. Biochem Biophys Res Commun. 2012; 423(1): 60–6. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.05.081.

39. *Fox J.M., Kausar F., Day A., Osborne M., Hussain K., Mueller A., Lin J., Tsuchiya T., Kanegasaki S., Pease J.E.* CXCL4/Platelet Factor 4 is an agonist of CCR1 and drives human monocyte migration. Scientific reports. 2018; 8(1): 9466. doi: 10.1038/s41598-018-27710-9.

40. *Schioppa T., Sozio F., Barbazza I., Scutera S., Bosisio D., Sozzani S., Del Prete A.* Molecular Basis for CCRL2 Regulation of Leukocyte Migration. Front Cell Dev Biol. 2020; 8. doi: 10.3389/fcell.2020.615031.

41. *Jayasingam S.D., Citartan M., Thang T.H., Mat Zin A.A., Ang K.C., Ch'ng E.S.* Evaluating the Polarization of Tumor-Associated Macrophages Into M1 and M2 Phenotypes in Human Cancer Tissue: Technicalities and Challenges in Routine Clinical Practice. Front Oncol. 2020; 9: 1512. doi: 10.3389/fonc.2019.01512.

42. *Fontana M.F., Baccarella A., Pancholi N., Pufall M.A., Herbert D.R., Kim C.C.* JUNB is a key transcriptional modulator of macrophage activation. J Immunol. 2015; 194(1): 177–86. doi: 10.4049/jimmunol.1401595.

43. *Hamada M., Tsunakawa Y., Jeon H., Yadav M.K., Takahashi S.* Role of MafB in macrophages. Exp Anim. 2020; 69(1): 1–10. doi: 10.1538/expanim.19-0076.

44. *Rigo A., Gottardi M., Zamò A., Mauri P., Bonifacio M., Krampera M., Damiani E., Pizzolo G., Vinante F.* Macrophages may promote cancer growth via a GM-CSF/HB-EGF paracrine loop that is enhanced by CXCL12. Mol Cancer. 2010; 9: 273. doi: 10.1186/1476-4598-9-273.

45. *Vlaicu P., Mertins P., Mayr T., Widschwendter P., Ataseven B., Högel B., Eiermann W., Knyazev P., Ullrich A.* Monocytes/macrophages support mammary tumor invasivity by co-secreting lineage-specific EGFR ligands and a STAT3 activator. BMC Cancer. 2013; 13: 197. doi: 10.1186/1471-2407-13-197.

46. *Ongusaha P.P., Kwak J.C., Zwible A.J., Macip S., Higashiyama S., Taniguchi N., Fang L., Lee S.W.* HB-EGF is a potent inducer of tumor growth and angiogenesis. Cancer Res. 2004; 64(15): 5283–90. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0925.

47. *Carroll M.J., Kapur A., Felder M., Patankar M.S., Kreeger P.K.* M2 macrophages induce ovarian cancer cell proliferation via a heparin binding epidermal growth factor/matrix metalloproteinase 9 intercellular feedback loop. Oncotarget. 2016; 7(52): 86608–20. doi: 10.18632/oncotarget.13474.

48. *Yonemitsu K., Miyasato Y., Shiota T., Shinchi Y., Fujiwara Y., Hosaka S., Yamamoto Y., Komohara Y.* Soluble Factors Involved in Cancer Cell-Macrophage Interaction Promote Breast Cancer Growth. Anticancer Res. 2021; 41(9): 4249–58. doi: 10.21873/anticanres.15229.

49. *Yu X., Zhang Q., Zhang X., Han Q., Li H., Mao Y., Wang X., Guo H., Irwin D.M., Niu G., Tan H.* Exosomes from Macrophages Exposed to Apoptotic Breast Cancer Cells Promote Breast Cancer Proliferation and Metastasis. J Cancer. 2019; 10(13): 2892–2906. doi: 10.7150/jca.31241.

50. *Wu D.M., Wen X., Han X.R., Wang S., Wang Y.J., Shen M., Fan S.H., Zhang Z.F., Shan Q., Li M.Q., Hu B., Lu J., Chen G.Q., Zheng Y.L.* Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomal MicroRNA-126 -3p Inhibits Pancreatic Cancer Development by Targeting ADAM9. Mol Ther Nucleic Acids. 2019; 16: 229–45. doi: 10.1016/j.omtn.2019.02.022. Retraction in: Mol Ther Nucleic Acids. 2022; 29: 617.

51. *Zhao K., Wang Z., Hackert T., Pitzer C., Zöller M.* Tspan8 and Tspan8/CD151 knockout mice unravel the contribution of tumor and host exosomes to tumor progression. J Exp Clin Cancer Res. 2018; 37(1): 312. doi: 10.1186/s13046-018-0961-6.

52. *Xiao D., Dong Z., Zhen L., Xia G., Huang X., Wang T., Guo H., Yang B., Xu C., Wu W., Zhao X., Xu H.* Combined Exosomal GPC1, CD82, and Serum CA19-9 as Multiplex Targets: A Specific, Sensitive, and Reproducible Detection Panel for the Diagnosis of Pancreatic Cancer. Mol Cancer Res. 2020; 18(2): 300–10. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-19-0588.

53. *Yunusova N.V., Zambalova E.A., Patysheva M.R., Kolegova E.S., Afanas'ev S.G., Cheremisina O.V., Grigor'eva A.E., Tamkovich S.N., Kondakova I.V.* Exosomal Protease Cargo as Prognostic Biomarker in Colorectal Cancer. Asian Pac J Cancer Prev. 2021; 22(3): 861–9. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.3.861.

Поступила/Received 20.10.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 30.11.2022
Принята к публикации/Accepted 09.11.2022

ABOUT THE AUTHORS

Anton A. Fedorov, Junior Researcher, Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAG-8911-2020. Author ID (Scopus): 57211136209. ORCID: 0000-0002-5121-2535.
Elizaveta A. Prostakishina, Laboratory assistant, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57468497700. ORCID: 0000-0002-1405-3723.
Marina R. Patysheva, Junior Researcher, Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Junior Researcher, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: Patysheva_mr@onco.tnimc.ru. Researcher ID (WOS): Q-9364-2017. Author ID (Scopus): 57200569624. ORCID: 0000-0003-2865-7576.
Anastasia A. Frolova, Laboratory assistant, Laboratory of Immunology and Molecular Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Laboratory Assistant, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAF-5212-2021. Author ID (Scopus): 57218917496. ORCID: 0000-0003-3297-1680.
Pavel S. Iamshikov, Bioinformatician, Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Laboratory Assistant, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAE-3883-2022. Author ID (Scopus): 57468957700. ORCID: 0000-0002-0646-6093.
Irina V. Larionova, MD, PhD, Senior Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Senior Researcher of Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): R-2391-2017. Author ID (Scopus): 57201182530. ORCID: 0000-0001-5758-7330.
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.
Maria S. Dorofeeva, Laboratory Assistant, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0003-3013-9858
Olga D. Bragina, MD, DSc, Senior Researcher, Nuclear Medicine Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): E-9732-2017. Author ID (Scopus): 57190936256. ORCID: 0000-0001-5281-7758
Evgeny L. Choynzonov, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): P-1470-2014. Author ID (Scopus): 6603352329. ORCID: 0000-0002-3651-0665.
Julia G. Kzhyshkowska, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): J-5835-2016. Author ID (Scopus): 6603091281. ORCID: 0000-0003-0898-3075.
Nadezhda V. Cherdyntseva, DSc, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Senior Researcher of Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-7943-2012. Author ID (Scopus): 6603911744. ORCID: 0000-0003-1526-9013.

AUTHOR CONTRIBUTION

Anton A. Fedorov: data collection and analysis, writing of the manuscript.
Elizaveta A. Prostakishina: data collection and analysis, writing of the manuscript
Marina R. Patysheva: study design, writing of the manuscript.
Anastasia A. Frolova: conducting experiments
Pavel S. Iamshikov: bioinformatics analysis.
Irina V. Larionova: conducting experiments
Marina N. Stakheyeva: data analysis, experimental design.
Maria S. Dorofeeva: writing of the manuscript.
Olga D. Bragina: recruiting patients, selection of clinical material
Evgeny L. Choynzonov: project supervision
Julia G. Kzhyshkowska: study design, experiment planning.
Nadezhda V. Cherdyntseva: study design, experiment planning.

Funding
The work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-25-00435.
Conflict of interests
The authors declare that they have no conflict of interest.
Acknowledgments
The work was carried out on the equipment of the Tomsk Regional Center for Collective Use (TRCKP) and the Center for Collective Use "Medical Genomics" of the Tomsk NRMC.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Федоров Антон Андреевич, младший научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1315-8100. Researcher ID (WOS): AAG-8911-2020. Author ID (Scopus): 57211136209. ORCID: 0000-0002-5121-2535.

Простакишина Елизавета Андреевна, лаборант лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). Author ID (Scopus): 57468497700. ORCID: 0000-0002-1405-3723.

Патышева Марина Ринатовна, младший научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; младший научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). E-mail: Patysheva_mr@onco.tnimc.ru. SPIN-код: 5714-4611. Researcher ID (WOS): Q-9364-2017. Author ID (Scopus): 57200569624. ORCID: 0000-0003-2865-7576.

Фролова Анастасия Алексеевна, лаборант-исследователь лаборатории иммунологии и молекулярной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; лаборант лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8092-0070. Researcher ID (WOS): AAF-5212-2021. Author ID (Scopus): 57218917496. ORCID: 0000-0003-3297-1680.

Ямщиков Павел Сергеевич, биоинформатик, лаборатория биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; лаборант лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9624-3257. Researcher ID (WOS): AAE-3883-2022. Author ID (Scopus): 57468957700. ORCID: 0000-0002-0646-6093.

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

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.

Дорофеева Мария Сергеевна, лаборант-исследователь лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). ORCID: 0000-0003-3013-9858.

Брагина Ольга Дмитриевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения радионуклидной диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7961-5918. Researcher ID (WOS): E-9732-2017. Author ID (Scopus): 57190936256. ORCID: 0000-0001-5281-7758.

Чойнзонов Евгений Лхамацыренович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия). SPIN-код: 2240-8730. Researcher ID (WOS): P-1470-2014. Author ID (Scopus): 6603352329. ORCID: 0000-0002-3651-0665.

Кжышковска Юлия Георгиевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2465-2280. Researcher ID (WOS): J-5835-2016. Author ID (Scopus): 6603091281. ORCID: 0000-0003-0898-3075.

Чердынцева Надежда Викторовна, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ведущий научный сотрудник, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5344-0990. Researcher ID (WOS): C-7943-2012. Author ID (Scopus): 6603911744. ORCID: 0000-0003-1526-9013.

ВКЛАД АВТОРОВ

Федоров Антон Андреевич: проведение экспериментов, анализ данных, написание статьи.
Простакишина Елизавета Андреевна: биоинформатическая обработка, анализ данных, написание статьи.
Патышева Марина Ринатовна: планирование эксперимента, написание статьи, курация проекта.
Фролова Анастасия Алексеевна: проведение экспериментов.
Ямщиков Павел Сергеевич: биоинформатическая обработка, подготовка рисунков.
Ларионова Ирина Валерьевна: проведение экспериментов.
Стахеева Марина Николаевна: разработка концепции научной работы и анализ данных.

Дорофеева Мария Сергеевна: написание статьи.
Брагина Ольга Дмитриевна: набор клинического материала, формирование базы клинических данных.
Чойнзонов Евгений Лхамацыренович: разработка концепции научной работы, критический пересмотр рукописи статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.
Кжышковска Юлия Георгиевна: разработка концепции научной работы, планирование экспериментов.
Чердынцева Надежда Викторовна: разработка концепции научной работы, планирование эксперимента.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-25-00435.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

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

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-81-90
УДК: 616.65-006:576.54

Для цитирования: *Данилко К.В., Еникеева К.И., Кабиров И.Р., Максимова С.Ю., Вишняков Д.С., Кжышковска Ю.Г., Павлов В.Н.* Морфологическая гетерогенность внутриопухолевых макрофагов в опухоли предстательной железы. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 81–90. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-81-90
For citation: *Danilko K.V., Enikeeva K.I., Kabirov I.R., Maksimova S.Y., Vishnyakov D.S., Kzhyshkowska J.G., Pavlov V.N.* Morphological heterogeneity of intratumoral macrophages in prostate tumors. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 81–90. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-81-90

MORPHOLOGICAL HETEROGENEITY OF INTRATUMORAL MACROPHAGES IN PROSTATE TUMORS

K.V. Danilko[1], K.I. Enikeeva[1], I.R. Kabirov[1], S.Y. Maksimova[1], D.S. Vishnyakov[1] J.G. Kzhyshkowska[2,3,4,5], V.N. Pavlov[1]

Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Ufa, Russia[1]
3, Lenin St., 450008, Ufa, Russia[1]
Institute for Transfusion Medicine and Immunology, University of Heidelberg, Mannheim, Germany[2]
1-3, Theodor-Kutzer-Ufer, 68167-Mannheim, Germany [2]
German Red Cross Blood Service Baden-Württemberg – Hessen, Mannheim, Germany[3]
107, Friedrich-Ebert St., 68167-Mannheim, Germany[3]
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia[4]
36, Lenina St., 634050, Tomsk, Russia[4]
Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia[5]
2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia[5]

Abstract

Background. Prostate cancer (PCa) is the most common human cancer worldwide. In the progression of prostate cancer, the total number of macrophages in the tumor tissue is associated with poor prognosis and increased risk of metastasis. However, the heterogeneity of intratumoral macrophages at various stages of PCa development, and the role of tumor-associated macrophages (TAMs) have been insufficiently investigated. **The aim of the study** was to analyze the morphological features, size and number of TAMs in PCa tissue samples, and to reveal their correlation with clinical data of patients. **Material and Methods.** Immunohistochemical analysis of 36 paraffin blocks of patients with PCa (pT2a–3bN0–1M0) was performed using antibodies to the scavenger receptor CD68. **Results.** Foamy CD68+ macrophages were found in the tumor tissue. The indicator “number of macrophages per total number of fields of view with macrophages” was the lowest in patients with a Gleason score of 6 (5.8) (11.0 – in patients with a Gleason score ≥ 8). Macrophages formed larger clusters in patients with severe PCa. Small but not large macrophages were significantly more common in patients with lymph node metastases (48 *vs* 24 in the N0 group; p=0.14). The number of small macrophages (smaller than 100 μm^2) increased in a series of patients with Gleason scores of 6, 7 and ≥ 8 (24, 47.5, 72, respectively, p=0.052). **Conclusion.** As the tumor process progressed and the risk of biochemical recurrence increased, there was a trend towards an increase in the total area of large, foamy TAMs, presumably rich in lipids, as well as wider distribution of small macrophages with a tendency to form clusters. We hypothesize that foamy macrophages are involved in the further recruitment of small TAMs, subsequently leading to metastasis and tumor progression.

Key words: prostate cancer, tumor-associated macrophages, giant macrophages, tumor progression.

Кжышковска Юлия Георгиевна, julia.kzhyshkowska@gmail.com

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ВНУТРИОПУХОЛЕВЫХ МАКРОФАГОВ В ОПУХОЛИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

К.В. Данилко[1], К.И. Еникеева[1], И.Р. Кабиров[1], С.Ю. Максимова[1], Д.С. Вишняков[1] , Ю.Г. Кжышковска[2,3,4,5], В.Н. Павлов[1]

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа, Россия[1]
Россия, 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3[1]
Институт трансфузионной медицины и иммунологии, Университет Гейдельберга, г. Маннгейм, Германия[2]
Германия, 68167, г. Маннгейм, Theodor-Kutzer-Ufer, 1-32[2]
Служба крови Немецкого Красного Креста Баден-Вюртемберг-Гессен, г. Маннгейм, Германия[3]
Германия, 68167, г. Маннгейм, Friedrich-Ebert, 107[3]
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия[4]
Россия, 634050, г. Томск, ул. Ленина, 36[4]
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия[5]
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2[5]

Аннотация

Введение. Наиболее распространенным среди мужчин во всем мире является рак предстательной железы (РПЖ). В прогрессировании РПЖ общее количество макрофагов в опухолевой ткани ассоциировано с плохим прогнозом и повышенным риском метастазирования. Однако гетерогенность внутриопухолевых макрофагов на различных стадиях развития заболевания и роль опухоль-ассоциированных макрофагов (ОАМ) при раке простаты изучены недостаточно. **Цель исследования** – анализ морфологических особенностей, размера и количества макрофагов в образцах тканей РПЖ и выявление взаимосвязи их субпопуляций с клиническими данными пациентов. **Материал и методы.** Иммуногистохимический анализ парафиновых блоков опухолевой ткани 36 пациентов с РПЖ стадии pT2a–3bN0–1M0 проводили с использованием антител к скавенджер-рецептору CD68. **Результаты.** В опухолевой ткани обнаружены «пенистые» CD68-позитивные макрофаги. Анализ показателя «количество макрофагов на общее количество полей зрения с макрофагами» продемонстрировал рост значений по мере прогрессирования опухолевого процесса. Он оказался самым низким у пациентов с суммой баллов по шкале Глисона 6 – 5,8 и самым высоким – 11,0, у пациентов с баллом по шкале Глисона ≥ 8. Макрофаги образовывали более крупные скопления у пациентов с тяжелой формой РПЖ. Мелкие (менее 100 мкм^2), но не крупные (более 100 мкм^2) макрофаги встречались значительно чаще у пациентов с метастазами в лимфоузлы – 48 против 24 в группе N0 (p=0,14). Количество мелких макрофагов возрастало в ряду пациентов с суммой баллов по шкале Глисона 6, 7 и ≥ 8 – 24; 47,5; 72 соответственно (p=0,052). **Заключение.** По мере прогрессирования опухолевого процесса и повышения риска биохимического рецидива демонстрировались тенденция к увеличению общей площади крупных, пенистых ОАМ, вероятно, богатых липидами, а также большее распространение мелких, секретирующих макрофагов и склонность к образованию кластеров. Вероятно, пенистые макрофаги принимают участие в дальнейшем привлечении мелких, что в дальнейшем ведет к метастазированию и опухолевой прогрессии.

Ключевые слова: рак предстательной железы, опухоль-ассоциированные макрофаги, гигантские макрофаги, опухолевая прогрессия.

Introduction

Prostate cancer (PCa) is the most common cancer among men worldwide, with approximately 1,600,000 cases and 366,000 deaths annually [1]. The incidence and mortality of PCa tends to increase due to an aging population and urbanization, thereby placing a significant social and financial burden on the global health care system [2]. Despite significant progress in therapy, prostate cancer remains a serious problem for men, mainly due to unwarranted treatment of initially benign disease and inadequate therapy for metastatic prostate cancer [3]. The lethality of progressive disease is due to the lack of therapeutic regimens capable of producing a stable response to therapy, which is due to the extreme heterogeneity of the tumor on the genetic and cellular-biological levels. Evidence suggests that the inflammatory microenvironment, especially tumor-associated macrophages (TAMs), are involved in prostate carcinogenesis and act as an important modulator of further malignant progression, metastasis and overall therapeutic response [4]. In turn, both the presence of the tumor itself and anticancer therapy can

affect the programming of monocyte TAMs precursors [5, 6]. Studies on cohorts of patients of different ethnic groups indicate that the total number of macrophages in the tumor mass is associated with poor prognosis and increased risk of metastasis [7]. However, the heterogeneity of intratumoral macrophages in prostate cancer at different stages of disease development has not been sufficiently studied.

The aim of the investigation is to analyze the spectrum of macrophage characteristics (morphological features, size and amount) in prostate cancer tissue samples and to search their interrelation with clinical data of patients.

Material and Methods

A retrospective analysis of tumor tissues of patients with prostate cancer, who underwent surgical treatment in the Clinic of Bashkir State Medical University in the time period from 2014 to 2018, was performed. The study included 36 patients with pT2a–3bN0–1M0. Tissue samples in paraffin blocks were obtained from the Biobank of Bashkir State Medical University. The study was conducted in accordance with the requirements of the Declaration of Helsinki and was approved by the local ethical committee of the Federal State Medical University BSMU of the Ministry of Healthcare of Russia on 17.01.2017, protocol № 1. General characteristics of clinical data of patients are presented in Table 1.

One paraffin block containing at least 50 % of tumor tissue was pre-selected for each patient. The selection was performed by a pathomorphologist, for which hematoxylin and eosin stained sections from each block were prepared.

Subsequent immunohistochemical staining of sections of paraffin blocks was performed at the Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Faculty of Medicine, Mannheim, Heidelberg University (Mannheim, Germany). Slices deparaffinized with xylene and ethanol and rehydrated were placed in Tris/EDTA buffer (pH 9.0) and heated in a water bath to 95°C for antigen recovery. After blocking endogenous peroxidase and nonspecific staining, samples were incubated for one hour with primary antibodies to CD68 (Zytomed systems # MSK005-55, dilution 1:100). The preparations were then incubated with secondary mouse HRP antibodies (Dako # K4001), AEC+substrate chromogen (Dako # K3461) and stained with hematoxylin solution (Hämalaun) and incubated under a coverslip in aqueous medium (Faramount Mounting Medium, Dako # S302580-2). Tumor tissue sections incubated with primary antibodies to IgG1 served as a control for specific staining.

Stained sections were visualized using a Leica DMRE light microscope, ×10 or ×40 objective and ×10 eyepiece. Staining of granular cytoplasmic structures or cell membranes of monocytic/macrophage origin in any intensity was considered positive for CD68.

Areas containing tumor tissue were examined on each preparation. From each patient, 10 random fields of view within the tumor tissue were analyzed at ×400 magnification. The following parameters were analyzed: presence of macrophages, stained with CD68 (yes/no); shape (rounded, irregularly shaped with outgrowths), size (large/small). The obtained images were analyzed using Image J program and Color Deconvolution plugin. The number of CD68-positive cells, the area of each CD68+ cell, and the area of the image occupied by cells for each field of view were taken into account, since prostate tissue contains lumens. The following characteristics were then calculated in MS Excel for each patient:

1. Total number of CD68+ cells per 10 fields of view.
2. Average number of CD68+ cells per preparation.
3. Total area occupied by CD68+ cells per 10 fields of view.
4. Average area of CD68+ cells.
5. Proportion of the area covered by CD68+ cells from the area of all cells, %.
6. Number of visual fields with CD68+ cells.
7. Number of visual fields with CD68+ cells larger than 100 μm^2.
8. Number of visual fields with CD68+ cells less than 100 μm^2 in size.
9. Number of macrophages per total number of visual fields with macrophages.
10. Total number of macrophages greater than 100 μm^2 in size.
11. Total number of macrophages less than 100 μm^2 in size.
12. Area of macrophages larger than 100 μm^2.
13. Area of macrophages less than 100 μm^2 in size.
14. Total area of macrophages less than 100 μm^2/ total area of macrophages greater than 100 μm^2.

Comparisons for all indices were made for the following groups of patients: 1) without lymph node metastases at the time of surgery, N0, or with metastases, N1; 2) with a total Gleason score of 6 (3 + 3), 7 (3 + 4 or 4 + 3), 8–10 (4 + 4, 4 + 5, 5 + 4 or 5 + 5); 3) with a biochemical recurrence risk score of "low", "intermediate", "high". Data distribution analysis using Kolmogorov-Smirnov test for all groups showed deviation from normal distribution in some groups. The median and interpercentile interval for each indicator were calculated using GraphPad Prism (V 6.01). To assess the statistical significance of the observed differences, we further used nonparametric Mann-Whitney tests to compare the 2 groups and Kruskal-Wallis tests for three groups.

Results

Our first step was to search for clusters of tumor-associated macrophages and characterized their morphology in the tumor tissue of patients with prostate cancer. The analyzed marker CD68 is highly specific for macrophages, belongs to scavenger receptor family, and is expressed on almost all TAMs [8]. The distri-

Table 1/Таблица 1

General characteristics of patients clinical data
Общая характеристика клинических данных

Parameter/Параметр	Number of patients (n=36)/ Количество больных (n=36)
Age, years, mean/Возраст, лет, среднее	66
Risk of biochemical recurrence/Риск биохимического рецидива	
Low/Низкий	13
Intermediate/Промежуточный	8
High/Высокий	15
Gleason score/Сумма баллов по шкале Глисона	
3 + 3	13
3 + 4	6
4 + 3	4
4 + 4	6
4 + 5	4
5 + 4	1
5 + 5	2
Spread outside the capsule/Распространение за пределы капсулы	
Yes/Да	19
No/Нет	17
Prostate specific antigen, ng/ml before surgery, mean (range)/ ПСА, нг/мл перед операцией, среднее (размах)	21,120 (0,243–76,100)
Hormone therapy before surgery/Гормональная терапия до операции	
Yes/Да	0
No/Нет	36
Hormone therapy after surgery or orchidectomy/Гормональная терапия после операции или орхидэктомия	
No/Нет	22
Yes/Да	10
No data/Нет данных	4
Radiation therapy before surgery/Лучевая терапия до операции	
Yes/Да	0
No/Нет	36
Radiation therapy after surgery/Лучевая терапия после операции	
Yes/Да	8
No/Нет	28
Metastases in lymph nodes at the time of surgery/Метастазы в лимфоузлах на момент операции	
N0	23
N1	13
Distant metastases 1–3 years after surgery/Отдаленные метастазы через 1–3 года после операции	
Yes/Да	4
No/Нет	28
No data/Нет данных	4
Survival rate for October 2020/Выживаемость на октябрь 2020 г.	
Yes/Да	30
No/Нет	6

bution of CD68+ cells in tumor tissue was heterogeneous, with no statistically significant correlation of macrophage infiltration with clinical and pathological parameters. The following TAMs localization in prostate cancer patients' tissues was observed: intratumoral macrophages diffusely located in tumor parenchyma, diffuse stromal localization around tumor parenchyma, macrophages in gland ducts of tumor and non-tumor tissue, single or their accumulations (Fig. 1).

The morphology and pattern of macrophage distribution was heterogeneous in each patient: – there were both areas with large "foamy" round-shaped macrophages in ducts outside tumor tissue (Fig. 2A1), and massive clusters of irregularly shaped macrophages located in clusters inside tumor tissue (Figure 2A2). Figure 2B1 shows a rounded large "foamy" macrophage with a coarse-grained cytoplasm structure, a similar morphology found when the macrophage is localized inside the ductus. When examining a tissue sample of the same patient, there is a distribution of medium-sized macrophages in the parenchyma (Fig. 2B2). It is worth noting the presence of spindle-shaped

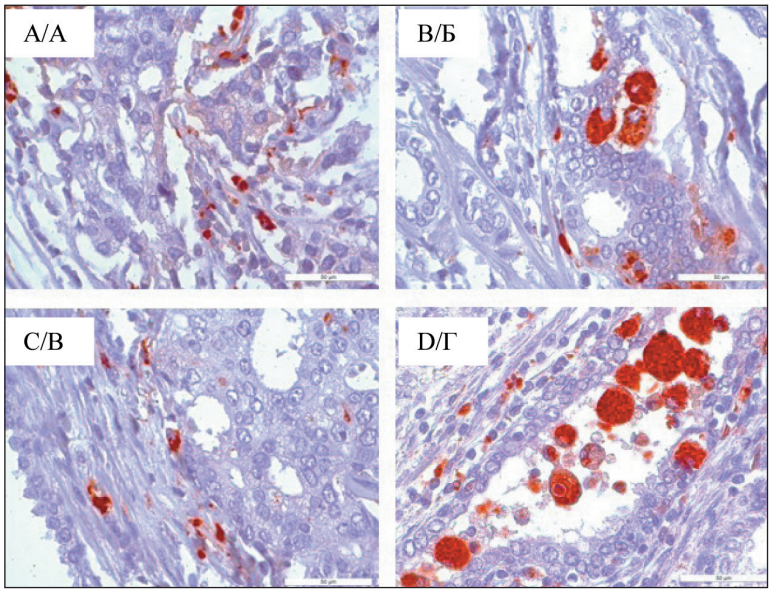


Fig. 1. Microphoto. IHC study, distribution of CD68+ macrophages in the tumor tissue, (A) intratumoral macrophages diffusely located in the tissue, (B) macrophages with predominant localization in the ducts of the tumor gland, (B) macrophages located in the stroma around the tumor parenchyma; (D) large, "foamy" macrophages in non-neoplastic lacunae; ×40

Рис. 1. Микрофото. ИГХ-исследование, распределение CD68+ макрофагов в опухолевой ткани, (А) внутриопухолевые макрофаги, диффузно расположенные в ткани, (Б) – макрофаги с преимущественной локализацией в протоках железы опухоли, (В) макрофаги, располагающиеся в строме вокруг паренхимы опухоли; (Г) крупные, «пенистые» макрофаги в неопухолевых лакунах; ×40

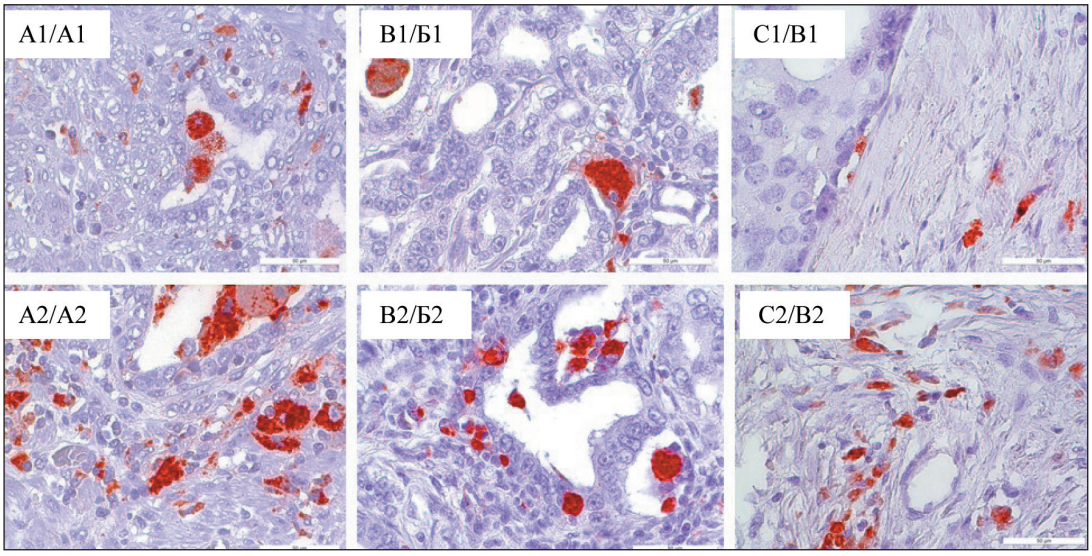


Fig. 2. Microphoto. Distribution of CD68+ macrophages in prostate adenocarcinoma tissue according to IHC staining, ×40

Рис. 2. Микрофото. Распределение CD68+ макрофагов в ткани аденокарциномы предстательной железы по данным ИГХ-окрашивания; ×40

macrophage bands in the examined samples, diffusely located in tumor tissue, locally abundantly infiltrating tumor area (Fig. 2B2).

The largest "foamy" macrophages were observed in tumor parenchyma of patient № 9 (Fig. 3A), here we detected macrophages measuring 600–710 μm^2, having round shape with a pronounced granular structure, which formed clusters of more than 15 cells. Patient 17 also had macrophages larger than 600 μm^2 in the tumor parenchyma (Fig. 3B), but not forming clusters.

In the next step we assessed the number and size of each CD68+ cell on 10 field-of-view images with tumor tissue from each patient, followed by calculation of the spectrum characteristics. The results are presented in Table 2.

Although there were no statistically significant differences between the clinical groups of patients, a number of trends are noteworthy. For example, the total number of CD68+ cells increase as the tumor process progresses. In the group with lymph node metastases the total number of macrophages was significantly higher, 68 against 42 in the group without lymph node metastases. The same index increases in a number of patients with a Gleason score of 6.7 and more than 8: 38, 64.5 and 74, respectively. The risk of biochemical recurrence correlates with the sum of Gleason scores and the number of macrophages increases in the tissues of patients at intermediate (64.5) and high risk (74) compared to the low risk group (38).

The total area occupied by CD68+ cells was also greater in N1 patients (6009 μm^2) than in N0 patients (2698 μm^2). In patients with low-differentiated prostate cancer the area (Gleason score ≥ 8) and high biochemical risk of recurrence was also the highest (5792 μm^2 in both groups), while in the group with a Gleason score of 6 and low risk of recurrence it was 2219 μm^2 in both groups.

Table 2/Таблица 2

Correlation of morphological characteristics of prostate tumor macrophages with clinical data

Взаимосвязь морфологических характеристик макрофагов опухоли с клиническими данными

Characteristics, median (interpercentile interval)/ Характеристики, медиана (интерпроцентильный интервал)	The presence of metastases/ Наличие метастазов		P value	Gleason score/ Сумма баллов по шкале Глисона			P value	Risk of biochemical relapse/ Риск БХ рецидива			P value
	N0	N1		6	7	8–10		Low/ Низкий	Intermediate/ Промежуточный	High/ Высокий	
	n=23	n=13		n=13	n=10	n=13		n=13	n=8	n=15	
Total number of CD68+ cells per 10 fields of view/ Общее количество клеток CD68 + на 10 полях зрения	42 (24–87)	68 (39–146,5)	0,14	38 (23,5–1,5)	64,5 (16,8–125,3)	74 (39–157)	0,10	38 (23,5–61,5)	64,5 (20,3–135,3)	74 (39–154)	0,16
Average number of CD68+ cells per drug/ Среднее количество клеток CD68+ на препарат	4,2 (2,4–8,7)	6,8 (3,9–14,7)	0,14	3,8 (2,4–6,2)	6,5 (1,7–12,5)	7,4 (3,9–5,7)	0,10	3,8 (2,4–6,2)	6,5 (2,0–13,5)	7,4 (3,9–15,4)	0,16
Total area occupied by CD68+ cells in 10 fields of view, μm²/ Общая площадь, занятая CD68+ клетками на 10 полях зрения, мкм²	2698 (1672–7901)	6009 (3001–10244)	0,20	2219 (1673–5455)	5600 (1224–10162)	5792 (2809–11216)	0,16	2219 (1673–5455)	5600 (1489–10382)	5792 (2610–10631)	0,21
Average area of CD68 cells, μm²/ Средняя площадь клеток CD68, мкм²	79,4 (51,1–96,2)	70,8 (58,5–95,1)	0,99	83,3 (41,2–96,9)	69,6 (57,4–87,0)	70,8 (58,5–99,1)	0,95	83,3 (41,2–96,9)	69,6 (60,1–96,1)	70,8 (57,1–96,2)	0,98
Share of the area occupied by macrophages from the area of all cells, %/ Доля площади, занятой макрофагами, от площади всех клеток, %	1,1 (0,6–3,0)	2,6 (0,7–4,8)	0,34	0,9 (0,5–2,3)	2,5 (0,5–4,6)	2,6 (1,0–5,4)	0,24	0,9 (0,5–2,3)	2,5 (0,6–5,0)	2,6 (0,9–5,2)	0,27
Number of visual fields with CD68 + cells/ Количество полей зрения с клетками CD68+	8 (7–10)	10 (7,5–10)	0,13	8 (7–9,5)	8,5 (6–10)	10 (8,5–10)	0,19	8 (7–9,5)	8,5 (6,3–9,8)	10 (8–10)	0,23
Number of fields of view with cells larger than 100 μm²/ Количество полей зрения с клетками размером более 100 мкм²	4 (2–5)	4 (3,5–7)	0,17	4 (1–5)	4 (2,75–7)	4 (3,5–7)	0,46	4 (1–5)	4 (3,25–5)	4 (3–7)	0,54
Number of fields of view with cells smaller than 100 μm²/ Количество полей зрения с клетками размером менее 100 мкм²	8 (6–9)	10 (6–10)	0,20	8 (6,5–9,5)	8 (5,8–9,3)	10 (6–10)	0,36	8 (6,5–9,5)	8 (6–9)	10 (6–10)	0,41
Number of macrophages per total number of visual fields with macrophages/ Количество макрофагов на общее количество полей зрения с макрофагами	5,5 (3,0–9,8)	10 (4,1–16,9)	0,17	4,8 (3,0–8,2)	8,3 (2,2–12,9)	10 (4,1–16,9)	0,15	4,8 (3,0–8,2)	8,3 (2,4–14,7)	10 (3,9–16)	0,22
Total number of macrophages larger than 100 μm²/ Общее количество макрофагов размером более 100 мкм²	10 (3–30)	15 (5,5–30,5)	0,28	10 (2,5–22,5)	10,5 (3,3–34,5)	10 (2,5–22,5)	0,82	10 (2,5–22,5)	10,5 (4,3–35,5)	13 (4–30)	0,66
Total number of macrophages smaller than 100 μm²/ Общее количество макрофагов размером менее 100 мкм²	24 (14–73)	48 (29–121)	0,08	24 (14,5–45)	47,5 (11,8–7,5)	72 (29–133,5)	0,05	24 (14,5–45)	47,5 (9,5–104,5)	72 (27–124)	0,08
Area of macrophages larger than 100 μm²/ Площадь макрофагов размером более 100 мкм²	1373 (350,6–5101)	2926 (840–5382)	0,29	1373 (254,7–3642)	1527 (492,9–6226)	1906 (840–6235)	0,43	1373 (254,7–3642)	1527 (669,3–8477)	1906 (601,7–5843)	0,48
Area of macrophages smaller than 100 μm²/ Площадь макрофагов размером менее 100 мкм²	1258 (825–3309)	2589 (1301–4963)	0,13	1258 (868–2217)	2067 (449,6–4862)	2706 (1301–5172)	0,11	1258 (868–2217)	2067 (538,6–4804)	2706 (1216–4991)	0,15
The total area of macrophages with a size of less than 100 μm² / the total area of macrophages with a size of more than 100 μm²/ Общая площадь макрофагов размером менее 100 мкм² / общая площадь макрофагов размером более 100 мкм²	1,1 (0,2–1,8)	1,0 (0,4–1,9)	0,74	1,4 (0,2–1,8)	0,6 (0,4–1,3)	1,0 (0,4–1,9)	0,90	1,4 (0,2–1,8)	0,6 (0,4–1,8)	1,0 (0,4–1,8)	0,99

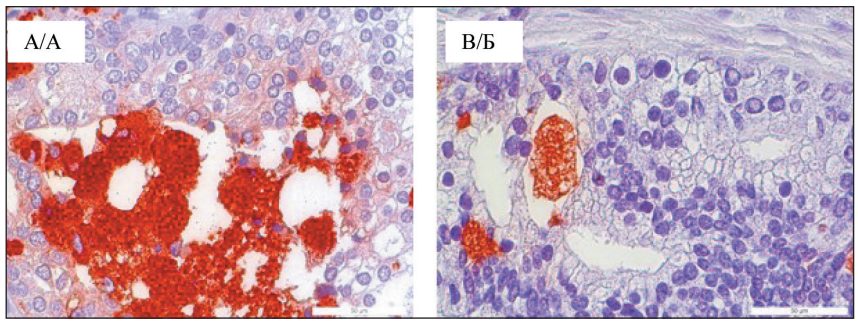


Fig. 3. Microphoto. "Foamy" CD68+macrophages of patients No. 9 (A), No. 17 (B), Gleason score 4 + 4, ×40
Рис. 3. Микрофото. «Пенистые» CD68+макрофаги пациентов № 9 (А), № 17 (Б), оценка по шкале Глисона 4 + 4; ×40

The average area of CD68+ cells, the proportion of the area of all cells occupied by CD68+ macrophages, the number of visual fields with CD68+ cells, the number of visual fields with CD68+ cells over 100 μm^2, the number of visual fields with CD68+ cells under 100 μm^2, and the ratio of the total area of less than 100 μm^2 to the total area of macrophages over 100 μm^2 showed no significant differences between the compared groups.

At the same time, the parameter "number of macrophages per total number of visual fields with macrophages" demonstrated an increase in values with the progression of the tumor process. It was lowest in patients with a Gleason score of 6 (4.8) and highest (10.0) in patients with a Gleason index ≥ 8. Thus, macrophages formed larger clusters in patients with advanced BPH.

It is important to note that the total number of macrophages larger than 100 μm^2 did not practically differ between the groups. Whereas small macrophages were significantly more frequent in patients with lymph node metastases (48 *vs* 24 in N0 group; p=0.076). In addition, the number of small, apparently secreted macrophages increased in the series of patients with Gleason scores of 6, 7, and ≥ 8 (24, 47.5, 72, respectively, p=0.052), and as the risk of biochemical recurrence increased (24, 47.5, 72, respectively, p=0.079). Noteworthy is the increase in the number of macrophages, predominantly at the expense of small secreting cells less than 100 μm2 in size.

Both the areas of macrophages larger than 100 μm^2 and the areas of macrophages smaller than 100 μm^2 increased slightly as the prostate cancer progressed (Table 2). This observation requires further investigation.

Discussion

Our findings revealed characteristic single large "foamy" macrophages and clusters of similar macrophages in prostate cancer tissues, and correlations with clinical findings in patients were determined. The morphology of "frothy" macrophages is the most interesting, they are relatively large, their cytoplasm is loose and granular. Probably, such morphological features are a consequence of excessive internalization of lipids or lipoproteins. According to the published data, this is inherent to atherosclerotic macrophages and is also found in colorectal cancer [9–11]. Increased uptake and oxidation of fatty acids in tumor tissue may contribute to the secretion of proinflammatory cytokines from these cells, such as CXCL10, IL-1β and IL-10, which may subsequently increase the recruitment of effector T cells and natural killer (NK) cells or induce tumor cell migration [12–14].

Majority literature sources categorize the main polarization vectors of macrophages into two phenotypes: classically activated, proinflammatory macrophages M1 and alternatively activated, anti-inflammatory, pro-tumor macrophages M2. However, it is worth noting that there are many intermediate variants [15], and the existing classifications are relevant in characterizing their role in cancer. Currently, biomarker systems are being developed to identify functional subpopulations of tumor-associated macrophages, which include both scavenger receptors and chitinase-like proteins [7, 16, 17]. Tumor-associated macrophages (TAMs) resembling M2 phenotype are involved in stimulation of angiogenesis, invasion and extravasation of tumor cells [18]. The metabolism of tumor-associated macrophages is a mixed form of M1 (glycolysis) and M2 (fatty acid oxidation) metabolism [19] It was shown that the number of M2-like TAMs positively correlates with increased tumor size, rapid proliferation and decreased overall survival in many cancer types, including prostate cancer [7]. Due to the fact that cancer cells have the ability to activate adipocytes, which leads to triglyceride lipolysis, and release free fatty acids in the intratumor environment [20], TAMs are induced to absorb fatty acids through phagocytosis, which in turn leads to lipid-laden TAMs [11]. Similar giant macrophages have been found, for example, in tumor tissue of ovarian cancer [21] Recent studies have begun to evaluate metabolically activated resident tissue macrophages, which cope with a high lipid load of dying hypertrophic adipocytes in adipose tissue in obese patients, which phenotypically differ from M1/M2 classifications [22]. It has been found that these cells are associated with the progression of triple-negative breast cancer [23]. Besides, recent studies describe macrophage subtypes in the prostate gland possessing a combination of M1 and M2 macrophage characteristics in various combinations [24, 25]. It is

important to note that macrophage subtypes in tumor and non-tumor tissue did not differ, which reflects the possibility of tumor tissue factors influencing the distant non-tumor environment [25].

CD11b+CD68+ macrophages isolated from colorectal cancer tissue contained higher amount of lipids in comparison with macrophages in normal tissue [11] Lipid accumulation in tumor-associated macrophages of myeloma patients obtained from bone marrow is significantly associated with disease progression [24]. Our study has revealed that the size of large phagocytic cells continues to increase as the tumor progresses that may reflect the process of undigested lipid accumulation. It is known that during tumor progression macrophages can change their phenotype, accompanied by the recruitment of new monocytes from the bloodstream. Increased number of small macrophages relative to large, actively phagocytosing cells, combined with increased number of small macrophages may be one of the reasons of immune control failure and tumor progression.

Besides, according to literature data, in a number of studies it was shown the correlation of increased number of macrophages and their density in tumor tissue with more aggressive behavior of tumor and more unfavorable outcomes in prostate cancer [27–29]. Other data found an inverse correlation between the number of CD68+ OAM infiltrates in total tumor tissue and clinical TNM stage, while OAM density in the cancer cell area was positively correlated with the Gleason score [30]. Analysis of individual OAM cell size in PCa is mentioned in a limited number of studies. For example, Lissbrant IF et al, 2000 showed that increased area of individual CD68+ macrophages was positively correlated with a higher Gleason score and was a predictor of shorter cancer-specific survival [27].

Conclusion

We have demonstrated a tendency for an increase in the total area of large, foamy TAMs, probably rich in lipids, and a wider distribution of small, secreting macrophages and a tendency to form clusters during the course of tumor progression and while the risk of biochemical recurrence has increased. Our data suggest that foamy macrophages take part in further recruitment of small macrophages, subsequently leading to metastasis and tumor progression. Further analysis of such macrophages and determination of their phenotype and morphological features will help to clarify their biological role in prostate cancer progression. Understanding how resident tissue immune cells affect lipid exchange between cancer cells and the stromal environment is of practical interest in the field of cancer immunology. The hypothesis of the involvement of foamy cells in attracting new macrophages, which subsequently leads to metastasis and tumor progression, requires further investigation.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A.* Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2015; 65(2): 87–108. doi: 10.3322/caac.21262.

2. *Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice C., Abate D., Abbasi N., Abbastabar H., Abd-Allah F., Abdel-Rahman O., Abdelalim A., Abdoli A., Abdollahpour I., Abdulle A.S.M., Abebe N.D., Abraha H.N., Abu-Raddad L.J., at al.* Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. JAMA Oncol. 2019; 5(12): 1749–68. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.2996. Erratum in: JAMA Oncol. 2020; 6(3): 444. Erratum in: JAMA Oncol. 2020; 6(5): 789. Erratum in: JAMA Oncol. 2021; 7(3): 466.

3. *Steele C.B., Li J., Huang B., Weir H.K.* Prostate cancer survival in the United States by race and stage (2001-2009): Findings from the CONCORD-2 study. Cancer. 2017; 123 (Suppl 24): 5160–77. doi: 10.1002/cncr.31026.

4. *Sfanos K.S., Yegnasubramanian S., Nelson W.G., De Marzo A.M.* The inflammatory microenvironment and microbiome in prostate cancer development. Nat Rev Urol. 2018; 15(1): 11–24. doi: 10.1038/nrurol.2017.167.

5. *Patysheva M., Larionova I., Stakheyeva M., Grigoryeva E., Iamshchikov P., Tarabanovskaya N., Weiss C., Kardashova J., Frolova A., Rakina M., Prostakishina E., Zhuikova L., Cherdyntseva N., Kzhyshkowska J.* Effect of Early-Stage Human Breast Carcinoma on Monocyte Programming. Front Oncol. 2022; 11. doi: 10.3389/fonc.2021.800235.

6. *Patysheva M., Frolova A., Larionova I., Afanas'ev S., Tarasova A., Cherdyntseva N., Kzhyshkowska J.* Monocyte programming by cancer therapy. Front Immunol. 2022; 13. doi: 10.3389/fimmu.2022.994319.

7. *Larionova I., Tuguzbaeva G., Ponomaryova A., Stakheyeva M., Cherdyntseva N., Pavlov V., Choinzonov E., Kzhyshkowska J.* Tumor-Associated Macrophages in Human Breast, Colorectal, Lung, Ovarian and Prostate Cancers. Front Oncol. 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.566511.

8. *Kzhyshkowska J., Neyen C., Gordon S.* Role of macrophage scavenger receptors in atherosclerosis. Immunobiology. 2012; 217(5): 492–502. doi: 10.1016/j.imbio.2012.02.015.

9. *Krawczyk K.M., Nilsson H., Allaoui R., Lindgren D., Arvidsson M., Leandersson K., Johansson M.E.* Papillary renal cell carcinoma-derived chemerin, IL-8, and CXCL16 promote monocyte recruitment and differentiation into foam-cell macrophages. Lab Invest. 2017; 97(11): 1296–305. doi: 10.1038/labinvest.2017.78.

10. *Corn K.C., Windham M.A., Rafat M.* Lipids in the tumor microenvironment: From cancer progression to treatment. Prog Lipid Res. 2020; 80. doi: 10.1016/j.plipres.2020.101055.

11. *Wu H., Han Y., Rodriguez Sillke Y., Deng H., Siddiqui S., Treese C., Schmidt F., Friedrich M., Keye J., Wan J., Qin Y., Kühl A.A., Qin Z., Siegmund B., Glauben R.* Lipid droplet-dependent fatty acid metabolism controls the immune suppressive phenotype of tumor-associated macrophages. EMBO Mol Med. 2019; 11(11). doi: 10.15252/emmm.201910698.

12. *Zhang Y., Sun Y., Rao E., Yan F., Li Q., Zhang Y., Silverstein K.A., Liu S., Sauter E., Cleary M.P., Li B.* Fatty acid-binding protein E-FABP restricts tumor growth by promoting IFN-β responses in tumor-associated macrophages. Cancer Res. 2014; 74(11): 2986–98. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2689.

13. *Zhang Q., Wang H., Mao C., Sun M., Dominah G., Chen L., Zhuang Z.* Fatty acid oxidation contributes to IL-1β secretion in M2 macrophages and promotes macrophage-mediated tumor cell migration. Mol Immunol. 2018; 94: 27–35. doi: 10.1016/j.molimm.2017.12.011.

14. *Chiba S., Hisamatsu T., Suzuki H., Mori K., Kitazume M.T., Shimamura K., Mizuno S., Nakamoto N., Matsuoka K., Naganuma M., Kanai T.* Glycolysis regulates LPS-induced cytokine production in M2 polarized human macrophages. Immunol Lett. 2017; 183: 17–23. doi: 10.1016/j.imlet.2017.01.012.

15. *Martinez F.O., Sica A., Mantovani A., Locati M.* Macrophage activation and polarization. Front Biosci. 2008; 13: 453–61. doi: 10.2741/2692.

16. *Kzhyshkowska J., Yin S., Liu T., Riabov V., Mitrofanova I.* Role of chitinase-like proteins in cancer. Biol Chem. 2016; 397(3): 231–47. doi: 10.1515/hsz-2015-0269.

17. *Larionova I.V., Sevastyanova T.N., Rakina A.A., Cherdyntseva N.V., Kzhyshkowska J.G.* Chitinase-like proteins as promising markers in cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17(4): 99–105. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-99-105.

18. *Larionova I., Kazakova E., Gerashchenko T., Kzhyshkowska J.* New Angiogenic Regulators Produced by TAMs: Perspective for Targeting Tumor Angiogenesis. Cancers (Basel). 2021; 13(13): 3253. doi: 10.3390/cancers13133253.

19. *Larionova I., Kazakova E., Patysheva M., Kzhyshkowska J.* Transcriptional, Epigenetic and Metabolic Programming of Tumor-Associated Macrophages. Cancers (Basel). 2020; 12(6): 1411. doi: 10.3390/cancers12061411.

20. *Dirat B., Bochet L., Dabek M., Daviaud D., Dauvillier S., Majed B., Wang Y.Y., Meulle A., Salles B., Le Gonidec S., Garrido I., Escourrou G., Valet P., Muller C.* Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion. Cancer Res. 2011; 71(7): 2455–65. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3323.

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

22. *Kratz M., Coats B.R., Hisert K.B., Hagman D., Mutskov V., Peris E., Schoenfelt K.Q., Kuzma J.N., Larson I., Billing P.S., Landerholm R.W., Crouthamel M., Gozal D., Hwang S., Singh P.K., Becker L.* Metabolic dysfunction drives a mechanistically distinct proinflammatory phenotype in adipose tissue macrophages. Cell Metab. 2014; 20(4): 614–25. doi: 10.1016/j.cmet.2014.08.010.

23. *Tiwari P., Blank A., Cui C., Schoenfelt K.Q., Zhou G., Xu Y., Khramtsova G., Olopade F., Shah A.M., Khan S.A., Rosner M.R., Becker L.* Metabolically activated adipose tissue macrophages link obesity to triple-negative breast cancer. J Exp Med. 2019; 216(6): 1345–58. doi: 10.1084/jem.20181616.

24. *Boibessot C., Molina O., Lachance G., Tav C., Champagne A., Neveu B., Pelletier J.F., Pouliot F., Fradet V., Bilodeau S., Fradet Y., Bergeron A., Toren P.* Subversion of infiltrating prostate macrophages to a mixed immunosuppressive tumor-associated macrophage phenotype. Clin Transl Med. 2022; 12(1). doi: 10.1002/ctm2.581.

25. *Siefert J.C., Cioni B., Muraro M.J., Alshalalfa M., Vivié J., van der Poel H.G., Schoots I.G., Bekers E., Feng F.Y., Wessels L.F.A., Zwart W., Bergman A.M.* The Prognostic Potential of Human Prostate Cancer-Associated Macrophage Subtypes as Revealed by Single-Cell Transcriptomics. Mol Cancer Res. 2021; 19(10): 1778–91. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-20-0740.

26. *Su P., Wang Q., Bi E., Ma X., Liu L., Yang M., Qian J., Yi Q.* Enhanced Lipid Accumulation and Metabolism Are Required for the Differentiation and Activation of Tumor-Associated Macrophages. Cancer Res. 2020; 80(7): 1438–50. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-2994. Erratum in: Cancer Res. 2022; 82(5): 945.

27. *Lissbrant I.F., Stattin P., Wikstrom P., Damber J.E., Egevad L., Bergh A.* Tumor associated macrophages in human prostate cancer: relation to clinicopathological variables and survival. Int J Oncol. 2000; 17(3): 445–51. doi: 10.3892/ijo.17.3.445.

28. *Erlandsson A., Carlsson J., Lundholm M., Fält A., Andersson S.O., Andrén O., Davidsson S.* M2 macrophages and regulatory T cells in lethal prostate cancer. Prostate. 2019; 79(4): 363–9. doi: 10.1002/pros.23742.

29. *Yuri P., Shigemura K., Kitagawa K., Hadibrata E., Risan M., Zulfiqqar A., Soeroharjo I., Hendri A.Z., Danarto R., Ishii A., Yamasaki S., Yan Y., Heriyanto D.S., Fujisawa M.* Increased tumor-associated macrophages in the prostate cancer microenvironment predicted patients' survival and responses to androgen deprivation therapies in Indonesian patients cohort. Prostate Int. 2020; 8(2): 62–9. doi: 10.1016/j.prnil.2019.12.001.

30. *Shimura S., Yang G., Ebara S., Wheeler T.M., Frolov A., Thompson T.C.* Reduced infiltration of tumor-associated macrophages in human prostate cancer: association with cancer progression. Cancer Res. 2000; 60(20): 5857–61.

Поступила/Received 22.11.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 02.12.2022
Принята к публикации/Accepted 02.12.2022

ABOUT THE AUTHORS

Ksenia V. Danilko, PhD, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Ufa, Russia). Researcher ID (WOS): R-5427-2016. Author ID (Scopus): 16023913600. ORCID: 0000-0002-4374-2923.

Kadriya I. Enikeeva, Assistant of the Department of Pharmacology with a Course of Clinical Pharmacology, Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Ufa, Russia). Researcher ID (WOS): DXF-6862-2022. Author ID (Scopus): 57226606914. ORCID: 0000-0002-5995-2124.

Ildar R. Kabirov, MD, PhD, Associate Professor, Department of Urology, Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Ufa, Russia). Author ID (Scopus): 56901864600. ORCID: 0000-0002-9581-8918.

Serafima Yu. Maksimova, Assistant of the Department of Urology, Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Ufa, Russia). Researcher ID (WOS): HCH-8465-2022. ORCID: 0000-0002-4169-9124.

Dmitry S. Vishnyakov, Junior Researcher of Central Research Laboratory, Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Ufa, Russia). ORCID: 0000-0001-7339-0589.

Julia G. Kzhyshkowska, MD, PhD, Professor, Head of Department of Innate Immunity and Immunological Tolerance, Institute for Transfusion Medicine and Immunology, University of Heidelberg; German Red Cross Blood Service Baden-Württemberg – Hessen (Mannheim, Germany); Head of Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University; Head of Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). E-mail: julia.kzhyshkowska@gmail.com. Researcher ID (WOS): J-5835-2016. Author ID (Scopus): 6603091281. ORCID: 0000-0003-0898-3075.

Valentin N. Pavlov, MD, Professor, RAS academician, Head of the Department of Urology, Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Ufa, Russia). Researcher ID (WOS): V-8556-2017. Author ID (Scopus): 8391101300. ORCID: 0000-0003-2125-4897.

AUTHOR CONTRIBUTION

Ksenia V. Danilko: performance of immunohistochemical studies, data processing.
Kadriya I. Enikeeva: data analysis, article formation.
Ildar R. Kabirov: collection of biological material.
Serafima Yu. Maksimova: processing of clinical data.
Dmitry S. Vishnyakov: preparation of pathomorphological material.
Julia G. Kzhyshkowska: conceptualization and editing.
Valentin N. Pavlov: conceptualization and editing.

Funding

The study was funded by the state grant of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation "Genetic and epigenetic editing of tumor cells and the microenvironment to block metastasis" No. 075-15-2021-1073 (experiments) and BSMU Strategic Academic Leadership Program PRIORITY-2030 (clinical data analysis).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Данилко Ксения Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ЦНИЛ, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Уфа, Россия). SPIN-код: 9874-8619. Researcher ID (WOS): R-5427-2016. Author ID (Scopus): 16023913600. ORCID: 0000-0002-4374-2923.

Еникеева Кадрия Ильдаровна, ассистент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Уфа, Россия). SPIN-код: 8166-7147. Researcher ID (WOS): DXF-6862-2022. Author ID (Scopus): 57226606914. ORCID: 0000-0002-5995-2124.

Кабиров Ильдар Раифович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры урологии с курсом ИДПО, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Уфа, Россия). SPIN-код: 6542-9231. Author ID (Scopus): 56901864600. ORCID: 0000-0002-9581-8918.

Максимова Серафима Юрьевна, ассистент кафедры урологии с курсом ИДПО, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Уфа, Россия). SPIN-код: 2867-9576. Researcher ID (WOS): HCH-8465-2022. ORCID: 0000-0002-4169-9124.

Вишняков Дмитрий Сергеевич, младший научный сотрудник ЦНИЛ, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Уфа, Россия). SPIN-код: 8834-4200. ORCID: 0000-0001-7339-0589.

Кжышковска Юлия Георгиевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая отделом врожденного иммунитета и иммунологической толерантности, медицинский факультет Маннгейма, Институт иммунологии и трансфузионной медицины, Университет Гейдельберга; Служба крови Немецкого Красного Креста Баден-Вюртемберг-Гессен (г. Маннгейм, Германия); заведующая лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»; заведующая лабораторией, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: julia.kzhyshkowska@gmail.com. SPIN-код: 2465-2280. Researcher ID (WOS): J-5835-2016. Author ID (Scopus): 6603091281. ORCID: 0000-0003-0898-3075.

Павлов Валентин Николаевич, доктор медицинских наук, академик РАН, заведующий кафедрой урологии с курсом ИДПО, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Уфа, Россия). SPIN-код: 2799-6268. Researcher ID (WOS): V-8556-2017. Author ID (Scopus): 8391101300. ORCID: 0000-0003-2125-4897.

ВКЛАД АВТОРОВ

Данилко Ксения Владимировна: выполнение иммуногистохимических исследований, обработка данных.
Еникеева Кадрия Ильдаровна: анализ данных, написание статьи.
Кабиров Ильдар Раифович: набор биологического материала.
Максимова Серафима Юрьевна: обработка клинических данных.
Вишняков Дмитрий Сергеевич: подготовка патоморфологического материала.
Кжышковска Юлия Георгиевна: концептуализация и редактирование.
Павлов Валентин Николаевич: концептуализация и редактирование.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Генетическое и эпигенетическое редактирование опухолевых клеток и микроокружения с целью блокирования метастазирования» № 075-15-2021-1073 (эксперименты) и программы «Приоритет 2030» (клинические данные).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-91-98
УДК: 618.19-006.6:577.112

Для цитирования: *Rahmah N.A., Harliansyah H., Suyatna F.D., Kanoko M., Rustamadji P., Prihartono J., Bustami A., Haryono S.J., Hernowo B.S.* Куркумин снижает пролиферацию клеток рака молочной железы через белки RASSF1A, Bax и caspase-3. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 91–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-91-98

For citation: *Rahmah N.A., Harliansyah H., Suyatna F.D., Kanoko M., Rustamadji P., Prihartono J., Bustami A., Haryono S.J., Hernowo B.S.* Curcumin as an anti-proliferative agent in breast cancer through RASSF1A, Bax, and caspase-3 protein. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 91–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-91-98

CURCUMIN AS AN ANTI-PROLIFERATIVE AGENT IN BREAST CANCER THROUGH RASSF1A, BAX, AND CASPASE-3 PROTEIN

N.A. Rahmah[1], H. Harliansyah[1], F.D. Suyatna[2], M. Kanoko[2], P. Rustamadji[2], J. Prihartono[2], A. Bustami[2], S.J. Haryono[3], B.S. Hernowo[4]

Universitas YARSI, Jakarta, Indonesia[1]
Jakarta, 10520, Indonesia. E-mail: nunung.rahmah@klinikjurnal.com[1]
Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia[2]
Jakarta, 10440, Indonesia[2]
National Cancer Center Dharmais Hospital, Jakarta, Indonesia[3]
Jakarta, 11420, Indonesia[3]
Universitas Padjajaran, Bandung, Indonesia[4]
Bandung, 45363, Indonesia[4]

Abstract

Background. Curcumin is a polyphenol that has pharmacological activity that can inhibit tumor cell growth and induce apoptosis through various mechanisms. However, the specific mechanism of curcumin cytotoxicity remains controversial because of many anti- and pro-apoptotic signaling pathways in various cell types. **This study aims to examine** the relationship among curcumin on RASSF1A, Bax protein levels, and caspase-3 activity in supporting the apoptotic mechanism in CSA03 breast cancer cells. **Material and Methods.** Curcumin administration to cancer cells is based on differences in dosage with 24-hour incubation. Cytotoxicity after curcumin administration was determined using MTS. RASSF1A and Bax protein levels were tested through ELISA. Caspase-3 activity was used to determine apoptosis and was tested using flow cytometry. **Results.** The results indicated that curcumin had a cytotoxicity effect of 40.85 µg/mL. At concentrations of 40 µg/mL and 50 µg/mL, curcumin increases levels of protein RASSF1A (Δ = 26.53% and 47.35%, respectively), Bax (Δ = 48.79% and 386.15%), and caspase-3 (Δ = 1,678.51% and 1,871.889%) significantly. **Conclusions.** Curcumin exhibits anti-proliferative activity and apoptotic (Caspase-3) effects through activation of RASSF1A and Bax.

Key words: Bax, caspase-3, curcumin, CSA03, RASSF1A

КУРКУМИН СНИЖАЕТ ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕРЕЗ БЕЛКИ RASSF1A, BAX И CASPASE-3

N.A. Rahmah[1], H. Harliansyah[1], F.D. Suyatna[2], M. Kanoko[2], P. Rustamadji[2], J. Prihartono[2], A. Bustami[2], S.J. Haryono[3], B.S. Hernowo[4]

Университет Ярси, Джакарта, Индонезия[1]
Джакарта, 10520, Индонезия. E-mail: nunung.rahmah@klinikjurnal.com [1]
Университет Индонезии, Джакарта, Индонезия[2]
Джакарта, 10440, Индонезия[2]
Больница Национального онкологического центра Dharmais, Джакарта, Индонезия[3]
Джакарта, 11420, Индонезия[3]
Университет Паджаджаран, Бандунг, Индонезия[4]
Бандунг, 45363, Индонезия[4]

Nunung Ainur Rahmah, nunung.rahmah@klinikjurnal.com

Аннотация

Актуальность. Куркумин представляет собой полифенол, обладающий фармакологической активностью, которая может ингибировать рост опухолевых клеток и вызывать апоптоз с помощью различных механизмов. Однако конкретный механизм цитотоксичности куркумина остается спорным из-за множества анти- и проапоптотических сигнальных путей в различных типах клеток. **Целью исследования** явилось изучение взаимосвязи куркумина с уровнями белка RASSF1A, Bax и активностью каспазы-3 в поддержке механизма апоптоза в клетках рака молочной железы CSA03. **Материал и методы.** Введение куркумина в раковые клетки основано на различиях в дозировке при 24-часовой инкубации. Цитотоксичность после введения куркумина определяли с помощью MTS. Уровни белков RASSF1A и Bax тестировали с помощью ELISA. Активность каспазы-3 использовали для определения апоптоза и тестировали с помощью проточной цитометрии. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Statistical Program for Social Science (SPSS) версии 20.0 для Windows. Проверка гипотез выполнялась с использованием непараметрического численного сравнительного теста проверки гипотез. Для оценки разницы между >2 группами непарных концентраций использовали непараметрический критерий Крускала–Уоллиса, а для оценки значимой разницы в двух группах проводили апостериорный анализ Манна–Уитни. **Результаты.** Показано, что цитотоксический эффект куркумина составил 40,85 мкг/мл. В концентрациях 40 мкг/мл и 50 мкг/мл куркумин увеличивает уровни белка RASSF1A (Δ = 26,53 % и 47,35 %, соответственно), Bax (Δ = 48,79 % и 386,15 %) и каспазы-3 (Δ = 1678,51 % и 1871,889 %). **Заключение.** Введение куркумина в клетки CSA03 эффективно уменьшало рост клеток рака молочной железы *in vitro* за счет реактивации RASSF1A в качестве гена-супрессора опухоли и повышало уровень белка Bax в качестве индукции апоптоза (caspase-3).

Ключевые слова: Bax, caspase-3, куркумин, CSA03, RASSF1A.

Introduction

The frequency of breast cancer tends to increase. In 2020, there were 2.3 million women diagnosed with breast cancer and 685 000 deaths globally. As of the end of 2020, there were 7.8 million women alive diagnosed with breast cancer in the past 5 years, making it the world's most prevalent cancer [1]. In Indonesia, breast cancer in 2010 ranked first in malignancy, accounting for 18.58 % of cancer cases, most often at the age of 35–54 years [2]. Recently, resistance to hormone therapy or chemotherapy has been reported since the beginning or during the treatment. Many strategies for selecting the therapy based on molecular mechanisms are currently being implemented to overcome the resistance in the breast cancer treatment [3].

One of the molecular mechanisms of breast cancer is epigenetic changes in the form of hypermethylation [4]. The tumor suppressor gene in breast cancer that often undergoes hypermethylation is the RASSF1A gene that plays a role in cell cycle processes, mitosis, and apoptosis [5]. RASSF1A can regulate the activity of the Bax protein to release cytochrome-c so that it activates caspase-3, which is the executor and is responsible for apoptosis [6]. Hypermethylation is reversible, and it is possible to re-express hypermethylated genes in cancer with demethylation drugs, so that the tumor suppressor genes that were previously inactive can be regulated and their function be improved. The administration of demethylation drugs in the tumor cell lines causes the reactivation of the tumor suppressor function, but demethylation drugs have side effects that limit the dose and duration of the treatment and have the potential to form mutagenic lesions [4, 7, 8]. Therefore, the use of new compounds from natural substances that can affect epigenetic changes and have low toxicity to inhibit the development of cancer cells is an important field of cancer treatment research.

One of the natural compounds that have an epigenome target is curcumin. Curcumin is the polyphenol that can efficiently induce apoptosis [9, 10]. However, the specific mechanism of curcumin cytotoxicity via the RASSF1A pathway is still controversial in various cell types [11]. One study demonstrated that curcumin increased Bax expression via the P53 pathway.

Selecting the right cell line is vital to getting reliable research results, particularly for breast cancer cell lines. Breast cancer cells are heterogeneous, therefore, they are classified based on the expressed genes on the cancer cells luminal A breast cancer, luminal B-like breast cancer, luminal B breast cancer, HER2-enriched breast cancer, and triple-negative or basal-like breast cancer. Furthermore, the mutated gene controls the cell behaviour, including cell response to cancer drugs and treatment [12]. The previous study demonstrated that the administration of curcumin treatment to MCF-7 and MDA-MB-468 cells efficiently enhances the suppression of the growth of the breast cancer cells *in vitro* through reactivation of RASSF1A, upregulation of Bax, and induction of apoptosis [13]. Experimental research was carried out on the luminal A breast cancer cells from Indonesian patients, in particular, using CSA03 cells. The CSA03 cells were isolated from breast cancer tissue of a 56-year-old Indonesian woman with a clinical diagnosis of left invasive ductal mammary carcinoma T2N0M0. On immunohistochemical examination based on secondary data from the Department of Anatomic Pathology, Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta obtained ER-positive results (5 %, weak, Allred score 3), 83 PR-positive (20 %,

moderate, Allred score 5), 83 HER2-negative, and Ki67 positive (20 %, weak). Based on the results of the IHC examination, CSA03 cells were included in the luminal A subtype of breast cancer.

The present study was aimed at investigating the cytotoxic effect and apoptosis-induced effects of curcumin via the RASSF1A pathway CSA03 cell line *in vitro*. The results of this study can be used as the basis of literature for further research.

Material and Methods

Material

The CSA03 breast cancer cells were obtained from the integrated laboratory of the Faculty of Medicine, University of Indonesia which was operated on at Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta. Dubelco's minimum essential medium (DMEM) (Gibco, New York, USA) was supplemented with 10 % fetal bovine serum (Biowest, Riverside, USA), 5 % amphotericin, and 5 % penicillin-streptomycin (Biosciences, San Jose, USA). Curcumin was purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). The MTS kit was obtained from Promega (Madison, USA). The RASSF1A kit was obtained from MyBioSource, and the Bax kit was obtained from Abcam. The caspase-3 level was determined using PE-conjugated the monoclonal active the caspase-3 antibody apoptosis kit (BD PharMingen, Heidelberg, Germany).

Morphology of Cells

The cell morphology examination was carried out on a paraffin block of the cancer patient using hematoxylin-eosin staining.

The Cell Culture

The CSA03 cells were cultured in a Tissue Flask containing complete culture media. After the cells were harvested, the cells were counted using a hemocytometer. There were 1×10^6 cells/well, and curcumin that had been dissolved in DMSO was added. After the harvesting of CSA03 cells, cell blocks were made, and hematoxylin-eosin staining was carried out to see morphological features of the cells.

The Cytotoxicity Examination

The cytotoxicity examination used the colorimetric principle with the MTS assay. As many as 5×10^3 cells of CSA03 per well were plated in 96-well plates and treated with curcumin at concentrations of 20, 30, 40, 60, 80 μg/mL. 0.1 % DMSO was used as a control. It was then incubated for 24 hours. After adding 20 mg/mL 3-(4, 5 dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboximetoniphenol)-2-(4-sulphodenil)-2-H-tetrazolium) (MTS) to each well, it was incubated again for 2 hours at temperature 37 °C. Furthermore, the optical density was determined using a microplate reader that was set at 490 nm. IC50 was calculated based on

$$\% \text{ inhibition} = \frac{\Delta \text{ Control uptake} - \Delta \text{ Sample uptake}}{\Delta \text{ Control uptake}} \times 100\ \%. \quad \text{Eq (1)}$$

Furthermore, the data from the cytotoxicity examination were used as the basis for determining the concentration of curcumin to be exposed to breast cell cultures. The determination of the curcumin concentration was carried out around the IC50 value.

Caspase-3 Examination

Caspase-3 examination was carried out using the immunofluorescence technique (apoptosis Kit Catalog No. 550914 from BD PharMingen). The cells that had been treated were then given the steps on the datasheet and put into the flow chamber. The electronic system converted the detected light signals into electronic signals that could be processed by a computer. Cells that did not indicate an autofluorescent pattern were grouped, compared against the whole cell, and their proportion was then determined as a percentage.

RASSF1A and the Bax Protein Assay

RASSF1A and Bax protein examination was conducted using the ELISA technique (RASSF1 ELISA Kit Catalog No. MBS2706790 from MyBioSource and Bax Catalog No. ab133048 from Abcam). The results of RASSF1A and Bax protein levels obtained from the ELISA reader were optical density (OD) values converted into RASSF1A protein levels (ng/mL) and Bax protein levels (pg/mL) using standards.

Data Analysis

Data were processed statistically using the Statistical Program for Social Science (SPSS) version 20.0 software for Windows. Hypothesis testing was performed using a non-parametric numerical comparative hypothesis test flow. To assess the difference between >2 groups of unpaired concentrations, the Kruskal–Wallis non-parametric test was used, and to assess the significant difference in the two groups, a Mann–Whitney posthoc analysis was made. The correlation test between the two variables was conducted using the Spearman non-parametric test. All experiments were performed in triplicate (n = 3, where n: replicate). The average growth rate (delta) was calculated using the following formula:

$$\text{Growth rate (Delta)} = \frac{\text{Data after exposure} - \text{Data without exposure}}{\text{Data without exposure}} \times 100\ \% \quad \text{Eq (2)}$$

Results

Cell Morphology

The morphological picture of CSA03 cells consists of cells with pleomorphic nuclei, fine or coarse granular chromatin, partially irregularly shaped nucleolus, a small vacuole, and eosinophilic cytoplasm (Fig. 1). Fig. 2 illustrates the CSA03 cells in Tissue Flask that are ready to be harvested. The results of hematoxylin-eosin staining on CSA03 cells that had been made block cells indicate the same nuclei image as the nu-

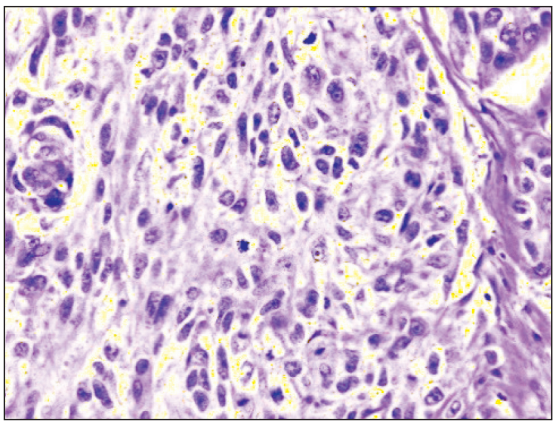


Fig. 1. The morphological feature of CSA03. Hematoxylin-eosin staining, × 400
Рис. 1. Морфологический признак CSA03. Окраска гематоксилином и эозином, ×400

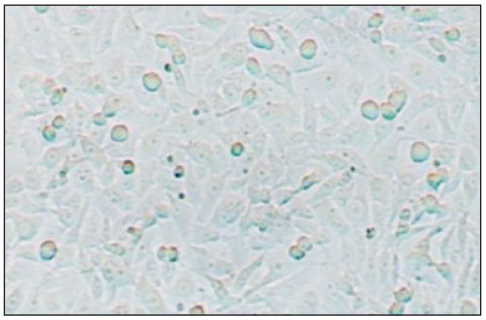


Fig. 2. Microscopic feature of CSA03 Cells in the Tissue Flask, ×400
Рис. 2. Микроскопия клеток CSA03 в колбе для тканей, ×400

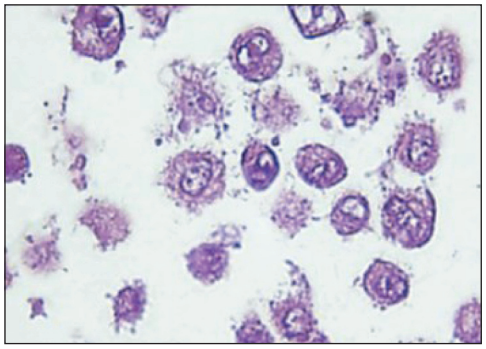


Fig. 3. Microscopic feature of CSA03 made of cell blocks. Hematoxylin-eosin staining, ×1,000
Рис. 3. Микроскопические характеристики CSA03, сделанного из клеточных блоков. Окраска гематоксилином и эозином, ×1000

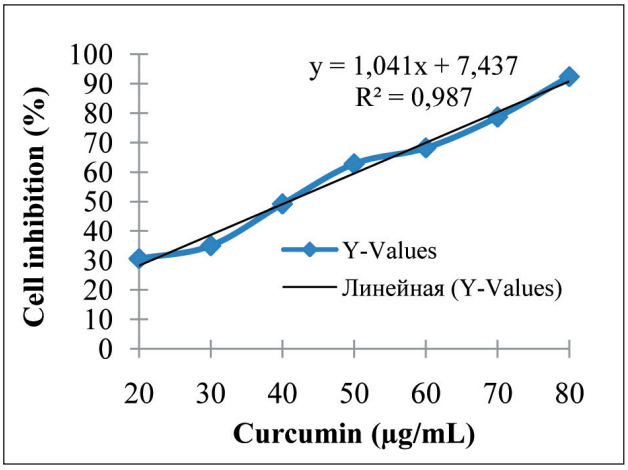


Fig. 4. Cell inhibition of curcumin on CSA03 cells (n=3)
Рис. 4. Ингибирование куркумина клетками CSA03 (n=3)

clei image on the paraffin block; the cell morphology examination was carried out on the paraffin block of the cancer patient using hematoxylin-eosin staining (Fig. 3).

Cytotoxicity Examination

In this study, the curcumin concentrations used were 0 µg/mL (without exposure), 40 µg/mL, and 50 µg/mL. The IC50 of curcumin on CSA03 cells was 40.85 µg/mL (Fig. 4). These results indicated that curcumin has a potent anti-proliferative effect on breast cancer cells.

Curcumin Upregulated the Protein Expression of RASSF1A on CSA03 cells

To investigate whether suppression of proliferation of breast cancer cells by curcumin is due to the down-regulation of molecules involved in cell proliferation, we tested the protein levels of RASSF1A in cells. As illustrated in Figure 5, at the previously demonstrated pharmacological effective (anti-proliferation and apoptosis) concentrations, curcumin could significantly increase protein levels of RASSF1A on CSA03 cells. We found that curcumin treatment increased the protein expression of RASSF1A in a dose-dependent manner. At concentrations of 40 µg/mL and 50 µg/mL, curcumin increased levels of protein RASSF1A (Δ = 26.53 % and 47.35 %, respectively).

Curcumin Upregulated the Protein of Bax on CSA03 cells

We further investigated mechanisms underlying curcumin-induced apoptosis of breast cancer cells. As illustrated in Fig. 6, Bax levels were significantly upregulated by curcumin in both cells in a dose-dependent manner. Curcumin treatment increases the protein expression of Bax in a dose-dependent manner. At concentrations of 40 µg/mL and 50 µg/mL, curcumin increases levels of protein Bax (Δ = 48.79 % and 386.15 %, respectively).

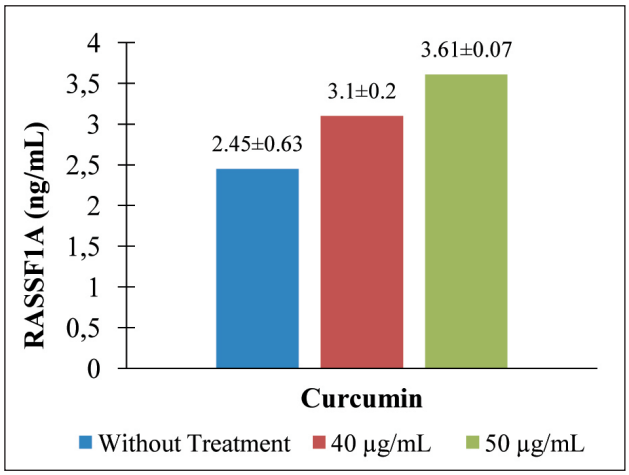


Fig. 5. Curcumin upregulated RASSF1A of protein on CSA03 cells (statistical significance: p<0.05). ELISA assay of curcumin-induced apoptosis of cells for 24 h (RASSF1A protein level ± standard deviation, ng/mL Y-axis); untreated, 40 µg/mL, and 50 µg/mL (dose of curcumin, X-axis). Curcumin upregulated RASSF1A of protein on CSA03 cells in a dose-dependent manner (n=3)

Рис. 5. Куркумин активировал белок RASSF1A на клетках CSA03 (статистическая значимость: p<0,05). ELISA-анализ индуцированного куркумином апоптоза клеток в течение 24 ч (уровень белка RASSF1A ± стандартное отклонение, нг/мл, ось Y); необработанный, 40 мкг/мл и 50 мкг/мл (доза куркумина, ось X). Куркумин активировал белок RASSF1A на клетках CSA03 дозозависимым образом (n=3)

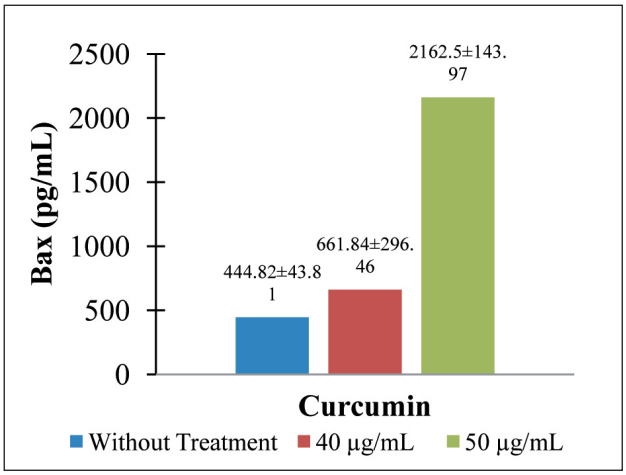


Fig. 6. Curcumin upregulated Bax of protein on CSA03 cells (statistical significance: p<0.05). ELISA assay of curcumin-induced apoptosis of cells for 24 h (Bax protein level, pg/mL, Y-axis); untreated, 40 µg/mL, and 50 µg/mL (dose of curcumin, X-axis) (n=3)

Рис. 6. Куркумин активировал белок Bax на клетках CSA03 (статистическая значимость: p<0,05). ELISA-анализ индуцированного куркумином апоптоза клеток в течение 24 ч (уровень белка Bax, пг/мл, ось Y); необработанные, 40 мкг/мл и 50 мкг/мл (доза куркумина, ось X) (n=3)

Curcumin Induces Apoptosis (Caspase-3) on CSA03 cells

In this study, the curcumin concentrations used were 0 µg/mL (without exposure), a low concentration below the IC50 (40 µg/mL), and a high concentration above the IC50 (50 µg/mL). The cells were treated of curcumin for 24 h. Our results indicated that curcumin in a dose-dependent manner induced apoptosis. As illustrated in Figure 7, the percentage of caspase-3 with a curcumin concentration of 40 µg/mL increased to 1678.51 % in CSA03 cells. Under the treatment with a curcumin concentration of 50 µg/mL, the level of caspase-3 increased to 1871.889 % in CSA03 cells.

Discussion

The effectiveness of curcumin as a chemopreventive agent has been investigated using cell culture. The types of breast cancer cells commonly used for research on anti-proliferative drugs are cancer cells that have similar molecular features to those of human breast cancer cells so that they are relevant for the development of anti-proliferative therapies for these types of subtypes. Therefore, experimental research on CSA03 cells is relevant to the situation in Indonesia, to determine the relationship between curcumin and levels of the RASSF1A protein, Bax protein, and caspase-3 level in supporting the apoptotic mechanism.

In this study, CSA03 cells originating from Indonesia were used. An MTS assay was performed to investigate the cytotoxicity effect of curcumin on CSA03 cells. The MTS assay in this study indicated that the IC50 of curcumin on CSA03 cells was 40.85 µg/mL. This result was lower than that on MCF-7 breast cancer cells (75.73 µg/mL), which had the same molecular picture as CSA03 cells [12]. This indicates that CSA03 cells are quite sensitive. At low concentrations, curcumin was able to inhibit growth by 50 % in CSA03 cells.

In some Southeast Asian countries, including Indonesia, turmeric is often used as a cooking spice, so that lower concentrations have shown a cytotoxicity level of 50 %. Frequent use of turmeric may interfere with the antitumor activity of curcumin. In the study of Hafner et al. on growth rates, it was reported that modification of genes or the microenvironment often results in changes in cell division [14, 15]. One of the cytotoxicity mechanisms of curcumin is the oxidative stress pathway. Curcumin, in high doses, can activate mitochondrial enzymes that lead to the production of ROS. The induction of ROS by curcumin can occur through its interaction with thioredoxin reductase, thereby altering the activity of NADPH oxidase, which in turn can lead to the production of ROS. Several studies have demonstrated that curcumin can induce ROS [16, 17].

In the study of Lv et al. [18], it was reported that curcumin administration would increase Bax on MCF-7 cells in a concentration-dependent manner. In that study, curcumin was only given at one time, 48

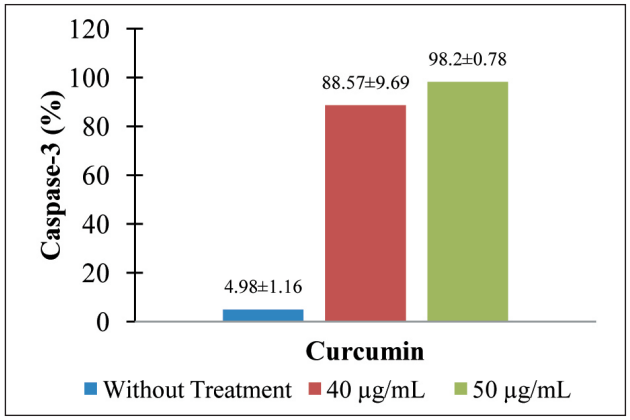


Fig. 7. Curcumin upregulated Caspase-3 on CSA03 cells (statistical significance: p<0.05) (n=3)
Рис. 7. Куркумин активировал Caspase-3 на клетках CSA03 (статистическая значимость: p<0,05) (n=3)

hours, so it is not known whether the effect of curcumin is time-course. However, the results of this study prove that the effect of curcumin as pro-apoptotic breast cancer cells is concentration-dependent. Furthermore, based on the results of the immunohistochemical examination, CSA03 cells have a molecular picture of luminal subtype A. Based on the secondary data results of the immunohistochemical examination, CSA03 cells have a molecular picture of luminal subtype A. CSA03 cells have low ER-positive, HER2-negative, low Ki67-positive so that the receptors on the cell surface for cancer growth and cell proliferation are also low, but cancer growth occurs with sufficiently large mass (>5 cm). In these circumstances, it should be suspected that a series of mechanisms occur and involve many genes in cells for cancer growth.

In cancer, there is a susceptibility to genetic variant loci that influence the regulation of gene expression, including variants in genes involved in DNA repair, cell cycle control, apoptosis, tumor suppressor ubiquitination, and mitotic kinases. The DNA methylation factor is also suspected to be one of causes of tumor growth. DNA methylation is one of the most common epigenetic modifications. These modifications do not alter the main sequence of DNA but are critical factors for normal development, gene expression patterns, and genomic stability. The RASSF1A gene is epigenetically inactivated in various solid tumors. In several studies reported, RASSF1A hypermethylation was detected in 48–70 % of breast cancer patients [19, 20].

The results of this study indicated that giving curcumin to CSA03 breast cancer cells increased levels of RASSF1A protein (Fig. 5). This agrees with the study by Ung et al., that DNA hypermethylation correlates with ER-positive, although it is also ER negative [21]. On this basis, it should be suspected that there has been an increase in DNA hypermethylation in CSA03 cells. In DNA hypermethylation, a DNMT catalytic mechanism occurs that involves the formation of covalent bonds between cysteine residues on the active site of the enzyme and carbon 6 (C6) cytosine DNA. This bond increases the flow of electrons to carbon 5 (C5) so that it readily accepts the methyl base cytosine group facilitated by the DNA methyltransferase (DNMT) enzyme, known as 5Methylcytosine (5 mC) [22]. Curcumin can also act as a competitive inhibitor with the C6 atom of the cytosine ring in the catalytic space through the C3 keto-enol curcumin portion. This covalent bond will inhibit DNMT1 activity without joining the DNA [23].

The increase in the RASSF1A protein was also followed by an increase in the levels of Bax and caspase-3 proteins in CSA03 breast cancer cells after 24 hours of curcumin administration, both at concentrations of 40 µg/mL and 50 µg/mL (Fig. 6, 7). This is according to the research of Law et al. [6], who demonstrated that RASSF1A can regulate the activity of the Bax protein. The results of this study indicated an increase in the percentage of Bax protein levels delta, the highest occurred in the administration of curcumin 50 µg/mL. In the study of Lv et al. [18], it was reported that curcumin administration would increase Bax on MCF-7 cells in a concentration-dependent manner. Curcumin also increases caspase-3 protein levels, especially in the administration of curcumin of 50 µg/mL. This increase was higher than the increase in RASSF1A protein levels. This can occur because curcumin can restore the function of protein genes of other tumor suppressors that are also hypermethylated. Together with the RASSF1A gene, these tumor suppressor proteins can activate Bax levels and apoptotic functions that end in caspase-3 being an executor and responsible for apoptosis.

Conclusion

The administration of the curcumin to CSA03 cells efficiently decreased the growth of breast cancer cells in vitro through the reactivation of RASSF1A as cancer the tumor suppressor gene and upregulated the Bax protein as the induction of apoptosis (caspase-3).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. 1.*World Health Organization*. Breast cancer-WHO [Internet]. URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer [cited 2022 Jul 22].

2. *Kanker di Indonesia tahun 2010*: Data Histopatologik. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia dan Yayasan Kanker Indonesia.

3. *Abdulkareem I.H., Zurmi I.B.* Review of hormonal treatment of breast cancer. Niger J Clin Pract. 2012; 15(1): 9–14. doi: 10.4103/1119-3077.94088.

4. *Thuy L.H.A., Thuan L.D., Phuong T.K.* DNA hypermethylation in breast cancer. In: Pham PV, ed. (2017) Breast Cancer – From Biology to Medicine. London: InTech. 147–61. doi: 10.5772/66900.

5. *Cao X., Tang Q., Holland-Letz T., Gündert M., Cuk K., Schott S., Heil J., Golatta M., Sohn C., Schneeweiss A., Burwinkel B.* Evaluation of Promoter Methylation of RASSF1A and ATM in Peripheral Blood of Breast Cancer Patients and Healthy Control Individuals. Int J Mol Sci. 2018; 19(3): 900. doi: 10.3390/ijms19030900.

6. *Law J., Salla M., Zare A., Wong Y., Luong L., Volodko N., Svystun O., Flood K., Lim J., Sung M., Dyck J.R., Tan C.T., Su Y.C., Yu V.C., Mackey J.,*

Baksh S. Modulator of apoptosis 1 (MOAP-1) is a tumor suppressor protein linked to the RASSF1A protein. J Biol Chem. 2015; 290(40): 24100–18. doi: 10.1074/jbc.M115.648345.

7. *Howell P.M., Liu Z., Khong H.T.* Demethylating Agents in the Treatment of Cancer. Pharmaceuticals (Basel). 2010; 3(7): 2022–44. doi: 10.3390/ph3072022.

8. *Foulks J.M., Parnell K.M., Nix R.N., Chau S., Swierczek K., Saunders M., Wright K., Hendrickson T.F., Ho K.K., McCullar M.V., Kanner S.B.* Epigenetic drug discovery: targeting DNA methyltransferases. J Biomol Screen. 2012; 17(1): 2–17. doi: 10.1177/1087057111421212.

9. *Goel A., Aggarwal B.B.* Curcumin, the golden spice from Indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemoprotector and radioprotector for normal organs. Nutr Cancer. 2010; 62(7): 919–30. doi: 10.1080/01635581.2010.509835.

10. *Basnet P., Skalko-Basnet N.* Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. Molecules. 2011; 16(6): 4567–98. doi: 10.3390/molecules16064567.

11. *Khazaei Koohpar Z., Entezari M., Movafagh A., Hashemi M.* Anticancer Activity of Curcumin on Human Breast Adenocarcinoma: Role of Mcl-1 Gene. Iran J Cancer Prev. 2015; 8(3). doi: 10.17795/ijcp2331.

12. *Dai X., Cheng H., Bai Z., Li J.* Breast Cancer Cell Line Classification and Its Relevance with Breast Tumor Subtyping. J Cancer. 2017; 8(16): 3131–41. doi: 10.7150/jca.18457.

13. *Rahmah N.A., Harliansyah H., Suyatna F.D., Kanoko M., Rustamadji P., Prihartono J., Haryono S.J., Hernowo B.S.* The role of curcumin on apoptosis through the RASSF1A and Bax pathways in breast cancer. Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention. 2020; 11(2): 67–74. doi: 10.14499/indonesianjcanchemoprev11iss2pp67-74.

14. *Hafner M., Niepel M., Chung M., Sorger P.K.* Growth rate inhibition metrics correct for confounders in measuring sensitivity to cancer drugs. Nat Methods. 2016; 13(6): 521–7. doi: 10.1038/nmeth.3853.

15. *He Y., Zhu Q., Chen M., Huang Q., Wang W., Li Q., Huang Y., Di W.* The changing 50 % inhibitory concentration (IC50) of cisplatin: a pilot study on the artifacts of the MTT assay and the precise measurement of density-dependent chemoresistance in ovarian cancer. Oncotarget. 2016; 7(43): 70803–21. doi: 10.18632/oncotarget.12223.

16. *Nicco C., Batteux F.* ROS Modulator Molecules with Therapeutic Potential in Cancers Treatments. Molecules. 2017; 23(1): 84. doi: 10.3390/molecules23010084.

17. *Skonieczna M., Hejmo T., Poterala-Hejmo A., Cieslar-Pobuda A., Buldak R.J.* NADPH Oxidases: Insights into Selected Functions and Mechanisms of Action in Cancer and Stem Cells. Oxid Med Cell Longev. 2017. doi: 10.1155/2017/9420539.

18. *Lv Z.D., Liu X.P., Zhao W.J., Dong Q., Li F.N., Wang H.B., Kong B.* Curcumin induces apoptosis in breast cancer cells and inhibits tumor growth in vitro and in vivo. Int J Clin Exp Pathol. 2014; 7(6): 2818–24.

19. *Zhang Y., Cao H., Yu Z., Peng H.Y., Zhang C.J.* Curcumin inhibits endometriosis endometrial cells by reducing estradiol production. Iran J Reprod Med. 2013; 11(5): 415–22.

20. *Hagrass H.A., Pasha H.F., Shaheen M.A., Abdel Bary E.H., Kassem R.* Methylation status and protein expression of RASSF1A in breast cancer patients. Mol Biol Rep. 2014; 41(1): 57–65. doi: 10.1007/s11033-013-2837-3.

21. *Ung M., Ma X., Johnson K.C., Christensen B.C., Cheng C.* Effect of estrogen receptor α binding on functional DNA methylation in breast cancer. Epigenetics. 2014; 9(4): 523–32. doi: 10.4161/epi.27688.

22. *Cheng Y., Xie N., Jin P., Wang T.* DNA methylation and hydroxymethylation in stem cells. Cell Biochem Funct. 2015; 33(4): 161–73. doi: 10.1002/cbf.3101.

23. *Liu Z., Xie Z., Jones W., Pavlovicz R.E., Liu S., Yu J., Li P.K., Lin J., Fuchs J.R., Marcucci G., Li C., Chan K.K.* Curcumin is a potent DNA hypomethylation agent. Bioorg Med Chem Lett. 2009; 19(3): 706–9. doi: 10.1016/j.bmcl.2008.12.041.

Поступила/Received 04.02.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 26.09.2022
Принята к публикации/Accepted 14.10.2022

ABOUT THE AUTHORS

Nunung Ainur Rahmah, dr., Sp.PA, Department of anatomical pathology, Faculty of Medicine, Universitas YARSI (Jakarta, Indonesia). ORCID: 0000-0002-7213-3270.

Harliansyah, M.Si., PhD, Department of biochemistry, Faculty of Medicine, Universitas YARSI (Jakarta, Indonesia). ORCID: 0000-0003-1614-4108.

Franciscus D. Suyatna, Prof., dr., PhD., Sp.FK, Department of pharmacology, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia (Jakarta, Indonesia). ORCID: 0000-0002-7168-5743.

Mpu Kanoko, Prof., dr., SpPA(K), PhD, Department of anatomical pathology, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia (Jakarta, Indonesia). ORCID: 0000-0002-2891-3077.

Primariadewi Rustamadji, Dr. dr., MM. SpPA(K), Department of anatomical pathology, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia (Jakarta, Indonesia). ORCID: 0000-0003-2325-1091.

Joedo Prihartono, Dr. dr., MPH, Department of Public health, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia (Jakarta, Indonesia). ORCID: 0000-0001-5684-9693.

Arleni Bustami, MS. Ka, Department of Integrated laboratory, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia (Jakarta, Indonesia). ORCID: 0000-0001-9222-6610.

Samuel Johny Haryono, Dr. dr., Sp.B (K)Onk, Department of oncology, National Cancer Center Dharmais Hospital (Jakarta, Indonesia). ORCID: 0000-0002-6655-0633.

Hj. Bethy S. Hernowo, Prof., dr., Sp.PA(K), PhD, Department of anatomical pathology, Faculty of Medicine, Universitas Padjajaran (Bandung, Indonesia). ORCID: 0000-0003-2426-2534.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgement

The authors are grateful for grants from Technology and Higher Education of the Republic of Indonesia (RISTEKDIKTI) and Universitas YARSI, Jakarta, Indonesia.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Nunung Ainur Rahmah, dr., Sp.PA, кафедра анатомической патологии, медицинский факультет, Университет Ярси (Джакарта, Индонезия). ORCID: 0000-0002-7213-3270.

Harliansyah, M.Si., PhD, кафедра биохимии, медицинский факультет, Университет Ярси (Джакарта, Индонезия). ORCID: 0000-0003-1614-4108.

Franciscus D. Suyatna, Prof., dr., PhD., Sp.FK, кафедра фармакологии, медицинский факультет, Университет Индонезии (Джакарта, Индонезия). ORCID: 0000-0002-7168-5743.
Mpu Kanoko, Prof., dr., SpPA(K), PhD, кафедра анатомической патологии, медицинский факультет, Университет Индонезии (Джакарта, Индонезия). ORCID: 0000-0002-2891-3077.
Primariadewi Rustamadji, Dr. dr., MM. SpPA(K), кафедра анатомической патологии, медицинский факультет, Университет Индонезии (Джакарта, Индонезия). ORCID: 0000-0003-2325-1091.
Joedo Prihartono, Dr. dr., MPH, кафедра здравоохранения, медицинский факультет, Университет Индонезии (Джакарта, Индонезия). ORCID: 0000-0001-5684-9693.
Arleni Bustami, MS. Ka, кафедра объединенной лаборатории, медицинский факультет, Университет Индонезии (Джакарта, Индонезия). ORCID: 0000-0001-9222-6610.
Samuel Johny Haryono, Dr. dr., Sp.B (K)Onk, отделение онкологии, Больница Национального онкологического центра Dharmais (Джакарта, Индонезия). ORCID: 0000-0002-6655-0633.
Hj. Bethy S. Hernowo, Prof., dr., Sp.PA(K), PhD, кафедра анатомической патологии, медицинский факультет, Университет Паджаджаран (Бандунг, Индонезия). ORCID: 0000-0003-2426-2534.

ВКЛАД АВТОРОВ

Nunung Ainur Rahmah: концепция и дизайн исследования, написание оригинальной рукописи.
Harliansyah: концепция и дизайн исследования, написание оригинальной рукописи.
Fransiscus D. Suyatna: концепция и дизайн исследования, написание оригинальной рукописи.
Mpu Kanoko: исследование, анализ данных, написание оригинальной рукописи
Primariadewi Rustamadji: исследование, анализ данных, критический пересмотр рукописи.
Joedo Prihartono: исследование, анализ данных, критический пересмотр рукописи.
Arleni Bustami: исследование, анализ данных, критический пересмотр рукописи.
Samuel Johny Haryono: исследование, анализ данных, критический пересмотр рукописи.
Bethy Suryawati Hernowo: концепция и дизайн исследования, критический пересмотр рукописи.

Финансирование
Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.
Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Благодарность
Авторы благодарят за гранты от Технологии и высшего образования Республики Индонезия (RISTEKDIKTI) и Universitas YARSI, Джакарта, Индонезия.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-99-105
УДК: 616-006-092:546.57:57.085.23

Для цитирования: *Бакина О.В., Чжоу В.Р., Лернер М.И.* Бикомпонентные янус-наночастицы ZnO-Ag с высокой противоопухолевой активностью *in vitro*. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 99–105. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-99-105
For citation: *Bakina O.V., Zhou V.R., Lerner M.I.* Bicomponent ZnO-Ag janus nanoparticles with high antitumor activity *in vitro*. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 99–105. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-99-105

БИКОМПОНЕНТНЫЕ ЯНУС-НАНОЧАСТИЦЫ ZnO-Ag С ВЫСОКОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ *IN VITRO*

О.В. Бакина[1,2], В.Р. Чжоу[1], М.И. Лернер[1,3]

ФГБУН Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук. E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru[1]
Россия, 634055, г. Томск, пр. Академический, 2/41
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия[2]
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2[2]
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия[3]
Россия, 634050, г. Томск, ул. Ленина, 36[3]

Аннотация

Введение. Наночастицы оксида цинка и серебра являются перспективными противоопухолевыми агентами, применение которых может усилить современные подходы к лечению рака. Применяя бикомпонентные наночастицы ZnO-Ag, можно увеличить эффективность благодаря возникновению синергетического противоопухолевого эффекта. Среди основных физико-химических параметров, влияющих на противоопухолевую активность наночастиц, можно выделить их размер и распределение компонентов внутри частицы или их микроструктуру, однако данные аспекты до сих пор являются мало изученными. **Целью исследования** является синтез наночастиц ZnO-Ag при помощи электровзрывной технологии и исследование *in vitro* противоопухолевой активности НЧ в отношении аденокарциномы протоков молочной железы MCF-7 (ATCC HTB-22) и клеточной линии HeLa. **Материал и методы.** Для получения наночастиц ZnO-Ag использовали совместный электрический взрыв скрутки проволок цинка и серебра в смешанной атмосфере аргона и кислорода. Физико-химические свойства исследованы при помощи рентгенофазового анализа, тепловой десорбции азота, просвечивающей электронной микроскопии. Противоопухолевую активность *in vitro* исследовали при помощи МТТ-теста в отношении клеточных линий HeLa и MCF-7. **Результаты.** В результате электрического взрыва скрутки цинковой и серебряной проволок в газовой смеси аргон + кислород получены НЧ ZnO-Ag с различным содержанием компонентов и структурой янус-наночастиц. Исследование физико-химических свойств наночастиц показало, что увеличение содержания серебра приводит к снижению среднего размера частиц, увеличению их удельной поверхности, увеличению их фотохимической активности и способности генерировать активные формы кислорода. Высокую противоопухолевую активность НЧ с минимальным содержанием серебра можно объяснить снижением размера фрагментов серебра с 46 до 23 нм и снижением среднего размера частиц с 92 до 54 нм. Снижение размера НЧ и их компонентов способствует увеличению их растворимости и, соответственно, цитотоксичности. Кроме того, снижение размера кристаллитов позволяет увеличить количество и протяженность границы раздела фаз ZnO-Ag. **Заключение.** Бикомпонентные НЧ ZnO-Ag были синтезированы при помощи совместного электрического взрыва цинковой и серебряной проволок в смешанной атмосфере аргона и кислорода. При исследовании физико-химических свойств наночастиц установлено, что они имеют структуру янус-наночастиц, средний размер от 54 до 92 нм, обладают фотохимической активностью и способностью генерировать АФК. При помощи МТТ-теста подтверждена противоопухолевая активность НЧ с использованием клеточных линий MCF-7 и HeLa. Высокая эффективность НЧ ZnO-Ag, содержащих 20 % серебра, указывает на возможность применения данных НЧ в противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: серебро, оксид цинка, опухолевые клетки, наночастицы.

Бакина Ольга Владимировна, ovbakina@ispms.tsc.ru

BICOMPONENT ZnO-AG JANUS NANOPARTICLES WITH HIGH ANTITUMOR ACTIVITY *IN VITRO*

O.V. Bakina[1,2], V.R. Zhou[1], M.I. Lerner[1,3]

Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia[1]
2/4, Akademichesky Ave., 634055, Tomsk, Russia. E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru[1]
Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia[2]
2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia[2]
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia[3]
36, Lenina St., 634050, Tomsk, Russia[3]

Abstract

Background. Nanoparticles (NPs) of zinc and silver oxide are promising antitumor agents, the use of which can enhance modern approaches to cancer treatment. Using bicomponent ZnO-Ag nanoparticles, one can increase the efficiency due to the occurrence of a synergistic antitumor effect. Among the main physicochemical properties that affect the antitumor activity of nanoparticles, one can distinguish their size and distribution of components inside the particle or their microstructure, however, these aspects are currently poorly understood. **The aim of this study** is the synthesis of ZnO-Ag nanoparticles using electrical explosive of wire technology and the *in vitro* study of the antitumor activity of NPs against breast ductal adenocarcinoma MCF-7 (ATCC HTB-22) and the HeLa cell line isolated from a cervical tumor. **Material and Methods.** ZnO-Ag nanoparticles were obtained by simultaneous electric explosion of zinc and silver twisted wires in a gas mixing atmosphere: argon and oxygen. The content of the components was regulated by varying the wire diameters. Physicochemical properties were studied using X-ray phase analysis, thermal desorption of nitrogen, and transmission electron microscopy. Antitumor activity *in vitro* was studied using the MTT test against HeLa and MCF-7 cell lines. **Results.** As a result of an electric explosion of twisted wires in an argon + oxygen gas mixture, ZnO-Ag NPs with different contents of components and the structure of Janus nanoparticles were obtained. The study of the physicochemical properties of nanoparticles showed that an increase in the silver content led to a decrease in the average particle size, an increase in their specific surface area, an increase in their photochemical activity and the ability to generate reactive oxygen species. The high antitumor activity of nanoparticles with a minimum silver content can be explained by a decrease in the size of silver fragments from 46 nm to 23 nm and a decrease in the average particle size from 92 nm to 54 nm. A decrease in the size of NPs and their components contributes to an increase in their solubility and, accordingly, cytotoxicity. In addition, a decrease in the size of crystallites makes it possible to increase the number and length of the ZnO-Ag interface. **Conclusion.** In the present study, bicomponent ZnO–Ag NPs were synthesized using the joint electric explosion of zinc and silver wires in a mixed atmosphere of argon and oxygen. A study of the physicochemical properties of nanoparticles was carried out and it was found that they all have the structure of Janus nanoparticles, an average size of 54 to 92 nm, and photochemical activity and the ability to generate ROS. Using the MTT test, the antitumor activity of NPs was confirmed using MCF-7 and HeLa cell lines. The high efficiency of ZnO-Ag NPs containing 20% wt. silver indicates the possibility of using these NPs in antitumor therapy.

Key words: silver, zinc oxide, cancer cells, nanoparticles.

Введение

Синтез бикомпонентных наночастиц (НЧ) привлекает все большее внимание благодаря синергетическому эффекту компонентов, который не может быть достигнут НЧ по отдельности или при механическом смешивании [1]. В большом числе работ сообщалось о различных методах синтеза бикомпонентных наночастиц, включая методы химического восстановления из растворов [2], золь-гель синтез [3], метод лазерной абляции [4], электрический взрыв проводников [5].

В исследованиях *in vitro* и *in vivo* установлено, что НЧ серебра сами по себе обладают противоопухолевой активностью [6–8]. Добавление второго компонента приводило к повышению эффективности и снижению токсичности бикомпонентных НЧ, что было подтверждено на примере биметаллических НЧ Ag-Au со структурой ядро-оболочка [9]. Исследования ряда авторов показали, что бикомпонентные НЧ Cu/Ag и Zn/Cu обладали эффективностью в отношении клеточной линии рака носоглотки (KB) [10] и клеток рака молочной железы (MDA-MB-231) [11].

Среди бикомпонентных НЧ большое внимание уделяется НЧ ZnO-Ag. Оксид цинка ZnO представляет собой полупроводник *n*-типа и характеризуется фотокаталитической и антимикробной активностью, низкой токсичностью, невысокой стоимостью [12]. Широкая запрещенная зона (3,37 эВ), высокая энергия экситонов (60 МэВ), наличие пьезоэлектрического эффекта и электрохимическая стабильность делают ZnO многообещающим реагентом-фотокатализатором для генерации активных форм кислорода АФК

Таблица 1/Table 1

Описание и условное обозначение образцов наночастиц ZnO-Ag

Description and symbol of ZnO-Ag nanoparticle

Обозначение образца/ Sample designation	d_{Zn}, мм	d_{Ag}, мм	l, мм	w_{Zn}(%), расч.		w_{Ag}(%), расч.		U, кВ	С, мкФ
				масс. %	*ат.%*	*масс. %*	*ат.%*		
Zn80–Ag20	0,38	0,15	90	81,4	87,9	18,6	12,1	23	3,2
Zn60–Ag40	0,38	0,25	90	61,1	72,3	38,9	27,7	27	3,2
Zn50–Ag50	0,25	0,38	80	43,1	55,7	56,9	44,3	33	3,2

Примечание: *d* – диаметр проволок; *l* – длина проволок; *w* – массовая (отношение массы металла к массе скрутки) и атомная (отношение атомной массы элемента к сумме атомных масс обоих металлов в скрутке) доля металла в скрутке проволок; *U* – напряжение; *C* – емкость конденсатора.

Note: *d* – wire diameter; *l* – wire length; *w* – weight (the ratio of the mass of metal to the twist wire atomic mass) and atomic (the ratio of the metal mass to the twist wire mass) ratio in twist wire; *U* – voltage; *C* – capacitor capacitance.

[13, 14]. Импрегнация ZnO благородными металлами, в частности Ag, приводит к значительному улучшению его фотохимических характеристик и увеличению генерации АФК под действием видимого света [15]. Это обусловлено эффективным разделением заряда в присутствии атомов благородных металлов, в результате чего увеличивается количество активных центров. Серебро действует как сток электронов, фотоиндуцированных при облучении ZnO, а образовавшаяся дырка индуцирует образование гидроксильных радикалов [16]. Авторами [17] показано, что такая структура позволяет одновременно использовать фотокаталитические свойства ZnO и плазмонные свойства Ag и придать синергетический эффект НЧ при генерации АФК. Уже сообщалось о применении бикомпонентных НЧ ZnO-Ag в биомедицинских приложениях в качестве антибактериальных агентов, главный механизм действия которых основан на индуцировании АФК [18, 19].

Показана более высокая цитотоксическая активность (в 2–3 раза) НЧ Ag и ZnO в отношении модельной клеточной линии рака простаты PC3 по сравнению с нормальными клетками Vero [20]. Дозозависимая ингибирующая активность композита Ag-Zn в отношении клеток рака печени HepG2 показана в работе [21]. НЧ ZnO, легированные НЧ серебра, полученные при помощи золь-гель технологии, показали противоопухолевую активность в отношении клеточной линии кератиноцитов человека HaCaT [22]. Авторы исследования [23] связали противоопухолевую активность пары Ag-Zn с индукцией апоптоза за счет генерации АФК, приводящих к повреждению опухолевых клеток.

Однако аспекты, связанные с влиянием структуры НЧ ZnO-Ag и топологического распределения компонентов относительно друг друга, остаются неизученными, что ограничивает эффективность применения НЧ. В настоящей работе мы сообщаем о синтезе НЧ ZnO-Ag при помощи электровзрывной технологии и исследовании *in vitro* противоопухолевой активности НЧ в отношении аденокарциномы протоков молочной железы MCF-7 (ATCC HTB-22) и клеточной линии HeLa, выделенной из опухоли шейки матки.

Целью исследования является синтез наночастиц ZnO-Ag при помощи электровзрывной технологии и исследование *in vitro* противоопухолевой активности НЧ в отношении аденокарциномы протоков молочной железы MCF-7 (ATCC HTB-22) и клеточной линии HeLa.

Материал и методы

Для получения наночастиц (НЧ) ZnO/Ag использовали совместный электрический взрыв серебряной и цинковой проволок в атмосфере 80 % об. аргона и 20 % об. кислорода. Количественный состав наночастиц регулировали соотношением диаметра взрываемых проволок. В результате электрического взрыва скрутки цинковой и серебряной проволок в газовой смеси аргон + кислород были получены НЧ ZnO-Ag с различным содержанием компонентов (табл. 1).

Для оценки морфологии НЧ использовали просвечивающую электронную микроскопию (JEM-2100, Япония) со встроенной приставкой энергодисперсионного анализа X-Max. Распределение наночастиц и агломератов наночастиц по размерам определяли методом седиментации частиц в градиенте плотности на высокоскоростной дисковой центрифуге CPS 24000 (CPS Disk Instruments, США). Для исследования кристаллической структуры НЧ использовали метод рентгенофазового анализа (Shimadzu XRD 6000, Япония). Для оценки размера кристаллитов отдельных фаз использовали уравнение Уильямсона–Холла. Текстуру НЧ исследовали методом тепловой десорбции азота (Сорбтометр М, Россия). Для оценки фотохимической активности НЧ и их способности генерировать АФК использовали модельную реакцию разложения красителя метиленового голубого.

Противоопухолевую активность НЧ исследовали при помощи МТТ-теста в отношении клеточных линий MCF-7 (ATCC HTB-22) и HeLa, предостав-

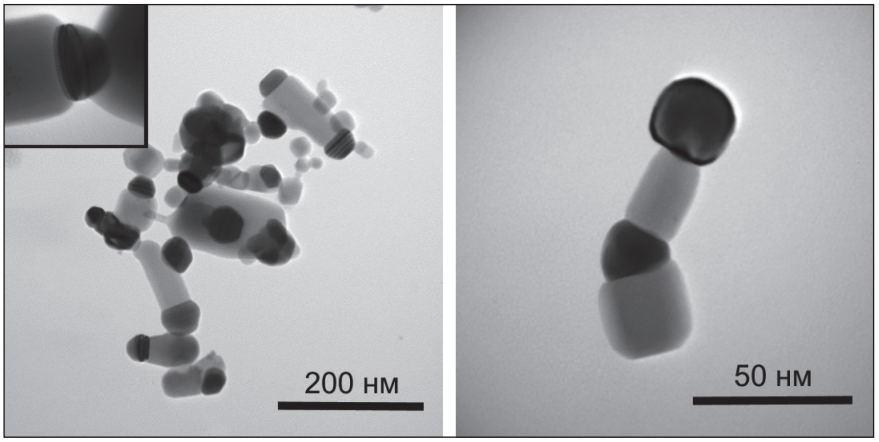


Рис. 1. Микрофото. Электронно-микроскопическое изображение НЧ ZnO-Ag при различном увеличении
Fig. 1. Microphoto. Transmission electron microscopic image of ZnO-Ag NPs at various magnifications

ленных ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия). Для оценки влияния НЧ клетки в количестве 500 тыс. клеток/лунка инкубировали в 12-луночных культуральных планшетах в присутствии суспензий НЧ в концентрации 1–10 мкг/мл. %. Клетки предварительно культивировали при 37 °С в атмосфере 5 % CO_2/95 % воздуха (CO_2-инкубатор Sanyo, Япония) в среде DMEM (HiClone) с добавлением 5 % сыворотки эмбрионов коров и гентамицина. Через 24 ч инкубирования цитотоксичность НЧ оценивали при помощи МТТ-теста [24]. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 540 нм с использованием планшетного спектрофотометра (Multiscan FC, Thermo Scientific, США).

Количественные данные представлены как средние и стандартные ошибки. Исследования проводили в трех параллельных экспериментах, для каждого образца проводили по пять измерений.

Результаты и обсуждение

Все НЧ имели преимущественно ограненную форму и состояли из электронно-контрастных фрагментов (рис. 1). Согласно данным энергодисперсионного анализа, электронно-плотные фрагменты были обогащены серебром, светлые участки гексагональной формы – цинком. Такую структуру бикомпонентных НЧ можно отнести к янус-наночастицам [25]. Такие наночастицы обычно формируются при соединении двух металлов с различными поверхностными энергиями.

По данным рентгенофазового анализа независимо от содержания металлов в скрутке в НЧ дифракционные пики соответствовали только двум фазам – оксиду цинка (ZnO) со структурой вюрцита и серебру (Ag) с ГЦК-структурой. Структура вюрцита для оксида цинка формируется в случае, если атом неметалла имеет сравнительно небольшой размер и большую электроотрицательность.

Исследование физико-химических характеристик НЧ показало, что увеличение содержания серебра в НЧ ZnO-Ag приводит к снижению среднего размера частиц (a) и увеличению удельной поверхности (S) порошков (табл. 2). Кроме того, наблюдалась корреляция размера областей когерентного рассеяния рентгеновского излучения ($D_{ОКР}$) фаз Ag и ZnO от содержания металлов в скрутках. Таким образом, при электрическом взрыве цинковой и серебряной проволок в кислородосодержащей атмосфере независимо от диаметра и длины проводников проволок формируются наночастицы со структурой янус-наночастиц.

Исследование фотохимической активности НЧ ZnO-Ag при разложении модельного красителя метиленового голубого (МГ) показало, что снижение содержания серебра в НЧ приводит к увеличению их фотохимической активности и способности генерировать АФК [5]. В течение 90 мин эксперимента концентрация МГ мало изменялась под действием видимого света (холостой опыт), поэтому фотоиндуцированным саморазложением красителя пренебрегали, а разложение красителя в присутствии наночастиц рассматривали как результат их фотохимического действия. Все синтезированные образцы обладали фотохимической

Таблица 2/Table 2

Параметры микроструктуры бикомпонентных наночастиц ZnO-Ag
Parameters of the microstructure of ZnO-Ag bicomponent nanoparticles

Образец/ Sample	a, нм	S, м^2/г	$D_{ОКР}$(Ag), нм	$D_{ОКР}$(ZnO), нм
Zn80–Ag20	92 ± 3	5,3 ± 0,7	23	54
Zn60–Ag40	78 ± 4	6,5 ± 0,1	35	44
Zn50–Ag50	54 ± 2	8,2 ± 0,4	46	35

Примечание: ± стандартное отклонение для n=3 при определении удельной поверхности ($S_{уд}$); n=5, для определения среднего размера частиц (a_n).

Note: ± standard deviation for n=3 when determining the specific surface area (SSA); n=5, to determine the average particle size (a_n).

Таблица 3/Table 3

Фотохимическая активность бикомпонентных наночастиц ZnO-Ag

Photochemical activity of ZnO-Ag bicomponent nanoparticles

Образец/ Sample	*D*, %	*k*, c^{-1}	*R*
Zn80–Ag20	99,70 ± 0,23	0,1849	0,92
Zn60–Ag40	87,42 ± 1,21	0,1257	0,93
Zn50–Ag50	81,01 ± 0,27	0,0885	0,89

активностью (табл. 3), которая выражалась в степени деколоризации красителя D, рассчитанной как отношение концентрации красителя через 60 мин экспозиции к концентрации красителя в исходном растворе. Концентрацию красителя рассчитывали на основании величины его оптической плотности, измеренной спектрофотометрически. Линеаризацией данных уравнением кинетики реакции первого порядка были рассчитаны константы скорости *k*. Все данные линеаризовались с высоким коэффициентом корреляции R^2. Наибольшую активность продемонстрировали наночастицы Zn80–Ag20. Эффективность деградации МГ достигала почти 100 % после облучения видимым светом.

Противоопухолевую активность НЧ ZnO-Ag исследовали на клеточных линиях клеток рака шейки матки (HeLa) и рака молочной железы (MCF-7). Ранее уже было показано, что НЧ Ag и НЧ ZnO в концентрации 10 мкг/мл по отдельности не оказывали влияния на жизнеспособность клеточной линии HeLa [4]. Кроме того, авторами было отмечено, что НЧ ZnO в концентрации 10 мкг/мл ZnO даже усиливали пролиферацию клеток.

НЧ ZnO-Ag, полученные электрическим взрывом проволок, не проявляли цитотоксического эффекта в отношении обеих клеточных линий в концентрации до 2,5 мкг/мл. Дальнейшее увеличение концентрации до 5 мкг/мл приводило к снижению жизнеспособности клеточной линии MCF-7 до 72 % в присутствии НЧ Zn80-Ag20, линии HeLa – до 77 %, что указывало на их умеренную цитотоксичность (рис. 2). При увеличении концентрации НЧ Zn80-Ag20 до 10 % масс. оставались живыми только 26 и 35 % клеток MCF-7 и HeLa соответственно. В данной концентрации НЧ Zn60-Ag40 и Zn50-Ag60 также подавляли рост клеток, но в меньшей степени.

$ЛД_{50}$ НЧ Zn80-Ag20 для клеток MCF-7 составила 7,36 мкг/мл и 8,17 мкг/мл для линии HeLa, что указывает на то, что линия MCF-7 более чувствительна к НЧ ZnO-Ag, чем клетки линии HeLa.

Оптимальное содержание Ag составило ≈20 %, дальнейшее его увеличение приводило к снижению фотокаталитической и противоопухолевой активности НЧ. Высокую противоопухолевую активность НЧ с минимальным содержанием серебра можно объяснить снижением размера фрагментов серебра с 46 до 23 нм и снижением среднего размера частиц с 92 до 54 нм. Снижение размера НЧ и их компонентов способствует увеличению их растворимости и, соответственно, цитотоксичности. Кроме того, снижение размера кристаллитов позволяет увеличить количество и протяженность границы раздела фаз ZnO-Ag.

В свою очередь, синергетический противоопухолевый эффект обусловлен двумя факторами: с одной стороны, в бикомпонентной НЧ увеличиваются растворимость серебра и выделение ионов Ag^+, способных взаимодействовать с поверхностью клетки и изменять проницаемость мембраны. С другой стороны, наличие серебра на границе раздела фаз ZnO-Ag вносит существенный вклад в перенос фотогенерированных в ZnO носителей заряда. Действуя как сток электронов, серебро предотвращает рекомбинацию электронно-дырочных пар, увеличивает время жизни носителей заряда и приводит к образованию большего количества АФК, взаимодействие с которыми вызывает гибель

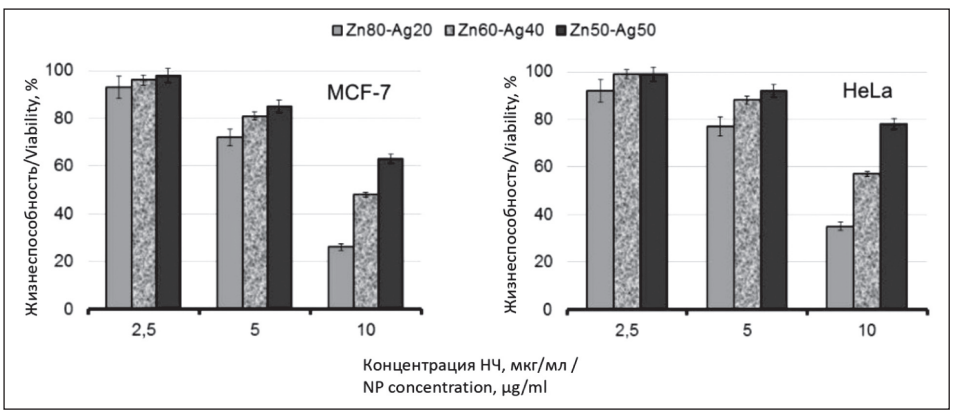


Рис. 2. Жизнеспособность клеточных линий MCF-7 и HeLa в присутствии НЧ ZnO-Ag, рассчитанная в % относительно контроля
Fig. 2. MCF-7 and HeLa cell viability in the presence of ZnO-Ag NPs, calculated in % relative to control

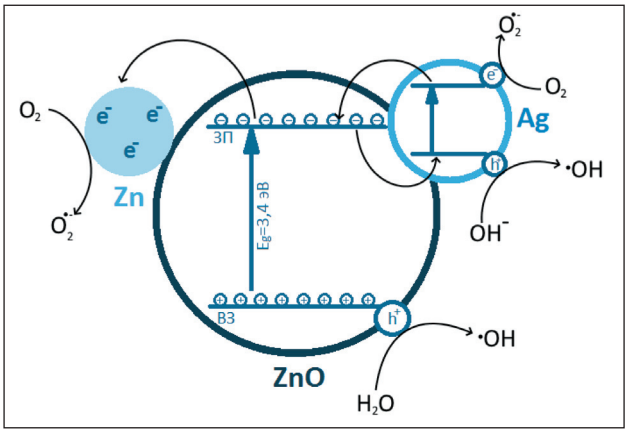


Рис. 3. Схема генерации АФК наночастицами ZnO-Ag
Fig. 3. Scheme of ROS generation by ZnO-Ag nanoparticles

клеток. Схематично процесс генерации АФК в системе ZnO/Ag изображен на рис. 3.

Оксид цинка при экспозиции в клеточной среде также способен выделять ионы Zn^{2+}, которые могут взаимодействовать с клеткой и генерировать АФК [26]. Эти совокупные данные показывают, что комбинация ZnO-Ag в виде наночастиц эффективна против линий раковых клеток.

Заключение

В настоящей работе бикомпонентные НЧ ZnO-Ag были синтезированы при помощи совместного электрического взрыва цинковой и серебряной проволок в смешанной атмосфере аргона и кислорода. Проведено исследование физико-химических свойств наночастиц и установлено, что все они имеют структуру янус-наночастиц, средний размер от 54 до 92 нм и обладают фотохимической активностью и способностью генерировать АФК. При помощи МТТ-теста подтверждена противоопухолевая активность НЧ с использованием клеточных линий MCF-7 и HeLa. Высокая эффективность НЧ ZnO-Ag, содержащих 20 % серебра, указывает на возможность применения данных НЧ в противоопухолевой терапии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Sharma G., Kumar A., Sharma S., Naushad Mu., Dwivedi R.P., Alothman Z.A., Mola G.T.* Novel development of nanoparticles to bimetallic nanoparticles and their composites: A review. Journal of King Saud University-Science. 2019; 31(2): 257–69. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.06.012.

2. *Helgadottir I.S., Arquillière P.P., Bréa P., Santini C.C., Haumesser P.H., Richter K., Mudring A.V., Aouine M.* Synthesis of bimetallic nanoparticles in ionic liquids: Chemical routes vs physical vapor deposition. Microelectronic engineering. 2013; 107: 229–32. https://doi.org/10.1016/j.mee.2012.09.015.

3. *Devarajan S., Bera P., Sampath S.* Bimetallic nanoparticles: a single step synthesis, stabilization, and characterization of Au-Ag, Au-Pd, and Au-Pt in sol-gel derived silicates. J Colloid Interface Sci. 2005; 290(1): 117–29. doi: 10.1016/j.jcis.2005.04.034.

4. *Elsayed K.A., Alomari M., Drmosh Q.A., Alheshibri M., Baroot A.A., Kayed T.S., Manda A.A., Al-Alotaibi A.L.* Fabrication of ZnO-Ag bimetallic nanoparticles by laser ablation for anticancer activity. Alexandria Engineering Journal. 2022; 61(2): 1449–57. https://doi.org/10.1016/j.aej.2021.06.051.

5. *Bakina O.V., Glazkova E.A., Pervikov A.V., Rodkevich N.G., Vornakova E.A., Chzhou V.R., Lerner M.I.* Electric explosion of wires as versatile method for antibacterial Janus-like ZnO–Ag nanoparticles preparation. Journal of Materials Science: Materials in Electronics. 2021; 32(8): 10623–34. https://doi.org/10.1007/s10854-021-05718-8.

6. *Chakraborty B., Pal R., Ali M., Singh L.M., Shahidur Rahman D., Kumar Ghosh S., Sengupta M.* Immunomodulatory properties of silver nanoparticles contribute to anticancer strategy for murine fibrosarcoma. Cell Mol Immunol. 2016; 13(2): 191–205. doi: 10.1038/cmi.2015.05.

7. *Loutfy S.A., Al-Ansary N.A., Abdel-Ghani N.T., Hamed A.R., Mohamed M.B., Craik J.D., Eldin T.A., Abdellah A.M., Hussein Y., Hasanin M.T., Elbehairi S.E.* Anti-proliferative Activities of Metallic Nanoparticles in an in Vitro Breast Cancer Model. Asian Pac J Cancer Prev. 2015; 16(14): 6039–46. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.14.6039.

8. *Gomathi A.C., Rajarathinam S.R., Sadiq A.M., Rajeshkumar S.* Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of Tamarindus indica on MCF-7 human breast cancer cell line. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2020; 55: 101376.

9. *Shmarakov I., Mukha I., Vityuk N., Borschovetska V., Zhyshchynska N., Grodzyuk G., Eremenko A.* Antitumor activity of alloy and core-shell-type bimetallic AgAu nanoparticles. Nanoscale research letters. 2017; 12(1): 1–10. doi: 10.1186/s11671-017-2112-y.

10. *Merugu R., Gothalwal R., Deshpande P.K., Mandal S.D., Padala G., Chitturi K.L.* Synthesis of Ag/Cu and Cu/Zn bimetallic nanoparticles using toddy palm: Investigations of their antitumor, antioxidant and antibacterial activities. Materials Today: Proceedings. 2021; 44: 99–105. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.027.

11. *Sharma D., Ledwani L., Kumar N., Mehrotra T., Pervaiz N., Kumar R.* An Investigation of Physicochemical and Biological Properties of Rheum Emodi-Mediated Bimetallic Ag–Cu Nanoparticles. Arabian Journal for Science and Engineering. 2021; 46(1): 275–85.

12. *Ali A., Phull A.R., Zia M.* Elemental zinc to zinc nanoparticles: is ZnO NPs crucial for life? Synthesis, toxicological, and environmental concerns. Nanotechnology Reviews. 2018; 7(5): 413–41. https://doi.org/10.1515/ntrev-2018-0067.

13. *Karthikeyan C., Arunachalam P., Ramachandran K., Al-Mayouf A.M., Karuppuchamy S.* Recent advances in semiconductor metal oxides with enhanced methods for solar photocatalytic applications. Journal of Alloys and Compounds. 2020; 828. https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.154281.

14. *Kumar S., Pandit V., Bhattacharyya K., Krishnan V.* Sunlight driven photocatalytic reduction of 4–nitrophenol on Pt decorated ZnO-RGO nanoheterostructures. Materials Chemistry and Physics. 2018; 214: 364–76. https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.04.113.

15. *Moniz S.J.A., Shevlin S.A., Martin D.J., Guo Z.X., Tang J.* Visible-light driven heterojunction photocatalysts for water splitting–a critical review. Energy & Environmental Science. 2015; 8(3): 731–59.

16. *Rokesh K., Mohan S.C., Karuppuchamy S., Jothivenkatachalam K.* Photo–assisted advanced oxidation processes for Rhodamine B degradation using ZnO–Ag nanocomposite materials. Journal of environmental chemical engineering. 2018; 6(3): 3610–20. https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.01.023.

17. *Seong S., Park I.S., Jung Y.C., Lee T., Kim S.Y., Park J.S., Ko J.H., Ahn J.* Synthesis of Ag–ZnO core–shell nanoparticles with enhanced photocatalytic activity through atomic layer deposition. Materials & Design. 2019; 177. https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.107831.

18. *Zare M., Namratha K., Alghamdi S., Mohammad Y.H.E., Hezam A., Zare M., Drmosh Q.A., Byrappa K., Chandrashekar B.N., Ramakrishna S., Zhang X.* Novel green biomimetic approach for synthesis of ZnO-Ag nanocomposite; antimicrobial activity against food-borne pathogen, biocompatibility and solar photocatalysis. Scientific reports. 2019; 9(1): 1–15.

19. *Elango M., Deepa M., Subramanian R., Musthafa A.M.* Synthesis, characterization of polyindole/AgZnO nanocomposites and its antibacterial activity. Journal of Alloys and Compounds. 2017; 696: 391–401. https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.11.258.

20. *Priyadharshini R.I., Prasannaraj G., Geetha N., Venkatachalam P.* Microwave-mediated extracellular synthesis of metallic silver and zinc oxide nanoparticles using macro-algae (Gracilaria edulis) extracts and its anticancer activity against human PC3 cell lines. Appl Biochem Biotechnol. 2014; 174(8): 2777–90. doi: 10.1007/s12010-014-1225-3.

21. *Mousavi-Kouhi S.M., Beyk-Khormizi A., Amiri M.S., Mashreghi M., Taghavizadeh Yazdie M.E.* Silver-zinc oxide nanocomposite: From synthesis to antimicrobial and anticancer properties. Ceramics International. 2021; 47(15): 21490–7. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.04.160.

22. *Rajendran R., Mani A.* Photocatalytic, antibacterial and anticancer activity of silver-doped zinc oxide nanoparticles. Journal of Saudi Chemical Society. 2020; 24(12): 1010–24.

23. *Dong Y., Yang, Y, Wei Y., Gao Y., Jiang W., Wang G., Wang D.* Facile synthetic nano-curcumin encapsulated Bio-fabricated nanoparticles

induces ROS-mediated apoptosis and migration blocking of human lung cancer cells. Process Biochemistry. 2020; 95: 91–8.

24. *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.

25. *Kumar S.* Structural evolution of iron–copper (Fe–Cu) bimetallic janus nanoparticles during solidification: An atomistic investigation. The Journal of Physical Chemistry. 2019; 124(1): 1053–63.

26. *Lozhkomoev A.S., Bakina O.V., Glazkova E.A., Svarovskaya N.V., Lerner M I.* Patterns of the formation of antimicrobial micro/nanocomposites during the oxidation of bimetallic Al/Zn nanoparticles. Russian Journal of Physical Chemistry A. 2018; 92(12): 2530–4.

Поступила/Received 17.10.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 08.12.2022
Принята к публикации/Accepted 15.12.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бакина Ольга Владимировна, доктор технических наук, 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.

Чжоу Валерия Романовна, аспирант, ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): AAG-7037-2021. Author ID (Scopus): 57217493362. ORCID: 0000-0001-9610-1161.

Лернер Марат Израильевич, заведующий лабораторией, ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения» Сибирского отделения Российской академии наук; главный научный сотрудник, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3247-9864. Researcher ID (WOS): ABC-8583-2020. Author ID (Scopus): 13405743600. ORCID: 0000-0001-8565-1344.

ВКЛАД АВТОРОВ

Бакина Ольга Владимировна: разработка концепции статьи, статистическая обработка, написание статьи.
Чжоу Валерия Романовна: исследование физико-химических свойств и наночастиц, просвечивающая электронная микроскопия образцов.
Лернер Марат Израильевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Настоящее исследование поддержано Министерством науки и высшего образования РФ, Соглашение № 075-11-2021-036 от 25.06.2021.

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.

Valeria R. Zhou, Post-graduate student, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAG-7037-2021. Author ID (Scopus): 57217493362. ORCID: 0000-0001-9610-1161.

Marat I. Lerner, Head of the laboratory, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Leading Researcher, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): ABC-8583-2020. Author ID (Scopus): 13405743600. ORCID: 0000-0001-8565-1344.

AUTHOR CONTRIBUTION

Olga V. Bakina: study conception; statistical analysis, drafting of the manuscript.
Valeria R. Zhou: physical and chemical characterization of nanoparticles, characterization of samples by transmission electron microscopy.
Marat I. Lerner: supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Agreement No. 075-11-2021-036 dated 06/25/2021.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-106-113
УДК: 616.438-006-089:616.25

Для цитирования: *Пикин О.В., Рябов А.Б., Александров О.А., Колбанов К.И., Глушко В.А., Бармин В.В., Багров В.А., Мартынова Д.Е.* Эпителиальные опухоли вилочковой железы с диссеминацией по плевре: роль циторедуктивной хирургии. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 106–113. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-106-113
For citation: *Pikin O.V., Ryabov A.B., Aleksandrov O.A., Kolbanov K.I., Glushko V.A., Barmin V.V., Bagrov V.A., Martynova D.E.* Epithelial tumors of the thymus with pleural dissemination: the potential role of surgery. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 106–113. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-106-113

ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ ОПУХОЛИ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ДИССЕМИНАЦИЕЙ ПО ПЛЕВРЕ: РОЛЬ ЦИТОРЕДУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ

О.В. Пикин[1], А.Б. Рябов[1,2], О.А. Александров[1], К.И. Колбанов[1], В.А. Глушко[1], В.В. Бармин[1], В.А. Багров[1], Д.Е. Мартынова[1]

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия[1]
Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр-д, 3.
E-mail: oleg.alexandrov@icloud.com[1]
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия[2]
Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4[2]

Аннотация

Актуальность. Метастазы эпителиальных опухолей вилочковой железы диагностируют при первичном обследовании у 5–7 % пациентов и в процессе динамического наблюдения после радикальной операции по удалению первичной опухоли у 10 % больных. Удаление метастазов по плевре является основным методом в лечении этой категории больных. **Цель исследования** – определить роль хирургии в лечении больных с опухолью вилочковой железы и диссеминацией по плевре. **Материал и методы.** В исследование включен 21 больной с опухолью вилочковой железы (тимома – 13, рак вилочковой железы – 8) и наличием отсевов по плевре (IVA стадия – 11, изолированное поражение плевры после ранее выполненной радикальной операции – 10), оперированных в отделении торакальной хирургии МНИОИ им. П.А. Герцена с 01.01.10 по 30.06.21. Всем больным выполняли частичную плеврэктомию, при необходимости с резекцией легкого, диафрагмы. Циторедукцию дополняли интраоперационной фотодинамической терапией у 4, внутриплевральной гипертермической химиотерапией с препаратом цисплатин – у 4 больных. **Результаты.** Циторедукция в объеме R0 выполнена у 12 (57,2 %) больных. Послеоперационные осложнения отмечены в 6 (28,6 %) случаях, летальность составила 7,5 %. Общая 1-, 3- и 5-летняя выживаемость составила 78 % (95 % CI 61–95), 49 % (95 % CI 23–75), 41 % (95 % CI 15–67) соответственно. Медиана общей выживаемости – 29 мес (95 % CI 0–60,6). Рецидив заболевания диагностирован у 10 (47,6 %) больных. Безрецидивная 1-летняя выживаемость составила 60 % (95 % CI 30–90). При тимомах наблюдалась тенденция к большей общей выживаемости, чем при раке тимуса (p=0,064). Факторы неблагоприятного прогноза: рак вилочковой железы, неполная циторедукция, осложненный послеоперационный период, местный рецидив. **Выводы.** Хирургический метод является основным в лечении больных с метастазами эпителиальных опухолей вилочковой железы по плевре как при IVA стадии заболевания, так и при прогрессировании процесса после выполненной операции. Целесообразно удаление отдельных диссеминатов по типу частичной плеврэктомии для максимальной циторедукции, что наряду с гистотипом опухоли определяет прогноз заболевания.

Ключевые слова: тимома, рак вилочковой железы, диссеминация по плевре, хирургия, прогноз.

Александров Олег Александрович, oleg.alexandrov@icloud.com

EPITHELIAL TUMORS OF THE THYMUS WITH PLEURAL DISSEMINATION: THE POTENTIAL ROLE OF SURGERY

O.V. Pikin[1], A.B. Ryabov[1,2], O.A. Aleksandrov[1], K.I. Kolbanov[1], V.A. Glushko[1], V.V. Barmin[1], V.A. Bagrov[1], D.E. Martynova[1]

Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
3, 2nd Botkinsky proezd, 125284, Moscow, Russia.
E-mail: oleg.alexandrov@icloud.com
National Medical Research Center of Radiology, Obninsk, Russia[2]
4, Koroleva St., 249036, Obninsk, Russia[2]

Abstract

Background. Pleural metastases of thymic epithelial tumors are detected in 5–7 % of patients at initial diagnosis and in 10 % of patients during a follow-up after radical surgery for the primary tumor. Partial pleuroectomy is the cornerstone of treatment strategy in this group of patients. The aim of the study was to assess the role of surgery in the treatment of patients with thymic epithelial tumors with pleural dissemination. **Material and Methods.** From January1, 2010 to June 30, 2021, 21 patients with thymic epithelial tumors (thymoma – 13, thymic cancer – 8) and pleural implants (stage IVA – 11, isolated pleural metastases as tumor progression after radical surgery – 10) underwent partial pleuroectomy with resection of the diaphragm and lung if necessary. Four patients underwent inthraoperative photodynamic therapy and another 4 patients received intrapleural hyperthermic chemotherapy. **Results.** R0 resection was performed on 12 (57.2 %) patients. Postoperative complications were observed in 6 (28.6 %) patients. The mortality rate was 7.5 %. The overall 1-, 3- and 5-year survival rates were 78 % (95 % CI 61–95), 49 % (95 % CI 23–75), and 41 % (95 % CI 15–67), respectively. The median overall survival time was 29 months (95 % CI 0–60.6). Recurrence occurred in 10 (47.6 %) cases. One-year recurrence-free survival was 60 % (95 % CI 30–90). Independent negative predictors for overall survival were: thymic cancer, incomplete resection, presence of postoperative complications and local recurrence. **Conclusion.** Surgery is the mainstay of treatment for patients with pleural metastases (stage IVA thymomas and recurrent thymomas). Metastasectomy of pleural implants will be sufficient to achieve a complete resection.

Key words: thymoma, thymic cancer, pleural implants, surgery, prognosis.

Введение

Эпителиальные опухоли вилочковой железы – относительно редкие злокачественные новообразования, но самые частые опухоли, встречающиеся в переднем средостении [1]. Согласно классификации Masaoka и TNM (8-я редакция, 2017), тимому с метастазами по плевре относят к IVA стадии заболевания [2, 3]. При первичном обследовании метастазы по плевре диагностируют не более чем у 7 % больных с опухолью вилочковой железы [4, 5]. Метастазирование по плевре является наиболее частой локализацией рецидива заболевания после операции по удалению первичной опухоли [6]. Считают, что циторедукция у больных с опухолями вилочковой железы желательна как при одновременном выявлении отсевов по плевре, так и при изолированном прогрессировании опухолевого процесса [7–9].

Цель исследования – определить роль хирургии в лечении больных с опухолью вилочковой железы и диссеминацией по плевре.

Материал и методы

В отделении торакальной хирургии МНИОИ им. П.А. Герцена с января 2010 г. по июнь 2021 г. оперирован 21 больной с опухолью вилочковой железы и диссеминацией по плевре. Средний возраст больных составил 57 ± 11 (35–74) лет (табл. 1). Метастазы по плевре вместе с первичной опухолью выявлены у 11 (52,4 %), прогрессирование болезни в виде метастатического поражения плевры – у 10 (67,6 %) больных в сроки от 8 до 108 мес (медиана – 20 мес). Повторное прогрессирование диагностировано у 2, третий рецидив – у 1 и шесть рецидивов заболевания – у 1 больного. Резекция смежных органов и структур потребовалась в 20 (95,2 %) случаях. Наиболее часто резецировали: легкое – у 18, перикард – у 11, диафрагмальный нерв – у 10, плечеголовную вену – у 7, диафрагму – у 5 и грудную стенку – у 2 больных. Всем больным выполняли частичную плеврэктомию, т.е. удаляли только диссеминаты на париетальной или висцеральной плевре с помощью электрокоагуляции. При инвазии в окружающие структуры выполняли их резекцию (легкое, диафрагма). Циторедукцию дополняли интраоперационной фотодинамической терапией у 4, гипертермической внутриплевральной химиотерапией с препаратом цисплатин – у 4 больных.

Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS v. 26. Описательная

Таблица 1/Table 1

Характеристика оперированных больных
Characteristics of patients

Параметр/Parameter	Число больных/Number of patients
Гистология/Histology	
Тимома/Thymoma:	13 (61,9 %)
- тип AB/type AB	3 (14,2 %)
- тип B1/type B1	1 (4,7 %)
- тип B2/type B2	2 (9,5 %)
- тип B3/type B3	7 (33,3 %)
Рак вилочковой железы (плоскоклеточный)/ Thymus cancer (squamous)	8 (38,1 %)
Стадия по Masaoka/Stage by Masaoka	
II	4 (19,0 %)
III	6 (28,6 %)
IVA	11 (52,4 %)
Миастения/Myasthenia gravis	
Да/Yes	3 (14,3 %)
Нет/No	18 (85,7 %)
Доступ для удаления первичной опухоли/Access to remove the primary tumor	
Стернотомия/Sternotomy	7 (33,3 %)
Торакотомия/Thoracotomy	12 (57,2 %)
Торакоскопия/Thoracoscopic	2 (9,5 %)
Доступ для удаления метастазов по плевре/Access for removal of metastases in the pleura	
Стернотомия/Sternotomy	10 (47,7 %)
Стерноторакотомия/Sternothoracotomy	2 (9,5 %)
Торакотомия/Thoracotomy	7 (33,3 %)
Торакоскопия/Thoracoscopic	2 (9,5 %)
Локализация метастазов/Localization of metastases	
Плевра/Pleura	12 (57,4 %)
Плевра + перикард/Pleura + pericardium	3 (14,2 %)
Плевра + легкое/Pleura + lung	6 (28,4 %)
Адъювантная терапия по поводу первичной опухоли/Adjuvant therapy for primary tumor	
ЛТ/RT	2 (9,5 %)
ХТ/CT	3 (14,2 %)
Предоперационная ХТ при выявлении прогрессирования по плевре/ Preoperative CT in the detection of pleura involvement	8 (38,1 %)
Послеоперационная ХТ/Postoperative CT	7 (33,3 %)

статистика приведена в виде среднего значения или медианы с 95 % доверительным интервалом (CI) или интерквартильным размахом, в зависимости от типа распределения данных. Анализ выживаемости выполнен по методу Каплана–Мейера, с применением регрессии Кокса для оценки влияния факторов риска на исход. При сравнении полученных данных использовались показатели отношения шансов (OR) и отношения рисков (HR).

Результаты

Послеоперационные осложнения диагностированы у 6 (28,6 %) больных, летальность составила 9,5 % (табл. 2). Медиана наблюдения составила 26 (0–153) мес. Общая 1-, 3- и 5-летняя выживаемость – 78 % (95 % CI 61–95), 49 % (95 % CI 23–75), 41 % (95 % CI 15–67) соответственно. Медиана общей выживаемости равнялась 29 мес (95 % CI 0–60,6). Рецидив заболевания диагностирован у 10 (47,6 %) больных. Безрецидивная 1-летняя выживаемость составила 60 % (95 % CI 30–90). Все рецидивы были диагностированы в срок от 8 до 36 мес. Среди больных без рецидива 4 из 11 (36 %) пережили 12 мес, у 7 из 11 (64 %) срок наблюдения не превышает 12 мес. Двое больных пережили 2-летний интервал без местного рецидива. Медиана безрецидивной выживаемости – 14 мес (95 % CI 3,1–24,8) (рис. 1).

Больные, у которых при первичном обращении выявлен синхронный метастаз, имели худший прогноз. Медиана общей выживаемости при отсутствии синхронного метастаза не достигнута, при наличии синхронного метастаза составила 18 мес (95 % CI 15–41). Полученные результаты статистически различались (OR 2,8; 95 % CI 1,4–5,3; p=0,03). Отдаленные результаты в зависимости от радикальности операции/полноты циторедукции (рис. 2): медиана выживаемости при

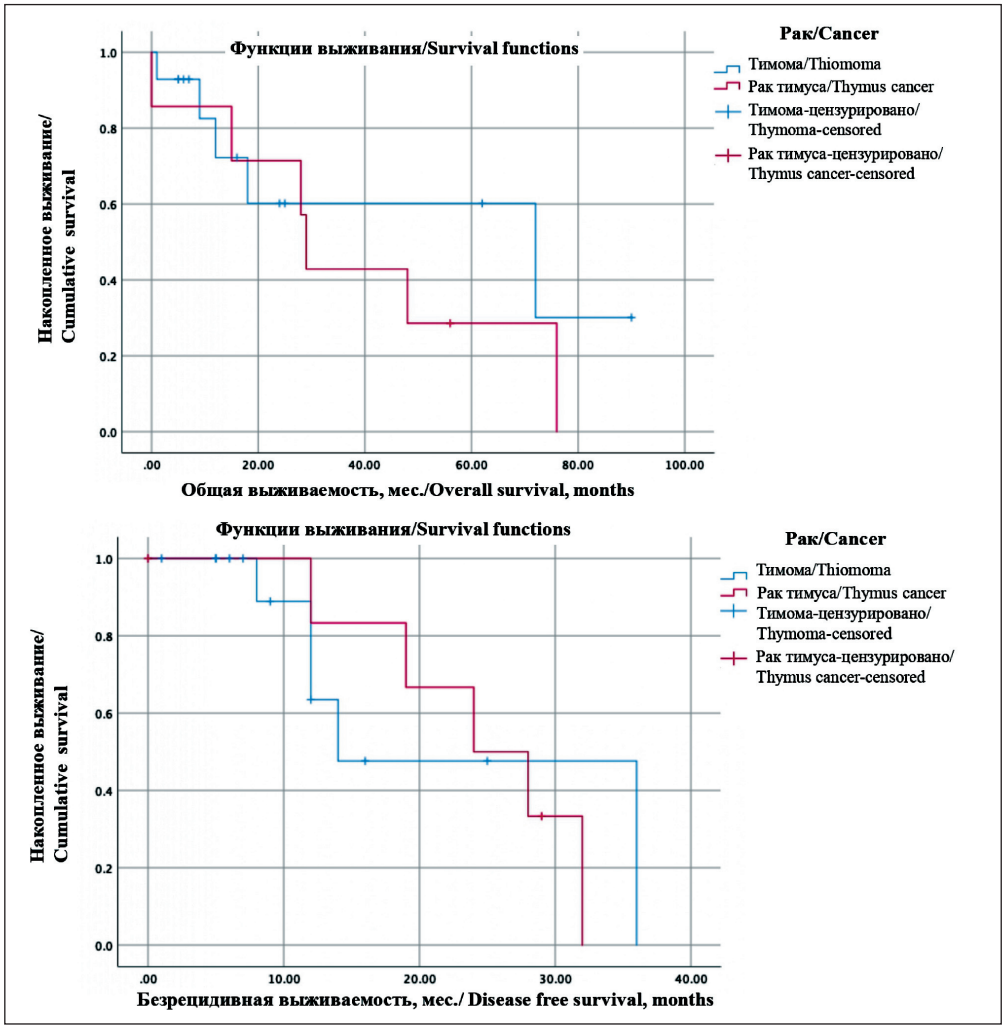


Рис. 1. Общая и безрецидивная выживаемость
Fig. 1. Overall and relapse-free survival

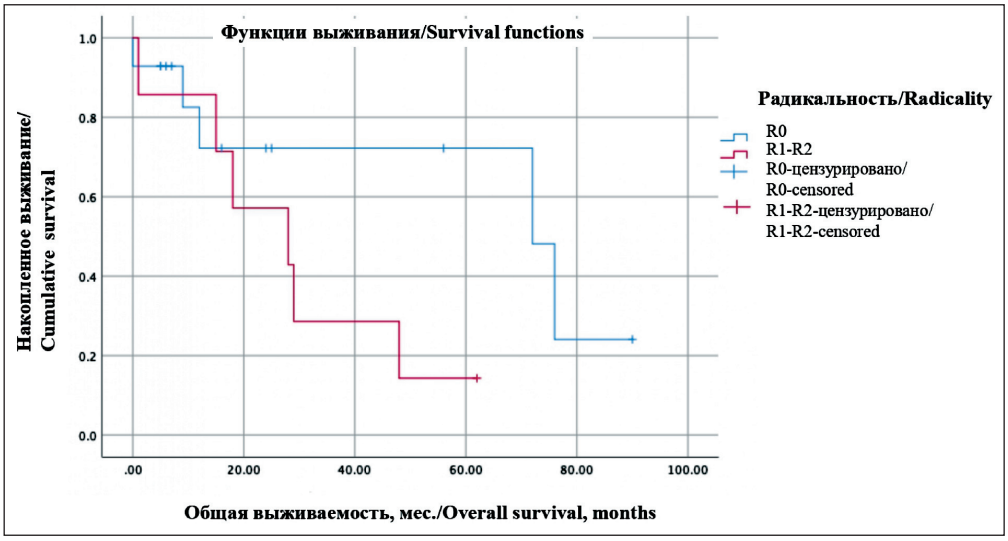


Рис. 2. Общая выживаемость в зависимости от радикальности операции
Fig. 2. Overall survival according to resection margin status

радикальной операции составила 28,9 мес (95 % CI 15,3–128,6), при нерадикальной – 13 мес (95 % CI 2,3–53,6; p=0,115).

Средний размер опухоли у больных с нерадикальными операциями (R1-R2) составил 9 см (4,6–13,3), с радикальными – 5,4 см (3,5–7,2), различия статистически значимые (p=0,034). Радикальность операции не зависела от гистологической структуры опухоли (p=0,127), солитарного либо множественного характера метастазирования (p=0,274), сочетанного поражения легкого, плевры, грудной стенки (p=0,428).

Гистологический подтип опухоли – важный прогностический фактор: после удаления метаста-

Таблица 2/Table 2

Некоторые показатели оперативных вмешательств

Surgical parameters

Параметр/Parameter		Значение/Value
Длительность операции, мин/Duration of surgery, min		211 (181–240)
Кровопотеря, мл/Blood loss, ml		200 (125–425)
Койко-день в реанимации, сут/Bed-day in intensive care, days		1 (1–1,5)
Послеоперационный койко-день, сут/Postoperative bed-day, days		12 (9–13)
Clavien–Dindo	Осложнения/Complications	6 (28,6 %)
	II	1 (16,7 %)
	IIIA	1 (16,7 %)
	IIIB	2 (33,3 %)
	V	2 (33,3 %)
Флотирующий тромбоз глубоких вен голени/Floating deep vein thrombosis of the leg		1
Двусторонний парез диафрагмы/Bilateral paresis of the diaphragm		2 (1*)
Пароксизм фибрилляции/Fibrillation Paroxysm		1
Гемоторакс/Hemothorax		1
Тромбоз верхней полой вены/Thrombosis of the superior vena cava		1 (1*)
Летальность/Mortality		2 (9,5 %)
Радикальность операции/Surgical margins		
R0		12 (57,2 %)
R1		1 (4,8 %)
R2		8 (38,0 %)

Примечание: * – летальный исход.

Note: * – lethal outcome.

Таблица 3/Table 3

Мультифакторный анализ общей выживаемости

Multivariate analysis of overall survival

Показатель/Indicator	Общая выживаемость/Overall survival		
	HR	95 % CI	p
Осложненный послеоперационный период/Complicated postoperative period	4,8	1,13–20,43	0,033
Нерадикальная операция/Non-radical operation	5	1,08–23,90	0,039
Местный рецидив/Local recurrence	0,1	0,03–0,80	0,026

зов рака вилочковой железы ни один больной не пережил 5 лет, в то время как при тимоме 5-летняя выживаемость после удаления отсевов по плевре достигла 31 %. Показатели общей выживаемости на уровне тенденции были лучше при тимомах (p=0,064), чем при раке тимуса. Безрецидивная выживаемость была достоверно меньше при тимомах, чем при раке тимуса (p=0,010), но при погрупповом анализе выявлено, что наибольший вклад внесли больные тимомой B2, при которой самый ранний рецидив диагностирован на 5-м мес послеоперационного наблюдения. При исключении данных пациентов безрецидивная выживаемость между больными тимомй и раком тимуса достоверно не различалась (p=0,142).

При построении многофакторной модели регрессии Кокса выявлены независимые прогностические факторы летального исхода (табл. 3). Наличие осложнения в послеоперационном периоде повышало риск летального исхода в 4,8 раза, нерадикальный характер вмешательства (R1-R2) – в 5 раз. Отсутствие местного рецидива снижало летальность в 5,81 раза.

Обсуждение

В литературе немного работ, посвященных лечению больных с метастазами тимом по плевре, серии наблюдений редко превышают 20 больных, что обусловлено редкостью патологии [4, 6–9]. Частота метастазирования по плевре при первичном обследовании не превышает 5,0–7,0 %, вероятность последующего, после удаления тимомы, прогрессирования с изолированным поражением плевры достигает 10,0 % [4–6]. Тактика лечения данной категории больных неоднозначна. Большинство исследователей отдают предпочтение максимальной циторедукции с предоперационной химиотерапией или без нее [1, 4–9]. Выполнения тотальной плеврэктомии обычно не требуется, рекомендуют удалять отдельные диссеминаты на

париетальной плевре по типу частичной плеврэктомии. Крайне редко возникает необходимость в выполении плевропневмонэктомии, однако эта операция не нашла широкого применения в хирургии диссеминированных тимом из-за высокой частоты осложнений и летальности [1, 4, 5]. Y. Ishikawa et al. [10] выполнили экстраплевральную плевропневмонэктомию у 4 больных с диссеминацией тимомы по плевре без летальных исходов, причем только в 1 случае отмечено прогрессирование опухоли. В нашей исследовании мы выполняли частичную плеврэктомию всем больным, при необходимости с резекцией легкого, диафрагмы, грудной стенки. Наиболее часто для удаления первичной опухоли использовали стернотомию, дополняя ее торакотомией в VII–VIII межреберье для удаления диссеминатов в нижних отделах гемиторакса и диафрагмальной поверхности. Для частичной плеврэктомии у больных с метастазами по плевре, выявленных при динамическом наблюдении, использовали боковой торакотомный доступ, дополняя его второй торакотомией в VII–VIII межреберье по показаниям, указанным выше. У двух больных единичные диссеминаты тимомы по плевре удалили при торакоскопии. В литературе описаны случаи диссеминации тимомы после торакоскопической тимэктомии, которые обусловлены повреждением капсулы опухоли при мобилизации опухоли или ее извлечении из плевральной полости без контейнера. Однако J. Vanucci et al. [11] сообщили о множественных метастазах по плевре и перикарду, возникших через 18 мес после торакоскопической тимомэктомии, выполненной с соблюдением всех правил абластики. Вполне вероятно, что микрометастазы опухоли в плевру уже существовали на момент первой операции.

Из-за относительно молодого возраста больных тимомой и их хорошего объективного статуса летальность невелика, послеоперационные осложнения не превышают 30,0 % [1, 4–9]. В нашем исследовании послеоперационные осложнения развились в 28,6 %, летальность составила 9,5 % (2/21). В первом случае летальный исход был обусловлен резекцией обоих диафрагмальных нервов, и, несмотря на выполнение двусторонней пликации диафрагмы, больной погиб от прогрессирования дыхательной недостаточности. Повреждение обоих диафрагмальных нервов – крайне тяжелое интраоперационное осложнение, единственным способом коррекции которого является двусторонняя пликация диафрагмы. Во втором случае в раннем послеоперационном периоде после удаления опухоли средостения и плевральных диссеминатов развился острый тромбоз верхней полой вены, попытка реконструктивной операции не увенчалась успехом, больная погибла от отека головного мозга.

M. Yano et al. [12] приводят данные о комбинированном лечении больных тимомой IVA стадии с предоперационной терапией кортикостероидами и послеоперационной лучевой терапией: общая 5-летняя выживаемость составила 73,6 %, в то время как без операции ни один больной не дожил до 5 лет. M. Lucchi et al. [6] приводят данные об общей 5- и 10-летней выживаемости после удаления метастазов по плевре, равной 43,1 и 25,8 % соответственно. По данным O. Rena et al. [4], применение комплексного подхода у больных эпителиальной опухолью вилочковой железы IVA стадии с предоперационной ХТ (4 курса) и послеоперационной лучевой терапией на средостение позволило добиться 5- и 10-летней выживаемости, равной 85,0 и 58,0 % соответственно. Мы получили сходные данные у больных после удаления метастазов тимомы по плевре.

Основной целью операции при метастазах эпителиальных опухолей вилочковой железы по плевре является достижение оптимальной циторедукции (R0-резекции). По данным литературы, полностью удалить все диссеминаты удается в 34–100 % [1, 4–6, 8, 9]. По нашим данным, R0-резекцию удалось выполнить у 12 (57,2 %) больных. Радикальность операции является основным прогностическим фактором, благоприятно влияющим на отдаленную и безрецидивную выживаемость. При этом гистотип опухоли (тимома или рак тимуса) не оказывает влияния на данные показатели. При наличии метастатического поражения плевры степень дифференцировки опухоли уходит на второй план, уступая место распространенности процесса. Принимая во внимание достоверное влияние радикальности операции на отдаленную выживаемость, при выборе лечебной тактики хирургический метод является ведущим при условии полной циторедукции.

В ряде работ авторы использовали после удаления диссеминатов внутриплевральную гипертермическую химиотерапию или фотодинамическую терапию [5, 13, 14]. Наибольшего внимания заслуживает исследование A. Yellin et al. [13], в котором представлен опыт внутриплевральной гипертермической химиотерапии у 35 больных эпителиальными опухолями вилочковой железы с метастазами по плевре: тяжелые осложнения IIIA степени и выше отмечены у 4 (11,4 %), летальность составила 2,5 %. Общая 5- и 10-летняя выживаемость составила 81,0 и 73,0 % у больных с IVA стадией, при прогрессировании заболевания – 67,0 и 56,0 % соответственно, причем у больных раком вилочковой железы 5-летней выживаемости не отмечено. Мы также использовали данные методики: внутриплевральная гипертермическая химиотерапия с препаратом цисплатин применена у 4, интраоперационная фотодинамическая терапия – у 4 больных. Серьезных побочных эффектов мы не наблюдали. Анализ отдаленных результатов этой группы больных затруднен из-за малочисленности.

Усовершенствование методик лучевой терапии позволило пересмотреть ее использование при олигометастатическом прогрессировании. D. Okazaki et al. [15] применили прицельную лучевую терапию при единичных метастазах тимом по плевре у 20 больных с общей 5-летней выживаемостью 86,0 % и выживаемостью без прогрессирования на уровне 16,0. В целом, лучевая терапия не нашла широкого применения при метастатическом поражении плевры у больных опухолями вилочковой железы.

Заключение

Хирургический метод является основным в лечении больных с метастазами эпителиальных опухолей вилочковой железы по плевре как при IVA стадии заболевания, так и при прогрессировании процесса после выполненной операции. Целесообразно удаление отдельных диссеминатов по типу частичной плеврэктомии для максимальной циторедукции, что, наряду с гистотипом опухоли, определяет прогноз заболевания.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Ruffini E., Filosso P.L., Guerrera F., Lausi P., Lyberis P., Oliaro A.* Optimal surgical approach to thymic malignancies: New trends challenging old dogmas. Lung Cancer. 2018; 118: 161–70. doi: 10.1016/j.lungcan.2018.01.025.

2. *Masaoka A., Monden Y., Nakahara K., Tanioka T.* Follow-up study of thymomas with special reference to their clinical stages. Cancer. 1981 Dec; 48(11): 2485–92. doi: 10.1002/1097-0142(19811201)48:11<2485::aid-cncr2820481123>3.0.co;2-r.

3. *Markowiak T., Hofmann H.S., Ried M.* Classification and staging of thymoma. J Thorac Dis. 2020; 12(12): 7607–12. doi: 10.21037/jtd-2019-thym-01.

4. *Rena O., Mineo T.C., Casadio C.* Multimodal treatment for stage IVA thymoma: a proposable strategy. Lung Cancer. 2012; 76(1): 89–92. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.10.004.

5. *Shapiro M., Korst R.J.* Surgical approaches for stage IVA thymic epithelial tumors. Front Oncol. 2014; 3. doi: 10.3389/fonc.2013.00332.

6. *Lucchi M., Davini F., Ricciardi R., Duranti L., Boldrini L., Palmiero G., Basolo F., Mussi A.* Management of pleural recurrence after curative resection of thymoma. J Thorac Cardiovasc Surg. 2009; 137(5): 1185–9. doi: 10.1016/j.jtcvs.2008.09.033.

7. *Huang J., Rizk N.P., Travis W.D., Seshan V.E., Bains M.S., Dycoco J., Downey R.J., Flores R.M., Park B.J., Rusch V.W.* Feasibility of multimodality therapy including extended resections in stage IVA thymoma. J Thorac Cardiovasc Surg. 2007; 134(6): 1477–83. doi: 10.1016/j.jtcvs.2007.07.049.

8. *Turna A., Sarbay İ.* Multimodality approach in treatment of thymic tumors. J Thorac Dis. 2020; 12(12): 7626–34. doi: 10.21037/jtd-20-818.

9. *Funaki S., Shintani Y., Fukui E., Kanzaki R., Kanou T., Ose N., Minami M., Okumura M.* Surgical treatment strategies for invasive thymoma. J Thorac Dis. 2020; 12(12): 7619–25. doi: 10.21037/jtd-19-3045.

10. *Ishikawa Y., Matsuguma H., Nakahara R., Suzuki H., Ui A., Kondo T., Kamiyama Y., Igarashi S., Mori K., Kodama T., Yokoi K.* Multimodality therapy for patients with invasive thymoma disseminated into the pleural cavity: the potential role of extrapleural pneumonectomy. Ann Thorac Surg. 2009; 88(3): 952–7. doi: 10.1016/j.athoracsur.2009.05.019.

11. *Vannucci J., Pecoriello R., Ragusa M., Puma F.* Multiple pleuropericardial implants of thymoma after videothoracoscopic resection. Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2010; 11(5): 696–7. doi: 10.1510/icvts.2010.246322.

12. *Yano M., Sasaki H., Yukiue H., Kawano O., Okuda K., Hikosaka Y., Fujii Y.* Thymoma with dissemination: efficacy of macroscopic total resection of disseminated nodules. World J Surg. 2009; 33(7): 1425–31. doi: 10.1007/s00268-009-0069-4.

13. *Yellin A., Simansky D.A., Ben-Avi R., Perelman M., Zeitlin N., Refaely Y., Ben-Nun A.* Resection and heated pleural chemoperfusion in patients with thymic epithelial malignant disease and pleural spread: a single-institution experience. J Thorac Cardiovasc Surg. 2013; 145(1): 83–7. doi: 10.1016/j.jtcvs.2012.10.013.

14. *Belcher E., Hardwick T., Lal R., Marshall S., Spicer J., Lang-Lazdunski L.* Induction chemotherapy, cytoreductive surgery and intraoperative hyperthermic pleural irrigation in patients with stage IVA thymoma. Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2011; 12(5): 744–7. doi: 10.1510/icvts.2010.255307.

15. *Okazaki D., Shibamoto Y., Yanagi T., Ishikura S., Kondo T., Yamada Y., Niwa M.* Local radiotherapy for pleural dissemination of thymic tumors after initial treatment. J Radiat Res 2021; 62(4): 676–81. doi: 10.1093/jrr/rrab046.

Поступила/Received 24.11.2021
Одобрена после рецензирования/Revised 18.10.2022
Принята к публикации/Accepted 07.11.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пикин Олег Валентинович, доктор медицинских наук, руководитель отделения торакальной хирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2381-5969. ORCID: 0000-0001-6871-6804.

Рябов Андрей Борисович, доктор медицинских наук, заместитель директора по хирургии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия); руководитель отдела торакоабдоминальной онкохирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9810-5315. ORCID: 0000-0002-1037-2364.

Александров Олег Александрович, младший научный сотрудник отделения торакальной хирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: oleg.alexandrov@icloud.com. SPIN-код: 7170-8030. ORCID: 0000-0002-4131-9179.

Колбанов Константин Иванович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения торакальной хирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6916-1830. ORCID: 0000-0003-0536-7613.

Глушко Владимир Алексеевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения торакальной хирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6540-2366. ORCID: 0000-0002-1420-4579.

Бармин Виталий Валерьевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения торакальной хирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2010-5336. ORCID: 0000-0002-5629-340X.

Багров Владимир Алексеевич, кандидат медицинских наук, врач отделения торакальной хирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-0461-1146.

Мартынова Дина Евгеньевна, врач-онколог, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-5221-8536.

ВКЛАД АВТОРОВ

Пикин Олег Валентинович: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Рябов Андрей Борисович: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Александров Олег Александрович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Колбанов Константин Иванович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Глушко Владимир Алексеевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Бармин Виталий Валерьевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Багров Владимир Алексеевич: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, написание черновика статьи.
Мартынова Дина Евгеньевна: написание черновика статьи.

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

ABOUT THE AUTHORS

Oleg V. Pikin, MD, DSc, Head of Thoracic Surgery Department, Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-6871-6804.
Andrey B. Ryabov, MD, DSc, Deputy Director for Surgery, National Medical Research Center of Radiology (Obninsk, Russia); Head of the Department of Thoracic and Abdominal Oncosurgery, Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-1037-2364.
Oleg A. Aleksandrov, MD, Junior Researcher of Thoracic Surgery Department, Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-4131-9179.
Konstantin I. Kolbanov, MD, DSc, Leading Researcher, Department of Thoracic Surgery, Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-0536-7613.
Vladimir A. Glushko, MD, DSc, Leading Researcher, Department of Thoracic Surgery, Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-1420-4579.
Vitaliy V. Barmin, MD, PhD, Researcher, Department of Thoracic Surgery, Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-5629-340X.
Vladimir A. Bagrov, MD, PhD, Thoracic Surgeon, Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-0461-1146.
Dina E. Martynova, MD, Oncologist, Moscow P.A. Hertzen Cancer Research Center – branch of National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5221-8536.

AUTHOR CONTRIBUTION

Oleg V. Pikin: study conception and design, study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.
Andrey B. Ryabov: study conception and design, study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.
Oleg A. Aleksandrov: study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.
Konstantin I. Kolbanov: study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.
Vladimir A. Glushko: study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.
Vitaliy V. Barmin: study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.
Vladimir A. Bagrov: study conception and design, statistical processing, drafting.
Dina E. Martynova: drafting.

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

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-114-123
УДК: 616.716.8-089.844

Для цитирования: *Саприна О.А., Шпицер И.М.* Планирование реконструкции челюстно-лицевой области свободным реваскуляризированным малоберцовым аутотрансплантатом: прошлое, настоящее, будущее. Литературный обзор. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 114–123. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-114-123
For citation: *Saprina O.A., Shpitser I.M.* Planning of maxillofacial reconstruction with free revascularized fibular autograft: past, present, and future: literary review. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 114–123. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-114-123

ПЛАНИРОВАНИЕ РЕКОНСТРУКЦИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ СВОБОДНЫМ РЕВАСКУЛЯРИЗИРОВАННЫМ МАЛОБЕРЦОВЫМ АУТОТРАНСПЛАНТАТОМ: ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ, БУДУЩЕЕ. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

О.А. Саприна[1], И.М. Шпицер[2]

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия[1]
Россия, 115448, г. Москва, Каширское шоссе, 23. E-mail: isabekian@mail.ru[1]
ФГБУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, г. Москва, Россия[2]
Россия, 111398, г. Москва, ул. Кусковская, 1А с4[2]

Аннотация

Целью исследования явился поиск данных о становлении и развитии виртуального планирования реконструкций с использованием малоберцового трансплантата. **Материал и методы.** Поиск литературы проводился в следующих базах данных: Scopus, РИНЦ. Были найдены публикации с 1975 по 2021 г. Поиск источников происходил по ключевым словам: «computer», «surgery», «facial», «microsurgery», «fibula», «implant», «малоберцовый трансплантат», «планирование». **Результаты.** Рассматриваются различные методы планирования с описанием технических особенностей с оценкой преимуществ и недостатков, а также перспективные методики, которые помогут минимизировать погрешности с сокращением времени, затрачиваемого на моделирование, улучшить функциональные и эстетические результаты, что, в свою очередь, скажется на качестве жизни пациентов. Описаны первые разработки остеотомий малоберцового трансплантата с помощью робота. Указаны осложнения, трудности, финансовый аспект реконструкций с использованием данного лоскута. **Заключение.** Виртуальное планирование микрохирургических реконструкций с использованием малоберцового трансплантата сокращает операционное время, что снижает риск выгорания специалиста. Увеличивается точность фиксации трансплантата, уменьшаются диастазы между линиями остеотомии, между нативной челюстью и трансплантатом. Планирование позволяет улучшить симметрию или сохранить её в прежнем виде, что оказывает влияние на эстетику и эмоциональное состояние пациента. Виртуальное планирование требует определенных финансовых затрат, но широкий спектр плюсов должен убедить специалистов использовать его как можно чаще.

Ключевые слова: одномоментная реконструкция, реконструкция нижней челюсти, злокачественные опухоли полости рта, реваскуляризированный малоберцовый аутотрансплантат, моделирование, CAD/CAM технологии, дентальные имплантаты, протезирование на имплантатах.

Саприна Оксана Александровна, isabekian@mail.ru

PLANNING OF MAXILLOFACIAL RECONSTRUCTION WITH FREE REVASCULARIZED FIBULAR AUTOGRAFT: PAST, PRESENT, AND FUTURE: LITERARY REVIEW

O.A. Saprina[1], I.M. Shpitser[2]

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia[1]
23, Kashirskoe shosse, 115448, Moscow, Russia. E-mail: isabekian@mail.ru[1]
A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia[2]
1A c4, Kuskovskaya St., 111398, Moscow, Russia[2]

Abstract

The purpose of the study was to search for data on the evolution of virtual planning of reconstruction with a fibular graft. **Material and Methods.** A literature search was carried out in Scopus, RSCI databases in the time interval from 1975 to 2021 using the keywords: “computer”, “surgery”, “facial”, “microsurgery”, “fibula”, “implant”, “fibular flap”, “planning”. **Results.** Various planning techniques with a description of technical features and estimation of advantages and disadvantages as well as methods of minimizing errors and reducing the time spent on the modeling with an improvement in functional and aesthetic outcomes were discussed. Surgical workflows of robot-assisted osteotomies of a fibular graft were described. Complications, difficulties, and the financial aspect of fibula free flap maxillofacial reconstructions were assessed. **Conclusion.** Virtual planning of microsurgical reconstructions using a fibular graft reduces operating time. The accuracy of graft fixation is increased and diastases between the osteotomy lines as well as between the native jaw and the graft are decreased. Planning allows surgeons to improve symmetry or keep it in the original form, thus affecting the aesthetic aspect and emotional state of the patient. Virtual planning requires certain financial costs, but the wide range of benefits should convince the professionals to use it as often as possible.

Key words: reconstructive surgical procedures, mandibular reconstruction, cancer, tumor, mouth neoplasm, oral, fibula, computer model, computer aided design, CAD-CAM, dental implant, prostheses.

Введение

Расширенно-комбинированные операции при местнораспространенных злокачественных новообразованиях (ЗНО) головы и шеи являются стандартом в плане комплексного лечения. Выполнение R0-резекций является определяющим в локальном контроле заболевания и, соответственно, выживаемости этой крайне сложной категории пациентов. Если прогноз заболевания зависит от правильно выбранной тактики лечения и радикальности выполненного резекционного этапа, то качество жизни определяется исключительно реконструктивным этапом. При местнораспространенных ЗНО полости рта сегментарная резекция нижней челюсти выполняется 40 % пациентов, и без костной реконструкции возникают выраженные функциональные и эстетические нарушения. Одномоментная реконструкция является стандартом и позволяет в кратчайшие сроки реабилитировать пациентов с хорошим качеством жизни. В арсенале хирурга имеется большое количество пластического материала, начиная от свободного костного аутотрансплантата, реконструктивных пластин, перемещенных лоскутов с костными фрагментами и заканчивая сложным по составу реваскуляризированным малоберцовым аутотрансплантатом.

При обширных дефектах челюстей применение свободных васкуляризированных аутотрансплантатов из малоберцовой кости стало «золотым стандартом» [1]. Ключевой проблемой при реконструкции костных дефектов нижней или верхней челюсти являются адекватная трехмерная форма и размер, а также правильное расположение костей. Традиционные методы часто неточны, когда требуется реконструкция изогнутой формы челюстей с прямыми донорскими костями путем точной остеотомии для восстановления прикуса и правильной окклюзии [2]. Восстановление сложных 3D-структур лица и головы требует большого опыта и мастерства хирурга. Без компьютерного планирования и навигации такое оперативное вмешательство сопряжено со значительными трудностями [3, 4].

Достижения в области программного обеспечения CAD/CAM (Computer-Aided Design/Computer-Aided Manufacture) привели к возможности манипулировать трехмерными изображениями лицевого скелета для выполнения виртуальной реконструкции отсутствующих или патологических костных структур [3, 5]. Трехмерное компьютерное планирование дает преимущество в использовании множества видов опорных точек, а также обеспе-

чивает зеркальное отображение контрлатеральной части органа [6, 7]. Затем это планирование может быть переведено в физический формат, что позволяет получить точные направляющие и предварительно обработанные интраоперационные навигационные шаблоны и пластины, которые оптимизируют оперативную эффективность и обеспечивают наиболее точный результат.

Целью исследования явился поиск данных о становлении и развитии виртуального планирования реконструкций с использованием малоберцового трансплантата.

Поиск литературы проводился в следующих базах данных: Scopus, РИНЦ. Были найдены публикации с 1975 по 2021 г. Поиск источников литературы происходил по ключевым словам: «computer», «surgery», «facial», «microsurgery», «fibula», «implant», «малоберцовый трансплантат», «планирование».

История развития планирования реконструкции с использованием малоберцового трансплантата

Реваскуляризируемый лоскут малоберцовой кости был использован G.I. Taylor et al. в 1975 г. для реконструкции длинных костей [8]. Впервые он был описан для челюстно-лицевой реконструкции D.A. Hidalgo в 1989 г. [9]. Этот невероятно универсальный мышечно-костно-кожный свободный лоскут может обеспечить до 25 см плотной кортикальной кости и кожную площадку размером 10×20 см. Плотность и конфигурация малоберцовой кости отлично подходят для надежного размещения дентальных имплантатов. H.D. Barber et al. впервые описали установку остеоинтегрированных имплантатов в малоберцовый трансплантат в 1990 г. [10]. Данный лоскут с момента его открытия является «рабочей лошадкой» при оперативном лечении опухолей головы и шеи и в реконструктивной челюстно-лицевой хирургии.

Необходимость обеспечения точности при реконструкции нижней или верхней челюсти привела к разработке различных инструментов для планирования этих операций. Первое внедрение трехмерного планирования в черепно-лицевую хирургию описано C. Cutting et al. [11]. Вначале при планировании вмешательства челюстно-лицевые хирурги использовали шины, которые изготавливались до операции и использовались интраоперационно для проверки окклюзии и положения челюстей относительно друг друга [12]. Впоследствии была разработаны стереолитография и 3D-печать, что позволило создавать персонализированные модели. Они дали возможность хирургам визуализировать дефекты, воспроизводить дизайн остеотомий и практиковать их выполнение до операции [13, 14]. Затем это было дополнено виртуальным планированием, при котором можно воспроизводить ход оперативного вмешательства и изготавливать хирургические направляющие для резки с использованием технологий CAM, т. е. компьютер-ассистированного производства [15–17].

Методы планирования реконструкции с использованием малоберцового трансплантата

Качественное планирование операции приводит к лучшим результатам. Существует множество методик планирования микрохирургических реконструкций, начиная от простых методик планирования на бумажном носителе и заканчивая 3D-планированием с использованием CAD/CAM систем. Одним из первых методов было использование шин, изготовленных в дооперационном периоде [12].

Существует множество методов планирования реконструкции реваскуляризированным малоберцовым трансплантатом по стереолитографическим моделям. A. Damecourt et al. предложили протокол планирования, который включал печать стереолитографических моделей нижней челюсти и малоберцовой кости. Далее получали силиконовый оттиск с базиса нижней челюсти, тем самым сохраняя контуры тела и углов челюсти. Модель нижней челюсти сегментировалась на пораженном отрезке, затем сегментировалась модель малоберцового трансплантата и постепенно выверялась по углам остеотомии и по форме нижней челюсти, используя негативный оттиск с базилярного края нижней челюсти. На основании полученных сегментов стереолитографической модели нижней челюсти вырезались направляющие для интраоперационной остеотомии, которые фиксировались на стерильный клей к малоберцовой кости. Затем моделировалась реконструктивная пластина по сформированным сегментам малоберцового трансплантата, далее пластина отправлялась на стерилизацию. Преимуществами метода являются: время планирования составляет 72 ч после получения КТ сканов, время медицинского планирования на моделях – менее 1 ч, интраоперационная навигация с помощью бумажных направляющих сокращает время ишемии лоскута, значительно удешевляет процедуру планирования по сравнению с CAD/CAM производством шаблонов и индивидуальных пластин. В итоге среднее время моделирования малоберцового трансплантата составило 89 мин против 104 мин без применения направляющих, среднее время ишемии лоскута с планированием сегментации – 55 мин против 101 мин. Авторы отмечают трудность проведения остеотомий лоскута в связи со сложностью трехмерной ориентации линии сегментации [18].

J. Pauchot et al. планировали реконструкцию малоберцовым трансплантатом, используя стереолитографические модели и лист бумаги. Базилярный контур нижней челюсти переносился на

лист бумаги, после чего определялись основные углы тела нижней челюсти. Выверенные углы переносились на линейный контур распечатанного будущего малоберцового трансплантата также на листе бумаги. Определялись углы для сегментации трансплантата. Реконструктивная пластина заранее сгибалась по стереолитографической модели нижней челюсти. Полученные бумажные треугольники вырезались и адаптировались к костному трансплантату интраоперационно и позволяли смоделировать линии остеотомии. Среднее время планирования составляло 25 мин. Недостатком метода является отсутствие трехмерного представления о сегментации интраоперационно, преимуществом – низкая себестоимость [19].

Метод мануального планирования, предложенный T.H. Wang et al. [20], исключает недостаток отсутствия трехмерного представления о линиях остеотомии малоберцового трансплантата. Пациентам (n=24) проводилась СКТ, после чего сканы переносились в программу для автоматизированного проектирования и виртуально по ходу резецируемых сегментов нижней челюсти выстраивались бумажные плоскости, которые преобразовывались в квадратную форму и распечатывались на картонной бумаге. Шаблон помещался в водоотталкивающую пленку и использовался интраоперационно как резекционный, после чего – как сегментационный. Время операции с его использованием увеличилось с 10 до 10,5 ч. Авторы указывают, что недостатками исследования являются малая выборка и малоотработанная техника. По мере накопления опыта можно ожидать, что продолжительность операции будет меньше, чем при традиционных методах.

Методом выбора для планирования микрохирургической реконструкции с применением малоберцового аутотрансплантата является компьютерное планирование с проектированием резекционных, сегментационных шаблонов и индивидуальных пластин [21, 22]. Задачей компьютерного планирования является максимально точная передача данных, рассчитанных в дооперационном периоде, в операционную в физическом виде [23, 24]. Виртуальное планирование включает в себя несколько основных этапов [25–27]:

1. Загрузка DICOM файлов на сервер или в приложение и комментарии пожеланий оператора (границы резекции, расположение костного трансплантата):

1) встреча оператора в режиме реального времени онлайн с медицинским инженером и планирование в 2D- и 3D-проекциях с определением границ резекции; дизайна резекционных шаблонов; положения мыщелковых отростков; создание шаблонов для забора аутотрансплантата согласно размерам области резекции и согласование количества линий остеотомии; определение желаемого дизайна пластины, толщины пластины, а также размеров, количества, наклона и положения фиксирующих винтов; определение конструкции направляющих для резекции и сегментации, а также положения винтов, фиксирующих эти шаблоны.

2. Позиционирование винтов би- или монокортикально на трансплантате, в обход анатомически важных структур (корни зубов, нижнечелюстной канал) медицинским инженером.

3. Одобрение планирования хирургом.

4. Фрезеровка или печать индивидуальной пластины и шаблонов.

Стоит отметить набирающую популярность методику «Jaw in a Day» – «Челюсть за день», предложенную J.P. Levine et al. [28], которая предполагает резекцию и одномоментную реконструкцию дефекта малоберцовым аутотрансплантатом с установленными дентальными имплантатами и фиксированной на них ортопедической конструкцией. Авторы указывают на необходимость работы от обратного, т. е. от конечной ортопедической конструкции в полости рта – коронок зубов [28]. В свою очередь, многие исследователи высказывают сомнения по поводу данной методики из-за увеличения времени ишемии. При использовании компьютерного планирования и печати эти риски можно исключить [29].

Стоит также отметить, что нет единого компьютерного приложения для моделировки и проектирования шаблонов и пластин. Таким образом, всю цифровую работу объединяют формат DICOM КТ-исследований и использование для проектирования формата STL [26, 18]. Автором данной методики представлено 4 наблюдения [28]. В литературе нами найдено 17 случаев применения данного метода [30–33]. Стоит отметить работу Y.M. Chang et al. [32], в которой для предупреждения возможной интраоперационной погрешности в положении имплантатов производилось интраоперационное внутриротовое сканирование с последующим фрезерованием коронок, которое в среднем занимало 40 мин. Во время фрезеровки накладывались сосудистые швы.

Время, затрачиваемое на реализацию планирования при реконструктивных вмешательствах с использованием малоберцового трансплантата

Время, затраченное на планирование оперативного вмешательства, компенсируется сокращением интраоперационного времени и повышением точности перемещаемых структур [34]. Можно сократить время планирования, если наладить коммуникации между оператором и инженером [26, 35]. Виртуальное планирование в среднем требует от хирурга от 20 до 40 мин для общения с инженером [25, 26]. При классическом планировании эти сроки у авторов сильно разнятся, варьируя от 25 до 53 мин [18, 19].

Планирование параметров пластин для остеосинтеза при реконструктивных вмешательствах с использованием малоберцового трансплантата

Многие центры до сих предпочитают мануальное изгибание пластин при реконструкциях челюстей, в основном это происходит интраоперационно. В то время как многие операторы все чаще предпочитают предоперационное сгибание пластин для индивидуализации, их все равно необходимо сгибать вручную [25]. Эта процедура сокращает время операции и улучшает посадку пластин [36], но она не решает такие проблемы, как переломы пластин или несоответствующий размер стандартных пластин. Кроме того, интраоперационное позиционирование пластины в соответствии с требованиями стереолитографических моделей обычно затруднено [37]. На данный момент у оператора есть возможность тщательного планирования формы и положения пластины, количества отверстий под винты, толщины пластины в предоперационном периоде. В среднем от момента загрузки DICOM файлов и получения готовой пластины проходит 15 сут [25].

В мультицентровом исследовании отмечено идеальное прилегание пластин в 19 случаях, в 10 случаях пластины прилегали с небольшим, клинически незначимым зазором, в 1 случае зазор был большим, и пластина прилегала плохо из-за изменения плана операции интраоперационно в случаях с виртуальным планированием и производством. Авторы указывают на желательный ход пластины, в дистальных отделах она должна проходить снаружи от трансплантата, но во фронтальном отделе неочелюсти они должна идти сзади, чтобы не создавать гиперконтур в области подбородка за счет своего объема [25]. В исследовании F. Wilde et al., включающем 40 пациентов, отмечается уменьшение отклонения от планирования за счет использования персонализированных пластин. Средние отклонения измеренных расстояний составляли 1,1 мм для индивидуальных пластин и 1,9 мм для пластин, изогнутых интраоперационно [37]. Стоит отметить, что индивидуальные пластины более устойчивы к переломам, чем обычные пластины, согнутые вручную [38]. Использование ключа для прецизионной фиксации пластины увеличивает точность прилежания пластин и сокращает диастазы между сегментами трансплантата [37]. Окончательные биофизические исследования еще предстоит провести, так как есть задокументированные случаи перелома индивидуальных пластин [26].

Сокращение операционного времени и ишемии лоскута

Современные исследования направлены на сокращение операционного времени и времени ишемизации лоскута, благодаря цифровому планированию, и оценку финансовой составляющей данного направления. На примере 114 лоскутов, включенных в исследование, доказано, что время ишемии более 5 ч с момента наложения жгута на нижнюю конечность увеличивает частоту частичного некроза лоскута и его потери [39].

M. Seruya et al. при исследования, проведенном на 68 пациентах, указывают на клинически значимое сокращение времени ишемии лоскута – 120 мин с использованием компьютерного планирования против 170 мин при традиционной бесшаблонной технике [40]. В пилотном исследовании, в котором сравнивались пять традиционно сформированных лоскутов и пять спланированных малоберцовых лоскутов для реконструкции челюсти, A. Modabber et al. сообщили о значительном, но более умеренном сокращении времени ишемии в случаях автоматизированного проектирования – 131,2 мин против 104,8 мин соответственно [41].

Операционное время также было короче для запланированной с помощью компьютерных технологий операции по сравнению с традиционным методом – 625 мин против 648 мин соответственно [40]. F. Wilde et al. указывают на среднее время операции с использованием компьютерного планирования, равном 552 мин [25]. По данным H. Hanken et al., среднее время, затраченное на микрохирургическую реконструкцию, составило 584 мин при средней продолжительности ишемии лоскута в 71 мин [26]. В исследовании M.M. Hanasono et al. время операции значительно сокращалось при планировании реконструкции с использованием одного лоскута по сравнению с контролем – 528 мин против 630 мин соответственно. Исследование включало 38 пациентов. Значительное сокращение операционного времени происходило при использовании одного лоскута для реконструкции. При использовании нескольких лоскутов операционное время снижалось, но не достоверно. Исследователи приписывают экономию времени предварительному сгибанию пластин и использованию шаблонов для упрощения остеотомии. Предоперационное планирование, возможно, также повышало оперативную эффективность за счет улучшения принятия хирургических решений и сокращения проб и ошибок во время забора лоскута и его формирования [42]. R. Siera Gil et al. отмечают сокращение операционного времени на 42 мин, что согласуется с другими исследованиями [43].

Известно, что использование CAD/CAM технологий для планирования реконструкций позволяет сократить время операции, тем самым снижая потенциальное профессиональное выгорание среди микрохирургов [44] и число хирургических ошибок [45, 46].

Количество и точность остеотомических плоскостей в малоберцовом трансплантате

Известно, что количество остеотомий варьируется от формы дефекта и пожеланий оператора

[40]. Впервые сегментационный шаблон был предложен L. Ciocca et al. в 2015 г. [47]. По результатам виртуального планирования средняя длина сегментов не отличалась от запланированной более чем на 2 мм, что, по мнению авторов, клинически не значимо [26, 48]. Анализ P. Li et al. на основании 9 реконструкций демонстрирует среднее отклонение в 3,4 ± 1,3 мм, что больше 2 мм [49]. По данным E. Stirling Craig et al., разница между трансплантатом и нативной нижней челюстью значительно сокращалась при виртуальном планировании – до 0,36 мм по сравнению с 1,88 мм в контрольной группе [50]. Существуют алгоритмы реконструкции, которые включают количество необходимых сегментов для моделирования малоберцового трансплантата в зависимости от распространенности и локализации патологического процесса [51].

Возможность имплантации в малоберцовый трансплантат

Установка дентальных имплантатов в малоберцовый трансплантат зарекомендовала себя как успешный этап в процессе реабилитации пациента. Малоберцовый реваскуляризированный аутотрансплантат имеет бикортикальную плотную кость, обычно хорошего качества, и васкуляризацию через надкостницу [52], что позволяет достигать первичной стабильности имплантатов и устанавливать их, не опасаясь повредить внутрикостные структуры. Установка дентальных имплантатов позволяет восстановить окклюзию пациента и функцию жевания, речь, эстетику [53].

В арсенале реконструктивных хирургов есть несколько вариантов имплантации в малоберцовый трансплантат: подготовка трансплантата и установка в него дентальных имплантатов без переноса лоскута в реципиентную зону и дальнейшее выжидание остеоинтеграции. Последующий этап аутотрансплантации осуществляется с уже остеоинтегрированными имплантатами [1]; установкой дентальных имплантатов в уже остеоинтегрированный в реципиентной зоне трансплантат [54]; установкой дентальных имплантатов одномоментно с реконструкцией и переносом лоскута в реципиентное ложе [28, 55]. При использовании любого из этих методов успешность установки дентальных имплантатов в малоберцовую кость составляет более 95 % [56–58].

M.L. Urken et al. описали первые случаи немедленной установки дентального имплантата при заборе малоберцового лоскута [59], тогда же D.A. Hidalgo опубликовал свою статью [9]. С тех пор документирован долгосрочный успех имплантации зубов при реконструкции нижней челюсти трансплантатом малоберцовой кости [56, 60]. Сегодня установку дентальных имплантатов стараются производить до этапа лучевой терапии (если таковой необходим) для увеличения успешной остеоинтеграции [61].

Окклюзия. Положение суставной головки

Планирование любой реконструкции должно начинаться от обратного – с позиции ортопедической конструкции [28]. Проблемой при реконструкции костных дефектов нижней или верхней челюсти являются правильная трехмерная форма и размер, а также правильное расположение костей. Традиционные методы часто неточны при реконструкции нелинейной формы челюсти из линейных донорских костей путем точной остеотомии для восстановления прикуса и функции противоположного зубного ряда [2, 62].

В исследовании, проведенном на 32 пациентах, из которых оценка окклюзии проводилось у 30 больных, в 6 случаях предоперационная окклюзия была восстановлена или сохранена. Однако у одного из этих 6 пациентов резекция производилась с сохранением непрерывности. Один случай предоперационного неправильного прикуса привел к ожидаемой окклюзии. Аномалии окклюзии появились после операции у 3 пациентов. У одного пациента аномалия окклюзии сохранилась после операции. Однако у 19 пациентов не было идентифицируемой окклюзии после операции. У 15 больных это наблюдалось еще до операции. В 19 случаях невозможно было одномоментно установить имплантаты и восстановить окклюзию, что является ограничением данного исследования. Также проводилась рентгенологическая оценка положения суставов нижней челюсти в суставных ямках. Был 1 случай, когда послеоперационная рентгенография выявила неправильное положение челюсти по сравнению с предоперационным статусом. В другом случае хирургическое вмешательство не помогло исправить ранее существовавшее неправильное положение суставной головки. Однако в 3 случаях предоперационное неправильное положение челюсти было восстановлено до рентгенологически нормального положения. В других случаях правильное положение суставной головки до операции было сохранено [25].

S. Mazzoni et al. отметили, что послеоперационное положение мыщелкового отростка было более точным в группе из 7 пациентов, у которых использовалось виртуальное планирование для реконструкции. В контрольной группе показатели отклонения правого и левого мыщелкового отростка составили 2,457 и 4,458, в исследуемой группе – 1,297 и 0,789 соответственно. У всех пациентов восстановилась хорошая жевательная активность через 3 нед после реконструкции с цифровым планированием. Авторы указывают, что пациентов с реконструкцией левого мыщелкового отростка было больше, поэтому возможны отклонения в статистике [62].

Одномоментная реконструкция с установкой ортопедической конструкции позволяет достичь максимальной точности окклюзионного взаимоотношения челюстей и эстетики [28]. Исследования,

оценивающие окклюзию после реконструкции, единичны, и требуется более глубокое изучение этой проблемы.

Эстетические результаты применения виртуального планирования при реконструктивных вмешательствах с использованием малоберцового трансплантата

Вопрос эстетики в реконструктивной хирургии имеет значение наравне с функциональным результатом [63]. Цифровое планирование позволяет прогнозировать положение и контуры костного трансплантата, положение пластины, что увеличивает точность реконструкции и желаемой конфигурации мягких тканей. Благодаря компьютерным технологиям появляется возможность зеркального отображения утраченной части органа с контрлатеральной стороны, в случае отсроченной реконструкции [64–66].

E. Stirling Craig et al. оценили эстетические параметры реконструкций с помощью малоберцового реваскуляризированного трансплантата у 19 пациентов. При изолированных реконструкциях тела нижней челюсти симметрия значимо не отличалась при виртуальном планировании и в контрольной группе, где оно не использовалось. Тем не менее отмечено улучшение симметрии при реконструкциях дефектов, больших по объему, чем тело нижней челюсти. В группе с виртуальным планированием симметрия приближалась к 1,02 ± 0,08, в контроле – к 1,06 ± 0,10 (p=0,097) [50]. Отмечается увеличение симметрии при компьютерном планировании при множественных остеотомиях.

Одним из главных преимуществ одномоментной реконструкции с использованием методики «jaw in a day» является восстановление эстетики пациента в день операции. Симметрия достигается за счет планирования, появления протетических конструкций, что позволяет удерживать высоту челюсти и нижней трети лица в день операции [28].

В исследовании S. Mazzoni et al., включавшем 12 пациентов, оценивалась эстетика, зависящая от точности позиционирования трансплантата и симметрии челюсти. Производилась оценка 4 параметров по данным пред- и послеоперационного КТ-исследования в группе с цифровым планированием и в контрольной группе без планирования. Отклонение средней линии нижней челюсти было незначимым в двух группах. Значимое изменение положения угла нижней челюсти зафиксировано в 1 случае. Отклонение тела челюсти по отношению к ветви нижней челюсти было практически статистически значимо справа (p=0,054). Слева значения оказывались меньшими, но также заметными. У всех пациентов контрольной группы наблюдались более высокие степени отклонения данного параметра по сравнению с основной группой. При оценке положения мыщелкового отростка обнаружено его более точное положение в группе с виртуальным планированием. В совокупности все эти параметры, имеющие более высокую точность, улучшают эстетические параметры лица пациента [62]. В исследовании Achille также проводилась оценка эстетических параметров лица у 30 пациентов по данным пред- и послеоперационного КТ. Эти результаты полностью согласуются с данными S. Mazzoni et al. Авторы отмечают, что эстетические параметры резко изменяются при отклонении положения нижней челюсти от прежнего [35]. Исследователи, которые проводили реконструкции с помощью мануального планирования, отмечают, что не стоит ожидать эстетичного результата после таких реконструкций [20]. Имея индивидуальные пластины, шаблоны для резекции и остеотомии, хирурги более уверены в эстетичности результатов операции.

Качество жизни пациентов в зависимости от планирования реконструкций малоберцовым трансплантатом

Пациенты после реконструкции по поводу ЗНО полости рта указывают на значительное ухудшение уровня эстетики лица [67, 68]. M. Wilkat et al. в результате опроса о качестве жизни 21 больного сделали вывод о более высоком качестве жизни у пациентов с цифровым планированием. В контрольной группе больше пациентов заявили, что их беспокоит внешний вид и ухудшение настроения после реконструкции [34]. Сравнительных данных по оценке качества жизни после реконструкции малоберцовым трансплантатом немного, требуются дальнейшие исследования.

Недостатки виртуального планирования. Финансовые ограничения

Сохраняется проблема точного позиционирования пластин и шаблонов для реконструкции. Некоторые исследователи указывают на возможную связь в погрешности планирования со свободой режущих направляющих в сегментационных шаблонах [48]. Недостатком виртуального планирования является отсутствие альтернативного плана операции [27], существуют мнения о необходимом создании гиперобъема на этапе компьютерного планирования [48]. Планирование должно быть выполнено в максимально короткие сроки для исключения изменений реципиентной зоны. Изменения в компьютерной томографии или МРТ с высоким разрешением могли бы сделать возможной интеграцию перфораторных сосудов в процесс планирования [26].

Стоимость планирования микрохирургических реконструкций с изготовлением всех шаблонов и индивидуальной пластины составляет от 1500 до более чем 5000 евро [25]. В некоторых странах высокие затраты на планирование компенсируются расходами на операционное время [27, 43]. Для

исключения финансовых трудностей существуют методики, не требующие столь высоких финансовых затрат [19, 20]. Таким образом, не стоит забывать о трудностях виртуального планирования, требующего определенных финансовых затрат, оснащенности клиники, обученного персонала, точности посадки пластин и шаблонов.

Будущее виртуальной хирургии

В настоящее время виртуальная хирургия шагнула далеко вперед, она дает преимущества в эстетике, симметричности, психологическом состоянии пациента, качестве жизни и операционном времени. Будущим реконструктивной хирургии являются её роботизация и развитие клеточных технологий с возможностью создания тканеинженерных органов [69–71]. В частности, уже опубликовано преклиническое исследование с использованием робота для сегментации малоберцового трансплантата. В эксперименте робот с загруженным на него планированием и с установленной пилой для резки производит запрограммированные остеотомии. При этом среднее линейное отклонение остеотомированных сегментов на модели малоберцового трансплантата составило 1,3 ± 0,4 мм, угловое отклонение – 4,2 ± 1,78 мм. Полученные данные согласуются с результатами интраоперационной сегментации малоберцового трансплантата в клинической практике [69]. Таким образом, при совершенствовании методики появляется возможность исключения человеческой ошибки при сегментациях, уменьшения операционного времени и усталости хирурга.

Заключение

Неоспоримым является факт улучшения результатов реконструкции реваскуляризированным малоберцовым аутотрансплантатом с применением виртуального планирования. Одним из важных аспектов для пациента является его социальная реабилитация и реинтеграция в обществе, частота которых увеличивается при использовании виртуального планирования. Одной из целей планирования является правильная окклюзия, реализация которой при одномоментной реконструкции возможна с помощью цифрового планирования. Предполагается, что будущие интраоперационные инструменты будут обладать более высокой точностью при проведении реконструкции, что снизит риск и частоту осложнений Интеграция роботической хирургии в клиническую практику снизит нагрузки на хирурга, однако в ближайшее время возможности ее внедрения в рутинную практику отстаются сомнительными. Необходимы мультицентровые рандомизированные исследования по эффективности планирования микрохирургических реконструкций.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Mehta R.P., Deschler D.G.* Mandibular reconstruction in 2004: an analysis of different techniques. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2004; 12(4): 288–93. doi: 10.1097/01.moo.0000131444.50445.9d.

2. *Roser S.M., Ramachandra S., Blair H., Grist W., Carlson G.W., Christensen A.M., Weimer K.A., Steed M.B.* The accuracy of virtual surgical planning in free fibula mandibular reconstruction: comparison of planned and final results. J Oral Maxillofac Surg. 2010; 68(11): 2824–32. doi: 10.1016/j.joms.2010.06.177.

3. *Eckardt A., Swennen G.R.* Virtual planning of composite mandibular reconstruction with free fibula bone graft. J Craniofac Surg. 2005; 16(6): 1137–40. doi: 10.1097/01.scs.0000186306.32042.96.

4. *Wong M.E., Kau C.H., Melville J.C., Patel T., Spagnoli D.B.* Bone Reconstruction Planning Using Computer Technology for Surgical Management of Severe Maxillomandibular Atrophy. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2019; 31(3): 457–72. doi: 10.1016/j.coms.2019.03.008.

5. *Bell R.B.* Computer planning and intraoperative navigation in cranio-maxillofacial surgery. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2010; 22(1): 135–56. doi: 10.1016/j.coms.2009.10.010.

6. *Bieserfeldt D., Weiskopf S.* Stepwise approach for virtual planning in reconstruction post pathology resection and trauma. J Oral Maxillofac Surg. 2010; 68(9). doi: 10.1016/j.joms.2010.06.036.

7. *Trignano E., Fallico N., Faenza M., Rubino C., Chen H.C.* Free fibular flap with periosteal excess for mandibular reconstruction. Microsurgery. 2013; 33(7): 527–33. doi: 10.1002/micr.22159.

8. *Taylor G.I., Miller G.D., Ham F.J.* The free vascularized bone graft. A clinical extension of microvascular techniques. Plast Reconstr Surg. 1975; 55(5): 533–44. doi: 10.1097/00006534-197505000-00002.

9. *Hidalgo D.A.* Fibula free flap: a new method of mandible reconstruction. Plast Reconstr Surg. 1989; 84(1): 71–9.

10. *Barber H.D., Seckinger R.J., Hayden R.E., Weinstein G.S.* Evaluation of osseointegration of endosseous implants in radiated, vascularized fibula flaps to the mandible: a pilot study. J Oral Maxillofac Surg. 1995; 53(6): 640–4; discussion 644–5. doi: 10.1016/0278-2391(95)90158-2.

11. *Cutting C., Bookstein F.L., Grayson B., Fellingham L., McCarthy J.G.* Three-dimensional computer-assisted design of craniofacial surgical procedures: optimization and interaction with cephalometric and CT-based models. Plast Reconstr Surg. 1986; 77(6): 877–87. doi: 10.1097/00006534-198606000-00001.

12. *Polley J.W., Figueroa A., Cohen M.* Leveling of the occlusal plane during model surgery. J Craniofac Surg. 1993; 4(4): 266–7.

13. *Hanasono M.M., Jacob R.F., Bidaut L., Robb G.L., Skoracki R.J.* Midfacial reconstruction using virtual planning, rapid prototype modeling, and stereotactic navigation. Plast Reconstr Surg. 2010; 126(6): 2002–6. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181f447e1.

14. *Sieira Gil R., Roig A.M., Obispo C.A., Morla A., Pagès C.M., Perez J.L.* Surgical planning and microvascular reconstruction of the mandible with a fibular flap using computer-aided design, rapid prototype modelling, and precontoured titanium reconstruction plates: a prospective study. Br J Oral Maxillofac Surg. 2015; 53(1): 49–53. doi: 10.1016/j.bjoms.2014.09.015.

15. *Antony A.K., Chen W.F., Kolokythas A., Weimer K.A., Cohen M.N.* Use of virtual surgery and stereolithography-guided osteotomy for mandibular reconstruction with the free fibula. Plast Reconstr Surg. 2011; 128(5): 1080–4. doi: 10.1097/PRS.0b013e31822b6723.

16. *Foley B.D., Thayer W.P., Honeybrook A., McKenna S., Press S.* Mandibular reconstruction using computer-aided design and computer-aided manufacturing: an analysis of surgical results. J Oral Maxillofac Surg. 2013; 71(2): 111–9. doi: 10.1016/j.joms.2012.08.022.

17. *Hou J.S., Chen M., Pan C.B., Wang M., Wang J.G., Zhang B., Tao Q., Wang C., Huang H.Z.* Application of CAD/CAM-assisted technique with surgical treatment in reconstruction of the mandible. J Craniomaxillofac Surg. 2012; 40(8): 432–7. doi: 10.1016/j.jcms.2012.02.022.

18. *Damecourt A., Nieto N., Galmiche S., Garrel R., de Boutray M.* In-house 3D treatment planning for mandibular reconstruction by free fibula flap in cancer: Our technique. Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis. 2020; 137(6): 501–5. doi: 10.1016/j.anorl.2020.02.002.

19. *Pauchot J., Lachat J., Floret F., Badet J. M., Tavernier L., Aubry S.* Reconstruction de la mandibule par lambeau libre de péroné assistée par une maquette tridimensionnelle: note technique. Revue de la littérature des techniques de CAO et FAO appliquées à la reconstruction mandibulaire. Rev Stomatol Chir Maxillofac Chir Orale. 2013 Sep; 114(4): 269–75. doi: 10.1016/j.revsto.2013.06.002.

20. *Wang T.H., Tseng C.S., Hsieh C.Y., Ma H., Shen B.H., Perng C.K., Tiu C.M.* Using computer-aided design paper model for mandibular reconstruction: a preliminary report. J Oral Maxillofac Surg. 2009; 67(11): 2534–40. doi: 10.1016/j.joms.2009.04.033.

21. *Schramm A., Suarez-Cunqueiro M.M., Rücker M., Kokemueller H., Bormann K.H., Metzger M.C., Gellrich N.C.* Computer-assisted therapy in orbital and mid-facial reconstructions. Int J Med Robot. 2009; 5(2): 111–24. doi: 10.1002/rcs.245.

22. *Metzger M.C., Hohlweg-Majert B., Schön R., Teschner M., Gellrich N.C., Schmelzeisen R., Gutwald R.* Verification of clinical precision after computer-aided reconstruction in craniomaxillofacial surgery. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007; 104(4): 1–10. doi: 10.1016/j.tripleo.2007.04.015.

23. *Marmulla R., Niederdellmann H.* Computer-assisted bone segment navigation. J Craniomaxillofac Surg. 1998; 26(6): 347–59. doi: 10.1016/s1010-5182(98)80067-x.

24. *Marchetti C., Bianchi A., Bassi M., Gori R., Lamberti C., Sarti A.* Mathematical modeling and numerical simulation in maxillofacial virtual surgery. J Craniofac Surg. 2006; 17: 661–7. doi: 10.1097/00001665-200607000-00009.

25. *Wilde F., Hanken H., Probst F., Schramm A., Heiland M., Cornelius C.P.* Multicenter study on the use of patient-specific CAD/CAM reconstruction plates for mandibular reconstruction. Int J Comput Assist Radiol Surg. 2015; 10(12): 2035–51. doi: 10.1007/s11548-015-1193-2.

26. *Hanken H., Schablowsky C., Smeets R., Heiland M., Sehner S., Riecke B., Nourwali I., Vorwig O., Gröbe A., Al-Dam A.* Virtual planning of complex head and neck reconstruction results in satisfactory match between real outcomes and virtual models. Clin Oral Investig. 2015; 19(3): 647–56. doi: 10.1007/s00784-014-1291-5.

27. *Pang J.H., Brooke S., Kubik M.W., Ferris R.L., Dhima M., Hanasono M.M., Wang E.W., Solari M.G.* Staged Reconstruction (Delayed-Immediate) of the Maxillectomy Defect Using CAD/CAM Technology. J Reconstr Microsurg. 2018; 34(3): 193–9. doi: 10.1055/s-0037-1607394. Erratum in: J Reconstr Microsurg. 2018; 34(3): 1.

28. *Levine J.P., Bae J.S., Soares M., Brecht L.E., Saadeh P.B., Ceradini D.J., Hirsch D.L.* Jaw in a day: total maxillofacial reconstruction using digital technology. Plast Reconstr Surg. 2013; 131(6): 1386–91. doi: 10.1097/PRS.0b013e31828bd8d0.

29. *Hanasono M.M., Chang D.W.* Discussion: Jaw in a day: total maxillofacial reconstruction using digital technology. Plast Reconstr Surg. 2013; 131(6): 1392–3. doi: 10.1097/PRS.0b013e31828bd1bc.

30. *Qaisi M., Kolodney H., Swedenburg G., Chandran R., Caloss R.* Fibula Jaw in a Day: State of the Art in Maxillofacial Reconstruction. J Oral Maxillofac Surg. 2016; 74(6). doi: 10.1016/j.joms.2016.01.047.

31. *Sukato D.C., Hammer D., Wang W., Shokri T., Williams F., Ducic Y.* Experience With «Jaw in a Day» Technique. J Craniofac Surg. 2020; 31(5): 1212–7. doi: 10.1097/SCS.0000000000006369.

32. *Chang Y.M., Wei F.C.* Fibula Jaw-in-a-Day with Minimal Computer-Aided Design and Manufacturing: Maximizing Efficiency, Cost-Effectiveness, Intraoperative Flexibility, and Quality. Plast Reconstr Surg. 2021; 147(2): 476–9. doi: 10.1097/PRS.0000000000007546.

33. *Patel A., Harrison P., Cheng A., Bray B., Bell R.B.* Fibular Reconstruction of the Maxilla and Mandible with Immediate Implant-Supported Prosthetic Rehabilitation: Jaw in a Day. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2019; 31(3): 369–86. doi: 10.1016/j.coms.2019.03.002.

34. *Wilkat M., Norbert K., Majeed R.* Advances in the Resection and Reconstruction of Midfacial Tumors Through Computer Assisted Surgery. Front Oncol. 2021: 4226. doi: 10.3389/fonc.2021.719528.

35. *Tarsitano A., Ciocca L., Scotti R., Marchetti C.* Morphological results of customized microvascular mandibular reconstruction: A comparative study. J Craniomaxillofac Surg. 2016; 44(6): 697–702. doi: 10.1016/j.jcms.2016.03.007.

36. *Toro C., Robiony M., Costa F., Zerman N., Politi M.* Feasibility of preoperative planning using anatomical facsimile models for mandibular reconstruction. Head Face Med. 2007; 3: 5. doi: 10.1186/1746-160X-3-5.

37. *Wilde F., Winter K., Kletsch K., Lorenz K., Schramm A.* Mandible reconstruction using patient-specific pre-bent reconstruction plates: comparison of standard and transfer key methods. Int J Comput Assist Radiol Surg. 2015; 10(2): 129–40. doi: 10.1007/s11548-014-1065-1.

38. *Wilde F., Cornelius C.P., Schramm A.* Computer-Assisted Mandibular Reconstruction using a Patient-Specific Reconstruction Plate Fabricated with Computer-Aided Design and Manufacturing Techniques. Craniomaxillofac Trauma Reconstr. 2014; 7(2): 158–66. doi: 10.1055/s-0034-1371356.

39. *Chang S.Y., Huang J.J., Tsao C.K., Nguyen A., Mittakanti K., Lin C.Y., Cheng M.H.* Does ischemia time affect the outcome of free fibula flaps for head and neck reconstruction? A review of 116 cases. Plast Reconstr Surg. 2010; 126(6): 1988–95. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181f448c8.

40. *Seruya M., Fisher M., Rodriguez E.D.* Computer-assisted versus conventional free fibula flap technique for craniofacial reconstruction: an outcomes comparison. Plast Reconstr Surg. 2013; 132(5): 1219–28. doi: 10.1097/PRS.0b013e3182a3c0b1.

41. *Modabber A., Legros C., Rana M., Gerressen M., Riediger D., Ghassemi A.* Evaluation of computer-assisted jaw reconstruction with free vascularized fibular flap compared to conventional surgery: a clinical pilot study. Int J Med Robot. 2012; 8(2): 215–20. doi: 10.1002/rcs.456.

42. *Hanasono M.M., Skoracki R.J.* Computer-assisted design and rapid prototype modeling in microvascular mandible reconstruction. Laryngoscope. 2013; 123(3): 597–604. doi: 10.1002/lary.23717.

43. *Sieira Gil R., Roig A.M., Obispo C.A., Morla A., Pagès C.M., Perez J.L.* Surgical planning and microvascular reconstruction of the mandible with a fibular flap using computer-aided design, rapid prototype modelling, and precontoured titanium reconstruction plates: a prospective study. Br J Oral Maxillofac Surg. 2015; 53(1): 49–53. doi: 10.1016/j.bjoms.2014.09.015.

44. *Contag S.P., Golub J.S., Teknos T.N., Nussenbaum B., Stack B.C. Jr., Arnold D.J., Johns M.M.* Professional burnout among microvascular and reconstructive free-flap head and neck surgeons in the United States. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2010; 136(10): 950–6. doi: 10.1001/archoto.2010.175.

45. *Sturm L., Dawson D., Vaughan R., Hewett P., Hill A.G., Graham J.C., Maddern G.J.* Effects of fatigue on surgeon performance and surgical outcomes: a systematic review. ANZ J Surg. 2011; 81(7–8): 502–9. doi: 10.1111/j.1445-2197.2010.05642.x.

46. *Veasey S., Rosen R., Barzansky B., Rosen I., Owens J.* Sleep loss and fatigue in residency training: a reappraisal. JAMA. 2002; 288(9): 1116–24. doi: 10.1001/jama.288.9.1116.

47. *Ciocca L., Marchetti C., Mazzoni S., Baldissara P., Gatto M.R., Cipriani R., Scotti R., Tarsitano A.* Accuracy of fibular sectioning and insertion into a rapid-prototyped bone plate, for mandibular reconstruction using CAD-CAM technology. J Craniomaxillofac Surg. 2015; 43(1): 28–33. doi: 10.1016/j.jcms.2014.10.005.

48. *Hanasono M.M., Skoracki R.J.* Computer-assisted design and rapid prototype modeling in microvascular mandible reconstruction. Laryngoscope. 2013; 123(3): 597–604. doi: 10.1002/lary.23717.

49. *Li P., Xuan M., Liao C., Tang W., Wang X.Y., Tian W., Long J.* Application of Intraoperative Navigation for the Reconstruction of Mandibular Defects With Microvascular Fibular Flaps-Preliminary Clinical Experiences. J Craniofac Surg. 2016; 27(3): 751–5. doi: 10.1097/SCS.0000000000002430.

50. *Stirling Craig E., Yuhasz M., Shah A., Blumberg J., Salomon J., Lowlicht R., Fusi S., Steinbacher D.M.* Simulated surgery and cutting guides enhance spatial positioning in free fibular mandibular reconstruction. Microsurgery. 2015; 35(1): 29–33. doi: 10.1002/micr.22229.

51. *Tarsitano A., Del Corso G., Ciocca L., Scotti R., Marchetti C.* Mandibular reconstructions using computer-aided design/computer-aided manufacturing: A systematic review of a defect-based reconstructive algorithm. J Craniomaxillofac Surg. 2015; 43(9): 1785–91. doi: 10.1016/j.jcms.2015.08.006.

52. *Thankappan K., Trivedi N.P., Subash P., Pullara S.K., Peter S., Kuriakose M.A., Iyer S.* Three-dimensional computed tomography-based contouring of a free fibula bone graft for mandibular reconstruction. J Oral Maxillofac Surg. 2008; 66(10): 2185–92. doi: 10.1016/j.joms.2008.01.035.

53. *Рагимов Ч.Р., Ахундов А.А., Гаджиева Г.И., Рагимли Р.Ч., Сафаров Д.А., Фарзалиев И.М.* Лечение распространенных опухолей челюсти с одномоментной гемимандибулэктомией, реконструкцией нижней челюсти, артропластикой височно-нижнечелюстного сустава и ортопедической реабилитацией с применением зубных имплантатов. Опухоли головы и шеи 2020; 10(3): 97–110. [*Rahimov C.R., Ahundov A.A., Hajiyeva G.I., Rahimli R.C., Safarov D.A., Farzaliyev I.M.* Treatment of extensive tumors of the jaws by hemimandibuloectomy with simultaniouse reconstruction of the mandible, arthroplasty of temporomandibular joint, orthopedic rehabilitation supported by dental implants. Head and Neck Tumors. 2020; 10(3): 97–110. (in Russian)]. doi: 10.17650/2222-1468-2020-10-3-97-110.

54. *Nazerani S., Behnia H., Motamedi M.H.* Experience with the prefabricated free fibula flap for reconstruction of maxillary and mandibular defects. J Oral Maxillofac Surg. 2008; 66(2): 260–4. doi: 10.1016/j.joms.2007.06.675.

55. *Beumer J., Marunick M.T., Esposito S.J.* Maxillofacial rehabilitation: prosthodontic and surgical management of cancer-related, acquired, and congenital defects of the head and neck. Quintessence Pub. 2011.

56. *Roumanas E.D., Markowitz B.L., Lorant J.A., Calcaterra T.C., Jones N.F., Beumer J.* Reconstructed mandibular defects: fibula free flaps and osseointegrated implants. Plast Reconstr Surg. 1997; 99(2): 356–65. doi: 10.1097/00006534-199702000-00008.

57. *Chiapasco M., Biglioli F., Autelitano L., Romeo E., Brusati R.* Clinical outcome of dental implants placed in fibula-free flaps used for the reconstruction of maxillo-mandibular defects following ablation for tumors or osteoradionecrosis. Clin Oral Implants Res. 2006; 17(2): 220–8. doi: 10.1111/j.1600-0501.2005.01212.x.

58. *Sclaroff A., Haughey B., Gay W.D., Paniello R.* Immediate mandibular reconstruction and placement of dental implants. At the time of ablative surgery. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994; 78(6): 711–7. doi: 10.1016/0030-4220(94)90085-x.

59. *Urken M.L., Buchbinder D., Weinberg H., Vickery C., Sheiner A., Biller H.F.* Primary placement of osseointegrated implants in microvascular mandibular reconstruction. Otolaryngol Head Neck Surg. 1989; 101(1): 56–73. doi: 10.1177/019459988910100111.

60. *Chan M.F., Hayter J.P., Cawood J.I., Howell R.A.* Oral rehabilitation with implant-retained prostheses following ablative surgery and reconstruction with free flaps. Int J Oral Maxillofac Implants. 1997; 12(6): 820–7.

61. *Brown J.S., Shaw R.J.* Reconstruction of the maxilla and midface: introducing a new classification. Lancet Oncol. 2010; 11(10): 1001–8. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70113-3.

62. *Mazzoni S., Marchetti C., Sgarzani R., Cipriani R., Scotti R., Ciocca L.* Prosthetically guided maxillofacial surgery: evaluation of the accuracy of a surgical guide and custom-made bone plate in oncology patients after mandibular reconstruction. Plast Reconstr Surg. 2013; 131(6): 1376–85. doi: 10.1097/PRS.0b013e31828bd6b0.

63. *Disa J.J., Cordeiro P.G.* Mandible reconstruction with microvascular surgery. Semin Surg Oncol. 2000 Oct-Nov; 19(3): 226–34. doi: 10.1002/1098-2388(200010/11)19:3<226::aid-ssu4>3.0.co;2-n.

64. *Troulis M.J., Everett P., Seldin E.B., Kikinis R., Kaban L.B.* Development of a three-dimensional treatment planning system based on computed tomographic data. Int J Oral Maxillofac Surg. 2002; 31(4): 349–57. doi: 10.1054/ijom.2002.0278.

65. *Juergens P., Krol Z., Zeilhofer H.F., Beinemann J., Schicho K., Ewers R., Klug C.* Computer simulation and rapid prototyping for the reconstruction of the mandible. J Oral Maxillofac Surg. 2009; 67(10): 2167–70. doi: 10.1016/j.joms.2009.04.104.

66. *Dérand P., Hirsch J.M.* Virtual bending of mandibular reconstruction plates using a computer-aided design. J Oral Maxillofac Surg. 2009; 67(8): 1640–3. doi: 10.1016/j.joms.2009.03.039.

67. *Chaturvedi S.K., Shenoy A., Prasad K.M., Senthilnathan S.M., Premlatha B.S.* Concerns, coping and quality of life in head and neck cancer patients. Support Care Cancer. 1996; 4(3): 186–90. doi: 10.1007/BF01682338.

68. *Duffy S.A., Ronis D.L., Valenstein M., Fowler K.E., Lambert M.T., Bishop C., Terrell J.E.* Depressive symptoms, smoking, drinking, and quality of life among head and neck cancer patients. Psychosomatics. 2007; 48(2): 142–8. doi: 10.1176/appi.psy.48.2.142.

69. *Chao A.H., Weimer K., Raczkowsky J., Zhang Y., Kunze M., Cody D., Selber J.C., Hanasono M.M., Skoracki R.J.* Pre-programmed robotic osteotomies for fibula free flap mandible reconstruction: A preclinical investigation. Microsurgery. 2016; 36(3): 246–9. doi: 10.1002/micr.30013.

70. *Hayden R.E., Mullin D.P., Patel A.K.* Reconstruction of the segmental mandibular defect: current state of the art. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2012; 20(4): 231–6. doi: 10.1097/MOO.0b013e328355d0f3.

71. *Naujokat H., Açil Y., Harder S., Lipp M., Böhrnsen F., Wiltfang J.* Osseointegration of dental implants in ectopic engineered bone in three different scaffold materials. Int J Oral Maxillofac Surg. 2020; 49(1): 135–42. doi: 10.1016/j.ijom.2019.04.005.

Поступила/Received 09.03.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 19.10.2022
Принята к публикации/Accepted 07.11.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Саприна Оксана Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник онкологического отделения хирургических методов лечения № 10, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). Author ID (Scopus): 57202944795. ORCID: 0000-0002-2283-1812.

Шпицер Иван Михайлович, клинический ординатор кафедры челюстно-лицевой хирургии и травматологии, ФГБУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-4621-5739.

ВКЛАД АВТОРОВ

Саприна Оксана Александровна: общее руководство проектом**,** разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Шпицер Иван Михайлович: поиск и подбор научной литературы, написание текста статьи.

Финансирование
Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oksana A. Saprina, MD, PhD, Senior Researcher, Oncological Department of Surgical Methods of Treatment No. 10, N.N. Blokhin National Research Medical Center of Oncology. E-mail: isabekian@mail.ru. Author ID (Scopus): 57202944795. ORCID: 0000-0002-2283-1812.

Ivan M. Shpitser, MD, Clinical Resident of the Department of Maxillofacial Surgery and Traumatology, Moscow State Medical University named after A.I.Evdokimov, KMC Kuskovo of the Moscow State Medical University named after A.I.Evdokimov, ORCID: 0000-0003-4621-5739.

AUTHOR CONTRIBUTION

Oksana A. Saprina: study analysis, conception and design, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.
Ivan M. Shpitser: data collection and interpretation drafting of the manuscript.

Funding
This study required no funding.

Conflict of interests
The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-124-130
УДК: 616.34-006.6-08:615.28

Для цитирования: *Ахметзянов Ф.Ш., Егоров В.И., Абдулганиева Г.Р.* Химиолучевая терапия локализованного колоректального рака: взгляд со стороны. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 124–130. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-124-130
For citation: *Akhmetzyanov F.Sh., Egorov V.I., Abdulganieva G.R.* Chemoradiation therapy for localized colorectal cancer: a view from the outside. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 124–130. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-124-130

CHEMORADIATION THERAPY FOR LOCALIZED COLORECTAL CANCER: A VIEW FROM THE OUTSIDE

F.Sh. Akhmetzyanov[1,3], V.I. Egorov[1,3], G.R. Abdulganieva[2,4]

Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Kazan, Russia[1]
49, Butlerov St., 420012, Kazan, Russia[1]
Kazan State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia, Kazan, Russia[2]
36, Butlerova St., 420029, Kazan, Russia. E-mail: agizum9@gmail.com[2]
Republican Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia[3]
29, Sibirsky Trakt St., 420029, Kazan, Russia[3]
V.M. Bekhterev Republican Clinical Psychiatric Hospital of the Ministry of Health of Russia, Kazan, Russia[4]
49, Nikolai Ershov St., 420012, Kazan, Russia[4]

Abstract

Background. Colorectal cancer is among the most lethal and prevalent malignances in the world. The management of localized colorectal cancer is highly debated. Surgical resection of the rectum, such as total mesenteric excision (TME) is usually associated with significant morbidity and mortality. The integration of various chemotherapy options into the standard treatment of localized rectal cancer could potentially enhance the tumor control with a subsequent reduction in the frequency of recurrence, thus improving overall and disease-free survival. Moreover, there are categories of patients for whom surgical treatment is contraindicated and chemotherapy will be more useful for them. Although rectal cancer is predominantly a disease of older patients, current guidelines do not incorporate optimal treatment recommendations for elderly patients with comorbidities; therefore this issue remains a matter of debate. **Aim.** We aimed to consider alternative approaches to the treatment of localized rectal cancer and the management of selected patients with this diagnosis. **Material and Methods.** We searched for publications in the Pubmed, eLibrary databases and up-to-date information on the basis of world cancer associations. **Conclusions.** Comparison of surgery with concurrent chemoradiotherapy for localized rectal cancer showed that in some cases neoadjuvant therapy can be useful and successful, acting as an ideal alternative. However, this approach may be suitable for selected patients who meet certain criteria. In addition, a follow-up care after treatment should include a specific range of diagnostic imaging tests.

Key words: localized rectal cancer, chemoradiotherapy, nonsurgical approach, fragile patients.

ХИМИОЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ ЛОКАЛИЗОВАННОГО КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА: ВЗГЛЯД СО СТОРОНЫ

Ф.Ш. Ахметзянов[1,3], В.И. Егоров[1,3], Г.Р. Абдулганиева[2,4]

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Казань, Россия[1]
Россия, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49[1]
ФГБОУ ВО «Казанская государственная медицинская академия» Минздрава России,
г. Казань, Россия[2]
Россия, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 36. E-mail: agizum9@gmail.com[2]
ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер
Министерства здравоохранения Республики Татарстан», г. Казань, Россия[3]
Россия, 420029, г. Казань, ул. Сибирский Тракт, 29[3]
ГАУЗ «Республиканская клиническая психиатрическая больница
им. Акад. В.М. Бехтерева Минздрава России», г. Казань, Россия[4]
Россия, 420012, г. Казань, ул. Николая Ершова, 49[4]

Абдулганиева Гузель Радиковна, agizum9@gmail.com

Аннотация

Введение. Колоректальный рак занимает лидирующие позиции по заболеваемости и смертности от злокачественных опухолей. Выбор вектора терапии локализованного колоректального рака вызывает много дискуссий. Хирургическая резекция прямой кишки, такая как ТМЭ, обычно связана с высоким уровнем послеоперационных осложнений и летальностью. Потенциально интеграция различных вариантов химиотерапии в стандартное лечение локализованного рака прямой кишки может усилить контроль над опухолью с последующим снижением частоты рецидивов и, следовательно, повысить общую и безрецидивную выживаемость. Более того, есть категории пациентов, которым противопоказано оперативное лечение, и для них будет полезнее химиотерапевтический подход. Определенный режим лечения для пациентов пожилого возраста, имеющих отягощенный анамнез, с этим видом рака еще не сформирован, несмотря на то, что средний возраст установления диагноза колоректального рака составляет около 70 лет. Оптимальные рекомендации по лечению этой группы пациентов еще не консолидированы, поэтому этот вопрос остается предметом дискуссий. **Цель исследования.** Мы рассмотрели альтернативные подходы к терапии локализованного рака прямой кишки и ведению особых групп пациентов с этим диагнозом. **Материал и методы.** Проведен поиск публикаций в базах данных Pubmed, eLibrary, а также поиск актуальной информации на базе мировых онкологических ассоциаций. **Выводы.** Сравнивая хирургический подход и химиолучевую терапию у пациентов с локализованным раком прямой кишки, отмечено, что в некоторых случаях неоадъювантная терапия может быть полезной, выступая в качестве идеальной альтернативы. Однако такой подход может подойти только для определенных групп пациентов. Кроме того, наблюдение после лечения также должно включать строгий перечень диагностических процедур.

Ключевые слова: локализованный рак прямой кишки, химиолучевая терапия, консервативный подход, пожилые и соматически осложненные пациенты.

Introduction

Colorectal cancer is among the most lethal and prevalent malignances worldwide [1, 2]. According to Americal Cancer Society, (Colorectal Cancer Facts & Figures 2017–2019), only 39 % of patients are diagnosed with localized rectal cancer [1, 2]. The definition of localized rectal cancer and the management of patients with this cancer differ from one medical community to another. American, European and Asian cancer societies have diverse views of this issue. Therapy for localized rectal cancer raises many controversial issues and is highly debated. Current guidelines do not incorporate optimal treatment recommendations for elderly, fragile patients at high surgical risk [3]. Surgical resection of the rectum, such as TME, is usually associated with significant morbidity and mortality [4]. However, it is unknown how useful these recommendations are. That is why clinical trials are aimed at finding the optimal treatment that combines effectiveness and minimal complications for each patient. This review aims to analyze the publications regarding therapy for local rectal cancer, including controversies in surgical and non-surgical treatments, and to search for information on optimal treatment strategies from national and international clinical guidelines and articles.

According to European guidelines, very early (T1sm1) and early (T1sm2–3) local rectal cancers have not grown beyond the inner lining of the rectum (cT1N0, with low grade) or have grown into deeper layers of the rectal wall but have not spread outside the rectum itself (cT1–cT2; cT3a/ b if middle or high, N0 (or also cN1 if high) without involvement of mesorectal fascia (MRF) and extramural venous invasion (EMVI)) [5–8]. American society includes stage 0 – Tis and stage 1 – T1–2N0 into localized colorectal cancer [2, 7, 9, 10]. Meanwhile, Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) involves Tis and T1 in definition of localized rectal cancer [11]. Currently, most international guidelines emphasize that surgery is the main treatment of localized rectal cancer. Surgical resection is the primary treatment modality of early rectal cancer [1, 11–15].

European Society for medical oncology confirms the following scheme. Very early cT1sm1N0 should be treated using local excisional procedures, as a single modality for early cancers [12, 15]. Guidelines notice that early rectal cancer, like cT1–cT2, cT3a/b if middle or high, N0 (or also cN1 if high), is not suitable for local excision. More advanced tumors up to and including cT2c/T3a/b should be treated by radical TME. The total mesorectal excision aims to achieve meticulously removal, implying that primary tumor and all of the mesorectal fat, including all lymph nodes, should be excised [12, 13, 15–17]. TME is used during low anterior resection, when tumors are located in the middle and lower rectum, where it is necessary to remove the rectum together with the mesorectum to the level of the levators [16]. In this case, TME is indicated as a gold standard for adenocarcinoma of the middle and lower rectum [12, 14, 15, 18, 19].

Regardless of the fact that TME is a surgical standard, the morbidity and different dysfunctions associated with this method force to apply alternative surgical approaches for very early cancer. Local excision is an appropriate alternative to TME [12, 19–21]. Alternative approaches to management of early rectal cancer include local excision (LE) via transanal excision (TAE) or transanal endoscopic microsurgery (TEM) and transanal minimally in-

vasive surgery (TAMIS) [12, 13, 16, 17, 21–23]. A comparative analysis of the guidelines for colorectal cancer in Japan, the USA and Europe indicated that each of the guidelines proposed local treatment for Tis or T1 tumors, such as endoscopic approach or transanal excision for lower rectal cancer [23, 24]. Meanwhile, recommendations have some differences in surgical access and approach: Japan society adheres to endoscopic treatment through endoscopic mucosal resection (EMR) or endoscopic submucosal dissection (ESD), meaning that endoscopic en bloc resection is possible [24]. Moreover, tumors with unfavorable histological features should be additionally resected with lymph node dissection. Guidelines emphasizes that correct treatment of T1 stage requires accurate endoscopic evaluation of the invasion depth based on the morphological findings by magnified endoscopy or Kudo's pit pattern classification [24]. After transanal exsicion that is recommended for T1 stage by NCCN and JSCCR, obligatoriness of complementary resection with lymph node dissection is determined by a histopathological assessment of the surgical specimens (excisional biopsy) [11, 24].

Unfortunately, surgical resection of the rectum, such as TME, may be associated with significant morbidity and mortality [4, 15, 25, 26]. The morbidity reaches 30 to 68 % and mortality approaches 7 % [22]. Hence, radical surgery may not lead to expected, increased overall and disease-free survival in these patients [27]. Moreover, TME, as radical surgery, has a high risk of significant complications, involving anastomotic leakage, sepsis, permanent or temporary stoma, perineal wound complications, and urinary, sexual and bowel dysfunction [22, 25, 28, 29].Thus, radical surgery can impair quality of life, regardless of its practical curability. The low anterior resection syndrome (LARS) is one of the postoperative complications. It is a complex of symptoms, such as fecal incontinence, emptying difficulties, urgencies and fragmented bowel movements, which is a recognized entity and is seen in as much as 90 % of patients who undergo an anterior resection [20].

Local excision, which is considered an alternative to radical surgery, also has a significant rate of post-surgical complications [23, 26]. After transanal excision (TAE), patients experience minimal pain, but fever is not uncommon [17, 26, 30]. Postoperative complications include rectal bleeding, rectal stenosis, urinary retention, fecal incontinence, and rectovaginal fistula [17, 26, 30]. Moreover, a major disadvantage for TAE is the poorer surgical outcomes compared to TME [26, 30].

Transanal endoscopic microsurgery (TEM) has following complications among operated patients: hemorrhage (27 %), urinary tract infection (21 %), and suture line dehiscence (14 %) [23, 31–33]. Bleeding and perforation can influence the quality of life, especially in elderly patients, claiming reoperations and extending recovery period in hospital [17, 32, 33]. Oppositely, the incidence of fecal incontinence is generally temporary and is 1 % [31].

However, at the same time, rectal cancer (T3-T4) treated with chemoradiation therapy recommended by most of the guidelines, demonstrates promising outcomes. It should be noted that the therapeutic strategies for local rectal cancer have been changing, particularly from surgery alone to multimodal approaches [3].

Nowadays more trials aim to explore non-surgical kinds of treatment. Scientists try to find alternative methods for treating localized rectal cancer. In accordance with many studies, multidisciplinary approach, including radiotherapy and chemotherapy, is an alternative to classical surgery. Each of them has controversial outcomes, requiring detailed comparison.

One of the recent clinical trials [34] was aimed at evaluating the effectiveness of external beam radiation therapy in treating early-stage distal rectal cancer and clinical factors that predicted clinical outcome. The study included 231 patients with stage cT1–2N0M0 rectal adenocarcinoma (tumors located <7 cm from the anal verge), who refused or were ineligible for surgery. All patients received radiotherapy, and 120 of them got additional concurrent chemotherapy. Treatment outcomes were as follows: of 231patients, 135 (58.4 %) achieved cCR, 84 achieved partial response (PR) and 12 showed no response. Clinical T stage, concurrent chemotherapy and radiation dose were found to be independent predictors of complete clinical response (cCR). The 3- and 5-year overall survival (OS) rates were 93.90 % and 86.19 %, respectively. Thirty-five patients had tumor progression: local progression occurred in 10 patients, distant failure in 19 patients and both local and distant failure in 6 patients. Thirty-one patients developed distant failure: 12 patients developed only liver metastases and 10 patients had only lung metastases. Three patients developed both liver and lung metastasis. Bone metastases were observed in 4 patients and paraaortic lymph node metastases in 2 patients. When comparing treatment outcomes in patients with T1 and T2 rectal cancers, it was found that in patients with T1N0, the rates of complete response (CR), PR and SD (stable disease) were 76.1 %, 23.9 % and 0 %, respectively. However, in patients with T2N0, only 51.2 % of them achieved CR, with PR in 41.5 % and SD in 7.3 %. The most common acute toxicity types were diarrhea, neutropenia and radiodermatitis. In conclusion, researchers resumed that definitive radiotherapy or chemoradiotherapy is feasible for early-stage distal rectal cancer [34].

Australian investigation included 48 patients with various stages of rectal cancer, who received definitive long course radiotherapy with or without 5-fluorouracil, but did not undergo surgery [35]. Out of these patients, 32 were with T3 disease, 13 had T2 and three had T1. All patients were divided into 2 groups: 24 patients, who were medically inoperable, and another 24 patients, who refused recommended surgery. The majority of patients had several factors that

increased surgical risk. The treatment plan involved long-course radiotherapy (RT) with 5-fluorouracil chemotherapy in 36 patients and long-course RT alone in 12 patients. Twenty-seven patients demonstrated a complete clinical response, whereas 14 patients had a partial response. It should be noted that most of the patients with complete response (16 patients) had T1/2 stages. Moreover, the progression-free survival (PFS) rate was much higher in these patients of the T1/2 group, with a median PFS of 64 months. Patients, who refused surgery, had an increased median overall survival compared with those who underwent surgery (64 months). Thus, the investigation revealed that in spite of uncertainty of initial staging, concurrent chemoradiation or radiotherapy alone is a suitable and safe alternative to operating approaches, being able to show high treatment completion rates. Scientists suggest that in most patients at high risk of operative mortality, local control can be achieved with chemoradiotherapy. After 30 months, 50 % of patients who demonstrated disease progression did not show it during treatment. The study did not show clear plateau to the progression – free survival curves for the patients with a complete response to treatment, with patients continuing to relapse at three years and beyond. It means that other patients have a risk of progression with continued follow-up [35].

Thus, the results obtained in relation to 3- and 5-year survival rates for these patients, treated only by therapy strategies, look encouraging. How do these results compare with those after conventional surgical treatment, recommended by the national guidelines for this group of patients? Recent data reveals that 5-year survival in this group of patients is 90 % [1]. Certainly, those results seem highly hopeful, but there are categories of patients for whom surgical treatment is contraindicated and a chemotherapy approach will be more useful for them.

The average age at the time of diagnosis of colorectal cancer is 70 years [2, 36, 37]. Additionally, half of these patients also suffer from cardiovascular disease [38–42]. Approximately 70 % of cases are diagnosed in patients aged over 65 years and 40 % in patients aged over 75 years [2, 36, 37]. These facts make one think about an appropriate approach in the treatment of elderly and fragile patients that should be treated less aggressively [41, 43]. However, most guidelines have not yet consolidated optimal treatment recommendations for older adults, resulting lack of a specific standard of care for this group of patients [44, 45]. Increasing age, comorbidity and reduced functional reserves are associated with negative consequences, such as higher early postoperative mortality, which is so common in older patients [5, 36, 38, 40]. The predictive factors associated with mortality include: age 80+ years, chronic obstructive pulmonary disease and palliative surgery. Such patients would have a 23.5 % risk of death within 30 days of the intervention [46]. Thus, formal geriatric assessment or at least screening tools for frailty are so considerable before any treating strategy, especially for patients over 70 years [5, 40, 41, 46].

However, when assessing the patient's condition, treatment approaches may still differ [40, 41, 46, 47]. European Society for Medical Oncology (ESMO) supports that the local excision can be a variant in patients with cT1 tumor or in elderly or fragile patients. They conclude that TEM is the procedure of choice [5, 44].

The study by H.H. Peng et al. observed 231 patients, who had refused surgery or were medically inoperable due to various reasons [34]. In another study, 50 % of patients were medically inoperable, and 50 % had refused recommended surgery [35]. The most frequent medical reasons that increased surgical risk were advanced patient age and diverse somatic comorbidity, such as cardiovascular, respiratory, coagulopathies, neurologic or cognitive impairment. Every patient has one or a complex of these factors [35, 47]. So, individual reasons in patients who refused surgery were the following: the desire to avoid a permanent stoma or the fear of operative morbidity or mortality [35]. Notably, most of them were elderly patients. Another study highlighted the most common diseases in fragile patients: diabetes (16.3 %) and chronic obstructive pulmonary disease (12.5 %), accounting for 16.3 % and 12.5 %, respectively [37]. Researches also noted a lower proportion of the elderly population with diabetes mellitus treated surgically in 2005–2007 than in 2011–2012 (6.0 % versus 15.9 %) [37]. I. Montroni et al. reported that elderly patients were less likely to undergo surgery due to a high rate of comorbidity [39]. Moreover, the authors indicated that frailty played a more significant role than age. Thus, if the patient is elderly, but has no comorbidity, surgery may be considered [39]. F.M. Smith et al. discussed about the most common criteria to identify patients eligible and ineligible for surgical treatment. The study compared three patient groups: 60-year-old men with mild comorbidities, 80-year-old men with mild comorbidities, and 80-year-old men with significant comorbidities. This comparison assigned watch-and-wait approach versus surgery after neoadjuvant treatment. Results obtained found that the 1-year survival rate in 80-year-old patients was significantly higher in the watch-and-wait group than in surgery group [48]. Estimation of the effectiveness of CRT by positron emission tomography (PET) with computed tomography (CT) imaging may provide complementary information about tumor response, metabolic activity in the tumors and choose patients, who can avoid radical resection [49, 50].

Conclusion

Comparing surgical approach and chemoradiotherapy for patients with localized rectal cancer, it was decided that neoadjuvant therapy could be useful and successful in some cases, acting as an alternative.

However, this approach may be suitable for certain patients who should have necessary conditions:

1) Rectal cancer should be located in the distal rectum (<7 cm from the anal verge) [34]. According to another similar study, tumor location also should be in the lower rectum (<8 cm from anal verge) and the mid rectum (8–12 cm from anal verge) [35]. Sigmoidoscopy or colonoscopy measures this distance from the tumor to the anal verge [8, 34, 51]. Tumor should have a clinical stage of cT1–2N0M0 [35]. Endorectal ultrasound can accurately determine the T stage [34].

2) Patients should undergo definitive radiotherapy or chemoradiotherapy [34, 35].

3) Patients must not have distant metastases during the treatment, as assessed by chest radiography, abdominal ultrasound and CT. In addition, patients should also be referred for pelvic CT or magnetic resonance imaging (MRI) to detect possible lymph node metastasis in the pelvis [34, 35]. The use of PET/CT is an additional tool for identifying patients, who can avoid radical surgery [50, 51].

4) No concurrent malignancy or prior history of radiotherapy to the pelvis [34, 35].

5) Refusal of surgery or medically unfit for surgery [34, 35]

Clinical observations after treatment should include:

1) The first evaluation 3 months after the completion of radiotherapy. The observation should be carried out every 2 months (digital rectal and endoscopic exams) for the first 2 years and every 6 months (cross-sectional imaging) thereafter. Evaluations includes complete blood count, biochemical routine, carcinoembryonic antigen (CEA) and physical examination (digital rectal and endoscopic exams) during each visit. Chest radiography, CT or MRI scanning of the abdomen and pelvis and colonoscopy should be conducted every 6 months. The short-term response evaluates at 3 months after the completion of definitive radiotherapy. cCR should define as no gross tumor on digital rectal examination, endoscopy or pelvic MRI [27, 34, 51, 52].

2) Most of studies note that a biopsy is not routinely performed after radiotherapy [35, 51]. Predictive factors have influence on tumor response and following quality of patient's life. According to H.H. Peng et. al. radiation dose, CEA and concurrent chemotherapy significantly impact on recurrence-free survival (RFS) [34].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *American Cancer Society* [Internet]. Cancer Facts & Figures. URL: https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2019/cancer-facts-and-figures-2019.pdf. [cited 2020 Aug 10].

2. *American Cancer Society* [Internet]. Colorectal Cancer Facts & Figures 2020–2022. URL:https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/colorectal-cancer-facts-and-figures/colorectal-cancer-facts-and-figures-2020-2022.pdf. [cited 2020 Sep 20].

3. *Kogler P., DeVries A.F., Eisterer W., Thaler J., Sölkner L., Öfner D.; TAKO 05/ABCSG R-02 Trial Investigators.* Intensified preoperative chemoradiation by adding oxaliplatin in locally advanced, primary operable (cT3NxM0) rectal cancer : Impact on long-term outcome. Results of the phase II TAKO 05/ABCSG R-02 trial. Strahlenther Onkol. 2018; 194(1): 41–9. doi: 10.1007/s00066-017-1219-5.

4. *Luna-Pérez P., Rodríguez-Ramírez S., Vega J., Sandoval E., Labastida S.* Morbidity and mortality following abdominoperineal resection for low rectal adenocarcinoma. Rev Invest Clin. 2001; 53(5): 388–95.

5. *Glynne-Jones R., Wyrwicz L., Tiret E., Brown G., Rödel C., Cervantes A., Arnold D.; ESMO Guidelines Committee.* Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2017; 28(4): 22–40. doi: 10.1093/annonc/mdx224. Erratum in: Ann Oncol. 2018; 29(4): 263.

6. *Lopes G., Stern M.C., Temin S., Sharara A.I., Cervantes A., Costas-Chavarri A., Engineer R., Hamashima C., Ho G.F., Huitzil F.D., Moghani M.M., Nandakumar G., Shah M.A., Teh C., Manjarrez S.E.V., Verjee A., Yantiss R., Correa M.C.* Early detection for colorectal cancer: ASCO resource-stratified guideline. J Glob Oncol. 2019; 5: 1–22. doi:10.1200/JGO.18.00213.

7. *Li J., Yi C.H., Hu Y.T., Li J.S., Yuan Y., Zhang S.Z., Zheng S., Ding K.F.* TNM Staging of Colorectal Cancer Should be Reconsidered According to Weighting of the T Stage: Verification Based on a 25-Year Follow-Up. Medicine (Baltimore). 2016; 95(6): 2711. doi: 10.1097/MD.0000000000002711.

8. *Piscatelli N., Hyman N., Osler T.* Localizing colorectal cancer by colonoscopy. Arch Surg. 2005; 140(10): 932–5. doi:10.1001/archsurg.140.10.932.

9. *AJCC Cancer Staging Manual.* [Internet]. Eighth edition. 2018. URL: https://cancerstaging.org/references-tools/deskreferences/Documents/AJCC%20Cancer%20Staging%20Form%20Supplement.pdf. [cited 2020 Sep 5].

10. *SEER Program Coding and Staging Manual.* [Internet]. 2018. National Cancer Institute, Bethesda. U.S. Department of Health and Human Services National Institutes of Health National Cancer Institute. 2018. URL: https://seer.cancer.gov/archive/manuals/2018/SPCSM_2018_maindoc_draft.pdf. [cited 2020 Sep 5].

11. *Hashiguchi Y., Muro K., Saito Y., Ito Y., Ajioka Y., Hamaguchi T., Hasegawa K., Hotta K., Ishida H., Ishiguro M., Ishihara S., Kanemitsu Y., Kinugasa Y., Murofushi K., Nakajima T.E., Oka S., Tanaka T., Taniguchi H., Tsuji A., Uehara K., Ueno H., Yamanaka T., Yamazaki K., Yoshida M., Yoshino T., Itabashi M., Sakamaki K., Sano K., Shimada Y., Tanaka S., Uetake H., Yamaguchi S., Yamaguchi N., Kobayashi H., Matsuda K., Kotake K., Sugihara K.; Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum.* Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer. Int J Clin Oncol. 2020; 25(1): 1–42. doi: 10.1007/s10147-019-01485-z.

12. *Costas-Chavarri A., Nandakumar G., Temin S., Lopes G., Cervantes A., Cruz Correa M., Engineer R., Hamashima C., Ho G.F., Huitzil F.D., Malekzadeh Moghani M., Sharara A.I., Stern M.C., Teh C., Vázquez Manjarrez S.E., Verjee A., Yantiss R., Shah M.A.* Treatment of patients with early-stage colorectal cancer: ASCO resource-stratified guideline. J Glob Oncol. 2019; 5: 1–19. doi: 10.1200/JGO.18.00214.

13. *Diagnosis And Treatment Guidelines For Colorectal Cancer Working Group CSOCOC.* Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO) diagnosis and treatment guidelines for colorectal cancer 2018 (English version). Chin J Cancer Res. 2019; 31(1): 117–34. doi: 10.21147/j.issn.1000-9604.2019.01.07.

14. *Stornes T., Wibe A, Nesbakken A., Myklebust T.Å., Endreseth B.H.* National early rectal cancer treatment revisited. Dis Colon Rectum. 2016; 59(7): 623–9. doi: 10.1097/DCR.0000000000000591.

15. *Morino M., Risio M., Bach S., Beets-Tan R., Bujko K., Panis Y., Quirke P., Rembacken B., Rullier E., Saito Y., Young-Fadok T., Allaix M.E.; European Association for Endoscopic Surgery; European Society of Coloproctology.* Early rectal cancer: the European Association for Endoscopic Surgery (EAES) clinical consensus conference. Surg Endosc. 2015; 29(4): 755–73. doi: 10.1007/s00464-015-4067-3.

16. *Liebig-Hörl G., Puchner C., Gerken M., Klinkhammer-Schalke M., Fürst A.* Therapeutische Strategie bei Frühkarzinomen im Rektum (T1-Karzinom) [Treatment strategy for early stage rectal cancer (T1 carcinoma)]. Chirurg. 2018; 89(5): 358–64. German. doi: 10.1007/s00104-018-0603-8.

17. *Althumairi A.A., Gearhart S.L.* Local excision for early rectal cancer: transanal endoscopic microsurgery and beyond. J Gastrointest Oncol. 2015; 6(3):296–306. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2015.022.

18. *Ridgway P.F., Darzi A.W.* The role of total mesorectal excision in the management of rectal cancer. Cancer Control. 2003;10(3): 205–11. doi: 10.1177/107327480301000303.

19. *Peev M.P., Fitzgerald E., Wasif S.M., Huber K.E., Wainberg Z.A., Chen L., Yoo J.* Current trends in the treatment of rectal cancer. Am J Digest Dis. 2015; 2(1): 46–59.

20. *Bernier L., Balyasnikova S., Tait D., Brown G.* Watch-and-wait as a therapeutic strategy in rectal cancer. Curr Colorectal Cancer Rep. 2018; 14(2): 37–55. doi:10.1007/s11888-018-0398-5.

21. *Allaix M.E., Arezzo A., Morino M.* Transanal endoscopic microsurgery for rectal cancer: T1 and beyond? An evidence-based review. Surg Endosc. 2016; 30(11): 4841–52. doi: 10.1007/s00464-016-4818-9.

22. *Elmessiry M.M., Van Koughnett J.A., Maya A., DaSilva G., Wexner S.D, Bejarano P., Berho M.* Local excision of T1 and T2 rectal cancer: proceed with caution. Colorectal Dis. 2014; 16(9): 703–9. doi: 10.1111/codi.12657.

23. *Hompes R., McDonald R., Buskens C., Lindsey I., Armitage N., Hill J., Scott A., Mortensen N.J., Cunningham C.* Completion surgery following transanal endoscopic microsurgery: assessment of quality and short- and long-term outcome. Colorectal Dis. 2013; 15(10): 576–81. doi: 10.1111/codi.12381.

24. *Shinagawa T., Tanaka T., Nozawa H., Emoto S., Murono K., Kaneko M., Sasaki K., Otani K., Nishikawa T., Hata K., Kawai K., Watanabe T.* Comparison of the guidelines for colorectal cancer in Japan, the USA and Europe. Ann Gastroenterol Surg. 2017; 2(1): 6–12. doi:10.1002/ags3.12047.

25. *Penna M., Hompes R., Arnold S., Wynn G., Austin R., Warusavitarne J., Moran B., Hanna G.B., Mortensen N.J., Tekkis P.P.; TaTME Registry Collaborative.* Transanal Total Mesorectal Excision: International Registry Results of the First 720 Cases. Ann Surg. 2017; 266(1): 111–7. doi: 10.1097/SLA.0000000000001948.

26. *Peng J., Chen W., Sheng W., Xu Y., Cai G., Huang D., Cai S.* Oncological outcome of T1 rectal cancer undergoing standard resection and local excision. Colorectal Dis. 2011; 13(2): 14–9. doi: 10.1111/j.1463-1318.2010.02424.x.

27. *Habr-Gama A., Perez R.O., Nadalin W., Sabbaga J., Ribeiro U. Jr., Silva e Sousa A.H. Jr., Campos F.G., Kiss D.R., Gama-Rodrigues J.* Operative versus nonoperative treatment for stage 0 distal rectal cancer following chemoradiation therapy: long-term results. Ann Surg. 2004; 240(4): 711–7; discussion 717-8. doi: 10.1097/01.sla.0000141194.27992.32.

28. *Sprenger T., Rothe H., Beissbarth T., Conradi L.C., Kauffels A., Homayounfar K., Behnes C.L., Rödel C., Liersch T., Ghadimi M.* [Lymph node metastases in ypT1/2 rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy: The Achilles heel of organ-preserving operative procedures?]. Chirurg. 2016; 87(7): 593–601. German. doi: 10.1007/s00104-016-0170-9.

29. *Ung L., Chua T.C., Engel A.F. A* systematic review of local excision combined with chemoradiotherapy for early rectal cancer. Colorectal Dis. 2014; 16(7): 502–15. doi: 10.1111/codi.12611.

30. *Heafner T.A., Glasgow S.C.* A critical review of the role of local excision in the treatment of early (T1 and T2) rectal tumors. J Gastrointest Oncol. 2014; 5(5): 345–52. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2014.066.

31. *Barendse R.M., Dijkgraaf M.G., Rolf U.R., Bijnen A.B., Consten E.C., Hoff C., Dekker E., Fockens P., Bemelman W.A., de Graaf E.J.* Colorectal surgeons' learning curve of transanal endoscopic microsurgery. Surg Endosc. 2013; 27(10): 3591–602. doi: 10.1007/s00464-013-2931-6.

32. *Junginger T., Goenner U., Hitzler M., Trinh T.T., Heintz A., Wollschlaeger D., Blettner M.* Long-term Oncologic Outcome After Transanal Endoscopic Microsurgery for Rectal Carcinoma. Dis Colon Rectum. 2016; 59(1): 8–15. doi: 10.1097/DCR.0000000000000509.

33. *O'Neill C.H., Platz J., Moore J.S., Callas P.W., Cataldo P.A.* Transanal endoscopic microsurgery for early rectal cancer: a single-center experience. Dis Colon Rectum. 2017; 60(2): 152–60. doi: 10.1097/DCR.0000000000000764.

34. *Peng H.H., Liao Z.W., Lin X.D., Qiu X.S., You K.Y.* Definitive radiotherapy or chemoradiotherapy for distal rectal cancer with early stage of cT1-2N0. Cancer Manag Res. 2019; 11: 5221–9.doi:10.2147/CMAR.S198113.

35. *Lim L., Chao M., Shapiro J., Millar J.L., Kipp D., Rezo A., Fong A., Jones I.T., McLaughlin S., Gibbs P.* Long-term outcomes of patients with localized rectal cancer treated with chemoradiation or radiotherapy alone because of medical inoperability or patient refusal. Dis Colon Rectum. 2007; 50(12): 2032–9. doi: 10.1007/s10350-007-9062-x.

36. *Claassen Y.H.M., Vermeer N.C.A., Iversen L.H., van Eycken E., Guren M.G., Mroczkowski P., Martling A., Codina Cazador A., Johansson R., Vandendael T., Wibe A., Moller B., Lippert H., Rutten H.J.T., Portielje J.E.A., Liefers G.J., Holman F.A., van de Velde C.J.H., Bastiaannet E.* Treatment and survival of rectal cancer patients over the age of 80 years: a EURECCA international comparison. Br J Cancer. 2018; 119(4): 517–22. doi: 10.1038/s41416-018-0215-6.

37. *Vernet R., Borras J.M., Aliste L., Antonio M., Guarga A., Manchon-Walsh P.* Influence of age on variation in patterns of care in patients with rectal cancer in Catalonia (Spain). Clin Transl Oncol. 2018; 20(12): 1538–47. doi: 10.1007/s12094-018-1882-8.

38. *Suhool A., Moszkowicz D., Cudennec T., Vychnevskaia K., Malafosse R., Beauchet A., Julié C., Peschaud F.* Optimal oncologic treatment of rectal cancer in patients over 75 years old: Results of a strategy based on oncogeriatric evaluation. J Visc Surg. 2018; 155(1): 17–25. doi: 10.1016/j.jviscsurg.2017.06.005.

39. *Montroni I., Ugolini G., Saur N.M., Spinelli A., Rostoft S., Millan M., Wolthuis A., Daniels I.R., Hompes R., Penna M., Fürst A., Papamichael D., Desai A.M., Cascinu S., Gèrard J.P., Myint A.S., Lemmens V.E.P.P., Berho M., Lawler M., De Liguori Carino N., Potenti F., Nanni O., Altini M., Beets G., Rutten H., Winchester D., Wexner S.D., Audisio R.A.* Personalized management of elderly patients with rectal cancer: Expert recommendations of the European Society of Surgical Oncology, European Society of Coloproctology, International Society of Geriatric Oncology, and American College of Surgeons Commission on Cancer. Eur J Surg Oncol. 2018; 44(11): 1685–702. doi: 10.1016/j.ejso.2018.08.003.

40. *Kalsi T., Babic-Illman G., Ross P.J., Maisey N.R., Hughes S., Fields P., Martin F.C., Wang Y., Harari D.* The impact of comprehensive geriatric assessment interventions on tolerance to chemotherapy in older people. Br J Cancer, 2015; 112(1435–44). doi: 10.1038/bjc.2015.120.

41. *Mohile S.G., Dale W., Somerfield M.R., Schonberg M.A., Boyd C.M., Burhenn P.S., Canin B., Cohen H.J., Holmes H.M., Hopkins J.O., Janelsins M.C., Khorana A.A., Klepin H.D., Lichtman S.M., Mustian K.M., Tew W.P., Hurria A.* Practical Assessment and Management of Vulnerabilities in Older Patients Receiving Chemotherapy: ASCO guideline for geriatric oncology. J Clin Oncol. 2018 1; 36(22): 2326–47. doi: 10.1200/JCO.2018.78.8687.

42. *Kenzik K.M., Balentine C., Richman J., Kilgore M., Bhatia S., Williams G.R.* New-onset cardiovascular morbidity in older adults with stage I to III colorectal cancer. J Clin Oncol. 2018; 20; 36(6): 609–16. doi: 10.1200/JCO.2017.74.9739.

43. *Habr-Gama A., São Julião G.P., Vailati B.B., Sabbaga J., Aguilar P.B., Fernandez L.M., Araújo S.E.A., Perez R.O.* Organ preservation in cT2N0 rectal cancer after neoadjuvant chemoradiation therapy: the impact of radiation therapy dose-escalation and consolidation chemotherapy. Ann Surg. 2019; 269(1): 102–7. doi: 10.1097/SLA.0000000000002447.

44. *Kim S., Lee S.C., Skinner C.S., Brown C.J., Balentine C.J.* A surgeon's guide to treating older patients with colorectal cancer. Curr Colorectal Cancer Rep. 2019; 15(1): 1–7. doi:10.1007/s11888-019-00424-4.

45. *Sheikh A.R., Yameen H., Hartshorn K.* Treatment of rectal cancer in older adults. Curr Oncol Rep. 2018; 20; 20(12): 102. doi: 10.1007/s11912-018-0746-2.

46. *Baré M., Mora L., Torà N., Gil M.J., Barrio I., Collera P., Suárez D., Redondo M., Escobar A., Fernández de Larrea N., Quintana J.M.; CCR-CARESS Study Group.* CCR-CARESS score for predicting operative mortality in patients with colorectal cancer. Br J Surg. 2018; 105(13): 1853–61. doi: 10.1002/bjs.10956.

47. *Higgins K.A., Willett C.G., Czito B.G.* Nonoperative management of rectal cancer: current perspectives. Clin Colorectal Cancer. 2010; 9(2): 83–8. doi: 10.3816/CCC.2010.n.011.

48. *Smith F.M., Rao C., Oliva Perez R., Bujko K., Athanasiou T., Habr-Gama A., Faiz O.* Avoiding radical surgery improves early survival in elderly patients with rectal cancer, demonstrating complete clinical response after neoadjuvant therapy: results of a decision-analytic model. Dis Colon Rectum. 2015; 58(2): 159–71.doi: 10.1097/DCR.0000000000000281.

49. *Perez R.O., Habr-Gama A., Gama-Rodrigues J., Proscurshim I., Julião G.P., Lynn P., Ono C.R., Campos F.G., Silva e Sousa A.H. Jr., Imperiale A.R., Nahas S.C., Buchpiguel C.A.* Accuracy of positron emission tomography/computed tomography and clinical assessment in the detection of complete rectal tumor regression after neoadjuvant chemoradiation: long-term results of a prospective trial (National Clinical Trial 00254683). Cancer. 2012; 118(14): 3501–11. doi: 10.1002/cncr.26644.

50. *Gani C., Kirschniak A., Zips D.* Watchful Waiting after Radiochemotherapy in Rectal Cancer: When Is It Feasible? Visc Med. 2019; 35(2): 119–23. doi: 10.1159/000499167.

51. *Tytherleigh M.G., Warren B.F., Mortensen N.J.* Management of early rectal cancer. Br J Surg. 2008; 95(4): 409–23. doi: 10.1002/bjs.6127.

52. *Smith J.J., Chow O.S., Gollub M.J., Nash G.M., Temple L.K., Weiser M.R., Guillem J.G., Paty P.B., Avila K., Garcia-Aguilar J.; Rectal Cancer Consortium.* Organ preservation in rectal adenocarcinoma: a phase ii randomized controlled trial evaluating 3-year disease-free survival in patients with locally advanced rectal cancer treated with chemoradiation plus induction or consolidation chemotherapy, and total mesorectal excision or nonoperative management. BMC Cancer. 2015; 15: 767. doi: 10.1186/s12885-015-1632-z.

Поступила/Received 08.12.2021
Одобрена после рецензирования/Revised 28.02.2022
Принята к публикации/Accepted 14.03.2022

ABOUT THE AUTHORS

Foat Sh. Akhmetzyanov, MD, Professor, Head of the Department of Oncology, Radiation Diagnostics and Radiation Therapy, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia; Head of Treatment and Diagnostic Building No. 2 of the Republican Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan (Kazan, Russia).
Vasily I. Egorov, MD, PhD, teaching assistant of the Department of Oncology, Radiation Diagnostics and Radiation Therapy, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia; oncologist of the Republican Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan (Kazan, Russia).
Guzel R. Abdulganieva, resident physician of the Department of Psychiatry and Forensic Psychiatric Expertise of the Kazan State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia; V.M. Bekhterev Republican Clinical Psychiatric Hospital of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Foat Sh. Akhmetzyanov: conceived the idea.
Vasily I. Egorov: helped to draft the article.
Guzel R. Abdulganieva: collected and analyzed the information on the topic.

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

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ахметзянов Фоат Шайхутдинович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России; руководитель лечебно-диагностического корпуса № 2, ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 8908-4761.
Егоров Василий Иванович, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-онколог, ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (г. Казань, Россия). SPIN-код: 7794-4210.
Абдулганиева Гузель Радиковна, врач-ординатор кафедры психиатрии и судебно-психиатрической экспертизы, ФГБОУ ВО «Казанская государственная медицинская академия» Минздрава России; ГАУЗ «Республиканская клиническая психиатрическая больница им. Акад. В.М. Бехтерева Минздрава России» (г. Казань, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Ахметзянов Фоат Шайхутдинович: разработка концепции и идеи.
Егоров Василий Иванович: анализ научной работы и редактирование содержания.
Абдулганиева Гузель Радиковна: сбор, анализ информации по теме и написание статьи.

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

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-131-144
УДК: 616-006.6:616.34-008.87:576.8

Для цитирования: *Белявская В.А., Чердынцева Н.В., Кжышковска Ю.Г., Литвяков Н.В.* Микробиом, имунная система и рак: три стороны одной медали. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 131–144. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-131-144
For citation: *Belyavskaya V.A., Cherdyntseva N.V., Kzhyshkovska J.G., Litvyakov N.V.* Microbiome, immune system and cancer: three sides of the one medal. Siberian journal of oncology. 2022; 21(6): 131–144. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-131-144

МИКРОБИОМ, ИММУННАЯ СИСТЕМА И РАК: ТРИ СТОРОНЫ ОДНОЙ МЕДАЛИ

В.А. Белявская[1], Н.В. Чердынцева[2,3,4], Ю.Г. Кжышковска[3,4,5], Н.В. Литвяков[2,4]

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
г. Новосибирск, пос. Кольцово, Россия[1]
Россия, 630559, пос. Кольцово[1]
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия. E-mail: nvch@tnimc.ru[2]
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5[2]
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
г. Томск, Россия[3]
Россия, 634050, г. Томск, ул. Ленина, 36[3]
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия[4]
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2[4]
Университет Гейдельберга, г. Маннгейм, Германия[5]
Германия, 68167, г. Маннгейм[5]

Аннотация

Цель исследования – анализ современных представлений о взаимоотношениях микробиоты (микробиома) и организма человека в аспекте изучения патогенеза злокачественных новообразований, амбивалентного характера этих взаимодействий, роли иммунной системы и иммуновоспалительного статуса, способствующего канцерогенезу или препятствующего неопластическим процессам. **Материал и методы.** Поиск литературы производился в системах Medline, Cochrane Library, Elibrary и Pubmed, включались публикации, характеризующие современные результаты (глубиной около 7 лет). **Результаты.** Микробиота содержит в себе все сообщества комменсальных, симбиотических и патогенных микроорганизмов: бактерии, грибки, археи и вирусы, которые колонизируют желудочно-кишечный тракт и другие органы и ткани. Микробиом является важным фактором в патогенезе злокачественных новообразований в связи с участием в таких базовых физиологических процессах хозяина, как пищеварение, развитие и поддержание динамического баланса иммунной системы и модуляция эндокринных функций. Обсуждается влияние микробиоты разной локализации (желудочно-кишечного тракта, молочной железы, интравагинального тракта) на развитие и прогрессирование злокачественных опухолей молочной железы, колоректального рака (КРР) и рака шейки матки (РШМ). Роль микробиома в патогенезе злокачественных новообразований реализуется в: участии в неопластической трансформации эпителия; регуляции опухолевой прогрессии в условиях манифестированного злокачественного процесса; модификации терапевтического эффекта стандартных лекарственных препаратов, а также разработке оригинальных противоопухолевых агентов на основе пробиотиков. Изучение механизмов действия микробиома в организме хозяина открывает перспективы разработки новых подходов терапии рака. Особое внимание уделено механизмам иммуномодулирующего эффекта микробиоты в снижении риска малигнизации, регуляции опухолевой прогрессии, участии в противоопухолевой терапии. Обоснована клиническая целесообразность определения патогенетически значимых микробных маркеров, связанных с агрессивностью злокачественного процесса, ответом на лечение и токсичностью терапии. Особо следует обратить внимание на потенциальные механизмы взаимодействия оси рак – микробиом – пробиотики, поскольку последние могут обеспечивать модификацию процессов малигнизации, оказывать противоопухолевое действие и модулировать эффективность лекарственной терапии. Рассматриваются возможности редактирования микробиоты пробиотиками, противоопухолевые свойства (эффекты) бактерий и стратегии модификации микробиома для профилактики и лечения онкозаболеваний.

Ключевые слова: микробиота, рак молочной железы, рак шейки матки, колоректальный рак, пробиотики, иммунная система.

Чердынцева Надежда Викторовна, nvch@tnimc.ru

MICROBIOME, IMMUNE SYSTEM AND CANCER: THREE SIDES OF THE ONE MEDAL

V.A. Belyavskaya[1], N.V. Cherdyntseva[2,3,4], Kzhyshkovska J.G.[3,4,5], N.V. Litvyakov[2,4]

Research center of Virology and Biotechnology, Vector, Koltsovo, Novosibirsk, Russia[1]
630559, Koltsovo, Novosibirsk, Russia[1]
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. E-mail: nvch@tnimc.ru[2]
5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia[2]
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia[3]
36, Lenina St., 634050, Tomsk, Russia[3]
Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia[4]
2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia[4]
University of Heidelberg, Mannheim[5]
Mannheim 68167, Germany[5]

Abstract

Purpose of the study to analyze current ideas about the relationship between the microbiota (microbiome) and the human body in the aspect of cancer pathogenesis, ambivalent character of these interactions, and the role of the immune system and immunoinflammatory status that promotes carcinogenesis or prevents neoplastic processes. **Material and Methods.** Literature search was carried out using Medline, Cochrane Library, Elibrary and PubMed systems, including publications over the last 7 years. **Results.** The microbiota includes all communities of commensal, symbiotic, and pathogenic microorganisms: bacteria, fungi, archaea, and viruses that colonize the gastrointestinal tract and other organs and tissues. The microbiome is an important factor in cancer pathogenesis due to its involvement in the basic physiological functions of the host, such as digestion, development of the immune system, and modulation of endocrine functions. In the review, the influence of microbiota of different locations (gastrointestinal tract, breast, intravaginal tract) on the development and progression of breast, colorectal and cervical cancers was discussed. The role of the microbiome in cancer pathogenesis is realized by the participation in neoplastic transformation of the epithelium, regulation of tumor progression under conditions of manifested malignant process, and modification of the therapeutic effect of standard drugs, including the development of original probiotic-based anticancer agents. The study of the mechanisms of action of the microbiome in the host organism opens up prospects for the development of new approaches to cancer therapy. Particular attention was paid to the mechanisms of the immunomodulatory effect of the microbiota in terms of reducing the risk of malignancy, regulating tumor progression and participating in antitumor therapy. The clinical significance of determining pathogenetically significant microbial markers associated with the aggressive form of cancer, response to treatment and toxicity of therapy was discussed. Particular attention should be paid to the potential mechanisms of interaction between cancer – microbiome – probiotics, since the latter can provide modification of malignancy processes, exert an antitumor effect, and modulate the effectiveness of drug therapy. The feasibility of editing the microbiota by probiotics was considered, and antitumor properties (effects) of bacteria and strategies for modifying the microbiome for the prevention and treatment of cancer were discussed.

Key words: microbiota, breast cancer, cervical cancer, colorectal cancer, probiotics, immune system.

Введение

Изучение микробиоты человека становится заметной областью исследований злокачественных новообразований (ЗНО), поскольку она участвует во многих аспектах биологии опухоли, таких как регуляция иммунной системы, онкогенная сигнализация, доступность гормонов и метаболизм лекарств и др., способствующих развитию опухоли, прогрессированию и ответу на лечение. Многочисленные исследования, подтверждающие ключевую роль микробиоты в развитии и прогрессировании опухолей, привели в 2022 г. к включению микробиоты в качестве отличительного признака рака [1].

Микробиота содержит в себя все сообщества комменсальных, симбиотических и патогенных микроорганизмов, в том числе бактерии, грибки, археи и вирусы, которые колонизируют желудочно-кишечный тракт и другие органы и ткани. В настоящем обзоре мы акцентируем внимание на бактериальной компоненте микробиома как наиболее чувствительной к воздействию пробиотиками. Можно полагать, что после выяснения механизмов взаимодействия по оси опухоль – иммунитет – микробиом – пробиотики управление микробиомом станет возможным, по крайней мере, по двум направлениям – как усилением противоопухолевых свойств компонентов микробиоты, так

и воздействием пробиотиками. Мишенями для пробиотиков становятся компоненты микробиоты для редактирования ее состава в сторону усиления противоопухолевых свойств составляющих ее бактерий и микроокружение опухоли независимо от локализации. Для усиления противоопухолевых свойств микробиоты и пробиотиков применяются различные стратегии, в том числе инженерные, включая генную инженерию

Рак молочной железы и микробиота

Рак молочной железы (РМЖ) занимает по заболеваемости первое место у женщин и среди них является второй причиной смерти. Помимо старения и генетики, развитию заболевания могут способствовать факторы окружающей среды (диета, потребление этанола, эндокринные нарушения, малоподвижный образ жизни) [2].

Количество исследований, посвященных различиям между микробиотой кишечника больных РМЖ и здоровых женщин, значительно увеличивается [3–6]. Среди симбиотических микробных популяций человека наиболее тщательно изучены и охарактеризованы бактерии, обитающие в кишечнике. *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* являются доминирующими типами, населяющими кишечник, причем их специфическое распределение по желудочно-кишечному тракту варьирует в зависимости от конкуренции за сходные условия окружающей среды и питательные вещества [7].

Кишечная микробиота играет важную роль в таких физиологических процессах, как пищеварение, тренировка иммунитета хозяина, регуляция эндокринной функции кишечника, модуляция неврологической сигнализации, метаболизм ксенобиотиков и др. [8]. Накапливающиеся данные указывают на способность кишечной экосистемы и, более конкретно, специфических бактерий – комменсалов бактерий, – связанных со здоровьем, ослаблять системное воспаление [9], формировать уровень врожденного и адаптивного иммунитета [10].

Связь с клинико-морфологическими параметрами, лечением и исходом при РМЖ

Учитывая сложные взаимоотношения между кишечными микробами и их хозяевами, исследователи также изучают участие микробиоты кишечника в малигнизации и опухолевой прогрессии. Показано, что бактерии-комменсалы способны перепрограммировать микроокружение опухоли у мышей [11] и пациентов, получавших иммунотерапию [12, 13]. Несмотря на различия между идентифицированными микробными таксонами, большинство исследований показывают снижение α-разнообразия в кишечной микробиоте женщин с РМЖ и отличия состава микробиоты у женщин с доброкачественными и злокачественными опухолями [4, 14]. Показано, что по составу фекальной микробиоты можно дискриминировать группы пациентов по размеру опухоли (< *vs* >pT1), степени злокачественности (G1 и 2 *vs* G3), лимфогенному метастазированию (N- *vs* N+) и стадии TNM (стадия I *vs* стадии II/III) [15]. Более высокое содержание бактерий, характерное для родов *Eubacterium* (*E. rectale, E. eligens*), *Akkermansia muciniphila*, классы актинобактерий (*Bifidobacterium longum*, *Collinsella aerofaciens*) и *Alistipes shahii*, были связаны со стадией I или N-, т.е. с группой больных РМЖ с более благоприятным прогнозом. В то же время для группы неблагоприятного прогноза характерна чрезмерная представленность таких видов бактерий, как *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides xylanivolvens* и *Bacteroides intestinalis*. Авторы подчеркнули актуальность дополнительного учета уровня и состава бактериальных штаммов микробиоты и их функций, определяемых метаболомным анализом, для определения прогноза течения заболевания. Когорта пациенток с экспрессией специфических функциональных путей, таких как L-аргинин и аденозин рибонуклеотиды, и доминированием таких путей, как 2-оксоглутарат: ферредоксин оксидоредукция и аденин-аденозиновое восстановление, были связаны с благоприятным прогнозом РМЖ, тогда как биосинтез липидов, тиаминдифосфата, пиридоксаль-5 фосфата, L-треонин и деградация L-гистидина коррелировали с плохим исходом при лечении РМЖ на ранних стадиях [15].

Аналогичным образом различия в метаболических путях микробиома кишечника у больных РМЖ и пациенток с фиброаденомами молочной железы обнаружены P. Yang et al. (2021), что, по их мнению, усиливает значимость бактериальных функций в обеспечении взаимодействия между микробной экосистемой и опухолью молочной железы уже на самых ранних стадиях заболевания [14].

Прогноз раннего РМЖ зависит от параметров клеточной автономии и иммунитета. Влияние кишечного микробиома на клинический исход раннего РМЖ был впервые оценен S. Terrisse et al. [15]. Авторы методом метагеномного секвенирования 16S рРНК(shot gun MG) определили состав фекальной микробиоты в 121 образце от 76 пациенток с ранним РМЖ, включающих две группы (ER+ *vs* ER-(TNBC)), 45 из которых были обследованы до и после химиотерапии. Эти пациентки были включены в проспективное исследование для регистрации побочных эффектов, связанных с лечением РМЖ. Проанализированы связи исходной или постхимиотерапевтической микробиоты кала и метаболом плазмы пациенток с прогнозом РМЖ, а также с побочными эффектами, вызванными терапией. Изучена клиническая значимость этих результатов у иммунокомпетентных мышей с гуманизированным кишечником, колонизированным микробиотой пациенток с РМЖ, которым впоследствии была проведена гистосовместимая

с РМЖ мыши химиотерапия. Авторы считают, что полученные данные свидетельствуют о том, что отдельные комменсалы из микробиома кишечника влияют на прогноз РМЖ у пациенток и агрессивность опухоли РМЖ у мышей, химиотерапия может изменить баланс между благоприятными и неблагоприятными видами. При этом отдельные комменсалы могут влиять на вероятность развития неврологических побочных эффектов. Эти результаты, полученные в условиях адъювантной и неоадъювантной химиотерапии, требуют, по мнению авторов, проспективной проверки. Содержание микробиоты молочной железы может иметь значение для прогноза риска регионального рецидивирования [16].

Механизмы влияния микробиоты на канцерогенез молочной железы

По мнению M. Di Modica et al. (2022), кишечные микроорганизмы могут влиять на развитие и прогрессирование РМЖ с помощью нескольких механизмов: прямое влияние на канцерогенез; эстрогенозависимые механизмы, такие как регуляция метаболизма эстрогенов; эстрогенонезависимые механизмы, включая выработку микробных метаболитов и регуляцию иммунной системы [6].

Данные, полученные в работе S. Terrisse et al. [15], согласуются с результатами ранее проведенного анализа shot gun MG фекалий 18 женщин в пременопаузе и 44 женщин в постменопаузе с РМЖ [17]. У женщин в постменопаузе выявлены значительные различия между больными РМЖ и контролем, с увеличением α-разнообразия и представителей провоспалительных энтеробактерий (*E. coli, Klebsiella spp.*) и сопутствующим снижением *Eubacterium eligens* у пациенток с РМЖ, коррелирующим со снижением уровня лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (tumor-infiltrating lymphocytes-TILs). Следует отметить, что корреляционная связь между *Eubacterium eligens* и TILs, выявленная J Zhu et al. [17], не подтверждена в работе S. Terrisse et al. [15], т.е. не было отмечено какой-либо существенной корреляции между микробиотой кишечника и плотностью TILs. Авторы обращают на это внимание и объясняют тем, что кишечная экосистема женщин, связанная с развитием ER+ РМЖ, может быть относительно бедна высокоиммуногенными комменсалами, такими как *A. muciniphila*, *B. fragilis*, *E. hirae*, *Bifidobacteria spp.*, *Eubacteriacea spp* [15]. Кроме этого, важную роль играет популяционный состав TILs. В другом исследовании в реальном времени изучали содержимое фекалий больных РМЖ с помощью qPCR генов, кодирующих различные бактериальные семейства. Авторы пришли к выводу, что кластеры *Clostridium leptum* и *C. coccoides*, представители которых экспрессируют β-глюкуронидазу, способствующую реабсорбции свободных эстрогенов, были обогащены у больных РМЖ II–III стадии, в отличие от пациенток с I стадией РМЖ [18].

В 2015 г. M.R. Rutkowski et al. впервые предложили гипотезу о том, что микробиота кишечника может определять прогноз внекишечного рака (в частности, яичников и молочной железы) посредством воздействия на Toll-подобный рецептор 5 (TLR5). Распознавание TLR5 комменсалами, экспрессирующими жгутики, может способствовать системному воспалению и, как результат, развитию и прогрессированию РМЖ. Передача сигналов TLR5 стимулирует рециркуляцию IL-6, мобилизует миелоидные клетки-супрессоры и вызывает иммуносупрессивные галектин-1-продуцирующие γδT-клетки [19]. Комменсальный дисбактериоз может вызвать системное воспаление, которое индуцирует отложение коллагена и ускоряет фиброз ткани молочной железы, нормальной и опухолевой, через инфильтрацию миелоидными клетками [20]. Помимо усиления системного воспаления, дисбактериоз кишечника может изменить метаболизм всего организма.

Прямое влияние на канцерогенез отмечено у единственной бактерии, *Helicobacter pylori*, которая идентифицирована как прямой канцероген у людей, непосредственно вызывает аденокарциному желудка и промотирует колоректальный канцерогенез [21]. Экспериментальные данные подчеркивают потенциал и других бактерий, вызывающих рак. Эти «онкомикробы» индуцируют рак путем генотоксического мутагенеза, опосредованного токсинами и факторами вирулентности [22]. C. Pleguezuelos-Manzano et al. сообщили об изменении мутационной сигнатуры опухоли под действием генотоксических факторов вирулентности *E. coli* при колоректальном раке [23]. Недавно было показано, что колонизация кишечника энтеротоксигенными *Bacteroides fragilis* (ETBF), которые выделяют токсин *B. fragilis* (BFT), влияет на эпителиальную гиперплазию в молочной железе, и что обработка клеток BC MCF7 этим токсином *in vitro* перед инъекцией мышам значительно увеличивает скорость роста опухоли и развитие метастазов через ось β-катенин / Notch1 [24].

Микробиота кишечника влияет на метаболизм эстрогенов, что сказывается на хорошо известном вкладе эстрогенов в развитие гормонозависимого РМЖ. Экспрессия ферментов β-глюкуронидазы (BGUS) у бактерий, таких как *Escherichia* и *Shigella*, которые принадлежат к типу Proteobacteria, способствует реабсорбции половых гормонов через энтерогепатический путь, увеличивая уровни циркулирующих эстрогенов и, таким образом, влияя на рост РМЖ [25, 26].

Влияние бактериальных метаболитов на канцерогенез

Среди эстрогенонезависимых путей, влияющих на РМЖ, метаболиты бактерий, которые

образуются в результате ферментации клетчатки, метаболизма желчных кислот (ЖК), метаболизма липидов и метаболизма/элиминации холестерина, могут прямо или косвенно влиять на пролиферацию и дифференцировку опухолевых клеток [27]. Известным механизмом, с помощью которого микробиота кишечника влияет на рост рака, является выработка короткоцепочечных жирных кислот (SCFAs), таких как ацетат, бутират и пропионат, которые являются основными метаболитами, получаемыми в результате микробной ферментации нерастворимых пищевых волокон в кишечнике, и являются важными метаболитами для поддержания кишечного гомеостаза. SCFAs модулируют различные аспекты кишечных эпителиальных клеток и лейкоцитов. Они обычно используются колоноцитами в качестве источника энергии, но также действуют как регуляторы в клетках посредством прямой активации рецепторов, связанных с G-белком (GPRs), и ингибирования гистоновых деацетилаз (HDACs) [28]. Установлена ингибирующая функция SCFAs в развитии колоректального рака [29]. Показаны противоопухолевые свойства Berberine в качестве индуктора апоптоза в клетках РМЖ *in vitro* [30]. Другой метаболит комменсалов, пропионат, ингибирует рост опухоли, эпителиально-мезенхимальный переход (EMT) и индуцирует апоптоз в клетках РМЖ путем связывания с рецепторами GPR43 и GPR41 и ингибирования инвазивного фенотипа [31], тогда как бутират натрия индуцирует дозозависимое ингибирование пролиферации и апоптоза клеток РМЖ [32]. Подобно SCFAs, кадаверин, другой бактериальный метаболит, образующийся при декарбоксилировании лизина и аргинина, отрицательно влияет на пролиферацию, клеточную миграцию/инвазию и EMT клеточной линии 4T1 опухолей молочной железы, путем связывания с рецептором-1, ассоциированным с амином (TAAR1, trace amine associated receptor 1, который участвует в иммунологических функциях, снижая агрессивность РМЖ [33].

Желчные кислоты синтезируются из холестерина в печени и выделяются в тонкую кишку для улучшения переваривания и всасывания липидов и жирорастворимых витаминов. Их реабсорбция происходит в подвздошной и толстой кишках, и лишь небольшая часть выделяется с калом. Бактерии в желудочно-кишечном тракте экспрессируют ферменты гидролазы желчных солей и инициируют метаболизм ЖК путем деконъюгирования глицина или таурина из стерольного ядра первичных ЖК (т.е. холевой и хенодезоксихолевой кислот). Этот механизм предотвращает их реабсорбцию в подвздошной кишке и способствует их попаданию в толстую кишку, где бактерии опосредуют их превращение во вторичные биологически активные вещества, например дезоксихолевую кислоту (DCA) и литохолевую кислоту (LCA, lithocholic acid) [34].

Показано, что DCA способствует метастазированию опухолей молочной железы, которые были трансплантированы в жировую подушечку мыши. Метастазирование увеличивалось за счет повышения уровня Flk-1, (kinase insert domain receptor) и (VEGFR, KDR), главного медиатора VEGF-индуцированной пролиферации и миграции эндотелия, и за счет уменьшения опосредованного церамидом апоптоза клеток РМЖ [35]. Исследования *in vitro* показали, что солевая форма DCA оказывает дозозависимое действие на клетки MCF7, при физиологическом уровне стимулирует клеточную пролиферацию посредством индукции фосфорилирования AKT и экспрессии циклина D1, но в супрафизиологических концентрациях становится цитотоксичной, индуцируя апоптоз [36]. LCA образуется в результате трансформации хенодезоксихолевой кислоты и урсодезоксихолевой кислоты путем дегидроксилирования анаэробными бактериями (в первую очередь, *Clostridiales*), ингибирует EMT и метастазирование, способствуя противоопухолевому иммунитету за счет редукции клеточной пролифирации и агрессивности, и изменениям в клеточном метаболизме [37]. Вторичные ЖК (DCA и LCA) также могут влиять на развитие и прогрессирование опухоли благодаря своим иммуносупрессивным свойствам. DCA подавляет иммунную активацию в моделях хронического воспаления путем связывания с фарнезоидным X-рецептором (FXR (NR1H4, nuclear receptor subfamily 1 group H member 4), ядерным рецептором ЖК и TGR5 (Gpbar1), рецептором ЖК, связанным с G-белком, на макрофагах и моноцитах. Таким образом, в то время как DCA обеспечивает улучшение при таких патологических состояниях, как колит и диабет, вызванных ожирением [38], в опухолях он может способствовать созданию проопухолевого микроокружения. Аналогичным образом, LCA контролирует адаптивный иммунитет, препятствуя активации клеток Th1 и ингибируя высвобождение гамма-интерферона (IFNy) и фактора некроза опухоли альфа (TNFα) через рецептор витамина D, который участвует в передаче сигналов ЖК [39].

Регуляция иммунного воспаления

Регуляция иммунного воспаления является еще одним механизмом, который связывает кишечную микробиоту с ростом опухоли [40]. Выявлено влияние кишечной экосистемы на иммунную инфильтрацию опухоли с ее последующим воздействием на рост РМЖ [41]. Основная функция микробиоты в опухолевом иммунном микроокружении изучена на различных моделях (EL4 lymphoma, MC38 colon carcinoma, BP melanoma cells, TUBO breast carcinoma cells), включая РМЖ. При этом показано, что наличие или отсутствие кишечных комменсальных бактерий различает противоопухолевое или проопухолевое иммунное микроокружение.

Продуцируемые микробиотой медиаторы или метаболиты (например, микробный метаболит c-di-AMP) перепрограммировали мононуклеарные фагоциты в опухоли в иммуностимулирующие моноциты и дендритные клетки (DCs), которые, высвобождая IFN типа I, способствовали поляризации макрофагов в сторону противоопухолевого фенотипа и стимулировали реципрокные взаимодействия между естественными киллерами (NK) и DCs [42]. Этот каскад искажен у «безмикробных» мышей, у которых наблюдалась дифференцировка моноцитов в проопухолевые макрофаги.

Микробиота молочной железы

Считалось, что ткань молочной железы и молоко стерильны, но позже было установлено, что микроорганизмы все же обитают в молочной железе [43]. Бактерии колонизируют молочную железу несколькими путями: они могут выделяться из кожи и получать доступ к молочной железе через сосок, перемещаться из кишечника или достигать молочной железы путем интернализации в макрофагах [44]. Нормальная ткань молочной железы имеет уникальный по сравнению с другими участками тела бактериальный состав, состоящий из *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteriau* и *Bacteroidetes* [45], и, подобно микробиоте кишечника, на ее состав влияет образ жизни и этническая принадлежность [46].

Разнообразная микробиота опухолей молочной железы по сравнению с их нормальными аналогами, с большой долей вероятности, вовлечена в развитие и прогрессирование РМЖ. Анализ крупнейшей когорты микробиомов опухолей (включая 1526 опухолей 7 типов: легких, яичников, поджелудочной железы, меланомы, костей, головного мозга и молочной железы) подтвердил, что РМЖ обладает богатым и разнообразным микробиомом, и продемонстрировал, что живые бактерии существуют в раковых клетках и иммунных клетках в микроокружении опухоли [44]. Кроме того, недавнее исследование показало, что внутриклеточная микробиота, обитающая в опухоли, способствует агрессивности рака и метастатической колонизации, участвуя в реорганизации актинового цитоскелета опухолевых клеток, повышая их устойчивость к напряжению сдвига жидкости при поступлении в системный кровоток [47].

По сравнению с нормальной прилегающей тканью ткань РМЖ имеет значительно меньшую бактериальную нагрузку и более разнообразный бактериальный состав, содержащий больше протеобактерий и фирмикутов и меньше актинобактерий [48]. Эти результаты согласуются с анализом секвенирования РНК из Атласа генома рака (TCGA) [49]. Анализ микробиоты 668 образцов ткани раковой опухоли груди и 72 нераковых соседних тканей обнаружил увеличение протеобактерий в опухолевых тканях и актинобактерий в немалигнизированных соседних тканях [50]. Кроме того, в других исследованиях сообщалось, что *E. coli* и *Bacillus cereus* более распространены в тканях РМЖ, чем в нормальных тканях молочной железы [51], а такие роды, как *Fusobacterium*, *Atopobium*, *Gluconacetobacter*, *Hydrogenophaga* и *Lactobacillus,* коррелируют со злокачественностью опухоли. Примечательно, что даже при анализе последовательностей бактериальной 16S рРНК выявились различия между нормальной тканью, прилегающей к опухоли, у женщин с РМЖ и тканью молочной железы здоровых добровольцев, с более высокими относительными уровнями *Bacillus*, *Enterobacteriaceae* и *Staphylococcus,* обнаруженными в нормальных тканях, прилегающих к опухоли [52].

Следует отметить, что *Porphyromonas*, *Lacibacter*, *Ezakiella* и *Fusobacterium* были более распространены в опухолях более высокой стадии по сравнению с опухолями более низкой стадии. Лимфоваскулярная инвазия положительно связана с *Lactobacillus* и отрицательно коррелировала с *Alkanindiges*, тогда как лимфогенное метастазирование было связано с *Acinetobacter* и *Bacteroides*, но отрицательно – с *Achromobacter* [53]. Ткань РМЖ от пациентов с рецидивом характеризуется более высоким уровнем *Enterococcus*, *Cutibacterium* и бактерий, которые экспрессируют гены, участвующие в путях взаимопревращения пентозы и глюкороната. Показана возможность того, что функция микробиоты в онкогенезе РМЖ подкрепляется ассоциацией специфических бактерий (например, *Haemophilus influenzae* и *Listeria fleischmannii*) с генами, которые экспрессируются опухолевыми клетками, такими как те, которые участвуют в EMT и опосредуют контрольную точку повреждения ДНК G2-M, фактор транскрипции E2F и пути сборки митотического веретена. Более того, способность *E. coli* (члена семейства *Enterobacteriaceae*) и *Staphylococcus epidermidis* индуцировать двухцепочечные разрывы ДНК в клетках HeLa подтверждает их прямое участие в возникновении опухоли [52]. В частности, *E. coli* в сочетании с мутациями в клетках ткани молочной железы может способствовать развитию РМЖ через колибактин, генотоксин, который вызывает разрывы двухцепочечной ДНК, как это было замечено при колоректальном раке [51]. Протуморогенная активность также была описана для *Fusobacterium nucleatum*, бактерии полости рта, которая была вовлечена в заболевание пародонта, достигает толстой кишки через кровоток. *F. nucleatum* обычно ассоциируется с плохим прогнозом при раке толстой кишки и недавно была идентифицирована в образцах РМЖ. В экспериментальных моделях при внутривенном введении мышам-опухоленосителям *F. nucleatum* специфически колонизирует опухоли молочной железы, способствуя росту и метастатической прогрессии и уменьшая количество инфильтрирующих опухоль Т-клеток [54].

Бактерии ткани молочной железы, даже в небольшом количестве, могут также потенциально влиять на местное иммунное микроокружение: A. Tzeng et al. (2021) обнаружили у пациенток связь между специфическими бактериями молочной железы и локальными иммунными инфильтратами. В здоровых контрольных группах и опухолевой ткани *Acinetobacter* положительно коррелировал с уровнями CD8+ Т-клеток. В опухолевой ткани *Methylibium*, *Pelomonas* и *Propionibacterium* были в значительной степени связаны с генами иммунокомпетентных клеток. Причем *Methylibium* отрицательно коррелировал с экспрессией ICOS (inducible T cell costimulator), который играет важную роль в клеточном сигналинге, иммунном ответе и регуляции клеточной пролиферации, и с экспрессией гена TBX21(T-box transcription factor 21), кодирующего Tbx21-специфический для Th1 клеток трансрипционный фактор, который контролирует ключевой Th1 цитокин и интерферон гамма. *Propionibacterium* отрицательно ассоциировался с IP-10 и MIP-1B, двумя эффекторными молекулами, которые продуцируются при активации TLR [53].

Колоректальный рак и микробиом

Колоректальный рак является третьим по распространенности ЗНО в мире с плохим прогнозом, что требует новых стратегий терапии. Многочисленные исследования часто наблюдали проникновение бактерий в ткани первичной опухоли, полученные от пациентов [2]. Одной из основополагающих работ, рассматривающих роль микробиома в канцерогенезе и прогрессировании колоректального рака, следует признать исследование A.A. Hibberd et al. (по результатам клинических испытаний (Trial registration number: NCT03072641) [55], которые изучали изменения микробиоты толстой кишки у больных КРР и возможность ее модификации путем введения пробиотиков. Авторы исследовали состав микробиоты пациентов с раком толстой кишки по сравнению с лицами контрольной группой без опухолевых или воспалительных заболеваний. Использовали образцы биопсии нормальной слизистой оболочки и опухоли, полученные при колоноскопии (n=15). Последующие образцы были взяты во время операции из опухоли и близлежащей слизистой оболочки у больных КРР, восемь из которых получали по 2 таблетки в день по $1,4 \times 10^{10}$ КОЕ *Bifidobacterium lactis* Bl-04 и 7×10^{9} КОЕ *Lactobacillus acidophilus NCFM*. Также исследованы образцы фекалий, полученные при колоноскопии, до и во время операции. В качестве контроля использовались биоптаты от 21 здорового участника контрольной группы, полученные при колоноскопии, а также образцы их фекалий. Микробиоту толстой кишки и фекалий оценивали с помощью 16S рРНК секвенирования. Показано, что микробиота опухоли характеризовалась повышенным микробным разнообразием и обогащением несколькими таксонами, включая *Fusobacterium*, *Selenomonas* и *Peptostreptococcus,* по сравнению с контрольной микробиотой. Так, *Fusobacterium* был повышен более чем в 30 раз по сравнению с контрольными биоптатами, что подтверждало важность этих бактерий как потенциальных маркеров КРР. У больных раком толстой кишки, получавших пробиотики, наблюдалось повышенное содержание бактерий, продуцирующих бутират, особенно таких как *Faecalibacterium* и *Clostridiales spp*., в опухоли, неопухолевой слизистой оболочке и фекальной микробиоте по сравнению с пациентами без пробиотикотерапии. Таксоны, ассоциированные с колоректальным раком, такие как *Fusobacterium* и *Peptostreptococcus*, имели тенденцию к снижению в фекальной микробиоте пациентов, получавших пробиотики. В заключение авторы делают выводы, что микробиомы больных КРР имеют отчетливые различия в характеристике микробиоты в опухолевой ткани и близлежащей слизистой оболочке, которая была изменена пероральным введением пробиотиков, по сравнению с контролем. Эти результаты показывают потенциальные терапевтические преимущества пробиотиков для манипулирования микробиотой при КРР [55].

Представляет большой интерес чрезмерно высокая представленность в образцах колоректального рака *Peptostreptococcus* и *Fusobacterium*, обычно определяемых при периодонтите. A.D. Kostic et al. показали, что *Fusobacterium nucleatum* (как и некоторые другие фузобактерии) обладают сахаролитическими свойствами, что делает их уникально адаптированными к опухолевому микроокружению, способствует ускорению онкогенеза колоректального рака и усилению провоспалительного потенциала в микрокоружении опухоли. Содержание *Fusobacterium* было повышено более чем в 30 раз в опухолевых биоптатах по сравнению с контролем, подтверждая важность этих бактерий как потенциальных маркеров КРР [56]. Эти результаты подтверждены и в большом (103 CRC) когортном исследовании, проведенном S.H. Wong et al. [57]. По их данным, *Fusobacterium nucleatum, Peptostreptococcus anaerobius* и *Parvimonas micra* являются многообещающими в качестве микробных маркеров КРР, поскольку имеется увеличение их относительной численности в фекалиях больных КРР в 132, 37 и 41 раз соответственно по сравнению с контролем.

Кроме вышеуказанных бактерий, существуют дополнительные таксоны, чрезмерно представленные в образцах опухоли и слизистой оболочки при раке толстой кишки, они включают типы *Tenericutes* и *Euryarchaeota*, а также род *Methanobrevibacter*. Как *Tenericutes*, так и *Methanobrevibacter* ранее были связаны с микробиотой аденомы. Тип *Tenericutes* включает паразитарных патогенов

(*Mollicutes*), которые ранее рассматривались в качестве возбудителей других видов рака [58]. *Methanobrevibacter* связывают с множеством кишечных расстройств и колоректальным раком, хотя механизм связи с КРР остается неизученным Другие роды, связанные с опухолью, происходили из *Firmicutes* (*Selenomonas*, *Clostridium*, *Dialister* и *Parvimonas*); однако были опубликованы противоречивые данные об их присутствии в аденоме и ткани КРР [55]. Обращают внимание на повышенные уровни в биопсийных образцах у здоровых лиц в контрольной группе бактерий рода *Streptococcus* (а именно *Streptococcus thermophilus*). Хотя ранее [59] было показано, что представитель этого рода *Streptococcus bovis* ассоциирован с КРР [55].

Одной из проблем при изучении связи микробиоты и опухоли является то, что прямое измерение численности бактерий в опухоли остается сложной задачей. M. Guo et al. в 2019 г. предложен принципиально новый подход к измерению численности бактерий, который заключается в использовании «неотмеченных» считываний данных секвенирования всего генома хозяина (hWGS), обычно рассматриваемый как загрязнения и отбрасываемый [60]. Авторы разработали строгие биоинформатические и статистические процедуры для идентификации проникающих в опухоль бактерий, связанных с колоректальным раком. При этом использовались данные секвенирования всего генома тканей аденокарциномы толстой кишки, не сопоставленные с эталонным геномом человека. Отобраны несопоставленные пары считываний, они были направлены в справочную коллекцию микробиома человека, а затем вычислили их относительную численность среди микробов с помощью оценки максимального правдоподобия (ML). Авторы проанализировали и сравнили относительное количество и разнообразие инфильтрирующих бактерий между тканями первичной опухоли и соответствующими образцами нормальной крови. Результаты показали, что ткани первичной опухоли содержали гораздо больше разнообразных инфильтрирующих бактерий, чем обычные образцы крови. Относительное содержание *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides dorei* и *Fusobacterium nucleatum* было значительно выше в первичных колоректальных опухолях. Эти три бактерии входили в десятку наиболее выявляемых микробов в тканях первичной опухоли, но редко обнаруживались в образцах крови здоровых. Результаты совпадали с данными предыдущих исследований при использовании альтернативных подходов: большинство из этих бактерий также было тесно связано с колоректальным раком.

Микробиота и рак шейки матки

Влагалище женщины – орган с защитным эпителием и богатым разнообразным микробным ландшафтом [61]. Микробиом влагалища состоит из бактерий, обитающих в многослойном плоском неороговевающем эпителии, покрытом слоем слизи, богатым муцином, что обеспечивает поверхность прикрепления для комменсальных и доминирующих видов лактобацилл, продуцирующих молочную кислоту. Лактобациллы, наиболее распространенная нормальная вагинальная флора, вовлечены в поддержание кислого pH влагалища за счет производства молочной кислоты. Кислотность влагалища играет важную роль в предотвращении колонизации влагалища патогенными организмами. Кроме того, бактерии, продуцирующие молочную кислоту, подавляют рост патогенных бактерий во влагалище за счет продукции бактериоцинов и биосурфактантов. Нормальную вагинальную флору образуют разные штаммы лактобактерий, такие как *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii* и *Lactobacillus iners*, которые играют важную роль в вагинальном микробиоме [62]. Реже наблюдаются другие штаммы *Lactobacillus*, в том числе *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus vaginalis* и *Lactobacillus salivarius* [63]. Отсутствие лактобацилл или наличие некоторых других микроорганизмов, таких как *Bifidobacterium*, *Protella*, *Pseudomonas* и *Streptococcus*, не всегда связано с патологией [64].

Эпителиальные клетки являются субстратом для продукции молочной кислоты [65]. В детстве и в период менопаузы вагинальный эпителий становится тоньше, атрофичнее, в нем снижается содержание гликогена, что вызывает увеличение pH влагалища и способствует росту многих патогенных микроорганизмов. Во взрослом возрасте гликоген в изобилии откладывается в вагинальном эпителии по мере увеличения уровня эстрогена. Выработка молочной кислоты и снижение уровня pH обеспечивают более кислую среду, наиболее подходящую для роста *Lactobacillus* и других ацидофильных организмов, снижают вероятность размножения патогенной микрофлоры. Помимо непосредственного воздействия на патогены, молочная кислота в нижнем отделе репродуктивного тракта подавляет провоспалительную реакцию макрофагов и действует как противовоспалительное средство. Кроме того, это соединение может индуцировать противовоспалительный интерлейкин (IL)-10 и уменьшать продукцию провоспалительного IL-12 дендритными клетками, способствуя снижению цитотоксичности естественных киллеров (NK) [61].

С другой стороны, есть сведения, что концентрация лактата была выше в опухолях шейки матки с метастазами по сравнению с РШМ без метастазов, и поэтому содержание лактата в опухоли было предложено в качестве потенциального прогностического фактора и маркера риска метастазирова-

ния и рецидива заболевания [66]. Очевидно, что необходимы дальнейшие исследования двойной роли лактата в норме и при РШМ [67].

Изменения вагинальной микрофлоры отмечены при разных патологических состояниях из-за: 1) инфекций, передающихся половым путем (ИППП), таких как трихомониаз, 2) колонизации микроорганизмами, которые не являются частью нормальной вагинальной флоры, такими как *Streptococcus pneumonia*, *Haemophilus influenza* и *Listeria monocytogenes*, 3) гиперпродукции микроорганизмов, входящих в состав нормальной вагинальной флоры, например *E. coli* [62]. Проведено несколько исследований по изучению бактериального состава влагалища при разных патологических состояниях, для того чтобы найти возможную связь между вагинальной флорой и вагинальными заболеваниями. Бактериальный вагиноз (БВ) является одной из наиболее частых вагинальных патологий. По сути, это полимикробная инфекция, поэтому качество и количество лактобацилл и ряда анаэробных бактерии, особенно *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis* и штаммы *Mobiluncus,* играют роль в этой инфекции. R. Tamrakar et al. показали, что уровни *Lactobacilli crispatus*, *L. jensenii* и *L. gasseri* были значительно выше у женщин с нормальной микрофлорой влагалища, чем у женщин с БВ. Напротив, уровни мегасферы и лептотрихии были значительно ниже у женщин с нормальным влагалищным составом флоры, чем при БВ. В присутствии *L. iners* обнаружена повышенная колонизация бактериями, связанными с БВ, такими как *Megasphaera*, и *Лептотрихия* [68]. В более позднем исследовании показано, что *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Atopobium vaginae* и *megasphaera* играют важную роль в патогенезе БВ [69]. Состав вагинальной флоры также может изменяться во время менструального цикла из-за колебаний уровня эстрогена и гликогена и, следовательно, pH влагалища. Снижение эстрогена во время менструального цикла вызывает повышение уровня pH и поэтому может способствовать росту патогенных организмов, таких как *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium* и *Protella* [70]. Использование противозачаточных препаратов, таких как депомедроксипрогестерона ацетат, может вызывать системные гипоэстрогенные состояния, связанные с истончением гликогенобогащенного вагинального эпителиального слоя, снижением колонизации *Lactobacillus* и ослаблением барьера вагинальной флоры против БВ [71]. Кортизол также может способствовать инфицированию БВ через изменение транскрипционных ядерных факторов. Ядерный фактор-каппа B (NF-κB (NFKB3-BCL3 proto-oncogen) уменьшает уровень антимикробных белков, таких как муцин, иммуноглобулины (IgA и IgG), бета-дефензин, ингибитор секреторной лейкоцитарной протеазы (SLPI6 – secretory leukocyte peptidase inhibitor 6), который обрадает антимикробной, антигрибковой и противовирусной активностью, нейтрофильный желатиназа-ассоциированный липокалин (NGAL или LCN2-MMP9 lipocalin 2), играющий роль во врожденном иммунитете, а также увеличивает уровень провоспалительных цитокинов [61].

Бактерии, ассоциированные с БВ, могут быть факторами риска воспалительных заболеваний органов малого таза, и воспаление верхних отделов половых путей может привести к раку яичника [72]. Анализ вагинальной микробиоты показал, что уменьшение количества *Lactobacilli* коррелирует с увеличением микробного разнообразия вагинальной флоры женщин и с наличием инфекции вируса папилломы человека (ВПЧ) [73]. Хотя ВПЧ-инфекция играет ключевую роль в патогенезе рака шейки матки, наличие вируса недостаточно само по себе. Такой фактор, как микробная флора шейки матки, также связан с развитием РШМ [74]. Фактически уменьшение количества *Lactobacilli* «прокладывает путь» для роста других микроорганизмов, вызывающих БВ, и для инфекции ВПЧ, о чем свидетельствует корреляция между БВ и развитием цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) [75]. Показано, что изменения микробного сообщества могут привести к модификации состава цервико-влагалищных метаболитов. Женщины с ВПЧ и дисплазией шейки матки имеют более разнообразный микробный состав, чем женщины с нормальным эпителием [67].

Хотя связь между дисбактериозом и развитием CIN остается во многом не изученной, тем не менее рекомендовано лечить это заболевание т. к. дисбактериоз повреждает эпителиальные клетки, что облегчает проникновение ВПЧ в клетки базального эпителия, и приводит к пролонгации жизненного цикла вируса, сопровождающегося длительной инфекцией и воспалением, развитием дисплазии и малигнизацией [75]. Известно, что длительная персистенция ВПЧ обеспечивает его интеграцию в геном клеток шейки матки, что резко увеличивает риск малигнизации CIN [76]. Взаимосвязь между количеством *Lactobacillus iners*, высоким уровнем ВПЧ инфекции и раком шейки матки подтверждена в некоторых исследованиях. В настоящее время на первый план в качестве важного этиологического фактора развития РШМ выдвигают метаболиты, продуцируемые анаэробными бактериями, которые увеличивают риск высококанцерогенной ВПЧ-инфекции [77, 78].

Заключение

Многочисленные данные литературы, подтверждающие важную роль микробиоты в развитии и прогрессировании рака, свидетельствуют о целесообразности использования характеристик микробиома в качестве маркеров риска малигнизации, прогноза клинического течения заболевания, показаний для назначения терапии и противоопухолевых эффекторов, а также модификации

эффективности стандартных терапевтических воздействий. Роль микробиома в патогенезе ЗНО реализуется посредством его участия в неопластической трансформации эпителия; регуляции опухолевой прогрессии в условиях злокачественного процесса; модификации терапевтического эффекта лекарственных препаратов и разработке оригинальных противоопухолевых агентов на основе пробиотиков.

Имеющиеся сведения о механизмах взаимодействия микробиоты и факторов организма, способствующих неопластической трансформации эпителия, открывают перспективу профилактических воздействий, в первую очередь, с использованием пробиотиков, способных редактировать состав микробиоты, для усиления противоопухолевых свойств составляющих ее бактерий и воздействия на микроокружение опухоли. Для усиления противоопухолевых свойств микробиоты и пробиотиков применяются различные стратегии, включая генную инженерию. Ключевым вопросом для разработки специфичных вариантов пробиотических препаратов является взаимодействие пробиотиков с локальным иммунным компонентом, прежде всего с опухолеассоциированными макрофагами (ОАМ), которые могут как осуществлять толерогенный фагоцитоз и деградацию бактерий, так и отвечать на бактериальный компонент разной степенью воспалительных реакций, в зависимости от направления активации самих ОАМ и от вовлеченности в распознавание пробиотиков и в фагоцитоз спектра рецепторов (TLRs, скавенджер рецепторы). Учитывая способность ОАМ как поддерживать опухолевый рост (в случае большинства типов рака, в том числе рака молочной железы), так и сохранять противоопухолевые свойства (как в случае КРР), влияние пробиотиков на ОАМ должно тщательно изучаться для каждого отдельного типа рака в доклинических системах *ex vivo* и *in vitro* [79, 80]. В случае вирусной природы необходимо учитывать тот факт, что макрофаги способны не только деградировать вирусные частицы, но и служить долгосрочными резервуарами для выживания вируса, давая ему возможность размножиться через несколько лет после первичного заражения [81, 82]. Анализу научной литературы по этим вопросам будет посвящен следующий обзор. Есть все основания полагать, что после выяснения механизмов взаимодействия по оси рак – иммунитет – микробиом – пробиотики управление микробиомом станет возможным по двум направлениям: для усиления противоопухолевых свойств компонентов микробиоты и воздействия пробиотиками на микроокружение.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Hanahan D.* Hallmarks of Cancer: New Dimensions. Cancer Discov. 2022; 12(1): 31–46. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.

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. *Goedert J.J., Jones G., Hua X., Xu X., Yu G., Flores R., Falk R.T., Gail M.H., Shi J., Ravel J., Feigelson H.S.* Investigation of the association between the fecal microbiota and breast cancer in postmenopausal women: a population-based case-control pilot study. J Natl Cancer Inst. 2015; 107(8). doi: 10.1093/jnci/djv147.

4. *Bobin-Dubigeon C., Luu H.T., Leuillet S., Lavergne S.N., Carton T., Le Vacon F., Michel C., Nazih H., Bard J.M.* Faecal Microbiota Composition Varies between Patients with Breast Cancer and Healthy Women: A Comparative Case-Control Study. Nutrients. 2021; 13(8): 2705. doi: 10.3390/nu13082705.

5. *Aykut B., Pushalkar S., Chen R., Li Q., Abengozar R., Kim J.I., Shadaloey S.A., Wu D., Preiss P., Verma N., Guo Y., Saxena A., Vardhan M., Diskin B., Wang W., Leinwand J., Kurz E., Kochen Rossi J.A., Hundeyin M., Zambrinis C., Li X., Saxena D., Miller G.* The fungal mycobiome promotes pancreatic oncogenesis via activation of MBL. Nature. 2019; 574(7777): 264–7. doi: 10.1038/s41586-019-1608-2.

6. *Di Modica M., Arlotta V., Sfondrini L., Tagliabue E., Triulzi T.* The Link Between the Microbiota and HER2+ Breast Cancer: The New Challenge of Precision Medicine. Front Oncol. 2022; 12. doi: 10.3389/fonc.2022.947188.

7. *Kommineni S., Bretl D.J., Lam V., Chakraborty R., Hayward M., Simpson P., Cao Y., Bousounis P., Kristich C.J., Salzman N.H.* Bacteriocin production augments niche competition by enterococci in the mammalian gastrointestinal tract. Nature. 2015; 526(7575): 719–22. doi: 10.1038/nature15524.

8. *Lynch S.V., Pedersen O.* The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. N Engl J Med. 2016; 375(24): 2369–79. doi: 10.1056/NEJMra1600266.

9. *Perales-Puchalt A., Perez-Sanz J., Payne K.K., Svoronos N., Allegrezza M.J., Chaurio R.A., Anadon C., Calmette J., Biswas S., Mine J.A., Costich T.L., Nickels L., Wickramasinghe J., Rutkowski M.R., Conejo-Garcia J.R.* Frontline Science: Microbiota reconstitution restores intestinal integrity after cisplatin therapy. J Leukoc Biol. 2018; 103(5): 799–805. doi: 10.1002/JLB.5HI1117-446RR.

10. *Iida N., Dzutsev A., Stewart C.A., Smith L., Bouladoux N., Weingarten R.A., Molina D.A., Salcedo R., Back T., Cramer S., Dai R.M., Kiu H., Cardone M., Naik S., Patri A.K., Wang E., Marincola F.M., Frank K.M., Belkaid Y., Trinchieri G., Goldszmid R.S.* Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. Science. 2013; 342(6161): 967–70. doi: 10.1126/science.1240527.

11. *Routy B., Le Chatelier E., Derosa L., Duong C.P.M., Alou M.T., Daillère R., Fluckiger A., Messaoudene M., Rauber C., Roberti M.P., Fidelle M., Flament C., Poirier-Colame V., Opolon P., Klein C., Iribarren K., Mondragón L., Jacquelot N., Qu B., Ferrere G., Clémenson C., Mezquita L., Masip J.R., Naltet C., Brosseau S., Kaderbhai C., Richard C., Rizvi H., Levenez F., Galleron N., Quinquis B., Pons N., Ryffel B., Minard-Colin V., Gonin P., Soria J.C., Deutsch E., Loriot Y., Ghiringhelli F., Zalcman G., Goldwasser F., Escudier B., Hellmann M.D., Eggermont A., Raoult D., Albiges L., Kroemer G., Zitvogel L.* Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. Science. 2018; 359(6371): 91–7. doi: 10.1126/science.aan3706.

12. *Zitvogel L., Ma Y., Raoult D., Kroemer G., Gajewski T.F.* The microbiome in cancer immunotherapy: Diagnostic tools and therapeutic strategies. Science. 2018; 359(6382): 1366–70. doi: 10.1126/science.aar6918.

13. *Gopalakrishnan V., Spencer C.N., Nezi L., Reuben A., Andrews M.C., Karpinets T.V., Prieto P.A., Vicente D., Hoffman K., Wei S.C., Cogdill A.P., Zhao L., Hudgens C.W., Hutchinson D.S., Manzo T., Petaccia de Macedo M., Cotechini T., Kumar T., Chen W.S., Reddy S.M., Szczepaniak Sloane R., Galloway-Pena J., Jiang H., Chen P.L., Shpall E.J., Rezvani K., Alousi A.M., Chemaly R.F., Shelburne S., Vence L.M., Okhuysen P.C., Jensen V.B., Swennes A.G., McAllister F., Marcelo Riquelme Sanchez E., Zhang Y., Le Chatelier E., Zitvogel L., Pons N., Austin-Breneman J.L., Haydu L.E., Burton E.M., Gardner J.M., Sirmans E., Hu J., Lazar A.J., Tsujikawa T., Diab A., Tawbi H., Glitza I.C., Hwu W.J., Patel S.P., Woodman S.E., Amaria R.N., Davies M.A., Gershenwald J.E., Hwu P., Lee J.E., Zhang J., Coussens L.M., Cooper Z.A., Futreal P.A., Daniel C.R., Ajami N.J., Petrosino J.F., Tetzlaff M.T., Sharma P., Allison J.P., Jenq R.R., Wargo J.A.* Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. Science. 2018; 359(6371): 97–103. doi: 10.1126/science.aan4236.

14. *Yang P., Wang Z., Peng Q., Lian W., Chen D.* Comparison of the Gut Microbiota in Patients with Benign and Malignant Breast Tumors: A Pilot Study. Evol Bioinform Online. 2021; 17. doi: 10.1177/11769343211057573.

15. *Terrisse S., Derosa L., Iebba V., Ghiringhelli F., Vaz-Luis I., Kroemer G., Fidelle M., Christodoulidis S., Segata N., Thomas A.M., Martin A.L., Sirven A., Everhard S., Aprahamian F., Nirmalathasan N., Aarnoutse R., Smidt M., Ziemons J., Caldas C., Loibl S., Denkert C.,*

Durand S., Iglesias C., Pietrantonio F., Routy B., André F., Pasolli E., Delaloge S., Zitvogel L. Intestinal microbiota influences clinical outcome and side effects of early breast cancer treatment. Cell Death & Differentiation. 2021; 28(9): 2778–96.

16. *Kim H.E., Kim J., Maeng S., Oh B., Hwang K.T., Kim B.S.* Microbiota of Breast Tissue and Its Potential Association with Regional Recurrence of Breast Cancer in Korean Women. J Microbiol Biotechnol. 2021; 31(12): 1643–55. doi: 10.4014/jmb.2106.06039.

17. *Zhu J., Liao M., Yao Z., Liang W., Li Q., Liu J., Yang H., Ji Y., Wei W., Tan A., Liang S., Chen Y., Lin H., Zhu X., Huang S., Tian J., Tang R., Wang Q., Mo Z.* Breast cancer in postmenopausal women is associated with an altered gut metagenome. Microbiome. 2018; 6(1): 1–13. doi: 10.1186/s40168-018-0515-3.

18. *Luu T.H., Michel C., Bard J.M., Dravet F., Nazih H., Bobin-Dubigeon C.* Intestinal Proportion of Blautia sp. is Associated with Clinical Stage and Histoprognostic Grade in Patients with Early-Stage Breast Cancer. Nutr Cancer. 2017; 69(2): 267–75. doi: 10.1080/01635581.2017.1263750.

19. *Rutkowski M.R., Stephen T.L., Svoronos N., Allegrezza M.J., Tesone A.J., Perales-Puchalt A., Brencicova E., Escovar-Fadul X., Nguyen J.M., Cadungog M.G., Zhang R., Salatino M., Tchou J., Rabinovich G.A., Conejo-Garcia J.R.* Microbially driven TLR5-dependent signaling governs distal malignant progression through tumor-promoting inflammation. Cancer Cell. 2015; 27(1): 27–40. doi: 10.1016/j.ccell.2014.11.009.

20. *Buchta Rosean C., Bostic R.R., Ferey J.C.M., Feng T.Y., Azar F.N., Tung K.S., Dozmorov M.G., Smirnova E., Bos P.D., Rutkowski M.R.* Preexisting Commensal Dysbiosis Is a Host-Intrinsic Regulator of Tissue Inflammation and Tumor Cell Dissemination in Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. Cancer Res. 2019; 79(14): 3662–75. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3464.

21. *He Z., Gharaibeh R.Z., Newsome R.C., Pope J.L., Dougherty M.W., Tomkovich S., Pons B., Mirey G., Vignard J., Hendrixson D.R., Jobin C.* Campylobacter jejuni promotes colorectal tumorigenesis through the action of cytolethal distending toxin. Gut. 2019; 68(2): 289–300. doi: 10.1136/gutjnl-2018-317200.

22. *Wilson M.R., Jiang Y., Villalta P.W., Stornetta A., Boudreau P.D., Carrá A., Brennan C.A., Chun E., Ngo L., Samson L.D., Engelward B.P., Garrett W.S., Balbo S., Balskus E.P.* The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. Science. 2019; 363(6428). doi: 10.1126/science.aar7785.

23. *Pleguezuelos-Manzano C., Puschhof J., Rosendahl Huber A., van Hoeck A., Wood H.M., Nomburg J., Gurjao C., Manders F., Dalmasso G., Stege P.B., Paganelli F.L., Geurts M.H., Beumer J., Mizutani T., Miao Y., van der Linden R., van der Elst S.; Genomics England Research Consortium, Garcia K.C., Top J., Willems R.J.L., Giannakis M., Bonnet R., Quirke P., Meyerson M., Cuppen E., van Boxtel R., Clevers H.* Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks+ E. coli. Nature. 2020; 580(7802): 269–73. doi: 10.1038/s41586-020-2080-8.

24. *Parida S., Wu S., Siddharth S., Wang G., Muniraj N., Nagalingam A., Hum C., Mistriotis P., Hao H., Talbot C.C., Konstantopoulos K., Gabrielson K.L., Sears C.L., Sharma D.* A Procarcinogenic Colon Microbe Promotes Breast Tumorigenesis and Metastatic Progression and Concomitantly Activates Notch and β-Catenin AxesETBF Promotes Breast Carcinogenesis. Cancer Dis. 2021; 11(5): 1138–57. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-0537.

25. *Kwa M., Plottel C.S., Blaser M.J., Adams S.* The Intestinal Microbiome and Estrogen Receptor-Positive Female Breast Cancer. J Natl Cancer Inst. 2016; 108(8). doi: 10.1093/jnci/djw029.

26. *Shapira I., Sultan K., Lee A., Taioli E.* Evolving concepts: how diet and the intestinal microbiome act as modulators of breast malignancy. ISRN Oncol. 2013. doi: 10.1155/2013/693920.

27. *Hanafi N.I., Mohamed A.S., Sheikh Abdul Kadir S.H., Othman M.H.D.* Overview of Bile Acids Signaling and Perspective on the Signal of Ursodeoxycholic Acid, the Most Hydrophilic Bile Acid, in the Heart. Biomolecules. 2018; 8(4): 159. doi: 10.3390/biom8040159.

28. *Parada Venegas D., De la Fuente M.K., Landskron G., González M.J., Quera R., Dijkstra G., Harmsen H.J.M., Faber K.N., Hermoso M.A.* Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. Front Immunol. 2019; 10: 277. doi: 10.3389/fimmu.2019.00277. Erratum in: Front Immunol. 2019; 10: 1486.

29. *Hou H., Chen D., Zhang K., Zhang W., Liu T., Wang S., Dai X., Wang B., Zhong W., Cao H.* Gut microbiota-derived short-chain fatty acids and colorectal cancer: Ready for clinical translation? Cancer Lett. 2022; 526: 225–35. doi: 10.1016/j.canlet.2021.11.027.

30. *Ma W., Zhang Y., Yu M., Wang B., Xu S., Zhang J., Li X., Ye X.* In-vitro and in-vivo anti-breast cancer activity of synergistic effect of berberine and exercise through promoting the apoptosis and immunomodulatory effects. Int Immunopharmacol. 2020; 87. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106787. Erratum in: Int Immunopharmacol. 2020; 88.

31. *Thirunavukkarasan M., Wang C., Rao A., Hind T., Teo Y.R., Siddiquee A.A., Goghari M.A.I., Kumar A.P., Herr D.R.* Short-chain fatty acid receptors inhibit invasive phenotypes in breast cancer cells. PLoS One. 2017; 12(10). doi: 10.1371/journal.pone.0186334.

32. *Semaan J., El-Hakim S., Ibrahim J.N., Safi R., Elnar A.A., El Boustany C.* Comparative effect of sodium butyrate and sodium propionate on proliferation, cell cycle and apoptosis in human breast cancer cells MCF-7. Breast Cancer. 2020; 27(4): 696–705. doi: 10.1007/s12282-020-01063-6.

33. *Kovács T., Mikó E., Vida A., Sebő É., Toth J., Csonka T., Boratkó A., Ujlaki G., Lente G., Kovács P., Tóth D., Árkosy P., Kiss B., Méhes G., Goedert J.J., Bai P.* Cadaverine, a metabolite of the microbiome, reduces breast cancer aggressiveness through trace amino acid receptors. Sci Rep. 2019; 9(1): 1–14.

34. *Ridlon J.M., Kang D.J., Hylemon P.B., Bajaj J.S.* Bile acids and the gut microbiome. Curr Opin Gastroenterol. 2014; 30(3): 332–8. doi: 10.1097/MOG.0000000000000057.

35. *Krishnamurthy K., Wang G., Rokhfeld D., Bieberich E.* Deoxycholate promotes survival of breast cancer cells by reducing the level of pro-apoptotic ceramide. Breast Cancer Res. 2008;10(6): 1–16. doi: 10.1186/bcr2211.

36. *Gándola Y.B., Fontana C., Bojorge M.A., Luschnat T.T., Moretton M.A., Chiapetta D.A., Verstraeten S.V., González L.* Concentration-dependent effects of sodium cholate and deoxycholate bile salts on breast cancer cells proliferation and survival. Mol Biol Rep. 2020; 47(5): 3521–39. doi: 10.1007/s11033-020-05442-2.

37. *Mikó E., Vida A., Kovács T., Ujlaki G., Trencsényi G., Márton J., Sári Z., Kovács P., Boratkó A., Hujber Z., Csonka T., Antal-Szalmás P., Watanabe M., Gombos I., Csoka B., Kiss B., Vígh L., Szabó J., Méhes G., Sebestyén A., Goedert J.J., Bai P.* Lithocholic acid, a bacterial metabolite reduces breast cancer cell proliferation and aggressiveness. Biochim Biophys Acta Bioenerg. 2018; 1859(9): 958–74. doi: 10.1016/j.bbabio.2018.04.002.

38. *Perino A., Pols T.W., Nomura M., Stein S., Pellicciari R., Schoonjans K.* TGR5 reduces macrophage migration through mTOR-induced C/EBPβ differential translation. J Clin Invest. 2014; 124(12): 5424–36. doi: 10.1172/JCI76289.

39. *Pols T.W.H., Puchner T., Korkmaz H.I., Vos M., Soeters M.R., de Vries C.J.M.* Lithocholic acid controls adaptive immune responses by inhibition of Th1 activation through the Vitamin D receptor. PLoS One. 2017; 12(5). doi: 10.1371/journal.pone.0176715.

40. *García-Castillo V., Sanhueza E., McNerney E., Onate S.A., García A.* Microbiota dysbiosis: a new piece in the understanding of the carcinogenesis puzzle. J Med Microbiol. 2016; 65(12): 1347–62. doi: 10.1099/jmm.0.000371.

41. *McKee A.M., Kirkup B.M., Madgwick M., Fowler W.J., Price C.A., Dreger S.A., Ansorge R., Makin K.A., Caim S., Le Gall G., Paveley J., Leclaire C., Dalby M., Alcon-Giner C., Andrusaite A., Feng T.Y., Di Modica M., Triulzi T., Tagliabue E., Milling S.W.F., Weilbaecher K.N., Rutkowski M.R., Korcsmáros T., Hall L.J., Robinson S.D.* Antibiotic-induced disturbances of the gut microbiota result in accelerated breast tumor growth. iScience. 2021; 24(9). doi: 10.1016/j.isci.2021.103012.

42. *Lam K.C., Araya R.E., Huang A., Chen Q., Di Modica M., Rodrigues R.R., Lopès A., Johnson S.B., Schwarz B., Bohrnsen E., Cogdill A.P., Bosio C.M., Wargo J.A., Lee M.P., Goldszmid R.S.* Microbiota triggers STING-type I IFN-dependent monocyte reprogramming of the tumor microenvironment. Cell. 2021; 184(21): 5338–56. doi: 10.1016/j.cell.2021.09.019.

43. *Toumazi D., El Daccache S., Constantinou C.* An unexpected link: The role of mammary and gut microbiota on breast cancer development and management (Review). Oncol Rep. 2021; 45(5): 1–15. doi: 10.3892/or.2021.8031.

44. *Nejman D., Livyatan I., Fuks G., Gavert N., Zwang Y., Geller L.T., Rotter-Maskowitz A., Weiser R., Mallel G., Gigi E., Meltser A., Douglas G.M., Kamer I., Gopalakrishnan V., Dadosh T., Levin-Zaidman S., Avnet S., Atlan T., Cooper Z.A., Arora R., Cogdill A.P., Khan M.A.W., Ologun G., Bussi Y., Weinberger A., Lotan-Pompan M., Golani O., Perry G., Rokah M., Bahar-Shany K., Rozeman E.A., Blank C.U., Ronai A., Shaoul R., Amit A., Dorfman T., Kremer R., Cohen Z.R., Harnof S., Siegal T., Yehuda-Shnaidman E., Gal-Yam E.N., Shapira H., Baldini N., Langille M.G.I., Ben-Nun A., Kaufman B., Nissan A., Golan T., Dadiani M., Levanon K., Bar J., Yust-Katz S., Barshack I., Peeper D.S., Raz D.J., Segal E., Wargo J.A., Sandbank J., Shental N., Straussman R.* The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria. Science. 2020; 368(6494): 973–80. doi: 10.1126/science.aay9189.

45. *Hadzega D., Minarik G., Karaba M., Kalavska K., Benca J., Ciernikova S., Sedlackova T., Nemcova P., Bohac M., Pindak D., Klucar L., Mego M.* Uncovering Microbial Composition in Human Breast Cancer Primary Tumour Tissue Using Transcriptomic RNA-seq. Int J Mol Sci. 2021; 22(16): 9058. doi: 10.3390/ijms22169058.

46. *Smith A., Pierre J.F., Makowski L., Tolley E., Lyn-Cook B., Lu L., Vidal G., Starlard-Davenport A.* Distinct microbial communities that differ by race, stage, or breast-tumor subtype in breast tissues of non-Hispanic

Black and non-Hispanic White women. Sci Rep. 2019; 9(1): 1–10. doi: 10.1038/s41598-019-48348-1.

47. *Fu A., Yao B., Dong T., Chen Y., Yao J., Liu Y., Li H., Bai H., Liu X., Zhang Y., Wang C., Guo Y., Li N., Cai S.* Tumor-resident intracellular microbiota promotes metastatic colonization in breast cancer. Cell. 2022; 185(8): 1356–72. doi: 10.1016/j.cell.2022.02.027.

48. *Esposito M.V., Fosso B., Nunziato M., Casaburi G., D'Argenio V., Calabrese A., D'Aiuto M., Botti G., Pesole G., Salvatore F.* Microbiome composition indicate dysbiosis and lower richness in tumor breast tissues compared to healthy adjacent paired tissue, within the same women. BMC Cancer. 2022; 22(1): 1–11. doi: 10.1186/s12885-021-09074-y.

49. *Cancer Genome Atlas Network.* Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2012; 490(7418): 61–70. doi: 10.1038/nature11412.

50. *Thompson K.J., Ingle J.N., Tang X., Chia N., Jeraldo P.R., Walther-Antonio M.R., Kandimalla K.K., Johnson S., Yao J.Z., Harrington S.C., Suman V.J., Wang L., Weinshilboum R.L., Boughey J.C., Kocher J.P., Nelson H., Goetz M.P., Kalari K.R.* A comprehensive analysis of breast cancer microbiota and host gene expression. PLoS One. 2017; 12(11). doi: 10.1371/journal.pone.0188873.

51. *Parida S., Sharma D.* The power of small changes: Comprehensive analyses of microbial dysbiosis in breast cancer. Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2019; 1871(2): 392–405. doi: 10.1016/j.bbcan.2019.04.001.

52. *Urbaniak C., Gloor G.B., Brackstone M., Scott L., Tangney M., Reid G.* The Microbiota of Breast Tissue and Its Association with Breast Cancer. Appl Environ Microbiol. 2016; 82(16): 5039–48. doi: 10.1128/AEM.01235-16.

53. *Tzeng A., Sangwan N., Jia M., Liu C.C., Keslar K.S., Downs-Kelly E., Fairchild R.L., Al-Hilli Z., Grobmyer S.R., Eng C.* Human breast microbiome correlates with prognostic features and immunological signatures in breast cancer. Genome Med. 2021; 13(1): 1–17. doi: 10.1186/s13073-021-00874-2.

54. *Parhi L., Alon-Maimon T., Sol A., Nejman D., Shhadeh A., Fainsod-Levi T., Yajuk O., Isaacson B., Abed J., Maalouf N., Nissan A., Sandbank J., Yehuda-Shnaidman E., Ponath F., Vogel J., Mandelboim O., Granot Z., Straussman R., Bachrach G.* Breast cancer colonization by Fusobacterium nucleatum accelerates tumor growth and metastatic progression. Nature Comm. 2020; 11(1): 1–12.

55. *Hibberd A.A., Lyra A., Ouwehand A.C., Rolny P., Lindegren H., Cedgård L., Wettergren Y.* Intestinal microbiota is altered in patients with colon cancer and modified by probiotic intervention. BMJ Open Gastroenterol. 2017; 4(1). doi: 10.1136/bmjgast-2017-000145.

56. *Kostic A.D., Chun E., Robertson L., Glickman J.N., Gallini C.A., Michaud M., Clancy T.E., Chung D.C., Lochhead P., Hold G.L., El-Omar E.M., Brenner D., Fuchs C.S., Meyerson M., Garrett W.S.* Fusobacterium nucleatum potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. Cell Host Microbe. 2013; 14(2): 207–15. doi: 10.1016/j.chom.2013.07.007.

57. *Wong S.H., Kwong T.N.Y., Chow T.C., Luk A.K.C., Dai R.Z.W., Nakatsu G., Lam T.Y.T., Zhang L., Wu J.C.Y., Chan F.K.L., Ng S.S.M., Wong M.C.S., Ng S.C., Wu W.K.K., Yu J., Sung J.J.Y.* Quantitation of faecal Fusobacterium improves faecal immunochemical test in detecting advanced colorectal neoplasia. Gut. 2017; 66(8): 1441–8. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312766.

58. *Zarei O., Rezania S., Mousavi A.* Mycoplasma genitalium and cancer: a brief review. Asian Pac J Cancer Prev. 2013; 14(6): 3425–8. doi: 10.7314/apjcp.2013.14.6.3425.

59. *Gagnière J., Raisch J., Veziant J., Barnich N., Bonnet R., Buc E., Bringer M.A., Pezet D., Bonnet M.* Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. World J Gastroenterol. 2016; 22(2): 501–18. doi: 10.3748/wjg.v22.i2.501.

60. *Guo M., Xu E., Ai D.* Inferring Bacterial Infiltration in Primary Colorectal Tumors From Host Whole Genome Sequencing Data. Front Genet. 2019; 10: 213. doi: 10.3389/fgene.2019.00213.

61. *Amabebe E., Anumba D.O.C.* Psychosocial Stress, Cortisol Levels, and Maintenance of Vaginal Health. Front Endocrinol (Lausanne). 2018; 9: 568. doi: 10.3389/fendo.2018.00568.

62. *Lamont R.F., Sobel J.D., Akins R.A., Hassan S.S., Chaiworapongsa T., Kusanovic J.P., Romero R.* The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. BJOG. 2011; 118(5): 533–49. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02840.x.

63. *Vásquez A., Jakobsson T., Ahrné S., Forsum U., Molin G.* Vaginal lactobacillus flora of healthy Swedish women. J Clin Microbiol. 2002; 40(8): 2746–9. doi: 10.1128/JCM.40.8.2746-2749.2002.

64. *Hyman R.W., Fukushima M., Diamond L., Kumm J., Giudice L.C., Davis R.W.* Microbes on the human vaginal epithelium. Proc Natl Acad Sci USA. 2005; 102(22): 7952–7. doi: 10.1073/pnas.0503236102.

65. *Fettweis J.M., Brooks J.P., Serrano M.G., Sheth N.U., Girerd P.H., Edwards D.J., Strauss J.F., The Vaginal Microbiome Consortium, Jefferson K.K., Buck G.A.* Differences in vaginal microbiome in African American women versus women of European ancestry. Microbiology (Reading). 2014; 160(Pt 10): 2272–82. doi: 10.1099/mic.0.081034-0.

66. *Walenta S., Wetterling M., Lehrke M., Schwickert G., Sundfør K., Rofstad E.K., Mueller-Klieser W.* High lactate levels predict likelihood of metastases, tumor recurrence, and restricted patient survival in human cervical cancers. Cancer Res. 2000; 60(4): 916–21.

67. *Ilhan Z.E., Łaniewski P., Thomas N., Roe D.J., Chase D.M., Herbst-Kralovetz M.M.* Deciphering the complex interplay between microbiota, HPV, inflammation and cancer through cervicovaginal metabolic profiling. EBioMedicine. 2019; 44: 675–90. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.04.028.

68. *Tamrakar R., Yamada T., Furuta I., Cho K., Morikawa M., Yamada H., Sakuragi N., Minakami H.* Association between Lactobacillus species and bacterial vaginosis-related bacteria, and bacterial vaginosis scores in pregnant Japanese women. BMC Infect Dis. 2007; 7(1):1–8. doi: 10.1186/1471-2334-7-128.

69. *Muzny C.A., Blanchard E., Taylor C.M., Aaron K.J., Talluri R., Griswold M.E., Redden D.T., Luo M., Welsh D.A., Van Der Pol W.J., Lefkowitz E.J., Martin D.H., Schwebke J.R.* Identification of Key Bacteria Involved in the Induction of Incident Bacterial Vaginosis: A Prospective Study. J Infect Dis. 2018; 218(6): 966–78. doi: 10.1093/infdis/jiy243.

70. *Wilson J.D., Lee R.A., Balen A.H., Rutherford A.J.* Bacterial vaginal flora in relation to changing oestrogen levels. Int J STD AIDS. 2007; 18(5): 308–11. doi: 10.1258/095646207780749583.

71. *Miller L., Patton D.L., Meier A., Thwin S.S., Hooton T.M., Eschenbach D.A.* Depomedroxyprogesterone-induced hypoestrogenism and changes in vaginal flora and epithelium. Obstet Gynecol. 2000; 96(3): 431–9. doi: 10.1016/s0029-7844(00)00906-6.

72. *Chase D., Goulder A., Zenhausern F., Monk B., Herbst-Kralovetz M.* The vaginal and gastrointestinal microbiomes in gynecologic cancers: a review of applications in etiology, symptoms and treatment. Gynecol Oncol. 2015; 138(1): 190–200. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.04.036.

73. *Lee J.E., Lee S., Lee H., Song Y.M., Lee K., Han M.J., Sung J., Ko G.* Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus infection in a Korean twin cohort. PLoS One. 2013; 8(5). doi: 10.1371/journal.pone.0063514.

74. *Muñoz N., Castellsagué X., Berrington de González A., Gissmann L.* Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. Vaccine. 2006; 24: 1–10. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.05.115.

75. *Wiik J., Sengpiel V., Kyrgiou M., Nilsson S., Mitra A., Tanbo T., Monceyron Jonassen C., Møller Tannæs T., Sjøborg K.* Cervical microbiota in women with cervical intra-epithelial neoplasia, prior to and after local excisional treatment, a Norwegian cohort study. BMC Womens Health. 2019; 19(1): 1–9. doi: 10.1186/s12905-019-0727-0.

76. *Ибрагимова М.К., Чуруксаева О.Н., Бычков В.А., Цыганов М.М., Дерюшева И.В., Шпилева О.В., Коломиец Л.А., Литвяков Н.В.* Физический статус вируса папилломы человека в прогнозе рецидивирования цервикальных интраэпителиальных неоплазий различной степени тяжести. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(6): 70–7. [*Ibragimova M.K., Churuksaeva O.N., Bychkov V.A., Tsyganov M.M., Deryusheva I.V., Shpileva O.V., Kolomiets L.A., Litviakov N.V.* Physical status of human papillomavirus in the prognosis of recurrence of low-grade and-high-grade cervical intraepithelial lesions. Siberian journal of oncology. 2018; 17(6): 70–7. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-6-70-77.

77. *Lin M., Ye M., Zhou J., Wang Z.P., Zhu X.* Recent Advances on the Molecular Mechanism of Cervical Carcinogenesis Based on Systems Biology Technologies. Comput Struct Biotechnol J. 2019; 17: 241–50. doi: 10.1016/j.csbj.2019.02.001.

78. *Brusselaers N., Shrestha S., van de Wijgert J., Verstraelen H.* Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis. Am J Obstet Gynecol. 2019; 221(1): 9–18. doi: 10.1016/j.ajog.2018.12.011.

79. *Larionova I., Kazakova E., Patysheva M., Kzhyshkowska J.* Transcriptional, Epigenetic and Metabolic Programming of Tumor-Associated Macrophages. Cancers (Basel). 2020; 12(6): 1411. doi: 10.3390/cancers12061411.

80. *Larionova I., Tuguzbaeva G., Ponomaryova A., Stakheyeva M., Cherdyntseva N., Pavlov V., Choinzonov E., Kzhyshkowska J.* Tumor-Associated Macrophages in Human Breast, Colorectal, Lung, Ovarian and Prostate Cancers. Front Oncol. 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.566511.

81. *Nikitina E., Larionova I., Choinzonov E., Kzhyshkowska J.* Monocytes and Macrophages as Viral Targets and Reservoirs. Int J Mol Sci. 2018; 19(9): 2821. doi: 10.3390/ijms19092821.

82. *Matveeva O., Nechipurenko Y., Lagutkin D., Yegorov Y.E., Kzhyshkowska J.* SARS-CoV-2 infection of phagocytic immune cells and COVID-19 pathology: Antibody-dependent as well as independent cell entry. Front Immunol. 2022; 13. doi: 10.3389/fimmu.2022.1050478.

Поступила/Received 01.12.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 14.12.2022
Принята к публикации/Accepted 20.12.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Белявская Валентина Александровна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Новосибирск, пос. Кольцово, Россия). Author ID (Scopus):6701653852.
Чердынцева Надежда Викторовна, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии, заместитель директора, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ведущий научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»; научный сотрудник лаборатории генетических технологий, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: nvch@tnimc.ru. SPIN-код: 5344-0990. Researcher ID (WOS): C-7943-2012. Author ID (Scopus): 6603911744. ORCID: 0000-0003-1526-9013.
Кжышковска Юлия Георгиевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»; заведующая лабораторией, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия); заведующая отделом врожденного иммунитета и иммунологической толерантности, медицинский факультет Маннгейма, Институт иммунологии и трансфузионной медицины, Университет Гейдельберга (г. Маннгейм, Германия). SPIN-код: 2465-2280. Researcher ID (WOS): J-5835-2016. Author ID (Scopus): 6603091281. ORCID: 0000-0003-0898-3075.
Литвяков Николай Васильевич, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; научный сотрудник лаборатории генетических технологий центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2546-0181. Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.

ВКЛАД АВТОРОВ

Белявская Валентина Александровна: общее руководство проектом, анализ результатов научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, разработка концепции научной работы, постановка проблемы, поиск информации, систематизация материала и его анализ.
Чердынцева Надежда Викторовна: общее руководство проектом, анализ результатов научной работы, разработка концепции исследования, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Кжышковска Юлия Георгиевна: общее руководство проектом, анализ результатов научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, разработка концепции научной работы.
Литвяков Николай Васильевич: анализ результатов научной работы, внесение ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российской Федерации в лице Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение от 29 сентября 2021 г. № 075-15-2021-1073 на тему: «Генетическое и эпигенетическое редактирование клеток опухоли и микроокружения с целью блокировки метастазирования»).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Valentina A. Belyavskaya, DSc, Professor, Leading Researcher, Research center of Virology and Biotechnology, Vector (Koltsovo, Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 6701653852.
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; Leading Researcher of Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University; Researcher of the Laboratory of Genetic Technologies, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). E-mail: nvch@tnimc.ru. Researcher ID (WOS): C-7943-2012. Author ID (Scopus): 6603911744. ORCID: 0000-0003-1526-9013.
July G. Kzhyshkovska, MD, PhD, Professor, Head of Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University; Head of Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia); Head of Department of Innate Immunity and Immunological Tolerance, Institute for Transfusion Medicine and Immunology, University of Heidelberg (Mannheim, Germany). Researcher ID (WOS): J-5835-2016. Author ID (Scopus): 6603091281. ORCID: 0000-0003-0898-3075.
Nikolay V. Litviakov, DSc, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Researcher of the Laboratory of Genetic Technologies of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.

AUTHOR CONTRIBUTION

Valentina A. Belyavskaya: general project management, analysis of the results of scientific work, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, development of the concept of scientific work, problem statement, information search, systematization and analysis of the material.
Nadezda V. Cherdyntseva: general project management, analysis of the results of scientific work, development of the research concept, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.
July G. Kzhyshkovska: general project management, analysis of the results of scientific work, critical review with the introduction of valuable intellectual content, conception and design.
Nikolay V. Litviakov: analysis of the results of scientific work, introduction of valuable intellectual content.

Funding

The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement dated September 29, 2021 No. 075-15-2021-1073 "Genetic and epigenetic editing of tumor cells and microenvironment to block metastasis".

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-145-155
УДК: 616.681+616.65]-006.6:575.113

Для цитирования: *Veena S.C., Mohammed V., Veerabathiran R.* Систематический обзор исследований ассоциации рака яичников и предстательной железы с мутациями генов *BRCA1* и *BRCA2*. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 145–155. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-145-155
For citation: *Veena S.C., Mohammed V., Veerabathiran R.* A systematic review on the association between ovarian and prostate cancer with *BRCA1* and *BRCA2* gene. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 145–155. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-145-155

A SYSTEMATIC REVIEW ON THE ASSOCIATION BETWEEN OVARIAN AND PROSTATE CANCER WITH *BRCA1* AND *BRCA2* GENE

Chitra Veena Sarpparajan, Vajagathali Mohammed, Ramakrishnan Veerabathiran

Human Cytogenetics and Genomics Laboratory, Faculty of Allied Health Sciences, Chettinad Hospital and Research Institute, Chettinad Academy of Research and Education, Kelambakkam, Chennai, India 603103, Chennai, India. E-mail: rkgenes@gmail.com

Abstract

Background. *BRCA1* and *BRCA2* were discussed as the basis of inherited adenocarcinoma and breast and ovarian malignancy. Ovarian cancer is uncommon in women below 40 years of age, and prostate cancer mainly occurs in older men cause 90 % in those above sixty-five. **Objective.** The main objective of this paper is to investigate the relationship between ovarian and prostate cancer with the *BRCA1* and *BRCA2* genes. **Material and Methods.** The ovarian and prostate cancer mechanism is discussed in detail, and their preventive measures with screening techniques are also demonstrated. This systematic review collected the related articles from online databases using the key terms ovarian cancer, prostate cancer, *BRCA* genes, mutation, polymorphism, carcinoma, sarcoma, and genetic association. **Results.** Based on the obtained information, it is found that the *BRCA* genes are highly associated with prostate cancer in men, and in women, it is significantly linked with breast cancer than ovarian cancer. **Conclusion.** Therefore, early diagnosis and genetic testing for *BRCA1&BRCA2* genes in both men and women are necessary. In some cases, these genes might even cause different types of cancer like pancreatic cancers. Identifying individuals with tumour-HRD through mutations in the homologous repair pathway and determining this gene expression is essential to improve treatment techniques developed during the previous decade and rapidly make their way into clinical trials practice. However, the safe introduction of these medicines into everyday practice will require a thorough understanding of treatment targets and associated adverse effects.

Key words: Ovarian cancer, prostate cancer, *BRCA1*, *BRCA2*, **mutated allele.**

СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ АССОЦИАЦИИ РАКА ЯИЧНИКОВ И ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С МУТАЦИЯМИ ГЕНОВ *BRCA1* И *BRCA2*

Chitra Veena Sarpparajan, Vajagathali Mohammed, Ramakrishnan Veerabathiran

Лаборатория цитогенетики и геномики человека, факультет смежных медицинских наук, Больница и научно-исследовательский институт Четтинада, Научно-образовательная академия Четтинада, Келамбаккам, Ченнай, Индия
Ченнай, 603103, Индия. E-mail: rkgenes@gmail.com

Аннотация

Актуальность. Наследственные мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* увеличивают риск возникновения аденокарциномы простаты и карциномы молочной железы и яичников. Рак яичников редко встречается у женщин моложе 40 лет, рак предстательной железы в основном встречается у пожилых мужчин, в 90 % случаев – старше 65 лет. **Цель исследования** – исследовать взаимосвязь рака яичников и

✉ **Ramakrishnan Veerabathiran,** rkgenes@gmail.com

простаты с генами *BRCA1* и *BRCA2*. **Материал и методы.** В обзоре обсуждается механизм возникновения рака яичников и предстательной железы, а также меры их профилактики с помощью методов скрининга. Проанализированы базы данных on-line с использованием ключевых слов «рак яичников», «рак предстательной железы», «гены *BRCA*», «мутация», «полиморфизм», «карцинома», «саркома» и «генетическая ассоциация». **Результаты.** На основании полученной информации установлено, что гены *BRCA* тесно связаны с раком предстательной железы у мужчин и в большей степени ассоциированы с раком молочной железы, чем с раком яичников у женщин. **Заключение.** Необходимы ранняя диагностика и генетическое тестирование генов *BRCA1* и *BRCA2* у мужчин и у женщин. В некоторых случаях эти гены могут вызывать и другие виды рака, например рак поджелудочной железы. Выявление лиц с помощью HRD-тестирования (выявление дефицита гомологичной рекомбинации) и определения экспрессии этого гена имеет большое значение для улучшения эффективности методов лечения, разработанных в последние десятилетия. Однако внедрение этих методов в повседневную практику потребует глубокого понимания целей лечения и побочных эффектов.

Ключевые слова: рак яичников, рак предстательной железы, *BRCA1*, *BRCA2*, мутантный аллель.

Introduction

Cancer tops as one of the significant reasons for demise worldwide, accounting for 410 million deaths each year. Current cancer treatments include surgery, radiotherapy, and the utilization of chemotherapeutic drugs, which frequently destroy healthy cells and give rise to virulent cells in patients. As an outcome, researchers are looking for ways to eliminate only cancerous cells [1]. Worldwide ovarian carcinoma classifies as the seventh most familiar carcinoma in females. It also ranks as the 8th most reason for cancer death. Ovarian cancer (OC) is uncommon in women below 40 years of age. Mutations in *BRCA1&2* genes lead to inherent ovarian carcinoma [2] and prostate cancer (PC) are illustrated in fig. 1. As of now, it has become one of the significant conversant types of carcinomas among males, and it stands as the 2nd main leading reason for demise in men. This cancer mainly occurs in older men causes 90 % of demise, and it arises in men above the age of 65 years [3]. The comprehensive lifespan risk of maturing OC is evaluated to be one in seventy, which gives us a percentage of 1.43 %. 75 % of patients identified as affected with OC present with advanced (stage III or IV) disease [4]. Advised proof indicates that most women who suffer from OC undergo heterogenetic non-specific symptoms in the year before diagnosis. This disease is not often recognized until an advanced stage, which

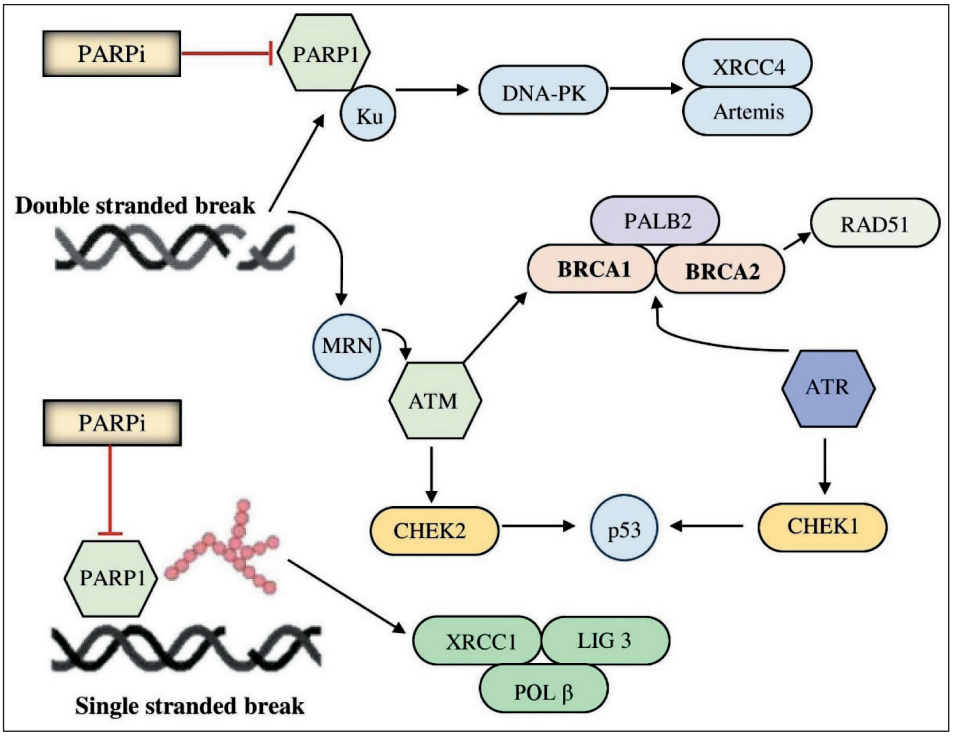


Fig. 1. Role of *BRCA* genes in the progression of cancer with PARP inhibitors, when a double stranded break occurs, it progresses to the MRN complex which further develops as ATM (ataxia telangiectasia mutated gene) which divides into two pathways, as *BRCA* genes or *CHEK2* gene. When a single stranded break occurs, it progresses to XRCC1, LIG 3, and POLβ

Рис. 1. Роль генов *BRCA* в развитии рака при применении ингибиторов PARP, при возникновении двухцепочечного разрыва происходит активация комплекса MRN с последующим вовлечением ATM (мутированный ген атаксии телеангиэктазии), что сопровождается инициацией двух путей при участии генов *BRCA* и *CHEK2*. В случае одноцепочечного разрыва происходит активация комплекса, состоящего из XRCC1, LIG 3 и POLβ

primarily expands mortality and morbidity. Surgery accompanied by platinum-basic chemotherapy is the normal customary treatment pathway for ovarian cancer. As of now, it results in no recognized inhibitory measures, and there has not yet been a productive screening tool for OC [5]. Most patients with progressive stages of the PC presently respond to the current treatment such as hormonal therapy, radiotherapy, or chemotherapy. However, only in the beginning cause as the PC progresses, it gets widespread and evolves to a stage where it becomes resistant to the present prostate cancer therapeutic methods. As for PC, there has still not yet been any conclusion of direct evidence that shows that early observation and remedy improve the lifespan or standard of living, the effect of PC screening remains disputable [6].

Risk Factors

It remains unrevealed how ovarian carcinoma develops, and the events are commencing it. Epidemiologically, some evolving hazardous factors may lead to OC growth, some of which are discovered, including nulliparity, late menopause, early menarche, family ancestry, and elderliness in North America [7]. The lifetime count of menstruation cycles is also related to the chance of developing OC. The usage of fertility drugs also probability leading to ovarian cancer; however, the findings remain inconsistent. Overall, the occurrence of ovarian malignancy is excessive in perimenopause and post-menopause. Greater height and overweight were also related to the risks of OC [8]. The most significant subset risk for OC is females who bear pernicious *BRCA1* or *BRCA2* genes. Females who bear *BRCA1* gene mutations have more risk for OC in their late thirties, and similar for females who bear *BRCA2* gene mutations have more risk for OC in their late forties [9]. Approximately, about 85 % of PC cases are diagnosed only for men aged above 65 years. By the age of 65 years, the disease's risk varies from 0.5 % to 20.0 % globally. Family inherent is now an established risk factor for PC; this was studied and confirmed by subsequent cohort and case-control studies [10]. Smoking cigarettes can also serve as a determinant condition for PC; numerous studies have found this. Vasectomy may expand the risk of attaining PC cause it has been observed that men who undergo vasectomy have more levels of circulating testosterone [11]. Differences in dietary habits can also be a risk for PC to occur, Nutrients which also comprises of carbohydrates, fats, proteins, polyphenols, and vitamins like A, B, and E, the conclusion of the mentioned nutrients may also be demonstrated by many mechanisms which also consists of swelling, the activity of sex hormones and antioxidant effects [12]. Spontaneously sequencing of all intron boundaries and codifying exons is included in *BRCA1*/2 gene genetic screening, and new techniques can detect broad deletions and insertions, which may even involve a single or more complete exons. A negative, positive or non-informative result can be obtained from a genetic test. The NCCN Prostate Cancer Guidelines recommend that somatic and germline testing panels also give results to Lynch syndrome-linked genes like *MLH2, MSH6, PMS2, and MSH1)* and also homologous recombination genes *(PALB2, BRCA1/2 CHEK2, ATM)* [35]. This review investigates the relationship between ovarian and prostate cancer with the *BRCA1* and *BRCA2* genes. The ovarian and prostate cancer mechanism is discussed in detail, followed by their preventive measures with screening techniques are also demonstrated [13].

***BRCA1 (Breast Cancer 1)* gene**

In the year 1994 *BRCA1* gene was recognized and cloned based on the relation to premature onset breast carcinoma and breast-ovarian malignancy syndromes in females. About 40–45 % of inherent mutations of this gene account for hereditary cancer [14]. This tumor suppressor is also crucial for the growth of embryonic cells and expected growth. *BRCA1* genes are also engaged in cell division regulation, deoxyribonucleic acid repair and damage, and differentiation of cells [15]. *BRCA1* mutations are detected on the 17q12-21 of the chromosome and cipher a protein with 1863 amino acids in humans. *BRCA1* mutations cause breast and ovarian carcinoma, and they also may or may not cause PC in men [16]. *BRCA1* was the first breast malignancy suspected gene found; it covers around 100 kb on the long arm of chromosome 17 (17q21.3), from which a 7.8-kb mRNA is produced, which encodes an 1863-amino-acid protein, and comprises 24 exons, including a relatively significant exon 11. Another word used for the *BRCA1* gene is known as the caretaker of the genome as it intricates in maintaining genome stability [17]. Control of proliferation is another significant role of *the BRCA1* gene for ovarian and prostate cancer is explained in Table 1. The *BRCA1* gene also inhibits estrogen receptor signaling; it is presumed that interference of estrogenic stimulant of epithelial mammary cell growth by *BRCA1* may vanquish mammary tumorigenesis. However, the interaction of *BRCA1* with the estrogen receptor task does not reasonably describe the relationship of *BRCA1* mutations to OC. It is very noticeable that *BRCA1* plays a chief role in cell-mediated response to deoxyribonucleic acid damage because *BRCA1* does the transcription-coupled repair, microhomology adjoining, non-homologous end-joining and homologous recombination [18]. Women who carry a solitary mutated *BRCA1* allele are exposed to ovarian and breast carcinoma, but it does not lead to cancer development; cancer development requires the destruction of allelomorphs that are wild in type that expresses itself as a carcinoma suppressor gene [19].

***BRCA2 (Breast Cancer2)* gene**

BRCA2 gene, which is responsible for inherent ovarian & breast cancer, was found and reported in 1995. After 15 months of *BRCA1* gene discovery, *BRCA2* gene was discovered in most common SNPs

Table 1/Таблица 1

Most commonly mutated SNPs in the *BRCA1* gene for ovarian and prostate cancer and explained in the location of chromosomes, alleles, function, and the clinical significance of the SNPs

Наиболее часто мутирующие SNP в гене *BRCA1* при раке яичников и предстательной железы с локализацией на хромосомах, обозначением аллелей, объяснением функции белков и клинической значимостью

SNPs/ ОНП	Chromosomal location/ Хромосомная локализация	Alleles/ Аллели	Function/Функция	Clinical Significance/ Клиническая значимость	Reference/ Ссылка
rs799917	chr17:43092919	G>A/G>C/G>T	Non-synonymous codon, Missense variant/ Несинонимичный кодон, миссенс вариант	Conflicting interpretations of pathogenicity/ Противоречивые интерпретации патогенности	[71]
rs1799950	chr17:43094464	T>C	Missense variant, Intron variant/ Миссенс вариант, интронный вариант	Uncertain – significance, benign/ Неопределенное значение, доброкачественный	[71]
rs1799966	chr17:43071077	T>A/T>C	Missense variant, noncoding transcript/ Миссенс вариант, некодирующий транскрипт	Likely-benign, conflicting-interpretations of pathogenicity/ Вероятно доброкачественные, противоречивые интерпретации патогенности	[72]
rs16941	chr17:43092418	T>A/T>C/T>G	Missense variant, Intron variant/ Миссенс вариант, интронный вариант	Uncertain – significance, likely – benign/ Неопределенное значение, вероятно доброкачественный	[72]
rs28897672	chr17:43106487	A>C/A>G/A>T	Missense variant, coding sequence variant/ Миссенс вариант, вариант кодирующей последовательности	Likely – pathogenic/ Вероятно доброкачественный	[59]

Table 2/Таблица 2

Most commonly mutated SNPs in the *BRCA2* gene for ovarian and prostate cancer and explained in the location of chromosomes, alleles, function, and the clinical significance of the SNPs

Наиболее часто мутирующие SNP в гене *BRCA2* при раке яичников и предстательной железы с локализацией на хромосомах, обозначением аллелей, объяснением функции белков и клинической значимостью

SNPs/ ОНП	Chromosomal location/ Хромосомная локализация	Alleles/ Аллели	Function/ Функция	Clinical significance/ Клиническая значимость	Reference/ Ссылка
rs1799944	chr13:32337326	A>G	Missense variant, coding sequence variant/ Миссенс вариант, вариант кодирующей последовательности	Benign/ Доброкачественный	[73]
rs766173	chr13:32332343	A>C/A>G	Missense variant, coding sequence variant/ Миссенс вариант, вариант кодирующей последовательности	Likely – benign, conflicting interpretations of pathogenicity/ Вероятно доброкачественные, противоречивые интерпретации патогенности	[74]
rs144848	chr13:32332592	A>C/A>G	Missense variant, coding sequence variant/ Миссенс вариант, вариант кодирующей последовательности	Benign, uncertain – significance/ Доброкачественный, неопределенной значимости	[75]
rs4987117	chr13:32340099	C>T	Missense variant, coding sequence variant/ Миссенс вариант, вариант кодирующей последовательности	Uncertain – significance, Benign – likely benign/ Неопределенной значимости, вероятно доброкачественный	[50]
rs1799954	chr13:32340455	C>A/C>T	Missense variant, coding sequence variant/ Миссенс вариант, вариант кодирующей последовательности	Benign, uncertain – significance/ Доброкачественный, неопределенной значимости	[51]

for ovarian and prostate cancer are explained in Table 2. *BRCA2* acts as a regulator for double-strand break repair [20]. The gene *BRCA2* is located in a central 1.4 megabsae interval flanked by two markers, D13S1444 and D13S310. The composition of *BRCA2* is 27 exons distributed over approximately seventy kb of genomic DNA [21]. The inherent contagious mutants in *BRCA2* grant a moderate cumulative peril probability by seventy. Moreover, about 60% possibility to mature breast malignancy in amalgamation with a grown OC peril probability exceeding about 18 %.

All over the globe, more than two-thousand distinctive *BRCA2 VUS* have been recognized, including silent and missense substitutions, intronic variants, and small in-frame deletions and insertions [22]. *BRCA2* gene is a more commonly found gene that is altered in a premature set course of PC in young men below the age of Sixty-Five. *BRCA2* mutation has an excessive probability of maturing to a progressive stage of the disease, which sums up the affected to be short-lived [23]. Although *BRCA2* mutations flop when it comes to repairing DNA duplex by homologous recombination, which then out turns in rising gene errors. *BRCA2* plays a significant role in cell division during the S and G2 phases [24]. Double-strand break repair is the resulting purpose of the gene after the cell division. According to that, deficient cells, that is, cells that do not carry *the BRCA2* gene, undergo chromosomal rearrangements such as deletions and translocations [25]. The only factor that is still left undiscovered by monitoring these *BRCA2*-deficient cells is that they also have a greater prevalence in chromosome number alterations. Evidence states that *the BRCA2* gene also involves itself in cytokinesis, and the chromosomal abnormalities glimpsed on the deficient cells are part of a direct reaction of *BRCA2* dysfunction. *BRCA2* is also profoundly called a "chromosome-instability gene" [26]. At least 2 different cancer phenotypes are exhibited by the *BRCA2* germline mutation carriers, in which the first cancer phenotype are *BRCA2* genes that have a perilous probability of breast or ovarian malignancy but when compared to the second cancer phenotype, which is presented by *BRCA2* germline mutation carriers have no inherent chronicle of pancreatic or ovarian or breast cancer, these sorts of occurrence can also be called sporadic [27]. So, therefore, inherent mutations of the *BRCA2* gene concludes to a multi carcinoma phenotype which compromises breast cancer (can occur in female and male), ovarian cancer, pancreatic carcinoma, prostate cancer, ocular cancer and other melanomas cancer, laryngeal cancer, colon malignancy, and stomach cancers. Germline mutations and Somatic mutations of the DNA Damage Response, in short, known as *DDR, BRCA2* genes rise in mCRPC, which can be expanded as metastatic castration-resistant prostate cancer in contrast to primary localized prostate cancer, the aspect of *BRCA2* alteration in primary confined prostate cancer is not distinguished well enough [28].

BRCA genes influence Ovarian and Prostate Cancer

Family chronology is the significant risk factor for OC [29]. WHO has reclassified OC, previously known as surface epithelial-stromal cancers, into five histotypes: low-grade serous carcinoma, high-grade serous carcinoma, clear cell carcinoma, endometrioid carcinoma, and mucinous carcinoma [30]. Spontaneous mutations cause the majority of ovarian tumors. A hereditary tendency is responsible for about 10 % of instances. The most significant category of females at danger for ovarian carcinoma is those with detrimental alterations in the *BRCA1* or *BRCA2* genes. Several genes have been discovered to be when altered, raise a woman's risk of OC significantly. *DNA* mismatch repair genes, *BRCA1&2* are among them. Familial mutations in *DNA* repair genes and HOXB*13* such as *CHEK2*, *RAD51D, BRCA2*, *PALB2, BRCA1, and ATM have* been discovered by genomic investigations for PC. *BRCA1*-associated OC (Fig. 2) has been found that they have more rate of serous adenocarcinoma, and OC in *BRCA1*-certain families mostly to be expected

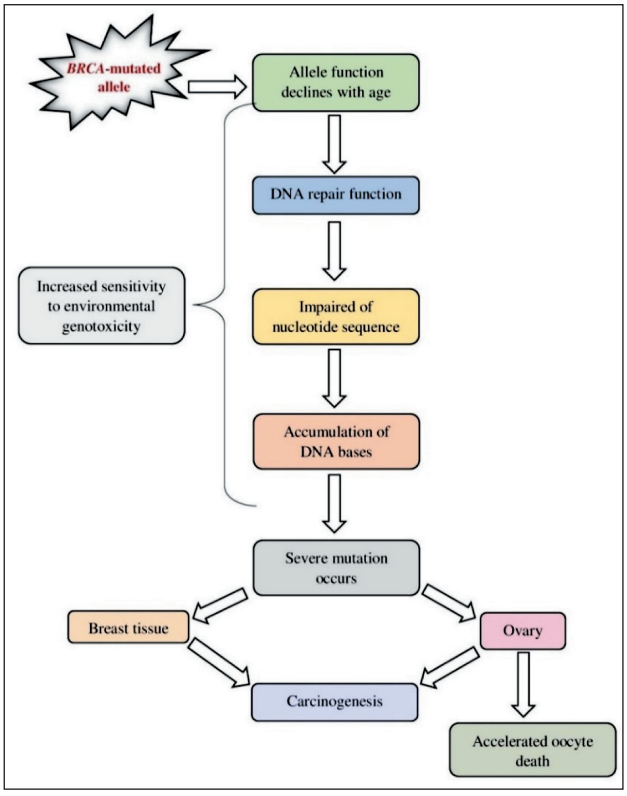


Fig. 2. Formation of ovarian cancer due to *BRCA* genes mutated allele, as allele function declines with age it leads to impaired nucleotide sequence and further accumulation of DNA bases under high sensitivity to environmental genotoxicity which leads to severe mutation, thus when occurred with ovary, leads to ovarian carcinoma

Рис. 2. Развитие рака яичников при наличии мутантного аллеля *BRCA*; поскольку репарационные возможности ДНК снижаются с возрастом, то происходит нарушение последовательности нуклеотидов, накопление оснований с высокой чувствительностью к генотоксическим факторам окружающей среды и развитие мутаций; в случае развития мутаций в клетках яичников развивается карцинома яичников

of high-grade and non-mucinous than malignancies in *BRCA1*-uncertain families [31]. Mutations or alterations in *BRCA1* are commonly seen in three domains: *BRCA1* C-terminus encoded by exons 16–24 and the amino acids 1650–1863 or BRCT domain, the N-terminal RING domain constitutes of exons 2–7 (amino acids 1–109), the coding sections of exons 11–13, in carcinoma patients [32]. At 40 years of age, the risk of OC among *BRCA1*-mutation carriers was minimal.

BRCA2 mutations that occur in families with one or more incidences of OC tend to cluster in the "ovarian cancer cluster region", a core section of the gene [33] limited by nucleotides 3059–4075 and 6503–6629. Ovarian Cancer Cluster Region mutations, in short, known as OCCR mutations, were allied to a less perilous probability of breast carcinoma as well as a significantly more perilous probability of ovarian carcinoma. Women with *BRCA1* (17q21 chromosomal) alterations have a higher risk of OC with a lifespan risk of 24 % to 40 %. Women with *BRCA2* (13q12 chromosomal) gene alterations have a comparatively more perilous probability of OC of 18–24 %. Other neoplasms, such as breast and colon cancer, can increase the chance of getting OC in families with a history of OC. Small deletions, insertions, or punctiform alterations in *BRCA2* and *BRCA1* genes result in the generation of stop codons, resulting in nonfunctional truncated proteins [34]. *BRCA1* and *BRCA 2* protein misregulation and altered expression aggravate sporadic types of breast carcinoma. The deficits in the gene's function result in the deposition of genetic abnormalities, driving cancer formation. PC is the primary average noncutaneous cancer in males all over the globe, with a likely predicted 366,000 deaths and 1.600,000 cases each year [35]. Men with advanced PC and Intraductal histology in men and Men of Ashkenazi Jewish descent and men who meet the criteria for family history [36]. PC is explained by the abnormal division of cells found in the prostate gland, which concludes in atypical prostate gland growth. Malignant cells travel to furthermore regions of the body, such as the spinal cord, pelvic and retroperitoneal lymph nodes, brain, rectum, bladder, and bone resulting in demise from prostate carcinoma [37]. *BRCA2* and *BRCA1* increase the probability of malignancies of females' fallopian tubes, ovary, peritoneum, and breast. Men who carry *BRCA2* or *BRCA1* alterations are likewise at peril probability for malignancy. *BRCA2* and *BRCA1* have both been suspected in PC in various investigations. In these carriers of *BRCA1* mutations for men, the prostate is the highest reported region of malignancy peril. The link between *BRCA2* and PC risk is more consistent.

Men younger than 65 years were more vulnerable to PC [38]. *BRCA2* alteration carriers have a fivefold increased probability of PC [39]. In research, two *BRCA2* alterations were recognized among patients affected and diagnosed with PC before the age of 60 years, and in a study of 38, it was pinpointed with familial clustering of PC (Fig. 3). No *BRCA1* mutation was found, so these *BRCA2* alterations were seen with patients diagnosed with PC before sixty years [40]. The Ovarian Cluster Central Region has recently been linked to a less perilous probability of PC of 19.2 % before age 80 years, compared to 33.6 % for mutations outside the Ovarian Cluster Central Region. Alterations found in the Edwards et al. study of 234 early-onset prostate cancer patients in the United Kingdom were outside of the OCCR. Recent findings show that common PC susceptibility genetic variants influence PC probability in *BRCA2* and *BRCA1* carriers [41].

Fallopian tube carcinoma, melanoma, endometrial, pancreatic, prostate, and colorectal carcinoma have all been linked to *BRCA* pathogenic mutations [42]. More than 2900 *BRCA1* variants and 3400 *BRCA2* variants are registered as pathogenic germline mutations. The retention rate of both the genes was 8.3–14.7 %, in which *BRCA1* accounted for 3.4–9.9 % and *BRCA2* accounted for 4.7–5.3 % for ovarian cancer [43]. The race that people belong to and their family history along with inherited syndromes can increase the risk of developing prostate carcinoma [44]. Ovarian carcinoma with the *BRCA1* pathogenic variation has more aggressive clinical and pathological characteristics

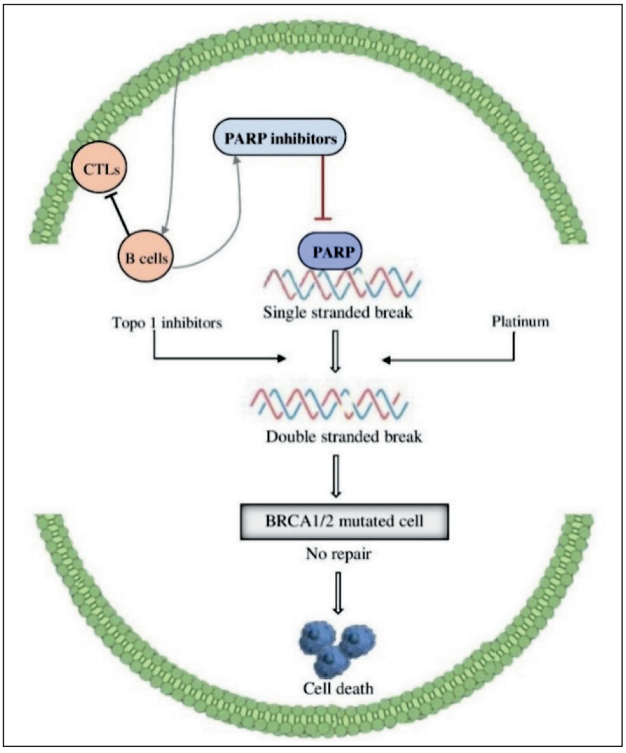


Fig. 3. *BRCA* mutated cells in prostate cancer with PARP inhibitors cause a single-stranded break initially followed by a double strand, which leads to *BRCA1* and *2* mutated cells and ends with cell death

Рис. 3. Применение ингибиторов PARP в клетках опухоли предстательной железы с наличием мутации *BRCA* связано с развитием одноцепочечных разрывов ДНК, затем – двухцепочечных разрывов, с формированием мутаций в генах *BRCA1* и *2*, что заканчивается гибелью клеток предстательной железы

than ovarian carcinoma with the *BRCA2* pathogenic variant. *BRCA* genes are two cancer-suppressing genes that are required for DNA repair activation in response to cellular stress. Moreover in chromatin remodelling, transcription management, cell-cycle regulation, and DNA-repair mechanisms, both the *BRCA* genes play critical roles [45]. A recent study by Sun, et.al also states that HIV also commonly known as AIDS can develop prostate cancer [46]. In women, when affected with atypical ovarian endometriosis, even though our knowledge of considering it as an risk factor is still in study, there has been many incidence of ovarian carcinoma in people affected by endometriosis [47].

Molecular diagnosis

There has been much development in OC screening and prevention. Since the mid-1980s, researchers have established an OC screening technique to minimize disease mortality [48]. CA125 (Cancer Antigen 125) is a screening method for OC, and it was discovered in 1981, and extensive research has been done on its link to OC. To overcome the disadvantages of CA125, it is paired with transvaginal sonography. Ultrasound screening is another screening technique [49]. Erroneous positive screening results resulted in a 15 % significant complication risk (infection, direct surgical, cardiorespiratory, and other) in women undergoing surgery. Yearly ovarian cancer screening does not lower death, but it does 'raise intrusive medical procedures and related complications,' according to the authors [50]. To increase the sensitivity and specificity of the CA125 level, a multimodal screening algorithm was created. The ROCA algorithm is the algorithm's name (Risk of Ovarian Carcinoma Algorithm). In the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening, this strategy was combined with ultrasound and a systematic evaluation and follow-up [51]. PC testing is divisive. PSA-based screening has resulted in a substantial shift in disease stages ranges from mostly cannot be treated to primarily treatable.

Moreover, considering the US prostate carcinoma mortality rate, there is a peak down the reduction of 53 %. However, worries have arisen regarding too much diagnosis and therapy of screen-detected indolent tumors [52]. Serum PSA was approved for the first time in 1986 to assess PC treatment response and monitor for recurrence. However, PSA tests are inherently flawed. PSA is not produced or secreted by all PC, and an abnormal PSA level does not always indicate the presence of cancer. The ERSPC and PLCO trials produced contradictory results, with the ERSPC demonstrating a reduction in PC mortality while the PLCO demonstrated no difference in mortality between the screening and control arms [53].

Many biomarkers are used to diagnose ovarian cancer recently such as HE4, which stands for Human Epididymis Protein 4. Some of the sensitive markers include Risk of Malignancy Index (RMI) and also Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA), these were discovered to elevate the efficiency of biomarkers [54]. CA125, a serum biomarker routinely used by physicians to estimate preoperative cancer risk, performs poorly in premenopausal women, initial cancers, and certain histological subgroups. OVA1 is a multivariate index assessment that measures the malignancy probability of an adnexal mass by combining CA125 and four other serum proteins. CA125 missed 63 % of early-stage tumours that OVA1 properly detected [55]. Amongst all the biomarkers mentioned above, HE4 is observed to be the most dependable marker for ovarian carcinoma detection, whereas ROMA is said to have greater sensitivity than other markers [56].

Molecular profiling can be shortly described as the checkup of protein, RNA and DNA from the affected person's carcinoma through the tumor cells collected from biopsy. Molecular profiling initially started with just DNA profiling, as years went by, they have developed various other molecular profiles now for *BRCA* genes, PCR expanded as Polymerase Chain reaction, In situ hybridization (ISH), FISH test and is more specific to Sanger sequencing, Pyrosequencing, NGS and Fragment analysis, there are associated with RNA and DNA. For protein, Immunohistochemistry (IHC) is used [57].Individual *BRCA1* and *BRCA2* gene testing has mostly been substituted by multigene panel testing. DNA is extracted from formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tumour tissue biopsies from either old or current tumour samples for targeted cancer genomic profiling. After platinum exposure, 10–28 % of cancers when tested with homologous recombination deficiency may have a *BRCA* reversion mutation, restoring hormone receptor competence [58].

Cancer prevention

First, there are non-surgical alternatives to OC prevention, such as oral contraceptives, parity, multiparity, and breastfeeding. Second, reducing inflammation by medication, dietary changes, and increased physical activity. Previous research has found that parous women with *BRCA1* mutations have a significantly lower incidence of OC [59]. Westernized diets have lower fiber intake and fewer fruits and vegetables compared to diets in underdeveloped nations. Compared to the general population, people who tend to have more veggies and fruits have a comparatively lesser probability of maturing carcinoma [60]. The United States Preventive Services Task Force modernized this guidance in 2005, affirming that the advantages of *BRCA1* and *BRCA2* testing overshadowed the risks, and "strongly recommended" that genetics services be provided to at-risk individuals. Prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy lowers OC incidence in women at high risk of developing ovarian epithelial carcinoma, particularly those with *BRCA2* and *BRCA1* mutations [61].

Novel therapeutics

In *BRCA* mutation-positive patients, there are three options for lowering the risk of breast and

ovarian carcinoma: monitoring, chemoprevention, and risk-reducing surgical surgery [62]. OCPs that exclusively contain progesterone has been linked to a lower incidence of OC, confirming the theory that constant menstruation contributes to ovarian carcinogenesis [63]. One of the leading reasons for mortality and morbidity in this modernized planet, PC should be a curable disease. Identifying distinct contagious pathogens like etiologic agents for PC advancement would open the door to prevention strategies based on antibiotics or vaccines. Epigenetic genome mutations, which alter gene purpose but not gene sequence, have long piqued the interest of carcinoma biologists as a potential selection for malignancy avoidance and treatment. However, significant phase 3 trials of PC prevention agents, such as vitamin E, finasteride, selenium, dutasteride, have shown and proved to be time-consuming (so many years), costly, and logistically perplexing. Till yet, there has been no clear clinical generative pathway or prostate cancer prevention drugs, from first-in-man trials to FDA registration trials [64]. Dietary guidelines for PC prevention are similar to cardiovascular and general entire health. They generally entail more vegetable and fruit consumption while lessening red meat and saturated fat consumption. Preclinical studies suggest that exercise influences tumor development by altering oxidative stress, whereas epidemiological and clinical data show that higher levels of exercise improve PC outcomes (Fig. 4) [65].

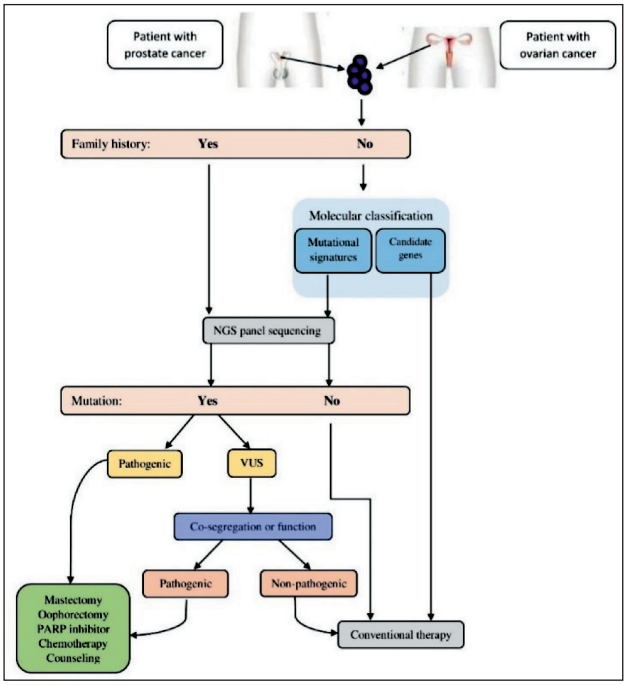


Fig. 4. Novel therapeutic strategies for ovarian and prostate cancer are available even with or without a family history, NGS panel sequencing must be done, to find out whether mutation occurs and then for further therapy

Рис. 4. Новые стратегии в лечении рака яичников и предстательной железы, в том числе и для больных без связи с семейным анамнезом; проведение секвенирования нового поколения ДНК опухолевых клеток (NGS) необходимо для детекции значимых мутации, а также для определения дальнейшей тактики лечения

The somatic mutations accumulate in epithelial cell populations during a patient's lifetime is thought to be substantially linked to prostate cancer. Oncogenes and tumour suppressor genes are both susceptible to these mutations. Alteration in gene transcription and/or translation, as well as functional abnormalities, result in a disruption of cell homeostasis. Genes that control cell growth, cell proliferation, and cell death are often mutated [66]. During recent years it is found that men with *BRCA2* germline mutations are more likely to have much high genomic instability in lumps. These lumps generally represent a distinctive molecular profile and involvement of intraductal carcinoma of the prostate (IDCP) pathology. These IDCP originate from the similar ancestral clone, later these lump cells can withstand sensitive prostate carcinoma (castration de novo), this makes the lump escape androgen deprivation therapy [67]. For the treatment of mild prostate carcinoma, high-intensity focused ultrasound is a less intrusive approach. Focal therapy is a treatment solution for low prostate cancer that has a 75 % cancer-free survival rate, a 99 % cancer-specific survival rate, and a 96 % metastasis-free survival rate in clinical trials [68].

PARP inhibitors help in the detection of locus determined loss of heterozygosity (LOH), it is now said to be the latest stratification factor in determining the drug effects. It looks into the deterioration of the *BRCA* genes purpose in the lump.PARP is necessary for nucleotide excision repair, which is used to restore DNA single-strand breaks. PARP inhibition causes a buildup of single-strand breaks in DNA and, subsequently, replication fork damage. Five PARP inhibitors are now available: olaparib, talazoparib, rucaparib, niraparib, and veliparib. The US Food and Drug Administration (FDA) has authorised olaparib, rucaparib, and niraparib for the treatment of ovarian carcinoma [69]. Docetaxal, taxanes and cabazitaxel are the conventional chemotherapy drugs which are actively used in the curing of carcinoma. With taxanes, *BRCA1* pathogenic variants were sort of resistant with microtubule-inhibition chemotherapies [70].

Conclusion

BRCA1 and *BRCA2* genes are conferred to cause hereditary ovarian and prostate cancer. Some of the significant risk factors include family history, nulliparity, early menarche, late menopause, increasing age, vasectomy, and a difference in dietary habits. Men of Ashkenazi Jewish descent and women in North America are affected more. Therefore, early diagnosis and genetic testing for these genes in both men and women are necessary; in some cases, these genes might even cause different types of cancer, such as pancreatic cancers. Identifying individuals with tumor HRD through mutations in the homologous repair pathway,

such as *BRCA1&2*, has become increasingly essential because of recent advancements in therapies. Several newly developed therapeutic ideas appear to be making their way into clinics with success. For example, after many consistent randomized clinical trials, advanced poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors have been accepted and are under innovation in late clinical phase investigations. However, despite the rapid pace of research in this field, there are still many unknowns about the factors that influence the sensitivity for detecting and tissue-specific spontaneity of these genetic variations. Thus, present study difficulties involve enlightening these mediated variables, gaining better insights into *BRCA1* and *BRCA2* biomedical function, and identifying the best therapeutic diagnosis for genetically susceptible.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Zaimy M.A., Saffarzadeh N., Mohammadi A., Pourghadamyari H., Izadi P., Sarli A., Moghaddam L.K., Paschepari S.R., Azizi H., Torkamandi S., Tavakkoly-Bazzaz J.* New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles. Cancer Gene Ther. 2017; 24(6): 233–43. doi: 10.1038/cgt.2017.16.

2. *Webb P.M., Jordan S.J.* Epidemiology of epithelial ovarian cancer. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017; 41: 3–14. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.08.006.

3. *Tenke P., Horti J., Balint P., Kovacs B.* Prostate cancer screening. Recent Results Cancer Res. 2007; 175: 65–81. doi: 10.1007/978-3-540-40901-4_5.

4. *Chobanian N., Dietrich C.S.* Ovarian cancer. Surg Clin North Am. 2008; 88(2): 285–99, vi. doi: 10.1016/j.suc.2007.12.002.

5. *Rooth C.* Ovarian cancer: risk factors, treatment and management. Br J Nurs. 2013; 22(17): 23–30. doi: 10.12968/bjon.2013.22.Sup17.S23.

6. *Jaworska D., Król W., Szliszka E.* Prostate Cancer Stem Cells: Research Advances. Int J Mol Sci. 2015; 16(11): 27433–49. doi: 10.3390/ijms161126036.

7. *Daly M., Obrams G.I.* Epidemiology and risk assessment for ovarian cancer. Semin Oncol. 1998; 25(3): 255–64.

8. *La Vecchia C.* Ovarian cancer: epidemiology and risk factors. Eur J Cancer Prev. 2017; 26(1): 55–62. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000217.

9. *Schmeler K.M., Sun C.C., Bodurka D.C., White K.G., Soliman P.T., Uyei A.R., Erlichman J.L., Arun B.K., Daniels M.S., Rimes S.A., Peterson S.K., Slomovitz B.M., Milam M.R., Gershenson D.M., Lu K.H.* Prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy compared with surveillance in women with BRCA mutations. Obstet Gynecol. 2006; 108: 515–20. doi: 10.1097/01.AOG.0000228959.30577.13.

10. *Patel A.R., Klein E.A.* Risk factors for prostate cancer. Nat Clin Pract Urol. 2009; 6(2): 87–95. doi: 10.1038/ncpuro1290.

11. *Pienta K.J., Esper P.S.* Risk factors for prostate cancer. Ann Intern Med. 1993; 118(10): 793–803. doi: 10.7326/0003-4819-118-10-199305150-00007.

12. *Matsushita M., Fujita K., Nonomura N.* Influence of Diet and Nutrition on Prostate Cancer. Int J Mol Sci. 2020; 21(4): 1447. doi: 10.3390/ijms21041447.

13. *Rosen E.M., Fan S., Pestell R.G., Goldberg I.D.* BRCA1 gene in breast cancer. J Cell Physiol. 2003; 196(1): 19–41. doi: 10.1002/jcp.10257.

14. *Paterson J.W.* BRCA1: a review of structure and putative functions. Dis Markers. 1998; 13(4): 261–74. doi: 10.1155/1998/298530.

15. *Kubista M., Rosner M., Miloloza A., Hofer K., Prusa A.R., Kroiss R., Marton E., Hengstschläger M.* BRCA1 and differentiation. Mutat Res. 2002; 512(2–3): 165–72. doi: 10.1016/s1383-5742(02)00063-7.

16. *Jhanwar-Uniyal M.* BRCA1 in cancer, cell cycle and genomic stability. Front Biosci. 2003; 8: 1107–17. doi: 10.2741/1131.

17. *Billack B., Monteiro A.N.* BRCA1 in breast and ovarian cancer predisposition. Cancer Lett. 2005; 227(1): 1–7. doi: 10.1016/j.canlet.2004.11.006.

18. *Chakraborty G., Armenia J., Mazzu Y.Z., Nandakumar S., Stopsack K.H., Atiq M.O., Komura K., Jehane L., Hirani R., Chadalavada K., Yoshikawa Y., Khan N.A., Chen Y., Abida W., Mucci L.A., Lee G.M., Nanjangud G.J., Kantoff P.W.* Significance of BRCA2 and RB1 Co-loss in Aggressive Prostate Cancer Progression. Clin Cancer Res. 2020; 26(8): 2047–64. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1570.

19. *Rudkin T.M., Foulkes W.D.* BRCA2: breaks, mistakes and failed separations. Trends Mol Med. 2005; 11(4): 145–8. doi: 10.1016/j.molmed.2005.02.003.

20. *Tavtigian S.V., Simard J., Rommens J., Couch F., Shattuck-Eidens D., Neuhausen S., Merajver S., Thorlacius S., Offit K., Stoppa-Lyonnet D., Belanger C., Bell R., Berry S., Bogden R., Chen Q., Davis T., Dumont M., Frye C., Hattier T., Jammulapati S., Janecki T., Jiang P., Kehrer R., Leblanc J.F., Mitchell J.T., McArthur-Morrison J., Nguyen K., Peng Y., Samson C., Schroeder M., Snyder S.C., Steele L., Stringfellow M., Stroup C., Swedlund B., Swense J., Teng D., Thomas A., Tran T., Tranchant M., Weaver-Feldhaus J., Wong A.K., Shizuya H., Eyfjord J.E., Cannon-Albright L., Tranchant M., Labrie F., Skolnick M.H., Weber B., Kamb A., Goldgar D.E.* The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds. Nat Genet. 1996; 12(3): 333–7. doi: 10.1038/ng0396-333.

21. *Mesman R.L.S., Calléja F.M.G.R., Hendriks G., Morolli B., Misovic B., Devilee P., van Asperen C.J., Vrieling H., Vreeswijk M.P.G.* The functional impact of variants of uncertain significance in BRCA2. Genet Med. 2019; 21(2): 293–302. doi: 10.1038/s41436-018-0052-2.

22. *Junejo N.N., AlKhateeb S.S.* BRCA2 gene mutation and prostate cancer risk. Comprehensive review and update. Saudi Med J. 2020; 41(1): 9–17. doi: 10.15537/smj.2020.1.24759.

23. *Kuang S., Li H., Feng J., Xu S., Le Y.* Correlation of BRCA2 gene mutation and prognosis as well as variant genes in invasive urothelial carcinoma of the bladder. Cancer Biomark. 2019; 25(2): 203–12. doi: 10.3233/CBM-182379.

24. *Kojic M., Yang H., Kostrub C.F., Pavletich N.P., Holloman W.K.* The BRCA2-interacting protein DSS1 is vital for DNA repair, recombination, and genome stability in Ustilago maydis. Mol Cell. 2003; 12(4): 1043–9. doi: 10.1016/s1097-2765(03)00367-8.

25. *Daniels M.J., Wang Y., Lee M., Venkitaraman A.R.* Abnormal cytokinesis in cells deficient in the breast cancer susceptibility protein BRCA2. Science. 2004; 306(5697): 876–9. doi: 10.1126/science.1102574.

26. *Hahn S.A., Greenhalf B., Ellis I., Sina-Frey M., Rieder H., Korte B., Gerdes B., Kress R., Ziegler A., Raeburn J.A., Campra D., Grützmann R., Rehder H., Rothmund M., Schmiegel W., Neoptolemos J.P., Bartsch D.K.* BRCA2 germline mutations in familial pancreatic carcinoma. J Natl Cancer Inst. 2003; 95(3): 214–21. doi: 10.1093/jnci/95.3.214.

27. *Lubinski J., Phelan C.M., Ghadirian P., Lynch H.T., Garber J., Weber B., Tung N., Horsman D., Isaacs C., Monteiro A.N., Sun P., Narod S.A.* Cancer variation associated with the position of the mutation in the BRCA2 gene. Fam Cancer. 2004; 3(1): 1–10. doi: 10.1023/B:FAME.0000026816.32400.45.

28. *Prat J., Ribé A., Gallardo A.* Hereditary ovarian cancer. Hum Pathol. 2005; 36(8): 861–70. doi: 10.1016/j.humpath.2005.06.006.

29. *Nakonechny Q.B., Gilks C.B.* Ovarian Cancer in Hereditary Cancer Susceptibility Syndromes. Surg Pathol Clin. 2016; 9(2): 189–99. doi: 10.1016/j.path.2016.01.003.

30. *Pharoah P.D., Ponder B.A.* The genetics of ovarian cancer. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2002; 16(4): 449–68. doi: 10.1053/beog.2002.0296.

31. *Paul A., Paul S.* The breast cancer susceptibility genes (BRCA) in breast and ovarian cancers. Front Biosci (Landmark Ed). 2014; 19(4): 605–18. doi: 10.2741/4230.

32. *Antoniou A., Pharoah P.D., Narod S., Risch H.A., Eyfjord J.E., Hopper J.L., Loman N., Olsson H., Johannsson O., Borg A., Pasini B., Radice P., Manoukian S., Eccles D.M., Tang N., Olah E., Anton-Culver H., Warner E., Lubinski J., Gronwald J., Gorski B., Tulinius H., Thorlacius S., Eerola H., Nevanlinna H., Syrjäkoski K., Kallioniemi O.P., Thompson D., Evans C., Peto J., Lalloo F., Evans D.G., Easton D.F.* Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. Am J Hum Genet. 2003; 72(5): 1117–30. doi: 10.1086/375033. Erratum in: Am J Hum Genet. 2003; 73(3): 709.

33. *Russo A., Calò V., Bruno L., Rizzo S., Bazan V., Di Fede G.* Hereditary ovarian cancer. Crit Rev Oncol Hematol. 2009; 69(1): 28–44. doi: 10.1016/j.critrevonc.2008.06.003.

34. *Wang G., Zhao D., Spring D.J., DePinho R.A.* Genetics and biology of prostate cancer. Genes Dev. 2018; 32(17–18): 1105–40. doi: 10.1101/gad.315739.118.

35. *Sokolova A.O., Cheng H.H.* Genetic Testing in Prostate Cancer. Curr Oncol Rep. 2020; 22(1): 5. doi: 10.1007/s11912-020-0863-6.

36. *Schatten H.* Brief Overview of Prostate Cancer Statistics, Grading, Diagnosis and Treatment Strategies. Adv Exp Med Biol. 2018; 1095: 1–14. doi: 10.1007/978-3-319-95693-0_1.

37. *Liede A., Karlan B.Y., Narod S.A.* Cancer risks for male carriers of germline mutations in BRCA1 or BRCA2: a review of the literature. J Clin Oncol. 2004; 22(4): 735–42. doi: 10.1200/JCO.2004.05.055.

38. *Ibrahim M., Yadav S., Ogunleye F., Zakalik D.* Male BRCA mutation carriers: clinical characteristics and cancer spectrum. BMC Cancer. 2018; 18(1): 179. doi: 10.1186/s12885-018-4098-y.

39. *Gayther S.A., de Foy K.A., Harrington P., Pharoah P., Dunsmuir W.D., Edwards S.M., Gillett C., Ardern-Jones A., Dearnaley D.P., Easton D.F., Ford D., Shearer R.J., Kirby R.S., Dowe A.L., Kelly J., Stratton M.R., Ponder B.A., Barnes D., Eeles R.A.* The frequency of germ-line mutations in the breast cancer predisposition genes BRCA1 and BRCA2 in familial prostate cancer. The Cancer Research Campaign/British Prostate Group United Kingdom Familial Prostate Cancer Study Collaborators. Cancer Res. 2000; 60(16): 4513–8. Erratum in: Cancer Res 2000; 60(24): 7185.

40. *Nyberg T., Frost D., Barrowdale D., Evans D.G., Bancroft E., Adlard J., Ahmed M., Barwell J., Brady A.F., Brewer C., Cook J., Davidson R., Donaldson A., Eason J., Gregory H., Henderson A., Izatt L., Kennedy M.J., Miller C., Morrison P.J., Murray A., Ong K.R., Porteous M., Pottinger C., Rogers M.T., Side L., Snape K., Walker L., Tischkowitz M., Eeles R., Easton D.F., Antoniou A.C.* Prostate Cancer Risks for Male BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: A Prospective Cohort Study. Eur Urol. 2020; 77(1): 24–35. doi: 10.1016/j.eururo.2019.08.025.

41. *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.

42. *Lee A., Moon B.I., Kim T.H.* BRCA1/BRCA2 Pathogenic Variant Breast Cancer: Treatment and Prevention Strategies. Ann Lab Med. 2020; 40(2): 114–21. doi: 10.3343/alm.2020.40.2.114.

43. *Yoshida R.* Hereditary breast and ovarian cancer (HBOC): review of its molecular characteristics, screening, treatment, and prognosis. Breast Cancer. 2021; 28(6): 1167–80. doi: 10.1007/s12282-020-01148-2.

44. *Gandaglia G., Leni R., Bray F., Fleshner N., Freedland S.J., Kibel A., Stattin P., Van Poppel H., La Vecchia C.* Epidemiology and Prevention of Prostate Cancer. Eur Urol Oncol. 2021; 4(6): 877–92. doi: 10.1016/j.euo.2021.09.006.

45. *Orban T.I., Olah E.* Emerging roles of BRCA1 alternative splicing. Mol Pathol. 2003; 56(4): 191–7. doi: 10.1136/mp.56.4.191.

46. *Sun D., Cao M., Li H., Ren J., Shi J., Li N., Chen W.* Risk of prostate cancer in men with HIV/AIDS: a systematic review and meta-analysis. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2021; 24(1): 24–34. doi: 10.1038/s41391-020-00268-2.

47. *Králíčková M., Laganà A.S., Ghezzi F., Vetvicka V.* Endometriosis and risk of ovarian cancer: what do we know? Arch Gynecol Obstet. 2020; 301(1): 1–10. doi: 10.1007/s00404-019-05358-8.

48. *Menon U., Karpinskyj C., Gentry-Maharaj A.* Ovarian Cancer Prevention and Screening. Obstet Gynecol. 2018; 131(5): 909–27. doi: 10.1097/AOG.0000000000002580.

49. *Gupta K.K., Gupta V.K., Naumann R.W.* Ovarian cancer: screening and future directions. Int J Gynecol Cancer. 2019; 29(1): 195–200. doi: 10.1136/ijgc-2018-000016.

50. *Buys S.S., Partridge E., Black A., Johnson C.C., Lamerato L., Isaacs C., Reding D.J., Greenlee R.T., Yokochi L.A., Kessel B., Crawford E.D., Church T.R., Andriole G.L., Weissfeld J.L., Fouad M.N., Chia D., O'Brien B., Ragard L.R., Clapp J.D., Rathmell J.M., Riley T.L., Hartge P., Pinsky P.F., Zhu C.S., Izmirlian G., Kramer B.S., Miller A.B., Xu J.L., Prorok P.C., Gohagan J.K., Berg C.D.; PLCO Project Team.* Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. JAMA. 2011; 305(22): 2295–303. doi: 10.1001/jama.2011.766.

51. *Jacobs I.J., Menon U., Ryan A., Gentry-Maharaj A., Burnell M., Kalsi J.K., Amso N.N., Apostolidou S., Benjamin E., Cruickshank D., Crump D.N., Davies S.K., Dawnay A., Dobbs S., Fletcher G., Ford J., Godfrey K., Gunu R., Habib M., Hallett R., Herod J., Jenkins H., Karpinskyj C., Leeson S., Lewis S.J., Liston W.R., Lopes A., Mould T., Murdoch J., Oram D., Rabideau D.J., Reynolds K., Scott I., Seif M.W., Sharma A., Singh N., Taylor J., Warburton F., Widschwendter M., Williamson K., Woolas R., Fallowfield L., McGuire A.J., Campbell S., Parmar M., Skates S.J.* Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. Lancet. 2016; 387(10022): 945–56. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01224-6. Erratum in: Lancet. 2016; 387(10022): 944..

52. *Catalona W.J.* Prostate Cancer Screening. Med Clin North Am. 2018; 102(2): 199–214. doi: 10.1016/j.mcna.2017.11.001.

53. *Dunn M.W.* Prostate Cancer Screening. Semin Oncol Nurs. 2017; 33(2): 156–64. doi: 10.1016/j.soncn.2017.02.003.

54. *Dochez V., Caillon H., Vaucel E., Dimet J., Winer N., Ducarme G.* Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review. J Ovarian Res. 2019; 12(1): 28. doi: 10.1186/s13048-019-0503-7.

55. *Lahlou N., Brun J.L.* [Ovarian tumor markers of presumed benign ovarian tumors]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2013; 42(8): 752–9. doi: 10.1016/j.jgyn.2013.09.030.

56. *Dunton C.J., Hutchcraft M.L., Bullock R.G., Northrop L.E., Ueland F.R.* Salvaging Detection of Early-Stage Ovarian Malignancies When CA125 Is Not Informative. Diagnostics (Basel). 2021; 11(8): 1440. doi: 10.3390/diagnostics11081440.

57. *El-Deiry W.S., Goldberg R.M., Lenz H.J., Shields A.F., Gibney G.T., Tan A.R., Brown J., Eisenberg B., Heath E.I., Phuphanich S., Kim E., Brenner A.J., Marshall J.L.* The current state of molecular testing in the treatment of patients with solid tumors, 2019. CA Cancer J Clin. 2019; 69(4): 305–43. doi: 10.3322/caac.21560.

58. *Haunschild C.E., Tewari K.S.* The current landscape of molecular profiling in the treatment of epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2021; 160(1): 333–45. doi: 10.1016/j.ygyno.2020.09.043.

59. *Ali A.T.* Towards Prevention of Ovarian Cancer. Curr Cancer Drug Targets. 2018; 18(6): 522–37. doi: 10.2174/1568009618666180102103008.

60. *Boyle P., Maisonneuve P., Autier P.* Update on cancer control in women. Int J Gynaecol Obstet. 2000; 70(2): 263–303. doi: 10.1016/s0020-7292(00)00298-8.

61. *Temkin S.M., Bergstrom J., Samimi G., Minasian L.* Ovarian Cancer Prevention in High-risk Women. Clin Obstet Gynecol. 2017; 60(4): 738–57. doi: 10.1097/GRF.0000000000000318.

62. *Yamauchi H., Takei J.* Management of hereditary breast and ovarian cancer. Int J Clin Oncol. 2018; 23(1): 45–51. doi: 10.1007/s10147-017-1208-9.

63. *Schüler S., Ponnath M., Engel J., Ortmann O.* Ovarian epithelial tumors and reproductive factors: a systematic review. Arch Gynecol Obstet. 2013; 287(6): 1187–204. doi: 10.1007/s00404-013-2784-1.

64. *Nelson W.G., de Marzo A.M., Lippman S.M.* Prostate cancer prevention. Can Chemopre. 2005; 185–203.

65. *Ballon-Landa E., Parsons J.K.* Nutrition, physical activity, and lifestyle factors in prostate cancer prevention. Curr Opin Urol. 2018; 28(1): 55–61. doi: 10.1097/MOU.0000000000000460.

66. *Rebello R.J., Oing C., Knudsen K.E., Loeb S., Johnson D.C., Reiter R.E., Gillessen S., Van der Kwast T., Bristow R.G.* Prostate cancer. Nat Rev Dis Primers. 2021; 7(1): 9. doi: 10.1038/s41572-020-00243-0.

67. *Taylor R.A., Fraser M., Rebello R.J., Boutros P.C., Murphy D.G., Bristow R.G., Risbridger G.P.* The influence of BRCA2 mutation on localized prostate cancer. Nat Rev Urol. 2019; 16(5): 281–90. doi: 10.1038/s41585-019-0164-8.

68. *Borja Menéndez D.A., Borja Menéndez K.A., Sánchez Núñez J.E., de la Santis García Velandria F.A.* [Treatment of prostate cancer using high-intensity focused ultrasound, literature review]. Arch Esp Urol. 2021; 74(9): 815–20.

69. *Zimmer A.S., Gillard M., Lipkowitz S., Lee J.M.* Update on PARP Inhibitors in Breast Cancer. Curr Treat Options Oncol. 2018; 19(5): 21. doi: 10.1007/s11864-018-0540-2.

70. *Ruiz de Porras V., Font A., Aytes A.* Chemotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer: Current scenario and future perspectives. Cancer Lett. 2021; 523: 162–9. doi: 10.1016/j.canlet.2021.08.033.

71. *Xu G.P., Zhao Q., Wang D., Xie W.Y., Zhang L.J., Zhou H., Chen S.Z., Wu L.F.* The association between BRCA1 gene polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. Oncotarget. 2018; 9(9): 8681–94. doi: 10.18632/oncotarget.24064.

72. *Wang S.S., Maurer M.J., Morton L.M., Habermann T.M., Davis S., Cozen W., Lynch C.F., Severson R.K., Rothman N., Chanock S.J., Hartge P., Cerhan J.R.* Polymorphisms in DNA repair and one-carbon metabolism genes and overall survival in diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma. Leukemia. 2009; 23(3): 596–602. doi: 10.1038/leu.2008.240.

73. *Solano A.R., Aceto G.M., Delettieres D., Veschi S., Neuman M.I., Alonso E., Chialina S., Chacón R.D., Renato M.C., Podestá E.J.* BRCA1 And BRCA2 analysis of Argentinean breast/ovarian cancer patients selected for age and family history highlights a role for novel mutations of putative south-American origin. Springerplus. 2012; 1: 20. doi: 10.1186/2193-1801-1-20.

74. *Ledwoń J.K., Hennig E.E., Maryan N., Goryca K., Nowakowska D., Niwińska A., Ostrowski J.* Common low-penetrance risk variants associated with breast cancer in Polish women. BMC Cancer. 2013; 13: 510. doi: 10.1186/1471-2407-13-510.

75. *Wang S.S., Maurer M.J., Morton L.M., Habermann T.M., Davis S., Cozen W., Lynch C.F., Severson R.K., Rothman N., Chanock S.J., Hartge P., Cerhan J.R.* Polymorphisms in DNA repair and one-carbon metabolism genes and overall survival in diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma. Leukemia. 2009; 23(3): 596–602. doi: 10.1038/leu.2008.240.

Поступила/Received 24.11.2021
Одобрена после рецензирования/Revised 20.06.2022
Принята к публикации/Accepted 11.07.2022

ABOUT THE AUTHORS

Chitra Veena S, Student (Medical Genetics), Human Cytogenetics and Genomics Laboratory, Faculty of Allied Health Sciences, Chettinad Hospital and Research Institute, Chettinad Academy of Research and Education, Kelambakkam (Chennai, India). ORCID: 0000-0002-7296-9721.
Vajagathali Mohammed, Junior Research Fellow, Human Cytogenetics and Genomics Laboratory, Faculty of Allied Health Sciences, Chettinad Hospital and Research Institute, Chettinad Academy of Research and Education, Kelambakkam (Chennai, India). Author ID (Scopus): 57414855000. ORCID: 0000-0003-1342-3689.
Ramakrishnan Veerabathiran, Associate Professor in Genetics, Human Cytogenetics and Genomics Laboratory, Faculty of Allied Health Sciences, Chettinad Hospital and Research Institute, Chettinad Academy of Research and Education, Kelambakkam (Chennai, India). Author ID (Scopus): 55632777000. ORCID: 0000-0002-9307-5428.

AUTHOR CONTRIBUTION

Chitra Veena S.: written the contents, edited the figures and table.
Vajagathali Mohammed: written the contents, edited the figures and table.
Ramakrishnan Veerabathiran: designed the study, corrected, revised, and approved the manuscript for submission.

Funding
This study required no funding.
Conflict of interests
The authors declare that they have no conflict of interest.
Acknowledgments
The authors thank the Chettinad Academy of Research Education for the constant support and encouragement.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Chitra Veena S., студент (медицинская генетика), лаборатория цитогенетики и геномики человека, факультет смежных медицинских наук, Госпиталь и научно-исследовательский институт Четтинада, Научно-образовательная академия Четтинада, Келамбаккам (Ченнаи, Индия). ORCID: 0000-0002-7296-9721.
Vajagathali Mohammed, младший научный сотрудник, лаборатория цитогенетики и геномики человека, факультет смежных медицинских наук, Госпиталь и научно-исследовательский институт Четтинада, Научно-образовательная академия Четтинада, Келамбаккам (Ченнай, Индия). Author ID (Scopus): 57414855000. ORCID: 0000-0003-1342-3689.
Ramakrishnan Veerabathiran, адъюнкт-профессор генетики, лаборатория цитогенетики и геномики человека, факультет смежных медицинских наук, Госпиталь и научно-исследовательский институт Четтинада, Научно-образовательная академия Четтинада, Келамбаккам (Ченнай, Индия). Author ID (Scopus): 55632777000. ORCID: 0000-0002-9307-5428.

ВКЛАД АВТОРОВ

Chitra Veena S.: написание статьи, редактирование таблиц и рисунков.
Vajagathali Mohammed: написание статьи, редактирование таблиц и рисунков.
Ramakrishnan Veerabathiran: разработка концепции научной работы, обсуждение результатов исследования, редактирование статьи.

Финансирование
Это исследование не требовало финансирования
Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Благодарности
Авторы благодарят Chettinad Academy of Research Education за постоянную поддержку и поощрение.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-156-163
УДК: 616-006.04-07:577.2

Для цитирования: *Мнихович М.В., Шехтер М.А., Безуглова Т.В., Скафи К.Х., Артемьева К.А., Мишина Е.С.* Гликоделин – потенциальный биомаркер злокачественных опухолей. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 156–163. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-156-163
For citation: *Mnikhovich M.V., Shekhter M.A., Bezuglova T.V., Skafi K.Kh., Artemyeva K.A., Mishina E.S.* Glycodelin is a potential biomarker for malignant tumors. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 156–163. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-156-163

ГЛИКОДЕЛИН – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ БИОМАРКЕР ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

М.В. Мнихович[1], М.А. Шехтер[2], Т.В. Безуглова[1], К.Х. Скафи[3], К.А. Артемьева[1], Е.С. Мишина[4]

Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», г. Москва, Россия[1]
Россия, 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, 3. E-mail: mnichmaxim@yandex.ru[1]
ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, Россия[2]
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1[2]
Медицинский центр «Клалит», г. Иерусалим, Израиль[3]
Израиль, г. Иерусалим, Шаарей Тора, 20[3]
ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Курск, Россия[4]
Россия, 305000, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3[4]

Аннотация

Цель исследования – анализ и обобщение имеющихся данных о роли гликоделина в канцерогенезе и его экспрессии при различных видах рака. **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников проводился в системах Medline, PubMed Central, NCBI по ключевым словам glycodelin и cancer. Ввиду ограниченного количества публикаций по исследуемой теме анализировали все данные, опубликованные с января 1983 г. по октябрь 2019 г. Из найденных на эту тему 104 публикаций 21 была включена в обзор. **Результаты.** В работе представлены результаты современных исследований, посвященных изучению свойств основного липокалина репродуктивной системы человека – гликоделина. Известно, что некоторые липокалины играют ключевую роль в развитии рака, а также влияют на сигнальные пути регуляции клеточной подвижности, дифференцировки и процессов неоваскуляризации. Предположительно, их можно использовать в качестве онкомаркеров. Гликоделин А определяется в сыворотке и благодаря своим особым иммунорегуляторным свойствам может служить полезным прогностическим маркером и перспективной мишенью для будущих терапевтических вмешательств. Известно, что при раке молочной железы наличие гликоделина А характеризует высокую степень дифференцировки клеток опухоли и является биомаркером более благоприятного прогноза. В то же время он играет существенную роль в неоангиогенезе. Гликоделин является биомаркером агрессивной злокачественной мезотелиомы плевры, а также вспомогательным прогностическим биомаркером метастатического немелкоклеточного рака легких на поздних стадиях. Гиперэкспрессия гликоделина ассоциирована с метастазированием в мозг при аденокарциноме легких, и ее определение может быть использовано как дополнительный прогностический показатель. **Заключение.** В обзоре отражены фундаментальные научные данные и результаты клинических исследований, а также определены дальнейшие перспективы, позволяющие разработать новые методы диагностики и терапии опухолей. Следует отметить, что гликоделин играет важную роль в развитии, прогрессировании опухоли, ангиогенезе и формировании отдаленных метастазов и, следовательно, может служить полезным диагностическим и прогностическим маркером. Необходимы дальнейшие углубленные исследования функциональных свойств гликоделина для разработки перспективных стратегических направлений в онкотерапии.

Ключевые слова: гликоделин, рак, ранняя диагностика, биомаркер, прогноз.

Мнихович Максим Валерьевич, mnichmaxim@yandex.ru

GLYCODELIN IS A POTENTIAL BIOMARKER FOR MALIGNANT TUMORS

M.V. Mnikhovich[1], M.A. Shekhter[2], T.V. Bezuglova[1], K.Kh. Skafi[3], K.A. Artemyeva[1], E.S. Mishina[4]

A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, B.V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery, Moscow, Russia[1]
3, Tsyurupy St., 117418, Moscow, Russia. E-mail: mnichmaxim@yandex.ru[1]
N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia[2]
1, Ostrovityanova St., 117997, Moscow, Russia[2]
Clalit Medical Center, Jerusalem, Israel[3]
20, Shaare Torah, Jerusalem, Israel[3]
Kursk State Medical State University of the Ministry of Health of the Russia, Kursk, Russia[4]
3, Karl Marx St., 305000, Kursk, Russia[4]

Abstract

Objective of the study to analyze and summarize the available data on the role of glycodelin in carcinogenesis and its expression in various cancers. **Material and Methods.** A literature search was conducted in Medline, PubMed Central, NCBI databases in the time interval from January 1983 to October 2019 using the key words glycodelin and cancer. Of the 104 publications found, 21 were used to write the review. **Results.** This paper presents the overview of the findings in current research focusing on the properties of glycodelin, the major lipocalin protein of the human reproductive system. Some lipocalins are known to play a key role in cancer development as well as influence signaling pathways in the regulation of cell motility, differentiation and neovascularization. Most likely they can be used as cancer markers. Glycodelin A is determined in serum and, due to its special immunoregulatory properties, can serve as a useful prognostic marker and a promising target for future anti-cancer therapies. The presence of glycodelin A in breast cancer tissue is known to be mostly linked to a better prognosis than is attributed to glycodelin-negative tissue, as glycodelin is a protein typical of differentiated tissue. On the other hand, glycodelin might play a role in neovascularisation, thereby promoting tumor growth. Glycodelin is a biomarker of aggressive malignant pleural mesothelioma and a prognostic biomarker of metastatic non-small cell lung cancer at late stages. Glycodelin hyperexpression is associated with brain metastasis in lung adenocarcinoma, and its determination can be used as an additional prognostic factor. **Conclusion.** The review reflects basic scientific data and results of clinical trials, as well as identifies future prospects that allow the development of new methods for cancer detection and treatment. It should be noted that glycodelin plays an important role in tumor development, progression, angiogenesis, and the formation of distant metastases, and therefore can serve as a useful diagnostic and prognostic marker. Further studies of the functional properties of glycodelin are needed to develop promising strategies in cancer therapy.

Key words: glycodelin; cancer; early diagnosis; biomarker; prognosis.

Гликоделин (Gd) – основной липокалин репродуктивной системы. Липокалины имеют уникальную трехмерную структуру и выполняют целый ряд функций: являются переносчиками низкомолекулярных гидрофобных лигандов, связывают мембранные рецепторы, участвуют в образовании иммунных комплексов, осуществляют транспорт одорантов и феромонов, синтез простагландинов, регуляцию клеточного гомеостаза и формирование иммунного ответа. Многие липокалины играют ключевую роль в развитии рака, влияют на сигнальные пути регуляции клеточной подвижности, дифференцировки и процессов неоваскуляризации. Таким образом, их можно использовать в качестве биомаркеров рака для улучшения прогнозирования заболевания. Gd – это липокалин, существует в четырех различно гликозилированных изоформах (GdA, GdF, GdC и GdS) и выполняет при этом различные функции. Наиболее изученной изоформой является GdA. Gd был впервые выделен и идентифицирован в 1976 г. Д.Д. Петруниным и Ю.С. Татариновым с коллегами как новый антиген плаценты, который был назван хорионическим α2-микроглобулином [1].

Gd представляет собой димерный гликопротеин, состоящий из 180 аминокислотных остатков (из которых 18 являются N-концевым сигнальным пептидом), молекулярная масса которого варьируется от 42 до 56 кДа, в зависимости от источника и метода выделения [2, 3]. Гликоделин синтезируется железистыми эпителиальными клетками секреторного эндометрия, в фаллопиевых трубах, семенниках и ампулах семявыносящего протока, в здоровых тканях и опухолях яичников и молочной железы, в костном мозге. Также его можно обнаружить в эпителиальных клетках пупочной вены.

GdA обладает выраженной иммуносупрессорной активностью. Его роль в регуляции иммунной системы состоит в ингибировании пролиферации лимфоцитов, Т-клеток и снижении цитокинового ответа Th1, подавлении продукции интерлейкина-1 и интерлейкина-2, индукции апоптоза Т-клеток, а также регуляции В-клеточного иммунного ответа путем связывания В-клеточного рецептора CD22 [3]. Более того, GdA *in vitro* блокирует Е-селектин-опосредованную клеточную адгезию в 1000 раз эффективнее по сравнению с сиалированным Lewis-X [4].

В исследованиях Индийского научного института установлено, что GdA снижает цитотоксичность периферических NK путем снижения экспрессии перфорина, гранзима В и интерферона (IF)-γ. Он также индуцирует каспаза-зависимый апоптоз только в активированных периферических NK, и этот эффект опосредован связыванием GdA с поверхностными NK-клеточными рецепторами. В период постменопаузы определяются лишь очень небольшие концентрации Gd [3].

Гликоделин и рак

По данным ряда исследований, экспрессия Gd характерна для некоторых злокачественных новообразований, включающих опухоли женской репродуктивной системы (рак тела матки, рак яичников и рак молочной железы), а также рак легких, толстой кишки [5], двухфазную синовиальную саркому [3], меланому [6]. Экспрессия Gd коррелирует с диагнозом и прогнозом заболевания [5]. Экспрессия Gd в злокачественных опухолях обычно свидетельствует о более благоприятном прогнозе относительно опухолей, не синтезирующих Gd, так как его относят к типичному для дифференцированных тканей протеину. *In vitro* и в моделях онкогенеза *in vivo* обнаружили, что Gd активирует экспрессию генов онкосупрессоров и в то же время снижает экспрессию онкогенов. Таким образом, можно предположить, что Gd является опухолевым супрессором. Более того, экспрессия Gd A отрицательно коррелирует со степенью злокачественности, т.е. снижается в GIII–IV опухолях (FIGO). С другой стороны, Gd обладает способностью регулировать пролиферацию раковых клеток, процессы их дифференцировки и инвазии, стимулирует неоангиогенез в опухоли и таким образом способствует ее росту. Известно, что в раке молочной железы уровень экспрессии GdA отражает более дифференцированное состояние опухолевых клеток и является биомаркером более благоприятного прогноза, в то же время он играет важную роль в ангиогенезе. GdA определяется в сыворотке и благодаря своим особым иммунорегуляторным свойствам может служить надежным прогностическим маркером и перспективной мишенью для будущих терапевтических вмешательств [3, 5].

Гликоделин – потенциальный биомаркер при злокачественной мезотелиоме плевры

Злокачественная мезотелиома плевры (ЗМП) – редкая и агрессивная опухоль, развивающаяся из клеток плевры. Растворимые пептиды семейства мезотелина (SMRP), остеопонтин (сиалопротеин I) или EFEMP1 (Fibulin-3) – это хорошо изученные биомаркеры ЗМП с умеренной чувствительностью и специфичностью. M.A. Schneider et al. определяли экспрессию Gd в тканях ЗМП и изучали его потенциал в качестве биомаркера. Они установили наличие Gd в сыворотке больных ЗМП, уровень которого был значительно выше, чем в сыворотке пациентов с доброкачественными заболеваниями легких. Концентрация Gd в сыворотке отрицательно коррелирует с ответом опухоли на лечение, а также с продолжительностью жизни пациентов с ЗМП. Эти результаты не обязательно противоречат прогностическим результатам измерений сыворотки. Высокая концентрация в сыворотке, очевидно, указывала на высокую опухолевую нагрузку. Авторы считают, что оценка уровня Gd и SMRP в сыворотке может способствовать повышению достоверности диагностики ЗМП. Высокий уровень экспрессии Gd также выявлен в тканях ЗМП. В анализах тканевых микропанелей ЗМП отметили положительную корреляцию экспрессии иммуномодулирующего GdA с общей выживаемостью пациентов. Таким образом, Gd может служить надежным биомаркером агрессивной формы ЗМП [7].

Гликоделин при немелкоклеточном раке легкого

В настоящее время достоверно подтверждена экспрессия Gd в тканях немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Предположительно, Gd, секретируемый клетками НМРЛ, может способствовать преодолению клетками опухоли иммунного надзора. Очевидно, непосредственное воздействие на секрецию Gd может стать новым подходом в онкотерапии. В этом контексте важно понять пути регуляции экспрессии Gd, которые до сих пор недостаточно изучены. R. Weber et al. (2019) проанализировали влияние некоторых индукторов и протеинкиназных сигнальных путей на экспрессию Gd в клеточных линиях аденокарциномы (АДК) и плоскоклеточного рака легких (ПРЛ). Экспрессия Gd была значительно усилена трансформирующим фактором роста (ТФР)β-1 -2 и -3 в ПРЛ, но не в АДК, а активация протеинкиназа С сигнального каскада – в обеих клеточных линиях. В целом, результаты исследования свидетельствуют о том, что ингибирование протеинкиназных сигнальных путей влияет на экспрессию Gd и его иммуносупрессивное действие в НМРЛ. Более того, понимание регуляции экспрессии Gd может привести к разработке новых терапевтических подходов, с помощью которых можно будет

ослабить защиту опухоли со стороны иммунной системы [8].

Гликоделин – тканевой и сывороточный биомаркер НМРЛ на поздней стадии опухолевого процесса при наличии метастазов

Несмотря на большое количество ранее изученных биомаркеров, необходимость в надежном биомаркере НМРЛ все еще существует. В исследовании 2018 г. был изучен потенциал гликоделина как биомаркера НМРЛ на поздней стадии опухолевого процесса при наличии метастазов. Экспрессию мРНК и белка Gd определяли с помощью методов количественной ПЦР и иммуногистохимического анализа в 28 образцах резецированных опухолей, метастазировавших в головной мозг (n=16) и надпочечники (n=12) у пациентов, не получавших медикаментозную терапию. Более того, сопоставили экспрессию гена Gd в криоконсервированных биоптатах ранее не подвергавшихся терапии пациентов (n=55) с поздней стадией НМРЛ с концентрацией гликоделина в сыворотке и выживаемостью пациентов. Используя контрольные образцы, исследователи регистрировали концентрацию Gd во время терапии. Экспрессия Gd была сравнима в первичных опухолях и в отдаленных метастазах у одних и тех же пациентов. Экспрессия гена Gd в тканях пациентов в отсутствие терапии также положительно коррелировала с сывороточными концентрациями Gd у этих пациентов (r=0,6). У больных с более высоким уровнем сывороточного Gd проявлялась тенденция к снижению общей выживаемости (p=0,088). По увеличению уровня Gd прогрессирование заболевания выявлялось раньше, чем при обычной клинической диагностике. Очевидно, Gd является надежным прогностическим и дополнительным биомаркером поздних стадий метастатического НМРЛ [9].

Метастазы в мозг являются серьезным осложнением АДК легких, являясь значимым фактором, приводящим к высокой летальности. В исследовании 2019 г. авторы анализировали экспрессию Gd в тканях прогрессирующей АДК легких, чувствительной к ингибитору тирозинкиназы мутантного эпидермального фактора роста (ЭФР). По результатам исследования, пациенты с прогрессирующей АДК легких и гиперэкспрессией Gd проявляли предрасположенность к метастазированию опухоли в головной мозг ($p<0,05$) и демонстрировали значительно меньшую продолжительность общей выживаемости (11,8 *vs* 20,4 мес, $p<0,05$) по сравнению с пациентами без гиперэкспресии Gd. При мультифакторном регрессионном анализе было показано, что гиперэкспрессия Gd и метастазы опухоли в мозг независимо влияют на прогноз при прогрессирующей АДК легких ($p<0,05$). Сверхэкспрессия Gd, в свою очередь, связана с наличием метастазов в мозг при АДК легких и может быть использована как вспомогательный прогностический показатель прогрессирующей АДК легких [10].

Гликоделин при раке молочной железы

Интенсивно изучаются экспрессия Gd в тканях рака молочной железы (РМЖ) и ее корреляция с клиническими показателями. Когда стало известно, что GdA экспрессируется тканями за пределами репродуктивной системы, в том числе в нормальном и опухолевом железистом эпителии молочных желез, началось изучение его функций в этих тканях. После того как GdA был обнаружен в высокодифференцированном ацинозном эпителии, предположили, что он играет определенную роль в организации эпителиальных тканей. Сделано заключение, что экспрессия Gd сопровождается приобретением клетками фенотипа организованного железистого эпителия: он индуцирует дифференцировку, снижает экспрессию онкогенов и увеличивает экспрессию генов опухолевой супрессии, что вносит вклад в более благоприятный прогноз [3, 5, 11].

GdA был обнаружен в эндотелиальных клетках пуповины и в кровеносных сосудах опухоли. M. Song et al., исследуя миграцию эндотелиальных клеток вены пуповины человека HUVECs и образование тубулярных структур, определяли, могут ли амниотическая жидкость, богатая Gd, и синтетический пептид гликоделина (Gp) способствовать ангиогенному ответу тубулярных структур *in vitro*. Амниотическая жидкость и Gp усиливали клеточную миграцию и формирование тубулярных структур, что служит признаком стимуляции ангиогенеза. Этот эффект был заблокирован антителами против синтетического пептида Gp или фактора роста сосудистого эндотелия (ФРСЭ). Можно предположить, что эффект Gd опосредуется ФРСЭ, так как он увеличивает экспрессию как мРНК и белка ФРСЭ, так и рецепторов к ФРСЭ. Таким образом, GdA играет важную роль в неоваскуляризации опухолей [12].

Экспрессия Gd может быть индуцирована лизофосфатидиловой кислотой (ЛФК) и носит дозозависимый характер. ЛФК имеет сходство с форболмиристатацетатом (ФМА), концентрация которого увеличивается в крови пациентов со злокачественными опухолями. Контроль концентрации ЛФК/ФМА может помочь предотвратить усиление экспрессии гликоделина и уменьшить или замедлить неоангиогенез [13].

При сравнительном иммуногистохимическом анализе экспрессии Gd при доброкачественных и злокачественных опухолях молочной железы выявлено его присутствие в опухолевых клетках у всех пациенток с РМЖ. Однако в доброкачественных образованиях молочной железы Gd обнаружили только в фиброаденомах (15 % случаев). При исследовании тканей молочной железы с внутри-

протоковой папилломой и фиброзно-кистозной мастопатией (ФКМ) Gd не обнаружен. При определении Gd в образцах жидкости, полученных при пункции кист молочной железы у 186 женщин с доброкачественным и осложненным течением ФКМ, выяснилось, что при доброкачественном течении гликоделин выявляется в 10 % случаев. Позднее у 10 из 186 обследованных женщин диагностировали РМЖ, Gd был обнаружен в аспиратах в 8 (80 %) случаях. Таким образом, наличие Gd в содержимом кист больных ФКМ можно рассматривать в качестве неблагоприятного признака, ассоциированного с высокой вероятностью малигнизации тканей, а сам белок – как потенциальный маркер для формирования группы риска среди больных с доброкачественными образованиями молочной железы [14].

В эксперименте по анализу экспрессии генов на микропанели показано, что экспрессия Gd, связанная с низким уровнем пролиферации и высокодифференцированной формой опухоли, зарегистрирована в случаях спорадического РМЖ. Для сравнения, при наследственном не BRCA 1/2-зависимом РМЖ экспрессия Gd ассоциировалась с худшим прогнозом, регионарными метастазами в лимфоузлы, экспрессией HER2 (рецептор эпидермального фактора роста человека) и высоким риском отдаленных метастазов. Вероятно, это обусловлено различными профилями генной экспрессии в семейном и спорадическом РМЖ, в результате чего болезнь развивается по разным сценариям, что нужно принимать в расчет при оценке экспрессии Gd и ее значения для пациента [3].

В 2005 г. было показано, что инвазивная карцинома без метастазов в подмышечные лимфатические узлы (лучший прогноз), вероятнее всего, будет экспрессировать Gd. Напротив, в случаях с метастазами в лимфатические узлы экспрессии Gd либо не было, либо она была очень слабой (худший прогноз). На основании этих результатов можно сделать предположение, что экспрессия Gd потенциально может использоваться как прогностический маркер РМЖ. Эти результаты требуют дальнейшего подтверждения в более масштабных исследованиях [15].

С учетом роли Gd и сурвивина как ключевых регуляторов клеточной пролиферации, апоптоза и ангиогенеза, а также принимая во внимание противоречивые мнения об их функциях в опухолевой ткани, в 2006 г. был изучен уровень транскрипционных факторов этих белков в локализованном РМЖ. При использовании метода количественной ПЦР результаты были рассчитаны с помощью Г3ФДГ (глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы), референсного гена RPL37A и соотнесены с клинико-морфологическими и молекулярными параметрами опухоли и продолжительностью жизни пациентов. В исследование были включены 272 пациента. Исходя из полученных результатов сделан вывод, что транскрипционная активность Gd и сурвивина связана с относительно молодым возрастом, пременопаузой, экспрессией HER2 рецепторов, неблагоприятными клинико-морфологическими и молекулярными характеристиками первичного РМЖ с метастазами в регионарные лимфоузлы. При этом результаты не дают возможности прогнозировать исход заболевания. Необходимы дополнительные исследования для определения функциональной роли Gd и сурвивина в онкогенезе [5, 16].

В 2008 г. впервые продемонстрировали, что Gd замедляет рост РМЖ *in vivo*. Клетки линии MCF-7, трансфицированные Gd, переносили в жировую строму молочных желез мышей. В результате сформировались опухоли меньших размеров и с более высокодифференцированным фенотипом по сравнению с имплантацией нетрансфицированных клеток в контрольной группе. Gd-индуцированная дифференцировка была связана со снижением экспрессии онкогенов и увеличением экспрессии генов опухолевой супрессии. Эти результаты позволили предположить, что Gd ведет себя как опухолевый супрессор в отношении РМЖ. Это может объяснить его связь с благоприятным прогнозом для некоторых опухолей [3, 17].

Экспрессию Gd зарегистрировали как в нормальных тканях, так и в тканях карциномы молочной железы человека. C. Scholz et al. проанализировали 121 образец ткани карциномы молочной железы для оценки экспрессии Gd. Ни в одном случае не обнаружена карцинома *in situ*. Gd экспрессировался в дольковой и протоковой карциномах молочной железы независимо от степени злокачественности опухоли. Значимой разницы в экспрессии Gd в опухолевых тканях у пациенток с метастазами в подмышечные лимфоузлы или без метастазов не было. Однако наблюдали увеличение экспрессии Gd при положительной иммуногистохимической реакции на наличие рецепторов к эстрогену и прогестерону А. Эти результаты дают основания полагать, что Gd можно использовать как дополнительный маркер дифференцировки опухолевых клеток при РМЖ. Увеличение экспрессии Gd может также являться дополнительным индикатором выживаемости при РМЖ [18]. В 2010 г. было обнаружено увеличение экспрессии GdA в образцах опухоли с эстрогеновыми и прогестероновыми рецепторами с вовлечением лимфоузлов, т. е. в дополнение к роли маркера дифференцировки GdA может играть некую роль в метастазировании в регионарные лимфоузлы. Помимо этого, экспрессия Gd может считаться прогностическим маркером, так как его экспрессия значительно снижается по мере озлокачествления опухоли, но находится на высоком уровне в тканях пациентов с благоприятным прогнозом [19]. Стоит принять во внимание, что определяющим прогностическим фактором является наличие продукции белка, а не

мРНК Gd, количество которой не снижается по мере озлокачествления опухоли. Не обнаружено прогностической ценности экспрессии мРНК гликоделина для оценки общей выживаемости и продолжительности жизни без рецидивов [3].

Для исследования связи Gd с клинико-морфологическими особенностями РМЖ и исходом заболевания L.C. Hautala et al. определяли экспрессию Gd в образцах опухолей. Иммуногистохимический анализ использовали для оценки экспрессии Gd в 399 спорадических и 436 семейных BRCA1/2-несвязанных РМЖ с сильно отягощенным анамнезом. Анализ экспрессии генов использовался для определения других генов, экспрессируемых вместе с Gd в вышеупомянутых типах опухолей. При исследовании тканей спорадических случаев заболевания экспрессия Gd была ассоциирована с низким уровнем пролиферации (p<0,001), тенденцией к высокодифференцированному фенотипу опухолей (степень дифференцировки 1 и 2, p=0,012) и высокой экспрессией циклина D1. Однако в случае семейного рака с сильно отягощенным анамнезом экспрессия Gd ассоциирована с менее благоприятным течением, т.е. с наличием регионарных метастазов (p=0,003) и HER2-положительными опухолями (p=0,009). Более того, пациентки с Gd-положительными опухолями, не связанными с BRCA1/2, имели повышенный риск отдаленных метастазов (p=0,001), и в мультифакторных анализах экспрессия Gd являлась независимым предвестником метастазирования (ОР=2,22, 95 % ДИ 1,22–4,03, p=0,009) [20]. Дальнейший анализ выявил различные генные профили, коррелирующие с экспрессией Gd, в исследуемых типах РМЖ. Эти результаты наводят на мысль о разных путях прогрессирования при спорадическом и семейном РМЖ и возможном потенциале Gd в прогнозировании повышенного риска летального исхода у этих пациенток.

В 2011 г. S.A. Bidgoli et al. сравнили взаимодействие между Gd и генами арил-гидрокарбоновых рецепторов(АгР), и другими наиболее важными генами (p53, K-Ras, ER, PgR, AR), у пациенток из Ирана с РМЖ в пре- и постменопаузе. РМЖ поражает иранок примерно на 10 лет раньше, чем их сверстниц из других стран, а лежащие в основе этого факторы риска не до конца исследованы. АгР опосредуют эффекты множества факторов окружающей среды, разрушающих эндокринную систему, и участвуют в работе многих других генов. Синтез Gd может индуцироваться АгР лигандами в эндометрии. Для иммуногистохимического исследования с соответствующими моноклональными антителами изучили 25 образцов инвазивных протоковых карцином у пациенток в пременопаузе и 29 образцов в постменопаузе. Высокий уровень АгР в нормальных эпителиальных клетках пациенток в пременопаузе и в клетках фиброаденомы молочных желез характеризует склонность этих клеток к развитию опухолей, индуцированных факторами внешней среды. Настоящее исследование продемонстрировало значительную зависимость между уровнями Gd и АгР в опухоли (p=0,002) при РМЖ [21]. Показан двойственный характер Gd как прогностического маркера в тканях РМЖ у женщин в пременопаузе, у которых его синтез может быть индуцирован сверхэкспрессией АгР. Необходимы дальнейшие исследования для определения прямой роли канцерогенов и химических факторов, разрушающих эндокринную систему, в различном уровне Gd в опухолях молочных желез.

Заключение

Следует отметить, что Gd играет важную роль в развитии, прогрессировании опухоли, ангиогенезе и формировании отдаленных метастазов и, следовательно, может служить надежным диагностическим и прогностическим маркером. Необходимы дальнейшие исследования функциональных свойств Gd для разработки перспективных стратегических направлений в онкотерапии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Петрунин Д.Д., Грязнова И.М., Петрунина Ю.А., Татаринов Ю.С.* Иммунохимическая идентификация органоспецифического α2-глобулина плаценты человека и его содержание в амниотической жидкости. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1976; (7): 803–4. [*Petrunin D.D., Gryaznova I.M., Petrunina Yu.A., Tatarinov Yu.S.* Immunochemical identification of organ-specific α2-globulin of human placenta and its content in amniotic fluid. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 1976; (7): 803–4. (in Russian)].

2. *Seppälä M., Taylor R.N., Koistinen H., Koistinen R., Milgrom E.* Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. Endocr Rev. 2002; 23(4): 401–30. doi: 10.1210/er.2001-0026.

3. *Kölbl A.C., Jeschke U., Dian D., Friese K., Andergassen U.* Glycodelin A – a famous lipocalin and its role in breast cancer. Anticancer Res. 2014; 34(3): 1079–85.

4. *Jeschke U., Wang X., Briese V., Friese K., Stahn R.* Glycodelin and amniotic fluid transferrin as inhibitors of E-selectin-mediated cell adhesion. Histochem Cell Biol. 2003; 119(5): 345–54. doi: 10.1007/s00418-003-0529-0.

5. *Cui J., Liu Y., Wang X.* The Roles of Glycodelin in Cancer Development and Progression. Front Immunol. 2017; 8: 1685. doi:10.3389/fimmu.2017.01685.

6. *Ren S., Liu S., Howell P.M. Jr, Zhang G., Pannell L., Samant R., Shevde-Samant L., Tucker J.A., Fodstad O., Riker A.I.* Functional characterization of the progestagen-associated endometrial protein gene in human melanoma. J Cell Mol Med. 2010; 14(6B): 1432–42. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00922.x.

7. *Schneider M.A., Muley T., Kahn N.C., Warth A., Thomas M., Herth F.J., Dienemann H., Meister M.* Glycodelin is a potential novel follow-up biomarker for malignant pleural mesothelioma. Oncotarget. 2016; 7(44): 71285–97. doi:10.18632/oncotarget.12474.

8. *Weber R., Meister M., Muley T., Thomas M., Sültmann H., Warth A., Winter H., Herth F.J.F., Schneider M.A.* Pathways regulating the expression of the immunomodulatory protein glycodelin in non-small cell lung cancer. Int J Oncol. 2019; 54(2): 515–26. doi: 10.3892/ijo.2018.4654.

9. *Schneider M.A., Muley T., Weber R., Wessels S., Thomas M., Herth F.J.F., Kahn N.C., Eberhardt R., Winter H., Heussel G., Warth A., Herold-Mende C., Meister M.* Glycodelin as a Serum and Tissue Biomarker for Metastatic and Advanced NSCLC. Cancers (Basel). 2018; 10(12): 486. doi: 10.3390/cancers10120486.

10. *Ni Z., Zhang L., Zheng J., Su X., Zhang S.* Glycodelin As A Biomarker Of Advanced Lung Adenocarcinoma Brain Metastases In Patients Treated With EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors. Cancer Manag Res. 2019; 11: 9421–5. doi:10.2147/CMAR.S216971.

11. *Kämäräinen M., Seppälä M., Virtanen I., Andersson L.C.* Expression of glycodelin in MCF-7 breast cancer cells induces differentiation into organized acinar epithelium. Lab Invest. 1997; 77(6): 565–73.
12. *Song M., Ramaswamy S., Ramachandran S., Flowers L.C., Horowitz I.R., Rock J.A., Parthasarathy S.* Angiogenic role for glycodelin in tumorigenesis. Proc Natl Acad Sci USA. 2001; 98(16): 9265–70. doi: 10.1073/pnas.151151198.
13. *Ramachandran S., Ramaswamy S., Cho Ch., Parthasarathy S.* Lysophosphatidic acid induces glycodelin gene expression in cancer cells. Cancer Lett. 2002; 177(2): 197–202. doi: 10.1016/s0304-3835-(01)00807-2.
14. *Болтовская М.Н., Старосветская Н.А.* Гликоделин как потенциальный маркер опухолей женской половой системы. Архив патологии, 2008; 4: 51–55. [*Boltovskaya M.N., Starosvetskaya N.A.* Glycodelin as a potential marker of tumors of the female reproductive system. Archives of Pathology, 2008; 4: 51–55. (in Russian)].
15. *Shabani N., Mylonas I., Kunert-Keil C., Briese V., Janni W., Gerber B., Friese K., Jeschke U.* Expression of glycodelin in human breast cancer: immunohistochemical analysis in mammary carcinoma in situ, invasive carcinomas and their lymph node metastases. Anticancer Res. 2005; 25(3A): 1761–4.
16. *Kostadima L., Pentheroudakis G., Fountzilas G., Dimopoulos M., Pectasides D., Gogas H., Stropp U., Christodoulou C., Samantas E., Wirtz R., Hennig G., Bafaloukos D., Arapantoni P., Kalofonos H., Papakostas P., Economopoulos T., Bamias A., Pavlidis N.* Survivin and glycodelin transcriptional activity in node-positive early breast cancer: mRNA expression of two key regulators of cell survival. Breast Cancer Res Treat. 2006; 100(2): 161–7. doi: 10.1007/s10549-006-9240-x.
17. *Hautala L.C., Koistinen R., Seppälä M., Bützow R., Stenman U.H., Laakkonen P., Koistinen H.* Glycodelin reduces breast cancer xenograft growth in vivo. Int J Cancer. 2008; 123(10): 2279–84. doi: 10.1002/ijc.23773.
18. *Scholz C., Toth B., Barthell E., Mylonas I., Weissenbacher T., Friese K., Jeschke U.* Immunohistochemical expression of glycodelin in breast cancer correlates with estrogen-receptor alpha and progesterone-receptor A positivity. Histol Histopathol. 2009; 24(4): 467–71. doi: 10.14670/HH-24.467.
19. *Scholz C., Toth B., Barthell E., Mylonas I., Weissenbacher T., Friese K., Jeschke U.* Glycodelin expression in correlation to grading, nodal involvement and steroid receptor expression in human breast cancer patients. Anticancer Res. 2010; 30(5): 1599–603.
20. *Hautala L.C., Greco D., Koistinen R., Heikkinen T., Heikkilä P., Aittomäki K., Blomqvist C., Koistinen H., Nevanlinna H.* Glycodelin expression associates with differential tumour phenotype and outcome in sporadic and familial non-BRCA1/2 breast cancer patients. Breast Cancer Res Treat. 2011; 128(1): 85–95. doi: 10.1007/s10549-010-1065-y.
21. *Bidgoli S.A., Korani M., Bozorgi N., Zavarhei M.D., Ziarati P., Akbarzadeh S.* Association between glycodelin and aryl hydrocarbon receptor in Iranian breast cancer patients: impact of environmental endocrine disrupting chemicals. Asian Pac J Cancer Prev. 2011; 12(9): 2431–5.

Поступила/Received 10.09.2021
Одобрена после рецензирования/Revised 15.04.2022
Принята к публикации/Accepted 06.05.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мнихович Максим Валерьевич, кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник центральной патологоанатомической лаборатории, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (г. Москва, Россия). E-mail: mnichmaxim@yandex.ru. SPIN-код: 6975-6677. Researcher ID (WOS): ABB-4914-2020. ORCID: 0000-0001-7147-7912.
Шехтер Мария Александровна, студентка, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва, России). SPIN-код: 7226-9466. Researcher ID (WOS): AAQ-6784-2021. ORCID: 0000-0002-4409-2459.
Безуглова Татьяна Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник центральной патологоанатомической лаборатории, заместитель директора по научной работе, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3943-4400. Researcher ID (WOS): AAG-8153-2019. ORCID: 0000-0001-7792-1594.
Скафи Камаль Халави, специалист, Медицинский центр «Клалит» (Иерусалим, Израиль). SPIN-код: 3408-5350. Researcher ID (WOS): AAU-5144-2021. ORCID: 0000-0002-5216-9401.
Артемьева Ксения Александровна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории репродукции, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2057-7745. Researcher ID (WOS): AAG-6800-2019. Author ID (Scopus): 56431037100. ORCID: 0000-0002-1014-752X.
Мишина Екатерина Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Курск, Россия). SPIN-код: 5694-2294. Researcher ID (WOS): ABB-4914-2020. ORCID: 0000-0003-3835-0594.

ВКЛАД АВТОРОВ

Мнихович Максим Валерьевич: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, поиск и обработка литературных данных, написанине черновика статьи.
Шехтер Мария Александровна: поиск и обработка литературных данных, написание черновика статьи.
Безуглова Татьяна Васильевна: разработка концепции научной работы.
Скафи Камаль Халави: поиск и обработка литературных данных
Артемьева Ксения Александровна: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, поиск и обработка литературных данных.
Мишина Екатерина Сергеевна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование
Это исследование не потребовало дополнительного финансирования
Конфликт интересов
Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Maksim V. Mnichovich, MD, PhD, Associate Professor, Leading Researcher of the Central Anatomical Pathology Laboratory, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, B.V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery (Moscow, Russia). E-mail: mnichmaxim@yandex.ru. Researcher ID (WOS): ABB-4914-2020. ORCID: 0000-0001-7147-7912.
Maria A. Schechter, student, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAQ-6784-2021. ORCID: 0000-0002-4409-2459.
Tatyana V. Bezuglova, PhD, Senior Researcher of the Central Pathological Laboratory, Deputy Director for Research, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, B.V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAG-8153-2019. ORCID: 0000-0001-7792-1594.
Kamal H. Skafi, Specialist, Clalit Medical Center (Jerusalem, Israel). Researcher ID (WOS): AAU-5144-2021. ORCID: 0000-0002-5216-9401.
Ksenia A. Artemieva, MD, PhD, Researcher, Laboratory of Reproduction Pathology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, B.V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAG-6800-2019. Author ID (Scopus): 56431037100. ORCID: 0000-0002-1014-752X.
Ekaterina S. Mishina, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Histology, Embryology, Cytology, Kursk State Medical State University of the Ministry of Health of the Russia (Kursk, Russia). Researcher ID (WOS): ABB-4914-2020. ORCID: 0000-0003-3835-0594.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Maksim V. Mnichovich: study conception and design, data analysis, data collection and processing, drafting of the manuscript.
Maria A. Schechter: search and processing of literary data, compilation of a draft manuscript.
Tatyana V. Bezuglova: study conception and design.
Kamal H. Skafi: data collection and analysis.
Ksenia A. Artemyeva: study conception, analysis of study results, search and processing of literary data.
Ekaterina S. Mishina: data analysis, supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Funding
This study required no funding.
Conflict of interest
The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-164-169
УДК: 616.33-006.6-08:615.28

Для цитирования: *Скоропад В.Ю., Кудрявцев Д.Д., Шитарева В.Н., Жаворонкова Е.С.* Полный лечебный патоморфоз рака желудка после одного цикла неоадъювантной химиотерапии по схеме FLOT (клиническое наблюдение). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 164–169. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-164-169
For citation: *Skoropad V.Yu., Kudriavtsev D.D., Shitareva V.N., Zhavoronkova E.S.* Clinical case of pathological complete response of gastric cancer after one cycle of neoadjuvant chemotherapy with flot regimen. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 164–169. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-164-169

ПОЛНЫЙ ЛЕЧЕБНЫЙ ПАТОМОРФОЗ РАКА ЖЕЛУДКА ПОСЛЕ ОДНОГО ЦИКЛА НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ПО СХЕМЕ FLOT (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

В.Ю. Скоропад, Д.Д. Кудрявцев, В.Н. Шитарева, Е.С. Жаворонкова

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия
E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru
Россия, г. Обнинск, 249031, ул. Жукова, 10

Аннотация

Актуальность. Среди злокачественных новообразований рак желудка занимает пятое место по заболеваемости и третье место по смертности в мире. По показателю смертности в России он занимает второе место (10,7 %). В России и многих зарубежных странах стандартом лечения местнораспространенного рака желудка является применение хирургического метода в комбинации с адъювантной или периоперационной химиотерапией. Наиболее часто применяется трехкомпонентная схема химиотерапии FLOT, назначаются по четыре цикла пред- и послеоперационно. Основанием для широкого внедрения данной методики химиотерапии послужили результаты крупного рандомизированного исследования FLOT4, согласно которому периоперационная схема FLOT показала большую эффективность в сравнении со схемой ECF. **Цель исследования** – демонстрация возможности достижения полного лечебного патоморфоза и длительной ремиссии в лечении пациента с местнораспространенным раком желудка после одного курса неоадъювантной полихимиотерапии по схеме FLOT. **Описание клинического случая.** Пациент В., 69 лет, обратился в МРНЦ им. А.Ф. Цыба с жалобами на общую слабость, умеренные боли в эпигастрии в течение 2 мес. При обследовании установлен диагноз: рак тела желудка cT3N0M0 IIA стадии. Был проведен один цикл неоадъювантной химиотерапии по схеме FLOT. Вследствие того что у больного развилось массивное кровотечение из опухоли, было принято решение прекратить проведение неоадъювантной терапии и выполнить хирургическое лечение. Операция была выполнена в объеме дистальной субтотальной резекции желудка с лимфодиссекцией D2. При морфологическом исследовании удаленного препарата была зарегистрирована 1а степень лечебного патоморфоза (по классификации K. Becker, 2003). На момент анализа пациент жив без признаков прогрессирования опухоли в течение более 36 мес, находится под динамическим наблюдением. **Заключение.** В представленном клиническом наблюдении продемонстрировано достижение полного лечебного патоморфоза после одного цикла неоадъювантной химиотерапии, а также 3-летняя безрецидивная выживаемость пациента.

Ключевые слова: рак желудка, периоперационная химиотерапия FLOT, хирургическое лечение, гастрэктомия, лечебный патоморфоз, динамическое наблюдение.

✉ **Скоропад Виталий Юрьевич,** skoropad@mrrc.obninsk.ru

CLINICAL CASE OF PATHOLOGICAL COMPLETE RESPONSE OF GASTRIC CANCER AFTER ONE CYCLE OF NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY WITH FLOT REGIMEN

V.Yu. Skoropad, D.D. Kudriavtsev, V.N. Shitareva, E.S. Zhavoronkova

A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia, Obninsk, Russia. E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru
10, Zhukov St., 249031, Obninsk, Russia

Abstract

Background. Gastric cancer is the 5th most common cancer and the 3rd leading cause of cancer death globally. In Russia, gastric cancer is the 2-nd leading cause of death (10.7 %). Surgery in combination with perioperative/adjuvant chemotherapy is the standard treatment for locally advanced gastric cancer. Four cycles of neoadjuvant chemotherapy and 4 cycles of adjuvant chemotherapy with the FLOT regimen is the most widely used treatment modality. The basis for the widespread use of this chemotherapy regimen was the results of a large randomized FLOT4 trial, according to which the perioperative FLOT regimen showed greater efficacy compared to the ECF regimen. **The aim of the study** was to demonstrate the feasibility of achieving patholopgical complete response and long-term remission after one course of neoadjuvant chemotherapy with FLOT regimen in a patient with locally advanced gastric cancer. **Case description.** A 69-year-old patient presented to A. Tsyb Medical Radiological Research Centre with complaints of general weakness, moderate epigastric pain for 2 months. The examination revealed stage T3N0M0 IIA gastric cancer. The patient received one cycle of neoadjuvant chemotherapy with the FLOT regimen. Given the fact, that the patient developed massive bleeding from the tumor, it was decided to stop neoadjuvant treatment. Subtotal gastrectomy with D2 lymph node dissection was performed. Histological examination of the surgical specimen revealed pathological complete response (grade 1a according to the classification of K.Becker et al., 2003). The patient is alive with no signs of disease progression for more than 36 months after starting the treatment. **Conclusion.** This clinical case demonstrated personalized approach to the treatment of patients with locally advanced gastric cancer. Pathological complete response was achieved after one cycle of neoadjuvant chemotherapy.

Key words: gastric cancer, perioperative chemotherapy FLOT, surgical treatment, gastrectomy, tumor response, follow-up.

Введение

Среди злокачественных новообразований рак желудка по показателю заболеваемости занимает ведущие позиции в мире и в Российской Федерации; по показателю смертности в России он занимает второе место (10,7 %) [1, 2]. В большинстве стран, в том числе и в Российской Федерации, стандартом лечения местнораспространенного рака желудка является применение хирургического лечения в комбинации с периоперационной либо адъювантной химиотерапией. В соответствии с клиническими рекомендациями МЗ РФ и ряда зарубежных стран (ESMO, NCCN) при клинической стадии T≥2 применяется периоперационная химиотерапия по схеме FLOT. После того, как исследование FLOT4 продемонстрировало его относительную безопасность и превосходство в плане отдаленных результатов лечения над режимом ECF, в последние годы этот режим химиотерапии стал популярным во всем мире [3].

Цель исследования – демонстрация возможности достижения полного лечебного патоморфоза и длительной ремиссии в лечении пациента с местнораспространенным раком желудка после одного курса неоадъювантной полихимиотерапии (НАХТ) по схеме FLOT.

Описание клинического случая

Пациент В., 69 лет. Из анамнеза: считает себя больным в течение 2 мес, когда появились жалобы на общую слабость, умеренные боли в эпигастрии. Обратился в лечебное учреждение по месту жительства. Выполнена гастроскопия, взята биопсия; диагноз верифицирован как умеренно дифференцированная аденокарцинома желудка. Препараты были пересмотрены в МРНЦ, диагноз подтвержден.

Пациент госпитализирован 24.12.18 в торакальное отделение МРНЦ им. А.Ф. Цыба. При ЭФГДС: на границе дистальной трети тела желудка и антрального отдела по большой кривизне с переходом на переднюю стенку определялось приподнято-углубленное образование, до 16 мм в диаметре, ярко-розового цвета. На серии ПЭТ/КТ отмечалось утолщение стенок желудка до 22 мм, с повышенной метаболической активностью ФДГ (SUVmax=4,2). По малой кривизне – единичные лимфатические узлы, размером 9×7 мм, с малой метаболической активностью ФДГ. По данным диагностической лапароскопии признаков висцерального и париетального канцероматоза выявлено не было, опухоль серозную оболочку не прорастала. В клетчатке малого сальника

определялись лимфатические узлы размерами до 10 мм. Печень фиброзно изменена. Взят смыв с брюшины; по данным цитологического исследования клетки злокачественного новообразования не обнаружены. На основании данных обследования был установлен клинический диагноз: рак тела желудка cT3N0M0 – IIA стадия.

Мультидисциплинарным консилиумом, с учетом распространенности опухоли, была рекомендована периоперационная химиотерапия по схеме FLOT. Пациенту был проведен первый курс НАХТ, который перенес без токсических проявлений и выписан под наблюдение онколога по месту жительства. На 3-и сут после окончания курса химиотерапии у больного развилось массивное кровотечение из опухоли, потребовавшее госпитализации в реанимационное отделение. Проводилась консервативная терапия, включая гемотрансфузии, с положительным эффектом. В связи с этим на повторном консилиуме принято решение отказаться от дальнейшего проведения НАХТ и выполнить хирургическое вмешательство.

По данным контрольной ФГДС + EUS: в области угла желудка нарушение дифференцировки слоев стенки до 5 эхослоя, стенка утолщена до 13 мм, размеры неоплазии 20×13 мм, имеются единичные парагастральные лимфоузлы, размерами до 7–8 мм, гипоэхогенные, округлой формы.

Больной госпитализирован в торакальное отделение МРНЦ для хирургического лечения; 14.02.19 выполнена операция в объеме дистальной субтотальной резекции желудка с лимфодиссекцией D2. При ревизии: печень, брюшина не изменены; данных за наличие отдаленных метастазов не получено. Опухоль определяется на границе тела и антрального отдела, серозную оболочку не прорастает. Произведена мобилизация желудка по большой кривизне с сальником и раздельной перевязкой правых желудочно-сальниковых сосудов. Двенадцатиперстная кишка пересечена с помощью аппарата УО-40, ее культя укрыта серозно-мышечными швами. Продолжена мобилизация желудка по малой кривизне с перевязкой правых желудочных сосудов у основания, смещением клетчатки в сторону препарата. Произведена лимфодиссекция D2. Выполнена дистальная субтотальная резекция желудка. Сформирован позадиободочный гастро-энтероанастомоз по Ру с межкишечным соустьем по Брауну. Продолжительность операции составила 180 мин, кровопотеря – 100 мл.

Результаты гистологического исследования удаленного препарата. Макроскопическое описание: резецированный желудок, малая кривизна – 15 см, большая кривизна – 25 см с большим и малым сальниками, центральной клетчаткой. На разрезе, на малой кривизне желудка с переходом на большую кривизну – 2 язвенных дефекта, размерами 2,5×2 см и 2×2 см, соединенные между собой тонкой дорожкой; расстояние между ними 3,5 см. Опухоль серо-розового цвета, покрыта нитями фибрина; стенка желудка в проекции опухоли утолщена. Слизистая желудка на остальном протяжении складчатая, серо-розового цвета, без образований. Из жировой клетчатки выделены узловые образования, соответственно группам регионарных лимфатических узлов: 2-я группа – 4 узловых образования по 1 см в наименьшем измерении; 3-я группа – 6 узловых образований 0,3–1 см; 4А группа – 5 узловых образований по 0,7 см в наименьшем измерении; 4Б группа – узлов не выделено; 5-я группа – 7 узловых образований по 0,5 см; 6-я группа – узлов не выделено.

Микроскопически: в стенке желудка имеется рост грануляционной ткани, покрытой детритом и фибрином, разрастание рыхлой волокнистой соединительной ткани с очаговой выраженной лимфоцитарной инфильтрацией, полнокровными тонкостенными сосудами капиллярного типа. Морфологическая картина лечебного патоморфоза 1а по Becker (рис. 1). Края резекции без признаков опухолевого роста. В 6 лимфатических узлах 2-й группы, 15 лимфатических узлах 3-й группы, 6 лимфатических узлах 4А группы, 8 лимфатических узлах 5-й группы без признаков опухолевого роста.

Послеоперационный период протекал без осложнений. Выписан на 7-е сут после операции в удовлетворительном состоянии. На данный момент пациент жив без признаков прогрессирования в течение более 36 мес.

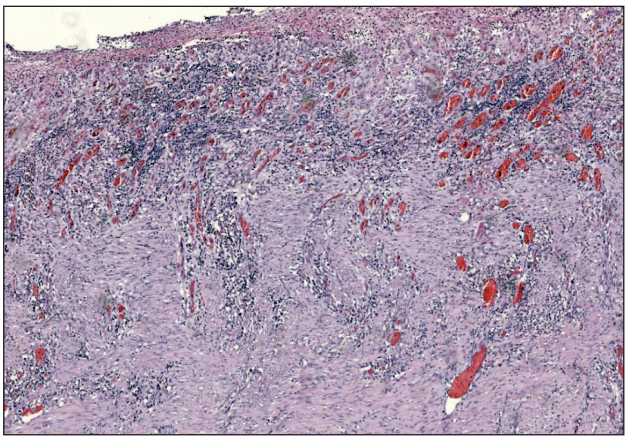


Рис. 1. Микрофото. В стенке желудка рост грануляционной ткани, покрытой детритом и фибрином, разрастание рыхлой волокнистой соединительной ткани с очаговой выраженной лимфоцитарной инфильтрацией, полнокровными тонкостенными сосудами капиллярного типа. Морфологическая картина лечебного патоморфоза 1а по Becker. Окраска гематоксилином и эозином, ×40

Fig. 1. Microphoto. The growth of granulation tissue covered with detritus and fibrin, the proliferation of loose fibrous connective tissue with focal lymphocytic infiltration, full-blooded thin-walled capillary vessels in the stomach wall. Morphological picture of pathological complete response of grade 1a by Becker. Staining hematoxylin-eosin, ×40

Обсуждение

Нами были проанализированы такие источники, как UpToDate, Medscape, Pubmed, Lancet; описания клинических случаев, аналогичных представленному выше, найдено не было. Отсутствие подобных сведений в мировой литературе, вероятно, связано с тем, что больных раком желудка крайне редко оперируют после одного цикла химиотерапии, обычно проводят 3–4 и более циклов. В данном случае выполнение операции было вызвано развитием грозного осложнения – профузного кровотечения из опухоли. Вместе с тем, в литературе имеются данные о полном лечебном патоморфозе у пациентов с раком желудка после нескольких курсов неоадъвантной химиотерапии, а также высоких показателях выживаемости у данной группы больных, что делает эту тему актуальной.

H. Cho et al. [4] проанализировали данные о 22 пациентах с полной морфологической регрессией первичной опухоли и регионарных лимфатических узлов после неоадъювантной химиотерапии. Преобладали клиническая III/IV стадия (86 %), низкая степень дифференцировки (62 %) и инфильтративные формы (64 %) опухоли. Во всех случаях выполнена радикальная операция с лимфаденэктомией D2/D3. При медиане наблюдения 76 мес метастазы выявлены у 3 пациентов; 5-летняя общая и безрецидивная выживаемость составили 85 и 75 % соответственно. Таким образом, авторы заключили, что в случае полной морфологической регрессии опухоли после неоадъювантной терапии больные имеют очень высокие показатели выживаемости.

Q. Hu et al. [5] проанализировали данные о 13 пациентах с полным патоморфологическим ответом первичной опухоли после неоадъювантной химиотерапии и хирургического лечения в объеме гастрэктомии D2. У всех пациентов до начала лечения имела место распространенность опухоли cT4N+, морфологически преобладала низкодифференцированная аденокарцинома (62 %). Медиана наблюдения за пациентами составила 38 (диапазон 9–68) мес. Показатели общей 1- и 3-летней выживаемости составили 92 и 84 % соответственно. Данное исследование подтверждает вывод, представленный выше: выживаемость пациентов с полным лечебным патоморфозом после неоадъювантной терапии очень высокая и сопоставима с аналогичными показателями после хирургического лечения пациентов с раком желудка I–II стадий.

Также в 2013 г. исследователями из ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН был представлен клинический случай полной патоморфологической регрессии опухоли желудка после 4 курсов НАХТ по схеме FLOT у больного местнораспространенным раком желудка с прорастанием серозной оболочки [6]. По завершении химиотерапии больному выполнена радикальная операция в объеме спленосохранной гастрэктомии D2. При микроскопическом исследовании гистологического препарата опухоль не обнаружена, дно язвы представлено разрастанием фиброзной ткани без четких границ, распространяющимся на всю толщу стенки с врастанием в малый сальник. В слизистой оболочке дна и тела желудка наблюдалась картина неполной кишечной метаплазии и хронического гастрита, ассоциированного с Helicobacter pylori. В 18 удаленных лимфатических узлах признаков опухоли также не обнаружено.

Заключение

Таким образом, представленное клиническое наблюдение демонстрирует возможность достижения полного лечебного патоморфоза даже после одного цикла неоадъювантной химиотерапии. Объяснение данному феномену, на наш взгляд, следует искать в известном факте гетерогенности злокачественных опухолей вообще и рака желудка в частности. В многочисленных публикациях, в том числе при анализе нашего опыта, была показана существенная гетерогенность рака желудка по отношению к различным морфологическим и молекулярно-генетическим параметрам [7, 8]. Естественно, предпринимаются попытки поиска предикторов ответа опухоли на проводимую терапию, которые до настоящего времени успехом не увенчались [9].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021; 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.

2. *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 tumors in Russia* in 2020 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2021. 252 p. (in Russian)].

3. *Al-Batran S.E., Homann N., Pauligk C., Goetze T.O., Meiler J., Kasper S., Kopp H.G., Mayer F., Haag G.M., Luley K., Lindig U., Schmiegel W., Pohl M., Stoehlmacher J., Folprecht G., Probst S., Prasnikar N., Fischbach W., Mahlberg R., Trojan J., Koenigsmann M., Martens U.M., Thuss-Patience P., Egger M., Block A., Heinemann V., Illerhaus G., Moehler M., Schenk M., Kullmann F., Behringer D.M., Heike M., Pink D., Teschendorf C., Löhr C., Bernhard H., Schuch G., Rethwisch V., von Weikersthal L.F., Hartmann J.T., Kneba M., Daum S., Schulmann K., Weniger J., Belle S., Gaiser T., Oduncu F.S., Güntner M., Hozaeel W., Reichart A., Jäger E., Kraus T., Mönig S., Bechstein W.O., Schuler M., Schmalenberg H., Hofheinz R.D.; FLOT4-AIO Investigators.* Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial. Lancet. 2019; 393(10184): 1948–57. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32557-1.

4. *Cho H., Nakamura J., Asaumi Y., Yabusaki H., Sakon M., Takasu N., Kobayashi T., Aoki T., Shiraishi O., Kishimoto H., Nunobe S., Yanagisawa S., Suda T., Ueshima S., Matono S., Maruyama H., Tatsumi M., Seya T., Tanizawa Y., Yoshikawa T.* Long-term survival outcomes of advanced gastric cancer patients who achieved a pathological complete response with neoadjuvant chemotherapy: a systematic review of the literature. Ann Surg Oncol. 2015; 22(3): 787–92. doi: 10.1245/s10434-014-4084-9.

5. *Hu Q., Wang J., Xu W-G., Shao P., Li G.* Survival outcomes of locally advanced gastric cancer cases with pathological complete response received neoadjuvant chemotherapy. Precision Medical Sciences. 2021; 10(2): 78–82. doi: 10.1002/prm2.12038.

6. *Трусилова Е.В., Бесова Н.С., Горбунова В.А., Глухов Е.В., Нередо С.Н., Стилиди И.В., Меликов С.А., Перфильев И.Б., Бондаренко Ю.В.* Полная патоморфологическая регрессия опухоли желудка

после проведения неоадъювантной химиотерапии у больного местнораспространенным раком желудка. Клинический случай. Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2013; 24(1). [*Trusilova E.V., Besova N.S., Gorbunova V.A., Gluhov E.V., Nered S.N., Stilidi I.V., Melikov S.A., Perfil'ev I.B., Bondarenko Yu.V.* Complete pathological response of gastric tumor following neoadjuvant chemotherapy in a patient with locally advanced gastric cancer. Case report. Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS. 2013; 24(1). (in Russian)].

7. *McLaren P.J., Barnes A.P., Terrell W.Z., Vaccaro G.M., Wiedrick J., Hunter J.G., Dolan J.P.* Specific gene expression profiles are associated with a pathologic complete response to neoadjuvant therapy in esophageal adenocarcinoma. Am J Surg. 2017; 213(5): 915–20. doi: 10.1016/j.amjsurg.2017.03.024.

8. *Мозеров С.А., Скоропад В.Ю., Новиков Н.Ю., Михайлова Г.Ф., Силантьева Н.К., Агабабян Т.А., Бекетова О.Г., Комин Ю.А., Чаиркин И.Н., Пашкин С.Б., Мозерова Е.С.* Гистологическая и молекулярно-генетическая оценка ответа опухоли на химио-лучевую терапию при раке желудка. Современные проблемы науки и образования. 2017; (4): 76. [*Mozerov S.A., Skoropad V.Yu., Novikov N.Y., Mikhailova G.F., Silanteva N.K., Agababian T.A., Beketova O.G., Komin Yu.A., Chairkin I.N., Pashkin S.B., Mozerova E.S.* Histological and molecular genetic evaluation of tumor response to chemotherapy / radiation therapy for gastric cancer. Modern Problems of Science and Education. 2017; (4): 76. (in Russian)]. doi: 10.17513/spno.26684.

9. *Sun J., Wang X., Zhang Z., Zeng Z., Ouyang S., Kang W.* The Sensitivity Prediction of Neoadjuvant Chemotherapy for Gastric Cancer. Front Oncol. 2021; 11. doi: 10.3389/fonc.2021.641304.

Поступила/Received 12.08.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 14.10.2022
Принята к публикации/Accepted 07.11.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Скоропад Виталий Юрьевич, доктор медицинских наук, заведующий отделом торако-абдоминальной онкологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru. SPIN-код: 2283-1111. Researcher ID (WOS): E-2200-2018. ORCID: 0000-0002-2136-1994.

Кудрявцев Дмитрий Дмитриевич, кандидат медицинских наук, врач-онколог, старший научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 1680-5735. Researcher ID (WOS): C-8505-2018. ORCID: 0000-0003-0406-0046.

Шитарева Вероника Николаевна, врач-ординатор по специальности «онкология», Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия).

Жаворонкова Екатерина Сергеевна, врач-патологоанатом, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 7368-8656. Researcher ID (WOS): AAC-2154-2019. ORCID: 0000-0002-7957-0115.

ВКЛАД АВТОРОВ

Скоропад Виталий Юрьевич: анализ научной работы и ее структуризация, критическая оценка с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение версии статьи, подлежащей публикации.

Кудрявцев Дмитрий Дмитриевич: клиническая работа с пациентом, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Шитарева Вероника Николаевна: сбор материала, поиск и анализ источников литературы, разработка концепции научной работы, написание черновика статьи.

Жаворонкова Екатерина Сергеевна: непосредственная реализация морфологического и иммуногистохимического исследования в данной работе, предоставление микрофотографий

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Vitaliy Yu. Skoropad, MD, DSc, Head of the Department of Thoracic and Abdominal Oncology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Obninsk, Russia). E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru. Researcher ID (WOS): E-2200-2018. ORCID: 0000-0002-2136-1994.

Dmitriy D. Kudryavtsev, MD, PhD, Oncologist, Senior Researcher, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Obninsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8505-2018. ORCID: 0000-0003-0406-0046.

Veronika N. Shitareva, Medical Resident, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Obninsk, Russia).

Ekaterina S. Zhavoronkova, MD, Pathologist, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Obninsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAC-2154-2019. ORCID: 0000-0002-7957-0115.

AUTHOR CONTRIBUTION

Vitaliy Yu. Skoropad: research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the version to be published.
Dmitriy D. Kudryavtsev: research supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.
Veronika N. Shitareva: data collection and analysis, study conception, drafting of the manuscript.
Ekaterina S. Zhavoronkova: morphological and immunohistochemical staging, providing microphotographs.

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

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-170-176
УДК: 616.329-006.363.03-089

Для цитирования: *Камалов А.К., Рябов А.Б., Хомяков В.М., Волченко Н.Н., Колобаев И.В., Кострыгин А.К., Соболев Д.Д., Уткина А.Б., Аксенов С.А., Макурина М.П.* Трансхиатальная лапароскопическая энуклеация лейомиомы нижнегрудного отдела пищевода. Клиническое наблюдение. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 170–176. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-170-176

For citation: *Kamalov A.K., Ryabov A.B., Khomyakov V.M., Volchenko N.N., Kolobaev I.V., Kostrygin A.K., Sobolev D.D., Utkina A.B., Aksenov S.A., Makurina M.P.* Transhiatal laparoscopic enucleation of lower thoracic esophageal leiomyoma. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 170–176. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-170-176

ТРАНСХИАТАЛЬНАЯ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКАЯ ЭНУКЛЕАЦИЯ ЛЕЙОМИОМЫ НИЖНЕГРУДНОГО ОТДЕЛА ПИЩЕВОДА. КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

А.К. Камалов[1], А.Б. Рябов[1], В.М. Хомяков[1], Н.Н. Волченко[1], И.В. Колобаев[2], А.К. Кострыгин[1], Д.Д. Соболев[1], А.Б. Уткина[1], С.А. Аксенов[1], М.П. Макурина[1]

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия[1]
Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр-д, 3. E-mail: kak6768@mail.ru[1]
Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия[2]
Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королёва, 4[2]

Аннотация

Актуальность. Мезенхимальные опухоли составляют 2 % от всех новообразований пищевода, из них на долю лейомиом приходится до 80 %, которые преимущественно локализуются в нижней трети пищевода. Хирургический метод является основным в лечении данной нозологии. Из-за низкой встречаемости отсутствуют единые подходы к выбору хирургического объема и доступа. Малоинвазивные методики имеют преимущества перед открытыми доступами. Однако целый ряд факторов влияет на принятие решения: размер, локализация и расположение опухоли по окружности пищевода. При небольших новообразованиях с интрамуральной формой роста возможно выполнение эндоскопической резекции. При больших и протяженных лейомиомах показана операция Льюиса. В остальных случаях энуклеация опухоли является золотым стандартом лечения. Вопрос малоинвазивного хирургического доступа является актуальным. При опухолях, расположенных в нижнегрудном отделе пищевода ближе к пищеводно-желудочному переходу, торакоскопический доступ имеет ограничения. В этой связи лапароскопический доступ с возможностью трансхиатальной мобилизации пищевода обеспечивает адекватную возможность для энуклеации опухоли. **Описание клинического случая.** Нами выполнена лапароскопическая трансхиатальная энуклеация опухоли пищевода у пациентки 47 лет, с лейомиомой нижнегрудного отдела пищевода. Операция выполнена в объеме R0. Период наблюдения составил 12 мес, без признаков рецидива заболевания. **Заключение.** Данная методика, на наш взгляд, полностью оправдана, при тщательном отборе пациентов и соблюдении всех правил онкохирургии. Лапароскопический доступ с трансхиатальной мобилизацией пищевода обеспечивает хорошую возможность для выполнения энуклеации мезенхимальных опухолей, локализованных в нижней трети грудного отдела, на уровне наддиафрагмального и абдоминального сегмента.

Ключевые слова: лапароскопическая трансхиатальная энуклеация, лейомиома пищевода, хирургическое лечение.

Камалов Азиз Кураглиевич, kak6768@mail.ru

TRANSHIATAL LAPAROSCOPIC ENUCLEATION OF LOWER THORACIC ESOPHAGEAL LEIOMYOMA

A.K. Kamalov[1], A.B. Ryabov[1], V.M. Khomyakov[1], N.N. Volchenko[1], I.V. Kolobaev[2], A.K. Kostrygin[1], D.D. Sobolev[1], A.B. Utkina[1], S.A. Aksenov[1], M.P. Makurina[1]

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia[1]
3, 2nd Botkinsky Dr., 125284, Moscow, Russia. E-mail: kak6768@mail.ru[1]
A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia, Obninsk, Russia[2]
4, Korolyeva St., 249036, Obninsk, Russia[2]

Abstract

The purpose of the study. Mesenchymal tumors of the esophagus comprise 2 % of all esophageal tumors. Leiomyosarcoma is the most common mesenchymal tumor in the esophagus (up to 80 %). It is located in the lower third of the esophagus. The main treatment modality of leiomyosarcoma is surgery. Due to the low frequency of occurrence, there are no unified approaches to the choice of surgical volume and access. Minimally invasive techniques have advantages over open approaches. However, final treatment approach depends on many factors: localization and location of the tumor around the circumference of the esophagus, as well as size. Endoscopic resection is feasible for small tumors with an intramural growth. In case of large leiomyomas, Lewis operation should be performed. In all other cases, tumor enucleation is the gold standard of treatment. The issue of minimally invasive surgical access is relevant. Thoracoscopic access has limitations for tumors located in the lower thoracic esophagus closer to the esophageal-gastric junction. In this regard, a laparoscopic approach with the possibility of transhiatal mobilization of the esophagus provides an adequate opportunity for tumor enucleation. **Clinical case description.** We hereby report our case study in which we employ the use of laparoscopic transhiatal enucleation to remove leiomyoma of the lower thoracic part of the esophagus. A 47-year-old female presented to P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute with complaints of pain in the epigastrium, discomfort behind the sternum when taking solid food. R0 resection was performed. During the one year follow-up period no sign of disease recurrence was observed. **Conclusion.** This approach, in our opinion, is fully justified, with careful selection of patients and compliance with guidelines of cancer surgery. Laparoscopic approach with transhiatal mobilization of the esophagus provides a good opportunity to perform the enucleation of mesenchymal tumors localized in the lower third of the thoracic region, at the level of the supraphrenic and abdominal segments.

Key words: laparoscopic transhiatal enucleation, esophageal leiomyoma, surgical treatment.

Введение

Мезенхимальные опухоли составляют 2 % от всех новообразований пищевода [1], из них на долю лейомиом приходится до 80 % [2], которые преимущественно локализуются в нижней трети пищевода (до 81 %) [3, 4]. Хирургический метод является основным в лечении данной нозологии. Как правило, мезенхимальные новообразования протекают бессимптомно, а клинические симптомы появляются, когда опухоль достигает больших размеров. Одни из первых жалоб, которые предъявляют пациенты, – это чувство инородного тела за грудинной, затруднение глотания пищи, а также, при наличии изъязвления слизистой оболочки пищевода, возможны желудочно-кишечные кровотечения (ЖКК) [3–5].

Основными методами диагностики являются компьютерная томография и эндосонография, позволяющие определить до операции локализацию опухоли в пищеводе, размер, характер роста и строение. Анализ данных с достаточно высокой степенью информативности позволяет сформулировать диагноз [6].

При планировании органосохраняющего лечения морфологическая верификация не обязательна, так как по малым образцам сложно дифференцировать лейомиому от гастроинтестинальной стромальной опухоли [7, 8]. Кроме того, вследствие воспаления в месте биопсии развивается фиброз, который затрудняет энуклеацию опухоли без вскрытия просвета пищевода. Однако при планировании неадъювантного противоопухолевого лечения морфологическая верификация обязательна.

В связи с низкой частотой встречаемости данной категории опухолей отсутствуют единые подходы к выбору хирургического доступа. Малоинвазивные методики имеют преимущества перед открытыми доступами. Однако целый ряд факторов влияет на принятие решения: локализация опухоли в нижнегрудном отделе пищевода, расположение опухоли по окружности пищевода, а также размер лейомиомы.

При небольших новообразованиях (до 4 см) с интрамуральной формой роста возможно выполнение эндоскопической туннельной резекции

[3, 6]. При больших и протяженных лейомиомах показана операция Льюиса. В остальных случаях эндохирургическая энуклеация опухоли является золотым стандартом лечения [9]. Вопрос выбора малоинвазивного хирургического доступа является актуальным. При опухолях, расположенных в нижнегрудном отделе пищевода ближе к пищеводно-желудочному переходу, торакоскопический доступ имеет ограничения. В этой связи лапароскопический доступ с возможностью трансхиатальной мобилизации пищевода обеспечивает адекватную возможность для энуклеации опухоли. В подтверждение этого приводим клиническое наблюдение.

Описание клинического случая

Пациентка С., 47 лет, обратилась в МНИОИ им. П.А. Герцена с жалобами на боли в эпигастрии, дискомфорт за грудиной при приеме твердой пищи. По данным ЭГДС с эндосонографией на уровне 35,5 см от резцов, по задней полуокружности визуализирована проксимальная граница субэпителиального образования пищевода, занимающая на этом уровне половину окружности. Дистальнее опухоль переходила на левую и переднюю стенки (до уровня 37 см от резцов), занимая 3/4 окружности, нависая над кардиоэзофагеальным переходом. При инструментальной пальпации опухоль имела мягкую консистенцию. Просвет пищевода сужен не более чем на 1/4. При эндосонографии с датчиком 20 МГц и эхоэндоскопом 6 МГц подтверждено, что образование являлось единым, охватывало циркулярно просвет пищевода на 3/4, анэхогенно, имело гиперэхогенные септы, располагалось в подслизистом слое (рис. 1). По данным СКТ с внутривенным контрастированием – в заднем средостении определялось образование округлой формы с относительно четкими контурами, поперечными размерами 38×36 мм, вертикальным – 52 мм, накапливавшее контрастный препарат в пределах 15HU, на фоне которого прослеживалась слизистая оболочка пищевода и его просвет с газом, без признаков инвазивного роста (рис. 2). Учитывая данные исследования, клинически был выставлен диагноз мезенхимальная опухоль.

29.06.2021 пациентке выполнена лапароскопическая трансхиатальная энуклеация опухоли пищевода. Положение пациентки на операционном столе на спине с разведенными ногами. Под камеру в области пупочного кольца установлен 11-мм троакар. По параректальной линии на уровне пупка установлено 2 5-мм порта справа и слева. Дополнительно было установлено 2 10-мм порта на уровне реберной дуги соответственно (рис. 3). После ревизии была мобилизована левая доля печени рассечением венечной и треугольной связок. Затем была рассечена желудочно-диафрагмальная связка и выполнена сагиттальная диафрагмотомия. Рассечена правая ножка диафрагмы. Далее произведена мобилизация кардиального отдела

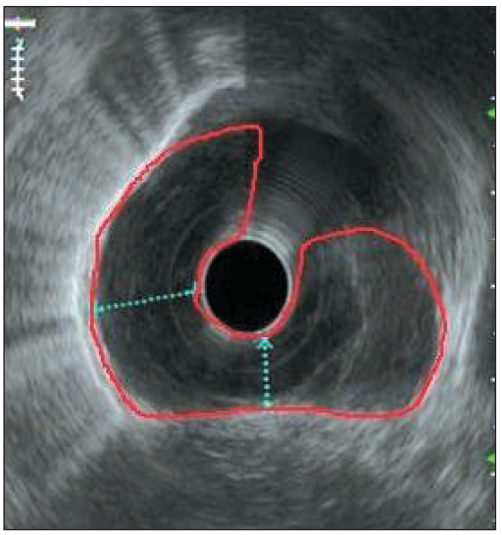


Рис. 1. Эндосонография. Границы опухоли отмечены красной линией
Fig. 1. Endosonography. The borders of the tumor are marked with a red line

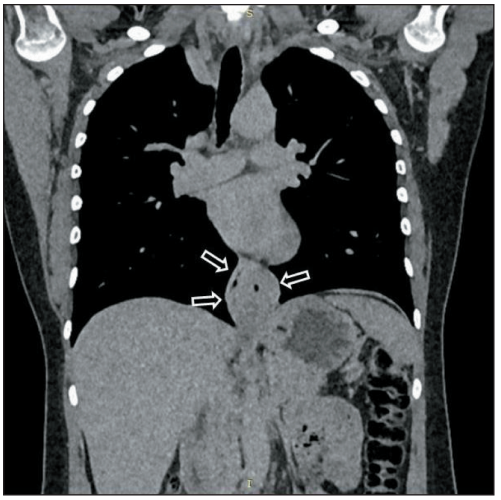


Рис. 2. КТ органов грудной клетки. Опухоль пищевода отмечена стрелками
Fig. 2. CT-scan of the chest. Tumor of the esophagus is marked with arrows

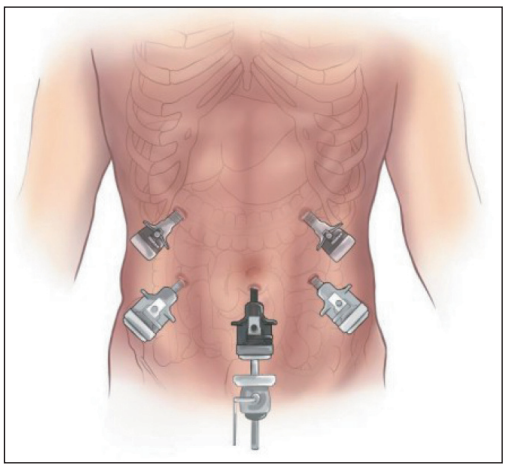


Рис. 3. Схематичное расположение портов
Fig. 3. Schematic diagram of ports

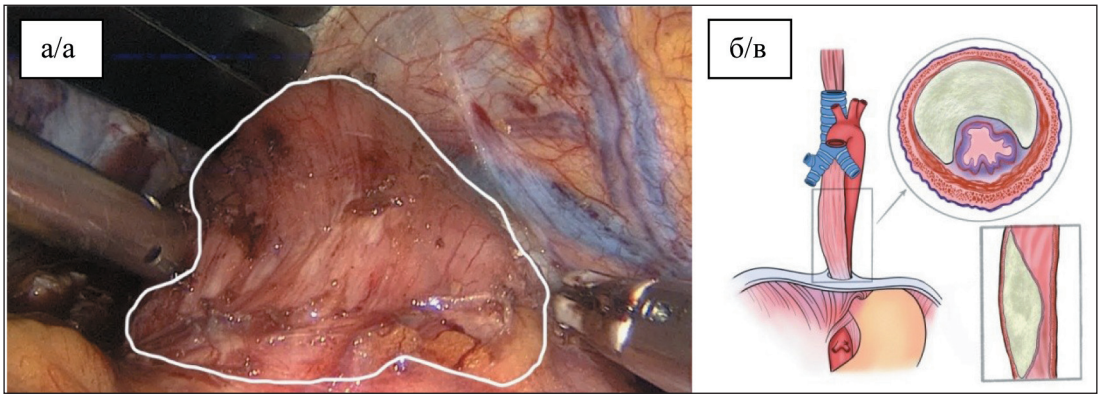


Рис. 4. Мобилизована н/3 пищевода и зона КЭП с опухолью:
а – интраоперационная фотография (выделена белой линией); б – схематичное изображение
Fig. 4. Low third of the esophagus and zone of cardioesophageal junction (CEJ) with tumor were mobilized:
a – intraoperative photograph (white line), b – schematic image

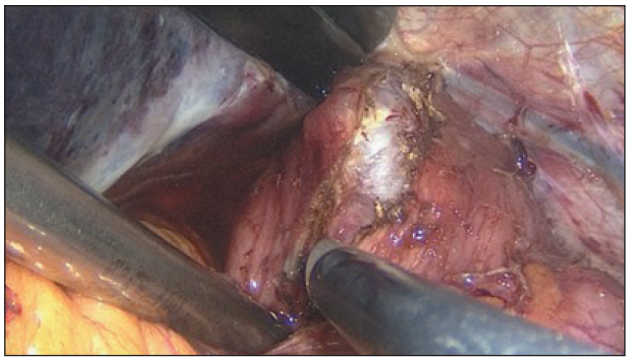


Рис. 5. Рассечение мышечного слоя пищевода
Fig. 5. Dissection of the muscular layer of the esophagus

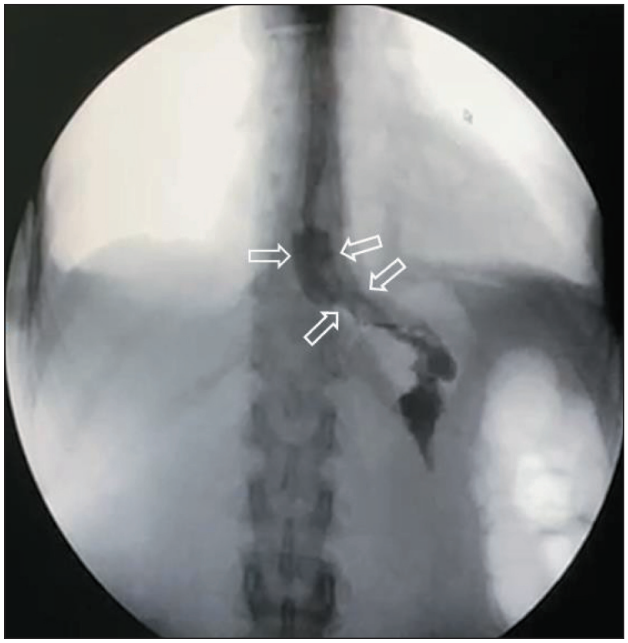


Рис. 6. Рентгеноскопия с пероральным контрастированием н/3 пищевода и КЭП после операции
Fig. 6. Radioscopy with oral contrast of the low third of the esophagus and CEJ after surgery

желудка и пищевода до ретроперикардиального отдела. В наддиафрагмальном сегменте пищевода определялась многоузловая опухоль, размером 8×6×5 см, которая муфтообразно охватывала пищевод преимущественно по передней и боковым стенкам. Мышечная стенка пищевода над образованием была не изменена (рис. 4). С помощью монополярного крючка рассечена мышечная оболочка пищевода над опухолью на протяжении 5 см (рис. 5). При помощи электрохирургических инструментов прецизионно произведена мобилизация опухоли по ее окружности. Препарат удален. Образовавшийся дефект слизистой в 1 см был ушит непрерывным двухрядным швом нитью V-Loc в поперечном направлении. Установлены назоинтестинальный зонд и дренажная трубка в подпеченочное пространство. Эвакуация препарата была осуществлена в контейнере через разрез в области 11-мм порта. Объем кровопотери составил – 80 мл, продолжительность операции – 365 мин.

Послеоперационный период протекал без осложнений. На 6-е сут после операции выполнена рентгеноскопия пищевода и желудка с пероральным приемом водорастворимого контраста: последний свободно проходит через дистальные отделы пищевода, выхода его за пределы стенки не получено. Эвакуация из желудка, двенадцатиперстной кишки своевременная (рис. 6). Пациентка выписана на 10-е сут после операции в удовлетворительном состоянии.

При морфологическом исследовании – опухоль построена из разнонаправленных пучков, образованных веретеновидными клетками, с эозинофильной цитоплазмой, сигароподобными вытянутыми ядрами. Опухоль четко ограничена от окружающей жировой клетчатки. Митотическая активность в опухоли не выражена. По результатам иммуногистохимического (ИГХ) исследования – положительная экспрессия в опухолевых клетках: SMA, Desmin. Отрицательная

экспрессия: CD117, CD34, DOG1. ИГХ картина соответствует лейомиоме пищевода.

С учетом радикальности хирургического вмешательства и морфологии опухоли дополнительное противоопухолевое лечение не показано, рекомендовано динамическое наблюдение. Срок наблюдения – 12 мес. По результатам контрольного обследования данных за рецидив заболевания не выявлено. Жалоб пациентка не предъявляет.

Обсуждение

При лейомиомах пищевода хирургическое лечение в объеме энуклеации опухоли показано в случае симптомного течения заболевания, быстром темпе роста или при размерах опухоли более 3 см [6, 10]. Если не планируется неоадъювантная терапия, то морфологическая верификация не обязательна, поскольку это не меняет тактику лечения [11]. Обязательными требованиями к органосохраняющему хирургическому лечению являются радикальное удаление опухоли без повреждения ее капсулы, блуждающих нервов и попытка сохранения слизистой оболочки пищевода.

В настоящее время имеется большой арсенал хирургических доступов и методик при мезенхиамальных опухолях пищевода. С развитием малоинвазивной хирургии в последнее время все реже и реже стал применяться открытый доступ. В основном открытая хирургия используется при местнораспространенных опухолях, когда выполняется операция Льюиса. Применение эндоскопических методов удаления опухоли имеет ряд ограничений, это небольшие опухоли до 3–4 см в диаметре, с четкими ровными контурами, которые располагаются в подслизистом слое. В данном клиническом примере применение метода туннельной резекции было невозможно из-за того, что опухоль циркулярно охватывала весь пищевод.

В классических случаях опухоли верхне- и среднегрудного отделов пищевода удаляются торакоскопическим доступом справа. При нижнегрудной локализации выбор доступа определен расстоянием опухоли от пищеводно-желудочного перехода, пищеводного отверстия диафрагмы. В данном клиническом наблюдении опухоль располагалась над пищеводо-желудочным переходом, имела большую протяженность и сложную форму с распространением на 3/4 окружности пищевода. Поэтому использование торакоскопического доступа ни справа, ни слева было невозможно.

Лапароскопический доступ с трансхиатальной мобилизацией пищевода обеспечивает хорошие условия для выполнения энуклеации опухолей до уровня наддиафрагмального сегмента [11]. В 2019 г. E. Asti et al. опубликовали результаты 35 выполненных лапароскопических энуклеаций опухоли пищевода. Во всех случаях операция была дополнена фундопликацией с целью снижения частоты гастроэзофагиальной рефлюксной болезни (ГЭРБ). Период наблюдения составил 49 мес [12].

Даже при больших лейомиомах нижнегрудного отдела пищевода, как в нашем случае, необходимо стремиться к выполнению энуклеации. Лапароскопически возможно выполнить резекцию кардиоэзофагеального перехода с участком нижнегрудного отдела пищевода, однако развивающийся рефлюкс определяет низкие функциональные результаты такой операции. При схожей с нашим наблюдением лейомиоме G. Thakut et al. в 2020 г. выполнили проксимальную субтотальную резекцию желудка и абдоминального сегмента пищевода с наложением трансхиатального анастомоза с помощью циркулярного сшивающего аппарата [13]. При анализе результатов операции авторы сделали вывод о необходимости избегать выполнения данного объема операции, поскольку у пациентки имелась выраженная клиника ГЭРБ, симптомы которой не купировались консервативной терапией.

Таким образом, лапароскопический доступ с трансхиатальной мобилизацией пищевода обеспечивает хорошую возможность для выполнения энуклеации мезенхимальных опухолей, локализованных в нижней трети грудного отдела на уровне наддиафрагмального сегмента.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Sanchez-Garcia Ramos E., Cortes R., de Leon A.R., Contreras-Jimenez E., Rodríguez-Quintero J.H., Morales-Maza J., Aguilar-Frasco J., Irigoyen A., Reyes F., Alfaro-Goldaracena A.* Esophageal schwannomas: A rarity beneath benign esophageal tumors a case report. Int J Surg Case Rep. 2019; 58: 220–3. doi: 10.1016/j.ijscr.2019.03.038.

2. *Kitada M., Matsuda Y., Hayashi S., Ishibashi K., Oikawa K., Miyokawa N.* Esophageal schwannoma: a case report. World J Surg Oncol. 2013; 11: 253. doi: 10.1186/1477-7819-11-253.

3. *Pence K., Correa A.M., Chan E., Khaitan P., Hofstetter W., Kim M.P.* Management of esophageal gastrointestinal stromal tumor: review of one hundred seven patients. Dis Esophagus. 2017; 30(12): 1–5. doi: 10.1093/dote/dox064.

4. *Jesić R., Randjelović T., Gerzić Z., Zdravković Dj., Krstić M., Milinić N., Pavlović A., Svejić T., Bulajić M.* [Leiomyoma of the esophagus. Case report]. Srp Arh Celok Lek. 1997; 125(3–4): 113–5.

5. *Kobayashi N., Kikuchi S., Shimao H., Hiki Y., Kakita A., Mitomi H., Ohbu M.* Benign esophageal schwannoma: report of a case. Surg Today. 2000; 30(6): 526–9. doi: 10.1007/s005950070120.

6. *Wang G.X., Yu G., Xiang Y.L., Miu Y.D., Wang H.G., Xu M.D.* Submucosal tunneling endoscopic resection for large symptomatic submucosal tumors of the esophagus: A clinical analysis of 24 cases. Turk J Gastroenterol. 2020; 31(1): 42–8. doi: 10.5152/tjg.2020.19062.

7. *Rösch T., Kapfer B., Will U., Baronius W., Strobel M., Lorenz R., Ulm K.; German EUS Club. Endoscopic ultrasonography.* Accuracy of endoscopic ultrasonography in upper gastrointestinal submucosal lesions: a prospective multicenter study. Scand J Gastroenterol. 2002; 37(7): 856–62.

8. *Dumonceau J.M., Deprez P.H., Jenssen C., Iglesias-Garcia J., Larghi A., Vanbiervliet G., Aithal G.P., Arcidiacono P.G., Bastos P., Car-rara S., Czakó L., Fernández-Esparrach G., Fockens P., Ginès A., Havre R.F., Hassan C., Vilmann P., van Hooft J.E., Polkowski M.* Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline – Updated January 2017. Endoscopy. 2017; 49(7): 695–714. doi: 10.1055/s-0043-109021.

9. *Mujawar P., Pawar T., Chavan R.N.* Video Assisted Thoracoscopic Surgical Enucleation of a Giant Esophageal Leiomyoma Presenting with Persistent Cough. Case Rep Surg. 2016. doi: 10.1155/2016/7453259.

10. *Milito P., Asti E., Aiolfi A., Zanghi S., Siboni S., Bonavina L.* Clinical Outcomes of Minimally Invasive Enucleation of Leiomyoma of

the Esophagus and Esophagogastric Junction. J Gastrointest Surg. 2020; 24(3): 499–504. doi: 10.1007/s11605-019-04210-3.

11. *Andrási L., Szepes Z., Tiszlavicz L., Lázár G., Paszt A.* Complete laparoscopic-transhiatal removal of duplex benign oesophageal tumour: case report and review of literature. BMC Gastroenterol. 2021; 21(1): 47. doi: 10.1186/s12876-021-01625-8.

12. *Asti E., Siboni S., Sironi A., Barbieri L., Bonavina L.* Minimally invasive surgery for submucosal benign esophageal tumors: indications, preoperative investigations, patient selection, and clinical outcomes. Ann Laparosc Endosc Surg. 2019; 4. doi: 10.21037/ales.2019.06.13.

13. *Thakut G., Murchite S.A., Kulkarni R.M., Gaikwad V.V.* Leiomyoma of esophagus-A case report. Int J Surg Case Rep. 2020; 76: 285–287. doi: 10.1016/j.ijscr.2020.09.142.

Поступила/Received 30.06.2022
Одобрена после рецензирования/Revised 23.09.2022
Принята к публикации/Accepted 11.10.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Камалов Азиз Кураглиевич, аспирант, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1671-1600. ORCID: 0000-0001-7376-6056.

Рябов Андрей Борисович, доктор медицинских наук, заведующий отделением торакоабдоминальной онкохирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9810-5315. Author ID (Scopus): 56879929500. Researcher ID (WOS): E-8515-2018.

Хомяков Владимир Михайлович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением торакоабдоминальной онкохирургии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4081-7701. Author ID (Scopus): 56740937000. Researcher ID (WOS): W-4911-2019.

Волченко Надежда Николаевна, доктор медицинских наук, заведующая патологоанатомическим отделением, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-4873-4455.

Колобаев Илья Владимирович, заведующий отделением рентгенохирургических методов диагностики и лечения, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 1382-5529. ORCID: 0000-0002-3573-6996.

Костыгин Александр Константинович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник торакоабдоминального хирургического отделения, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3112-0170.

Соболев Дмитрий Дмитриевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник торакоабдоминального хирургического отделения, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6280-1731. ORCID: 0000-0001-5305-4705.

Уткина Анна Борисовна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник торакоабдоминального хирургического отделения, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-9394-9105.

Аксенов Сергей Александрович, онколог торакоабдоминального хирургического отделения, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8999-2534. Researcher ID (WOS): W-4897-2019. ORCID: 0000-0002-9050-9497.

Макурина Марина Павловна, онколог, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-5521-8379.

ВКЛАД АВТОРОВ

Камалов Азиз Кураглиевич: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, редактирование.
Рябов Андрей Борисович: концепция и дизайн исследования, редактирование.
Хомяков Владимир Михайлович: концепция и дизайн исследования.
Волченко Надежда Николаевна: концепция и дизайн исследования.
Колобаев Илья Владимирович: концепция и дизайн исследования.
Костыгин Александр Константинович: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала.
Соболев Дмитрий Дмитриевич: концепция и дизайн исследования.
Уткина Анна Борисовна: концепция и дизайн исследования.
Аксенов Сергей Александрович: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала.
Макурина Марина Павловна: концепция и дизайн исследования, создание графических изображений.

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

ABOUT THE AUTHORS

Aziz K. Kamalov, MD, Postgraduate student, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-7376-6056.
Andrey B. Ryabov, MD, DSc, Head of the Department of Thoracoabdominal Oncosurgery, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 56879929500. Researcher ID (WOS): E-8515-2018.
Vladimir M. Khomyakov, MD, PhD, Head of the thoracoabdominal Surgical Department, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 56740937000. Researcher ID (WOS): W-4911-2019.
Nadezhda N. Volchenko, MD, DSc, Head of the Department of Pathological Anatomy, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-4873-4455.
Ilya V. Kolobaev, MD, PhD, Head of the Department of Radiation and Surgical Treatment of Thoracic Diseases, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Obninsk, Russia). ORCID: 0000-0002-3573-6996.
Alexander K. Kostrygin, MD, PhD, Researcher, Thoracic and Abdominal Surgery Department, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia).
Dmitry D. Sobolev, MD, PhD, Researcher, Thoracic and Abdominal Surgery Department, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5305-4705.
Anna B. Utkina, MD, PhD, Researcher, Thoracic and Abdominal Surgery Department, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9394-9105.
Sergei A. Aksenov, MD, Oncologist, Thoracic and Abdominal Surgery Department, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): W-4897-2019. ORCID: 0000-0002-9050-9497.
Marina P. Makurina, MD, Oncologist, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-5521-8379.

AUTHOR CONTRIBUTION

Aziz K. Kamalov: study conception and design, data collection, writing of the manuscript, editing of the manuscript.
Andrey B. Ryabov: study conception and design, editing of the manuscript.
Vladimir M. Khomyakov: study conception and design.
Nadezhda N. Volchenko: study conception and design.
Ilya V. Kolobaev: study conception and design.
Alexander K. Kostrygin: study conception and design, data collection.
Dmitry D. Sobolev: study conception and design.
Anna B. Utkina: study conception and design.
Sergei A. Aksenov: study conception and design, data collection.
Marina P. Makurina: study conception and design, creation of graphic figures.

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

РЕЗОЛЮЦИЯ СОВЕЩАНИЯ ЭКСПЕРТОВ В ОБЛАСТИ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЭНДОМЕТРИЯ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

Л.А. Коломиец[1,2], С.Э. Красильников[3,4,17], Н.Э. Мусаева[5], Д.Ю. Юкальчук[6], О.Н. Чуруксаева[1], Л.Д. Жуйкова[1], Н.М. Чернорубашкина[6], Л.А. Таширева[1], М.А.-К. Ходжахова[7], О.В. Жаркова[8], Е.Н. Александрова[9], В.Н. Журман[10,11], А.А. Гречкина[10], В.Г. Сисакян[4,12,17], Д.О. Павлова[12], Э.М. Пшевлоцкий[13], А.А. Гофман[14], А.В. Тархов[15], А.В. Терещенко[15], Н.А. Бюксель[15], А.А. Филиппов[15], Д.Н. Кушлинский[16]

НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия[1]
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия[2]
НИИ онкологии и нейрохирургии НМИЦ им. академика Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск, Россия[3]
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия[4]
КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского», г. Красноярск, Россия[5]
ГБУЗ «Областной онкологический диспансер», г. Иркутск, Россия[6]
ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия[7]
ГБУЗ «Камчатский краевой онкологический диспансер», г. Петропавловск-Камчатский, Россия[8]
ГБУ РС (Я) «Якутский республиканский онкологический диспансер», г. Якутск, Россия[9]
ГБУЗ «Приморский краевой онкологический диспансер», г. Владивосток, Россия[10]
ГБ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Владивосток, Россия[11]
ГБУЗ «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер», г. Новосибирск, Россия[12]
БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер», г. Омск, Россия[13]
КБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», г. Барнаул, Россия[14]
МБУЗ Городская клиническая больница № 1, г. Новосибирск, Россия[15]
КГБУЗ Клинический краевой центр онкологии, г. Хабаровск, Россия[16]
ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия[17]

Введение

7 октября 2022 г. в Новосибирске проведено региональное Совещание компании Эйсай в рамках проекта медицинского отдела “Eisai Virtual Oncology Key Experts (EVOKE) Academy” «Рак эндометрия (РЭ)» с участием специалистов здравоохранения Сибири и Дальнего Востока – онкологов, онкогинекологов, химиотерапевтов. Целями совещания были обсуждение вопросов эпидемиологии РЭ в регионе; маршрутизации больных; анализа результатов системной терапии РЭ; последних данных применения исследований комбинированной иммуно-таргетной терапии РЭ; использования клинических и патоморфологических критериев, определяющих подходы к терапии РЭ; представление и обсуждение промежуточных итогов анализа обобщенного опыта применения комбинации ленватиниба и пембролизумаба у больных РЭ в условиях реальной клинической практики на территории Сибири и Дальнего Востока; обсуждение дальнейшего развития региональных проектов по оптимизации лечения РЭ.

Злокачественные опухоли репродуктивной системы – наиболее часто встречающиеся новообразования у женщин, причем из 9,23 млн новых случаев рака у женщин более 1,39 млн приходится на долю гинекологического рака. Абсолютная смертность от онкологических заболеваний будет расти из-за роста численности населения планеты и увеличения продолжительности жизни. По прогнозу GLOBOCAN на 2035 г. заболеваемость гинекологическими злокачественными новообразованиями (ЗНО) составит: рак шейки матки (РШМ) – 736 тыс.; рак тела матки (РТМ) – 541 тыс.; рак яичников (РЯ) – 404 тыс.; всего – около 1 млн 681 тыс.; смертность: от РШМ – 428 тыс.; от РТМ – 138 тыс.; от РЯ – 268 тыс.; всего – 834 тыс. В мире в структуре онкологической заболеваемости РТМ находится на 6-м месте, удельный вес (УВ) – 4,5 %, в структуре смертности – на 12-м месте (УВ – 2,2 %). Заболеваемость РТМ в 2020 г. в России составила 19,7 на 100 тыс. населения, из которых 1,5 приходится на возрастную группу от 15 до 39 лет; смертность – 3,9 и 0,23 на 100 тыс. населения соответственно.

При анализе качества и уровня онкологической помощи следует учитывать, что плотность населения Сибири и Дальнего Востока является самой низкой в России: Сибирь – 3,9 человека на 1 км^2, Дальний Восток – 1,2, Российская Федерация (РФ) – 8. В Сибирском федеральном округе (СФО) наблюдается стабильность показателя заболеваемости РТМ в старших возрастных группах (75 и более лет) на фоне повышения его в возрасте старше 34 лет. Увеличилась заболеваемость РТМ у женщин репродуктивного возраста (30–49 лет). В СФО в 2021 г. зарегистрировано улучшение выявляемости РТМ на ранних стадиях (82,5 %), снижение запущенности (6,8 %), одногодичной летальности (7,5 %). Однако показатели в СФО и на Дальнем Востоке остаются хуже, чем в среднем по РФ: активная выявляемость составляет 27,4 % против 31,2 %; заболеваемость РТМ в 2021 г. в СФО составила 17,9 % против 16,4 % по РФ, в Дальневосточном федеральном округе (ДФО) она несколько ниже – 14,2 %; смертность от РТМ в 2020 г. в СФО достигла 4,4 %, в ДФО – 3,7 %, в то время как в РФ в целом – 3,8 %. Наиболее неблагоприятные регионы по заболеваемости РТМ – Алтайский край (18,7 %), Республика Хакасия (21 %), Иркутская область (19,3 %); по смертности – Кемеровская область (5,3 %), Красноярский край (5,3 %), Еврейская автономная область (7,0 %).

Соотношение смертность/заболеваемость для РТМ в 2020 г. в мире составило 0,23, в РФ – 0,27, в СФО – 0,31, в ДФО – 0,33. В 2020 г. ограничительные мероприятия в целях предотвращения распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) оказали негативное влияние на состояние онкологической помощи в регионе. Анализ свидетельствует о недостаточном выявлении ЗНО. В структуре заболеваемости женского населения Томской области РТМ занимает 5-е место (УВ – 5,8 %), в структуре смертности – 10-е место (УВ – 4,5 %). В Томской области за 2016–2020 гг.: косвенный ущерб DALY составил 4053,87 абсолютных единиц в связи со смертностью и инвалидизацией населения от РТМ с максимальными потерями в возрасте старше трудоспособного; прямые затраты составили 159,7 млн руб. по стационарной помощи (2179 случаев) и 11,5 млн руб. – по амбулаторной (29 849 случаев) с ростом затрат в динамике на 38,5 %. Наибольший УВ среди методов лечения имеет хирургический – 65,7 %. Отмечено снижение УВ комбинированного лечения – с 52 до 32,6 %.

Терапевтические режимы в лечении РЭ

В рекомендациях NCCN (National Comprehensive Cancer Network, 2022) по РЭ в качестве терапии 1-й линии распространенного (метастатического) РЭ предлагается комбинация карбоплатина с паклитакселом. По данным исследований, частота объективных ответов (ЧОО) на данной комбинации достигает примерно 53 %. При непереносимости паклитаксела можно выбрать опцию доксорубицина с цисплатином, на которой ЧОО – 43 %. К стандартной схеме можно добавить трастузумаб в случае HER-2/neu положительного РЭ серозного типа (выживаемость без прогрессирования в общей популяции составляет ~12,6 мес). Если серозный вариант РЭ имеет отрицательный статус HER-2/neu, к дуплету карбоплатина с паклитакселом добавляют бевацизумаб (ЧОО – 75 %, ВБП – 13,7 мес). До начала 2-й линии терапии определяют микросателлитную нестабильность (МСН), и при высокой степени назначается ингибитор контрольных точек (ИКТ) пембролизумаб в монотерапии, при отсутствии – иммуно-таргетная комбинация

ленватиниба с пембролизумабом. Важное значение имеет наличие прогрессирования у пациентки, уже получившей комбинированное лечение, – в таком случае определяется длительность периода времени после комплексного лечения: если он менее 6 мес – определяется МСН, и по результатам назначается либо монотерапия пембролизумабом, либо комбинация ленватиниба с пембролизумабом; если более 6 мес – показано возвращение к химиотерапии 1-й линии.

Для 2-й линии нет стандартов терапии – недостаточно опубликованных данных, содержащих рандомизированные клинические исследования. При этом частота ответов на 2-й линии колеблется от 4 до 25 %. Иммунотерапия представляется перспективным направлением лечения РЭ, так как частота встречаемости МСН в нозологии РЭ самая высокая среди других ЗНО – около 30 %. Это обусловило включение РЭ в исследование KEYNOTE-158 II фазы, в котором анализировалась эффективность пембролизумаба в качестве терапии ЗНО с МСН. В группе эндометриального рака ЧОО во 2-й линии составила 57,1 %, медиана ВБП (мВБП) – 25,7 мес, годичная выживаемость до прогрессирования – 58,4 %, регистрировались и полные ответы. Исследование 204 показало неоднозначные результаты по применению ленватиниба во 2-й линии терапии РЭ в зависимости от порогового уровня ангиопоэтина-2. В исследовании KEYNOTE-146/111 (1b II фазы) изучали уже комбинированный режим иммуно-таргетной терапии (ленватиниб с пембролизумабом). Комбинация продемонстрировала свою высокую эффективность и хороший профиль безопасности на когорте РЭ (мВБП 5,4 мес; ЧОО 36–38 %; мОВ 16,4 мес, первый эффект от терапии наблюдался в течение месяца). Исследование KEYNOTE-775 III фазы имело группу сравнения в виде терапии по выбору врача (ТПВ), в общей когорте больных с МСН оказалось около 16 %. В результате показатели мВБП составили 6,6 мес для комбинации и 3,8 мес – для ТПВ; мОВ во 2-й линии – 17,5 мес для ленватиниба с пембролизумабом и ТПВ – 12 мес. Данные подгруппового анализа позволили сформулировать гипотезу о нивелировании пользы от назначения ленватиниба с пембролизумабом в группе с предшествующей терапией на основе препаратов платины в объеме более одной линии.

Изучение показателей качества жизни (КЖ) продемонстрировало отсутствие негативного влияния на них лечения РЭ комбинацией ленватиниба и пембролизумаба. Комбинированная опция имела значимый успех и получила ускоренное одобрение как в США, так и в России. С июня 2020 г. началось активное использование этой комбинации. Обновленные данные по ее применению в нашей стране также демонстрируют высокие показатели эффективности и хорошей переносимости.

Комбинация ленватиниба с пембролизумабом: мнения экспертов и региональный опыт применения

Комбинацию ленватиниба с пембролизумабом рекомендуется назначать как можно раньше. Из-за низкого уровня выживаемости пациентов во 2-й линии терапии. Предполагают, что комбинация покажет аналогичную эффективность и безопасность и в 1-й линии, так как в ходе многочисленных исследований и при ЗНО отмечено, что если есть ответ на терапию во 2-й линии, он «переходит» и в 1-ю линию. Эксперты уверены, что при назначении ленватиниба с пембролизумабом в 1-й линии терапии у больных РЭ ответ на лечение будет лучше, чем при использовании данной опции во 2-й линии. Кроме того, 2-я линия химиотерапии обладает высокой кардиотоксичностью, так что на данный момент более безопасной альтернативы, чем режим ленватиниб + пембролизумаб, не представлено.

Нередко у пациенток, получивших полноценный курс лечения начальных стадий РЭ, возникает рецидив заболевания. Прогноз течения РЭ возможен на основании следующих факторов риска: наличие стромальной или лимфоваскулярной инвазии, вовлечение в процесс параметрия, степень дифференцировки опухоли, распространение опухоли на нижний сегмент матки, размер опухоли, количество удаленных ЛУ при лимфаденэктомии.

Прогноз у пациенток с прогрессирующим РЭ крайне неблагоприятен. Наиболее частые локализации метастазов – легкие, кости, печень, головной мозг, парааортальные лимфатические узлы (ЛУ); к редким локализациям относят брюшную стенку, port-site метастазы. Тактика лечения зависит от локализации рецидива, срока возникновения, проведения лучевой терапии на данную зону в анамнезе, гистологического типа опухоли. При изолированном рецидиве возможно хирургическое вмешательство, в других случаях применяют лучевую терапию, системную химиотерапию (эффективность порядка 40 %; максимальная выживаемость до 40 мес), а также современные комбинированные иммуно-таргетные схемы лечения, дающие более значимые результаты (ответ на пембролизумаб при МСН и дефиците репарации генов достигает 52 %; контроль над болезнью – до 73 %) .

Факторами, определяющими назначение комбинации ленватиниба с пембролизумабом у пациенток с рецидивирующим РЭ, являются: проведенный курс системной химиотерапии; отсутствие необходимости в лучевой терапии или хирургическом лечении; отсутствие МСН и дефицита в системе репарации генов. При этом не имеют значения стадия РЭ, гистологический тип, степень злокачественности и какой рецидив или прогрессирование по счету. Предикторы эффективности применения ленватиниба с пембролизумабом основываются на механизме действия каждого препарата. Ленватиниб, являясь тирозинкиназным

ингибитором (ТКИ), приводит к изменению состава микроокружения опухоли, снижению популяции моноцитов и макрофагов и подготовке «почвы» для действия пембролизумаба (ИКТ) – смены «неэффективных» инфильтрирующих Т-лимфоцитов на цитотоксические, воздействующие на опухолевый очаг. Показано, что комбинация иммуно-таргетных препаратов влияет не только на микроокружение, но и на сами опухолевые клетки путем выключения гамма-интерферонового сигнального пути, участвующего в выбросе цитокинов, поляризующих иммунную систему в опухолевом микроокружении. Резистентность к иммунотерапии является главным препятствием на пути к эффективному ответу на лечение и подчёркивает роль интерферона-гамма в реактивации антиген-специфических клеток.

Ингибирование ленватинибом FGFR (Fibroblast Growth Factor Receptor; рецептор фактора роста фибробластов) реактивирует сигнальный путь интерферона-гамма JAK/STAT в опухолевых клетках, что увеличивает экспрессию PD-L1 (Programmed cell death – ligand 1; лиганда рецептора программируемой клеточной гибели 1). Основными клетками, которые могут быть причиной отсутствия эффекта комбинации, являются Т-регуляторные лимфоциты. К возможным подходам поиска маркеров эффективности ленватиниба с пембролизумабом у больных РЭ относят два пути: анализ по фиксированным образцам опухолевой ткани у больных с хорошим и плохим ответами на комбинацию соответственно. В первом варианте (хороший ответ) можно оценить параметры микроокружения – субпопуляционный состав и функциональное состояние цитотоксических и регуляторных Т-лимфоцитов; поляризацию макрофагов. Во втором варианте (плохой ответ) – выполнить пространственный анализ транскриптома, включая поиск дифференциально экспрессирующихся генов; изучение генов, сопряженных с иммунной системой. Существует потребность в создании подходов для более точного выделения из популяции больных РЭ тех, кому она принесет максимальную пользу. Накоплено достаточно данных, которые могут стать отправной точкой в исследованиях, посвященных этой проблеме.

В Сибири и на Дальнем Востоке на базе онкологических учреждений проведено исследование по эффективности комбинации ленватиниба с пембролизумабом на основании обобщенных клинико-морфологических данных 29 больных с прогрессирующим или метастатическим РЭ, получавших иммуно-таргетную терапию этой комбинацией. Средний возраст включенных пациенток составил 63,1 года; в 93,1 % случаев ECOG 0–1, стадия FIGO I – 34,3 %, II – 13,7 %, III – 24,1 %, IV – 27,5 %; эндометриоидная аденокарцинома – 93,2 %, серозная – 6,8 %; по степени дифференцировки в 70 % случаев G2–3; у 62 % пациенток отмечалась инвазия более чем половины миометрия, у 41 % больных не было данных о лимфоваскулярной инвазии; наличие рецепторов к эстрогенам отсутствовало практически у половины когорты. Хирургическое лечение проводилось всем больным, но не у всех оно было радикальным. Адъювантная лучевая терапия осуществлялась у 55 % пациенток, химиотерапия – менее чем у 50 %. Прогрессирование наблюдалось в 96 %, причем у 31 % было зафиксировано более четырех случаев прогрессирования заболевания. Частота предшествующей линии химиотерапии составила у 41 % 1–2 линии, больше трёх линий — 58 %. Локализация метастазов: тазовые ЛУ – 31 %, парааортальные ЛУ – 31 %, отдалённые ЛУ – 37 %. Поражение легких, костей, а также канцероматоз выявлялись у 25 – 40 % пациенток. Местный рецидив наблюдался в 27 % случаев. Эффективность комбинации: частичный ответ – 24,1 %, стабилизация – 68,9 %, прогрессирование процесса – 6,8 %. Медиана длительности ответа на данную схему – 6,02 мес, редукция дозы потребовалась в 24,1 %, без потребности во временной отмене препарата. Наиболее частыми НЯ были слабость (48,3 %), артериальная гипертензия (37,9 %), снижение аппетита (37,9 %), изменение голоса (20,6 %) и гипотиреоз (13,7 %). В результате мВБП для больных РЭ с длительностью ответа (ДО) более 6 мес на иммуно-таргетную терапию не достигнута, мВБП для больных РЭ с ДО менее 6 мес составила 4 мес. У больных с прогрессирующим РЭ с низким уровнем экспрессии рецепторов к стероидным гормонам на иммуно-таргетную терапию ДО не достигнута, с высоким уровнем экспрессии медиана ДО – 3,5 мес (p=0,025). У больных с прогрессирующим РЭ без метастазов в тазовых ЛУ медиана ДО на иммуно-таргетную терапию составила 8 мес, с метастазами – 3,5 мес; без метастазов в парааортальных ЛУ, костях – 8 мес; с метастазами в парааортальных ЛУ, костях – 5 мес. Таким образом, критерии для назначения иммуно-таргетной терапии, по данным исследования пациенток из Сибири и с Дальнего Востока, схожи с мировыми: эндометриоидная, серозная, светлоклеточная карцинома, микросателлитный статус не MSH-H/dMMR, прогрессирование на предшествующей химиотерапии, при отсутствии показаний к хирургическому или лучевому лечению.

Авторы выделили ряд вопросов, требующих научных, методических и организационных решений на уровне системы здравоохранения: место иммуно-таргетной терапии в лечении распространенного и метастатического РЭ, факторы прогноза эффективности иммуно-таргетной терапии РЭ (клинические, молекулярно-генетические, иммунологические). На данный момент комбинация ленватиниба с пембролизумабом является официальной рекомендацией при прогрессирующем РЭ в качестве 2-й линии и представляется достаточ-

но доступной в реальной клинической практике врача-онколога на всей территории Сибири и Дальнего Востока. Она позволяет контролировать прогрессирующий РЭ после платиносодержащей химиотерапии. Однако требуются дальнейшие исследования по поиску факторов прогноза эффективности данного метода лечения.

Нежелательные явления противоопухолевого лечения

Отдельного внимания заслуживает тактика ведения пациенток с нежелательными явлениями (НЯ) комбинированной терапии. В качестве стандарта в процессе иммунотерапии проводится эндокринологическое обследование: анализы гормонов щитовидной железы (ЩЖ), ультразвуковая диагностика ЩЖ. Наиболее частыми НЯ являются слабость, костно-мышечная боль, артериальная гипертензия, диарея, гипотиреоз, снижение аппетита, тошнота и другие диспепсические явления, снижение веса, головные боли. Из НЯ 3–4 степени чаще всего развиваются артериальная гипертензия, слабость. Большинство НЯ происходит в первые 2 мес.

Коррекция НЯ предполагает снижение дозы или временную отмену ленватиниба, так как из комбинации он является более вероятным источником токсичности и его эффективность сохраняется даже при редукции дозы. При необходимости отменяется пембролизумаб. Не рекомендуется снижение стартовой дозы ленватиниба из-за меньшей эффективности, но не меньшей токсичности. В случае артериальной тромбоэмболии требуется полная отмена ленватиниба. Знание о сроках НЯ и способах управления ими позволит сохранять противоопухолевый контроль. Необходимо контролировать артериальное давление, параметры печеночной функции, протеинурию, тиреотропный гормон до начала приема ленватиниба и проводить в ходе лечения мониторинг данных показателей.

Нерешенные вопросы иммуно-таргетной терапии РЭ

Несмотря на значительный прогресс в вопросах 1-й и 2-й линий терапии РЭ, появления современных иммуно-таргетных методов лечения, доказавших высокую эффективность и относительно хорошую безопасность, нерешенными остаются проблемы маршрутизации и длительного контроля состояния пациенток, особенно в отдаленных от центра регионах. Многое зависит от организации онкологической помощи, которая, к сожалению, значительно отличается в разных субъектах РФ на территории Сибири и Дальнего Востока. Основные сложности заключаются в отслеживании пациента, получающего лечение за пределами онкологического лечебно-профилактического учреждения, ставшего начальной точкой при назначении терапии. Не всегда представляется возможным мониторировать такого больного с соблюдением положенных сроков контроля и объема инструментальных и лабораторных показателей. И не всегда в ведении больных РЭ участвуют онкологи, что ведет к возможному несвоевременному выявлению прогрессирования заболевания с задержкой или отсутствием назначения системной терапии.

Достаточно хорошо развита маршрутизация онкологических больных в Иркутске: между хирургическими и химиотерапевтическими отделениями налажена четкая преемственность, вопрос тактики ведения больной обсуждается по результатам стадирования, морфологического и молекулярно-генетического исследования на онкологическом консилиуме. Специалисты используют телемедицинские консультации, посредством которых многие вопросы согласуются с областным онкологическим диспансером, химио- и радиотерапевтами. По мультидисциплинарному заключению пациентка направляется либо в центр лучевой терапии, либо в отделение химиотерапии. В дальнейшем больные наблюдаются по месту жительства и при необходимости отправляются в областной онкодиспансер.

Нехватка врачей-онкологов в диспансерах обусловливает сложности контроля НЯ на назначаемых лекарственных схемах. Знаниями о НЯ любой степени тяжести и способах их контроля должен обладать онколог, что позволит своевременно купировать развивающиеся осложнения, предотвращать более тяжелые события с потерей опции терапии. В связи с этим еще до начала лечения пациенток следует тщательно обследовать на наличие коморбидного фона, в особенности – артериальной гипертензии, и стабилизировать их состояние по их сопутствующим заболеваниям. Это является решающим условием для успешного лекарственного лечения ЗНО, в особенности при назначении иммуно-таргетной терапии. В случае НЯ онколог может направить пациентку к смежным профильным специалистам, которые могут рекомендовать редукцию дозы или отмену противоопухолевой терапии, в зависимости от тяжести НЯ. Пациенток и их родственников необходимо заранее информировать о возможных побочных эффектах, мотивировать на ведение дневников самоконтроля и своевременного сообщения врачу о возникновении НЯ.

Трудности организационного и финансового характера не всегда позволяют выбрать самую эффективную опцию в лечении больных прогрессирующим РЭ, в результате чего показатели ВБП и ОВ могут значительно отличаться от таковых в регионах с налаженной системой маршрутизации и получения лекарственных препаратов. Одним из самых сложных аспектов является стандартизация определения МСН (MSI/dMMR) у больных РЭ, что рекомендуется в руководствах NCCN, но не обозначено в клинических рекомендациях Ассоциации онкологов России (АОР, 2022). Передовые

в этом вопросе субъекты проводят тестирование 100 % пациенток с РЭ, независимо от стадии. Эксперты считают, что МСН должна определяться независимо от стадии РЭ, так как это определяет тактику лечения больных в каждом конкретном случае. Однако в реалиях клинической практики этого достигнуть непросто, особенно в отдаленных регионах. Например, в Красноярском крае стандартным считается определение МСН у пациенток с III стадией или больных с распространенным РЭ. В Омске отсутствует рутинная практика анализа на МСН как у пациенток с неоперабельным РЭ, так и после хирургического вмешательства. Тестирование выполняется выборочно, нередко наблюдаются затруднения при выдаче материала пациенту для проведения диагностики в других центрах. Во Владивостоке, в поликлинике Приморского краевого онкологического диспансера для анализа на МСН гистологические образцы отправляют в Санкт-Петербург при выявлении прогрессирования, что в данной ситуации возможно в рамках ОМС. При подтверждении МСН дальнейшая маршрутизация пациентки зависит от решения врачебного консилиума по назначению комбинированной терапии и наличия необходимых препаратов в центре амбулаторной онкологической помощи (ЦАОПе) по месту жительства пациентки. Если все этапы одобрены, пациентка получает необходимые препараты в ЦАОПе по месту проживания и спустя 3–4 курса приезжает на контроль эффективности в поликлинику Приморского краевого онкодиспансера. Несмотря на широкие возможности диагностики с использованием учетной медицинской формы № 057/у-04, например, участковые поликлиники г. Новосибирска неохотно выписывают такие документы, что связано с перераспределением финансирования в адрес учреждений, куда направляется пациент. При невозможности проведения первичного лечения и забора материала для гистологического исследования во время операции анализ на МСН можно выполнить и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) биопсийного материала, как это делается в г. Иркутске. Однако в рутинной клинической практике предпочтение следует отдавать иммуногистохимическому методу.

Эксперты решили рекомендовать более широкое применение МСН-диагностики пациенткам с РЭ, позволяющей назначать иммунную и иммунотаргетную терапию. В регионах, где по ряду причин не представляется возможным проведение данного исследования, предлагается включение пациентов в программу Российского общества клинической онкологии RUSSCO. Задачами RUSSCO является разработка стандартов лечения, молекулярно-генетической диагностики, клинические исследования и их поддержка, образовательные мероприятия, непрерывное медицинское образование. В рамках программы по совершенствованию системы молекулярно-генетической диагностики онкологических заболеваний в РФ создан интернет-портал «cancergenome.ru». Данная программа, проводимая на безвозмездной основе, позволяет включить пациентов в клинические исследования для молекулярно-генетического анализа морфологического материала на МСН (dMMR-MSI) методом иммуногистохимии. Кандидатами на участие в программе могут быть женщины старше 18 лет с диагнозом РТМ любой стадии. Направить на диагностику может любой специалист здравоохранения, зарегистрированный на официальном сайте RUSSCO, без ограничений по количеству направляемых образцов. На основании результатов исследования статуса dMMR/MSI-H как предиктивного фактора для проведения иммунотерапии врач-онколог определяет последующую тактику ведения. Эксперты отметили неудобность данной программы в техническом плане, дополнительные затраты времени на оформление документов, организационные трудности с обратным получением диагностического материала, длительное ожидание результата и ошибки в направлении заключений. Программа RUSSCO может стать дополнительным инструментом в решении вопроса диагностики МСН у больных РЭ в отсутствие других доступных ресурсов. На данный момент проект актуален для Кузбасса, реже используется в Томске, Новосибирске и Владивостоке.

Дополнительным фактором, осложняющим единый подход к терапии пациенток с РЭ, является отсутствие в клинических рекомендациях АОР четкого разграничения последовательности лечебных опций в тактике системной терапии РЭ. Выбор эффективной схемы не очевиден, недостаточно данных для составления «портретов» пациенток, наиболее подходящих для той или иной опции терапии. Есть территории, где, по умолчанию, во 2-й линии прогрессирующего РЭ назначается наиболее передовой режим иммуно-таргетной комбинации ленватиниба с пембролизумабом, что повышает эффективность, выживаемость без отрицательного влияния на показатели КЖ. Для выявления предикторов ответа на иммунную или иммуно-таргетную терапию требуются исследования опухолевого микроокружения. Ответ опухоли во многом зависит от структуры такого микроокружения, функционального состояния эффекторных клеток. Возможно, что воспаление в опухолевом очаге, возникающее в результате присутствия в нем микроорганизмов, обусловливает ответ на терапию. Требуются дополнительные исследования для изучения причин отмечаемых различий в эффективности иммуно-таргетной терапии, нацеленные на изучение особенностей микроокружения опухолей, ответивших и не ответивших на терапию.

Также есть проблемы не медицинского характера, в частности, практически везде наблюдается

периодическое отсутствие препаратов, иногда длительное время, когда пациент находится без терапии одним, другим или обоими компонентами комбинации. Оценка результатов в таком случае затруднена, не исключено, что заболевание прогрессирует из-за несоблюдения лекарственного режима, а не из-за неэффективности опции. Практически повсеместно наблюдается ситуация с дефицитом финансирования и квотированием дорогостоящих схем.

Заключение

Всесторонне обсудив проблемы и перспективы в области ведения больных РЭ на территориях Сибири и Дальнего Востока, участники совещания экспертов пришли к следующим выводам:

– для выбора наиболее подходящей тактики лечения пациенток с РЭ требуется проводить рутинное тестирование на выявление дефицита репарации ДНК (МСН – MSI/dMMR), независимо от характеристики и свойств опухоли; требуется оптимизация маршрутизации пациенток;

– назначение комбинированной иммунотаргетной терапии ленватиниба с пембролизумабом представляется наиболее эффективной и относительно безопасной опцией и на данный момент является безальтернативным выбором во 2-й линии терапии РЭ;

– комбинация ленватиниба и пембролизумаба должна назначаться во 2-й линии терапии РЭ при прогрессировании, что повышает эффективность, выживаемость, без отрицательного влияния на показатели КЖ;

– поскольку степень эффективности комбинации ленватиниба с пембролизумабом при РЭ коррелирует с ранним назначением, в дальнейшем прогнозируется успешное использование данной комбинации и в 1-й линии;

– ввиду сложностей смешанного финансирования при назначении комбинации ленватиниба с пембролизумабом (льготное лекарственное обеспечение (ЛЛО) и система ОМС), реализуемого не во всех регионах РФ, предлагается включить ленватиниб в ЛЛО;

– больная РЭ на этапе до назначения иммунотаргетной терапии должна быть обследована на предмет коморбидной патологии, а при ее выявлении скорректирована; пациенток необходимо информировать о возможных НЯ и важности своевременно сообщать об их возникновении, что способствует лучшему контролю НЯ и предупреждению потери опций терапии.

В качестве последующих шагов Совещание экспертов рекомендует продолжить сбор обобщенного опыта применения комбинации ленватиниба и пембролизумаба при пРЭ в условиях повседневной клинической практики на территории Сибири и Дальнего Востока. В целях улучшения преемственности, организации и работы онкологической помощи рекомендуется проводить больше междисциплинарных советов для отдельных территорий по проблемам ведения пациенток с РЭ.

К РЕШЕНИЮ ПРОБЛЕМ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМОЙ (ГЦК). КОНСЕНСУС ЭКСПЕРТОВ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

К.Г. Ершов[1,6], В.Н. Захаров[2], Ф.Г. Иванова[3,4], Е.В. Карле[5], Г.В. Ким[6], К.Г. Мамонтов[7], Е.В. Мауль[2], Д.Л. Непомнящих[8], И.Б. Останина[9], Э.Л. Парсаданова[10], И.А. Поршенников[8,11], Р.И. Расулов[12], М.Е. Рягузов[2,8], М.В. Турганова[2], С.Л. Хайс[7], Р.Ю. Хлобыстин[13,14], Д.Ю. Юкальчук[12]

ООО медико-санитарная часть «Клиницист» многопрофильный медицинский центр «Претор», г. Новосибирск, Россия[1]
Россия, 630049, г. Новосибирск, Красный пр-т, 79/2[1]
ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер», г. Новосибирск, Россия[2]
Россия, 630108, г. Новосибирск, ул. Плахотного, 2[2]
ГБУ РС(Я) «Якутский республиканский онкологический диспансер», г. Якутск, Россия[3]
Россия, 677005, г. Якутск, ул. Феликса Кона, 1, корп. 3[3]
ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г. Якутск, Россия[4]
Россия, 677000, г. Якутск, ул. Белинского, 58[4]
ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», г. Новосибирск, Россия[5]
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Семьи Шамшиных, 40[5]
ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» город Новосибирск», г. Новосибирск, Россия[6]
Россия, 630003, г. Новосибирск, ул. Владимировский спуск, 2А[6]
КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», г. Барнаул, Россия[7]
Россия, 656045, г. Барнаул, Змеиногорский тракт, 110К[7]
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия[8]
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный пр-т., 52[8]
ООО ЦПМ «Центр новых медицинских технологий», г. Новосибирск, Россия[9]
Россия, 630008, г. Новосибирск, ул. Сакко и Ванцетти, 77[9]
ГБУЗ «Сахалинский областной онкологический диспансер», г. Южно-Сахалинск, Россия[10]
Россия, 693010, г. Южно-Сахалинск, ул. Горького, 3[10]
ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», г. Новосибирск, Россия[11]
Россия, 630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130[11]
ГБУЗ «Иркутский областной клинический онкологический диспансер», г. Иркутск, Россия[12]
Россия, 664044, г. Иркутск, ул. Фрунзе, 32[12]
ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр» ФМБА России, г. Красноярск, Россия[13]
Россия, 660037, г. Красноярск, Коломенская ул., 26[13]
ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», г. Красноярск, Россия[14]
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1[14]

Ершов Константин Геннадьевич, ersho@ngs.ru

Введение

Этапами подготовки консенсуса были два научных медицинских мероприятия с участием ведущих специалистов по гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК) сибирских и дальневосточных регионов. Междисциплинарный совет экспертов «Организация медицинской помощи пациентам с ГЦК и пациентам групп риска ее развития в Новосибирской области (НСО)», с веб-подключением специалистов Иркутского областного онкологического диспансера состоялся 24 сентября 2020 г. В рамках проекта долгосрочного научного сотрудничества Eisai Virtual Oncology Key Experts Academy (EVOKE-Academy) «Гепатоцеллюлярная карцинома» 30 сентября 2021 г. проведено Межрегиональное совещание экспертов Сибири и Дальнего Востока.

Совет экспертов «Организация медицинской помощи пациентам с ГЦК и пациентам групп риска ее развития в Новосибирской области (НСО)»

В Междисциплинарном совете экспертов «Организация медицинской помощи пациентам с ГЦК и пациентам групп риска ее развития в Новосибирской области (НСО)» участвовали 11 ведущих специалистов Новосибирской области. Председательствовали к.м.н. В.Н. Захаров, главный внештатный онколог МЗ Новосибирской области, д.м.н. Д.Л. Непомнящих, профессор кафедры внутренних болезней НГМУ, главный внештатный гастроэнтеролог МЗ Новосибирской области. Модератором сессий выступил к.м.н. К.Г. Ершов, хирург-онколог, в настоящее время – зам. главного врача по хирургии клиники «Претор». Доклады представили Е.В. Карле, врач-инфекционист ГИКБ № 1; Е.В. Мауль, врач-онколог диспансерного отделения № 1 Новосибирского областного клинического онкологического диспансера; к.м.н. М.Е. Рягузов, заведующий онкологическим отделением № 1 Новосибирского областного клинического онкологического диспансера, ассистент кафедры онкологии НГМУ; к.м.н. Г.В. Ким, заведующий кабинетом рентгенохирургических методов диагностики и лечения «РЖД-Медицина»; к.м.н. И.А. Поршенников, руководитель центра трансплантации и хирургии печени Государственной Новосибирской областной клинической больницы, доцент кафедры госпитальной и детской хирургии НГМУ; И.Б. Останина, руководитель центра амбулаторной онкологической помощи, зав. онкологическим отделением Центра новых медицинских технологий; М.В. Турганова, заведующая диспансерным отделением № 1 Новосибирского областного клинического онкологического диспансера; д.м.н., проф. Р.И. Расулов, заместитель главного врача по хирургии Иркутского областного онкологического диспансера, профессор кафедры онкологии ИГМАПО.

В рамках мероприятия обсуждены проблемы ГЦК, подходы к диагностике и лечению, в соответствии с современными клиническими рекомендациями; проанализирована практика медицинской помощи больным ГЦК и наблюдения групп риска в Новосибирской области. Были определены сложности организации наблюдения и оказания помощи при ГЦК. Проанализирован опыт работы междисциплинарного консилиума (МДК) по ГЦК Иркутской области, обсуждены возможности создания МДК и разработки программ скрининга для пациентов групп риска в НСО.

В.Н. Захаров представил тревожные данные по заболеваемости и смертности от ГЦК в Новосибирской области. В выступлении отмечено, что внедрение скрининговых программ будет способствовать улучшению данных показателей. Приведя в качестве примера действующий регистр пациентов с вирусными гепатитами, автор обратил внимание на отсутствие скрининга в группах риска пациентов с невирусными поражениями печени.

К.Г. Ершов, опираясь на международный опыт, предложил к обсуждению следующую стратегию: создание МДК по ГЦК; разработка и внедрение программ прицельного скрининга пациентов групп риска по ГЦК; разработка маршрутизации пациентов с подозрением на ГЦК. При этом важно развивать 4 направления: охват наблюдением больных гепатитом В и С и циррозом печени (скрининг), профилактика цирроза, исследование канцерогенеза ГЦК, выявление пациентов с ГЦК и их маршрутизация.

Профессор Д.Л. Непомнящих сделал обзор документов, регламентирующих сбор эпидемиологических и статистических данных. Для исполнения решения Правительства РФ в НСО на основании Приказа МЗ НСО от 22.04.2016 № 1038 «О ежемесячном мониторинге реализации мероприятий по снижению смертности от основных причин» разработан региональный план мероприятий по снижению смертности от болезней органов пищеварения, проводится мониторинг смертности населения Новосибирской области, в соответствии с государственной программой «Развитие здравоохранения НСО на 2013–2020 гг.» ГКУЗ НСО «МИАЦ» еженедельно осуществляет сбор сводной информации по выданным медицинским свидетельствам о смерти (учетные формы 106/у-08 и 106-2/у-08). Д.Л. Непомнящих отметил, что в настоящее время региональные показатели заболеваемости печени ниже показателей федеральных и Сибирского федерального округа, но, вместе с тем, есть проблемы статистического учета и недостаточной выявляемости. Динамика заболеваемости ЖКТ в НСО неблагоприятна. Перед администраторами и специалистами стоят задачи по улучшению показателей, в соответствии с приказами МЗ РФ и УЗ Администрации НСО.

Е.В. Карле проведен анализ организации помощи пациентам с вирусными гепатитами и вирус-ассоциированными циррозами на базе ГИКБ № 1 и КДЦ за 2018–19 гг. Представлен эффективно функционирующий регистр пациентов, ориентированный больше на городское население. Отмечена необходимость взаимодействия с онкологическими и хирургическими службами, которое пока налажено только с хирургами-трансплантологами ГНОКБ.

Е.В. Мауль, описывая типичный портрет пациента с ГЦК на приеме врача-онколога поликлиники Новосибирского онкологического диспансера, представил обычную маршрутизацию таких больных и наиболее частую практику помощи. Он подчеркнул, что в настоящее время пациенты приходят к онкологам, как правило, поздно, когда радикальное лечение невозможно и остаются лишь методы системной терапии.

М.Е. Рягузов представил хирургические опции помощи пациентам с ГЦК, согласно действующим федеральным рекомендациям. Описал задачи и возможности хирурга на разных стадиях заболевания, сделав акцент на высокой выживаемости после потенциально радикальных методов у пациентов с ранними стадиями – резекции, пересадкм печени и абляции. В связи с существенно лучшим контролем заболевания рекомендуется в качестве основной абляционной терапии при опухолях размером менее 5 см отдавать предпочтение РЧА вместо ЧИЭ.

Г.В. Ким в выступлении «Химиоэмболизация – метод рентгенэндоваскулярного лечения злокачественных новообразований печени» продемонстрировал, что химиоэмболизация артерий, кровоснабжающих опухоль, является эффективным методом лечения, который позволяет значительно улучшить качество и продолжительность жизни пациентов с неоперабельным раком печени.

И.А. Поршенников в докладе «Трансплантация печени при ГЦК. Лист ожидания» рассказал о новосибирской программе трансплантации, в рамках которой с 2010 по 2021 г. выполнено 312 трансплантаций 299 пациентам в возрасте от 4 мес до 69 лет, включая 199 трансплантаций целой печени и 113 трансплантаций фрагментов печени (106 фрагментов от прижизненных и 7 – от посмертных доноров). 11 реципиентам выполнены ретрансплантации, 1 пациенту – две ретрансплантации. Использование неоадъювантных методов лечения у потенциальных кандидатов на трансплантацию, необходимых для предотвращения опухолевой прогрессии и/или снижения стадии опухоли (downstaging), позволяет включить пациентов в лист ожидания или сохранить их в нем. При неоадъювантной терапии необходимо стремиться, чтобы остаточный объем опухоли составлял менее 2 см, даже если пациент удовлетворяет Миланским критериям и прогнозируемое время пребывания в Листе ожидания составляет менее 6 мес. Трансплантация печени – современный метод радикального лечения ГЦК, при этом существует проблема дефицита донорских органов, есть риск рецидива опухоли, возможность отрицательного влияния иммуносупрессивной терапии на течение опухолевого процесса.

И.Б. Останина обсудила современные клинические рекомендации по ведению пациентов с ГЦК и возможности мультикиназных тирозинкиназных ингибиторов в I линии терапии. Современные клинические рекомендации в первой линии системной терапии ГЦК рекомендуют применение мультикиназных ингибиторов, в том числе ленватиниба. Один из нескольких изученных путей механизма действия ленватиниба – мультитаргетность – позволяет предупреждать развитие резистентности к антиангиогенному препарату. По результатам международного рандомизированного исследования REFLECT, при применении ленватиниба отмечено значимое увеличение частоты объективных ответов (24,1 %) по сравнению с сорафенибом (9,2 %), наблюдалось в 3 раза больше полных, в 2 раза больше частичных ответов, в 2 раза реже отмечено прогрессирование заболевания. Исходя из результатов исследования REFLECT, ленватиниб признан не менее эффективной, чем сорафениб, опцией I линии терапии распространенного ГЦК. Эффективность последующей системной терапии после применения ленватиниба или сорафениба в качестве I линии изучалась в Post-Hoc анализе исследования фазы 3 REFLECT. У всех больных в исследовании REFLECT, получавших последующие противоопухолевые препараты, общая выживаемость была выше по сравнению с пациентами, которые не получали никакого последующего противоопухолевого лечения. При анализе подгруппы респондентов, получавших последующие противоопухолевые препараты, применение ленватиниба в I линии приводило к несколько большей медиане общей выживаемости по сравнению с группой пациентов, получавших сорафениб в I линии.

М.В. Турганова затронула важные аспекты современной системной противоопухолевой терапии – управление лечением. Таргетная терапия требует тщательной предварительной подготовки больного и мониторинга в ходе всего периода лечения для контроля нежелательных явлений (НЯ). Мониторинг должен включать контроль лабораторных, функциональных показателей как до старта терапии, так и при ее проведении. Участники мероприятия обсудили необходимость организации консультирования пациентов с НЯ системной терапии смежными специалистами.

К.Г. Ершов привел клиническое наблюдение молодого пациента с ГЦК, показательное с точки зрения клинической картины течения заболевания, маршрутизации и тактики ведения. Пациенту была выполнена радикальная операция в общехирурги-

ческом отделении ГНОКБ. В дальнейшем его не направили и не прикрепили к онкологическому учреждению, систематическое наблюдение фактически отсутствовало. В поле зрения онкологов пациент попал уже после прогрессирования заболевания. Имело место позднее начало системной терапии, и, несмотря на это, показана её эффективность – стабилизация распространенной ГЦК при применении препарата ленватиниб.

Р.И. Расулов поделился успешным опытом организации и внедрения мультидисциплинарного подхода ведения пациентов с ГЦК в ГБУЗ «Областной онкологический диспансер» г. Иркутска, что положительно сказалось на показателях выявляемости ГЦК и результатах лечения.

В ходе дискуссии участники мероприятия отметили следующие нерешенные проблемы организации медицинской помощи пациентам с ГЦК: дефицит гастроэнтерологов, гастроэнтерологических подразделений в ЛПУ, отсутствие скрининга пациентов групп риска по ГЦК, необходимость принудительной диспансеризации, сложности организации консультирования онкологических пациентов врачами смежных специальностей. Среди нерешенных вопросов хирургического и лекарственного лечения пациентов с ГЦК экспертами отмечена проблема нехватки доноров для трансплантации печени. При выборе метода радикального лечения, в т.ч. трансплантации печени, необходимо учитывать риск рецидива опухоли.

При обсуждении программ скрининга пациентов групп риска по ГЦК и организации МДК по ГЦК эксперты сошлись во мнении относительно значимости и места морфологической верификации диагноза при принятии решения о тактике ведения пациента, а также необходимости проведения консилиума с участием междисциплинарной команды, состоящей из онкологов-хирургов, рентген-хирургов, онкологов-химиотерапевтов, специалистов по визуальным методам диагностики. Ранее существовала и была полезна кооперация гастроэнтерологов и хирургов-гепатологов. Сейчас такой практики нет, что усиливает потребность в МДК. Отмечена необходимость организации консультирования онкологических пациентов с развившимися нежелательными явлениями противоопухолевой терапии со стороны терапевтов, кардиологов, гастроэнтерологов, гепатологов, других специалистов. Участники предложили разработать подходы к организации МДК и программы раннего выявления ГЦК среди пациентов групп риска.

Региональное совещание экспертов Сибири и Дальнего Востока

Второй этап обсуждения консенсуса специалистов по ГЦК состоялся на региональном (Сибирь и Дальний Восток) совещании экспертов по ГЦК в рамках проекта долгосрочного научного сотрудничества EVOKE-Academy «Гепатоцеллюлярная карцинома», на котором был проведен анализ данных опубликованных исследований в области терапии ГЦК, российских и международных клинических рекомендаций и руководств по лечению ГЦК, а также клинического опыта применения ленватиниба при ГЦК в условиях реальной клинической практики. Кроме экспертов Новосибирской области в мероприятии приняли участие ведущие специалисты Иркутска, Алтая, Якутии, Красноярска, Сахалина, всего около 20 врачей.

Возглавил совещание д.м.н., проф. Р.И. Расулов, заместитель главного врача по хирургии Иркутского областного онкологического диспансера, профессор кафедры онкологии ИГМАПО, г. Иркутск. Модераторами были д.м.н. К.Г. Мамонтов, заведующий рентгенохирургическим отделением Алтайского краевого онкологического диспансера, г. Барнаул, к.м.н. К.Г. Ершов, хирург-онколог, в настоящее время – зам. главного врача по хирургии клиники «Претор», г. Новосибирск. С докладами выступили д.м.н., проф. Д.Л. Непомнящих, профессор кафедры внутренних болезней НГМУ, главный внештатный гастроэнтеролог МЗ Новосибирской области; к.м.н. Ф.Г. Иванова, заведующая отделением противоопухолевой лекарственной терапии Якутского республиканского онкологического диспансера, доцент кафедры «Хирургические болезни и стоматология» Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова, главный внештатный онколог Республики Саха (Якутия), заслуженный врач Республики Якутии, г. Якутск; С.Л. Хайс, врач-онколог отделения рентгенохирургических методов лечения Алтайского краевого онкологического диспансера, г. Барнаул; к.м.н. Р.Ю. Хлобыстин, врач-хирург-онколог Федерального Сибирского научно-клинического центра ФМБА России, г. Красноярск; к.м.н. И.А. Поршенников, руководитель центра трансплантации и хирургии печени Государственной Новосибирской областной клинической больницы, доцент кафедры госпитальной и детской хирургии НГМУ, г. Новосибирск; Д.Ю. Юкальчук, заведующий дневным стационаром Иркутского областного онкологического диспансера, г. Иркутск; Э.Л. Парсаданова, заведующая дневным стационаром Сахалинского областного онкологического диспансера, г. Южно-Сахалинск; И.Б. Останина, руководитель Центра амбулаторной онкологической помощи, заведующая онкологическим отделением, врач-онколог, химиотерапевт Центра новых медицинских технологий», г. Новосибирск.

Изложение опыта скрининга ГЦК в Якутии в докладе Ф.Г.Ивановой получило продолжение в выступлении Д.Л. Непомнящих и в дискуссионной сессии с привлечением онкологов-хирургов. Обсуждению зарегистрированных опций терапии I линии, исследований препаратов I линии, профиля пациентов для предпочтительного назначения комбинированной иммуно-онкологической и

таргетной терапии, а также таргетной терапии в монорежимах было посвящено выступление Д.Ю. Юкальчука. Участники мероприятия убедились в значимости применения мультикиназных ингибиторов тирозинкиназ в качестве монотерапии первой линии неоперабельной ГЦК. Клиническому опыту применения ленватиниба, в том числе с примерами его длительной эффективности при прогрессировании неоперабельной ГЦК, были посвящены выступления К.Г. Ершова и Э.Л. Парсадановой.

В ходе мероприятия эксперты обсудили возможности широкого применения комбинированной терапии иммуноонкологическими и таргетными агентами, опыт клинического использования первых зарегистрированных опций комбинаций checkpoint inhibitors и таргетных препаратов с высокой эффективностью. Участники мероприятия отметили, что предстоит регистрация новых комбинированных режимов, опыт использования которых в рамках международных клинических исследований есть у присутствовавших специалистов.

Помимо обсуждения каждого выступления, в 3 блоках сгруппированных дискуссий обсуждались следующие вопросы: причины запущенности большинства случаев ГЦК; решение проблемы поздней выявляемости; эффективность действующих программ скрининга ГЦК в Сибири и на Дальнем Востоке; междисциплинарный подход в ведении пациентов с ГЦК на разных этапах, возможности внедрения МДК; применимость в практике региональных ЛПУ хирургических и локорегионарных методов лечения ГЦК; а также основные ограничения, взаимодействие хирургов, рентген-хирургов, химиотерапевтов; современные подходы к управлению системной терапией ГЦК, включая наиболее эффективные практики контроля НЯ; комплаентность пациентов с ГЦК.

По результатам регионального (Сибирь и Дальний Восток) совещания экспертов по ГЦК в рамках проекта долгосрочного научного сотрудничества EVOKE-Academy участниками сформулирован ряд положений, часть из которых более полно раскрывает и подтверждает итоги первого мероприятия в масштабе территорий двух регионов.

Маршрутизация пациентов с патологией печени разной этиологии должна учитывать группы риска развития ГЦК. В ведении таких пациентов важно участие всех заинтересованных специалистов – терапевтов первичного звена, гастроэнтерологов, а на этапе специализированной помощи – общих хирургов, инфекционистов, гепатологов, онкологов. Потребность в создании региональных междисциплинарных команд и четкого алгоритма действий при выявлении пациентов групп риска развития ГЦК или случаев ГЦК на территориях Сибири и Дальнего Востока актуальна, как и на территории Новосибирской области. Скрининговые программы необходимы. Скрининг должен быть обязательным, в противном случае он не дает результата. Для повышения его эффективности важно тщательно выбирать пациентскую аудиторию. Необходима целенаправленная работа с группами риска.

В Сибири и на Дальнем Востоке крайне низкие показатели применения радикальных хирургических методов лечения при ГЦК. Локорегионарное лечение – ТАХЭ и другие методы – доступно, но их применение ограничено ввиду позднего выявления ГЦК и функционального состояния печени. Не все региональные онкологические ЛПУ оснащены необходимым оборудованием для локорегионарной терапии, не везде есть подготовленные специалисты, специализированные отделения.

В настоящее время системная терапия ГЦК представлена тремя основными направлениями: таргетные препараты, иммуноонкологические агенты и их сочетание. Сохраняются показания для таргетной терапии. Ленватиниб активно применяется в Сибири и на Дальнем Востоке, препарат признается экспертами высокоэффективной опцией лечения.

Управление лечением требует подготовки и обучения специалистов, причем не только онкологов, химиотерапевтов, но и смежных специальностей, принимающих участие в курировании онкологических пациентов. Целесообразно включение раздела управления противоопухолевым лечением в учебные программы кафедр онкологии вузов и последипломного образования и переподготовки специалистов.

Знания правил подготовки онкологического пациента к терапии, его обучение, а также внимательное сопровождение на всех этапах лечения позволяют максимально длительно сохранять рекомендуемые стартовые дозировки противоопухолевых препаратов, достигая лучших результатов.

Необходимо продолжить сотрудничество экспертов Сибири и Дальнего Востока в научных и образовательных проектах по ГЦК, как и совместную публикационную активность.

Положения Консенсуса

Итоги совещания 2021 г. во многом повторяют выводы междисциплинарного совета Новосибирска, что свидетельствует об общности не решенных до настоящего времени проблем в выявлении ГЦК на территории Сибири и Дальнего Востока. Основные задачи лежат в направлении формирования МДК по ГЦК, в разработке и организации скрининга среди четко отобранных пациентов групп риска, развитии всех видов лечения за счет обучения

специалистов, организации оснащенных подразделений в онкологических ЛПУ. Оба этапа работы консенсуса демонстрируют глубокое понимание со стороны специалистов способов решения данных проблем, поддерживают обмен информацией и клиническим опытом, позволяют формировать профессиональные связи, кумулировать идеи.

В результате последующего обсуждения эксперты сформулировали Положения консенсуса экспертов Сибири и Дальнего Востока по решению проблем ведения пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой:

– ГЦК в Сибири и на Дальнем Востоке ГЦК занимает, как и в России, одно из лидирующих мест по поздней выявляемости и высокой летальности;

– помощь пациентам с ГЦК и скрининг предраковых диффузных заболеваний печени не везде систематизированы, маршрутизация не выстроена;

– в настоящее время доступны следующие опции лечения: хирургическое (резекция печени и трансплантация), ТАХЭ и другие локорегионарные методы, а также системная терапия;

– ТАХЭ обладает широкими возможностями в терапии ГЦК, как в качестве подготовки к операции, так и в виде самостоятельного метода. Важно продолжать создание рентгенохирургических подразделений в онкологических диспансерах и готовить специалистов;

– трансплантация печени – радикальный метод лечения ГЦК. При показаниях к трансплантации пациент с ГЦК должен быть в приоритете в Листе ожидания. Однако трансплантация печени не может быть методом выбора по причине нехватки донорских органов и регламентирующих законодательных документов;

– таргетная терапия тирозинкиназными ингибиторами при распространенной ГЦК – высокоэффективный метод лечения, активно использующийся в Сибири и на Дальнем Востоке. Ленватиниб – доступный препарат I линии терапии неоперабельной ГЦК;

– современная системная терапия требует подготовки онкологов и врачей смежных специальностей по вопросам управления лечением;

– необходимы разработка и внедрение программ скрининга предраковых диффузных заболеваний печени;

– требуется организация и внедрение в практику МДК по ГЦК в субъектах Сибири и Дальнего Востока. Состав МДК: онколог, химиотерапевт, хирург-гепатолог, трансплантолог, специалист лучевой диагностики, рентген-хирург, патоморфолог, гепатолог-инфекционист, гастроэнтеролог-гепатолог, терапевт с опытом управления НЯ.

К 70-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки, академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Евгения Лхамацыреновича Чойнзонова

14 декабря 2022 г. исполнилось 70 лет доктору медицинских наук, профессору, академику РАН, заслуженному деятелю науки, директору НИИ онкологии Томского НИМЦ, выдающемуся российскому ученому, талантливому организатору здравоохранения, внесшему весомый личный вклад в развитие медицинской науки Евгению Лхамацыреновичу Чойнзонову.

Е.Л. Чойнзонов родился в с. Жаргалантуй Бурятской АССР. После окончания лечебного факультета Томского медицинского института в 1976 г. он поступил в клиническую ординатуру на кафедру оториноларингологии этого же института. При открытии в 1979 г. Сибирского филиала Всесоюзного онкологического научного центра АМН СССР в г. Томске Е.Л. Чойнзонов был приглашен на должность младшего научного сотрудника отделения опухолей головы и шеи. В 1984 г. он успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Лечение больных раком полости рта и его влияние на показатели системы иммунитета» и был переведен на должность старшего научного сотрудника. После защиты в 1995 г. докторской диссертации на тему: «Рак верхних отделов дыхательного и пищеварительного тракта (эпидемиологические и иммуновирусологические аспекты, оценка эффективности лечения)» становится ведущим научным сотрудником этого же отделения НИИ онкологии. В 2002 г. ему присвоено звание профессора по специальности «онкология». С 2002 г. Е.Л. Чойнзонов занимает должность директора НИИ онкологии СО РАМН. В 2005 г. профессор Е.Л. Чойнзонов избран членом-корреспондентом Российской академии медицинских наук по специальности «онкология», а в 2011 г. – действительным членом РАМН (с 2014 г. – академик РАН).

Являясь на протяжении многих лет директором НИИ онкологии – единственного за Уралом крупного академического учреждения онкологического профиля, – а также главным онкологом Сибирского федерального округа, академик Е.Л. Чойнзонов курирует развитие онкологической науки и внедрение полученных результатов в клиническую практику на территории региона Сибири и Дальнего Востока с населением более 20 млн человек. Под его руководством в регионе проведены широкомасштабные эпидемиологические исследования, обозначившие основные направления фундаментальных и клинических исследований, для снижения заболеваемости и смертности с учетом территориальной и этнической гетерогенности населения региона. Руководимый им НИИ онкологии по итогам оценки результативности деятельности научных учреждений входит в категорию лидеров России, активно участвует в выполнении задач национальных проектов «Наука», «Здравоохранение» (в структуре которого большая роль отводится федеральному проекту «Борьба с онкологическими заболеваниями») и других программных документов Российской Федерации.

Блестящие организаторские способности, умение определить перспективы развития современной медицинской науки, активная гражданская позиция позволили Е.Л. Чойнзонову

консолидировать усилия академических институтов Томского научного центра по объединению в ныне действующий Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томский НИМЦ) в целях достижения прорывных научных результатов, обеспечивающих конкурентные позиции Российской Федерации в биомедицине и их трансляции в здравоохранение. Томский НИМЦ, пост директора которого с 2016 по 2018 г. занимал академик Е.Л. Чойнзонов, является одним из самых крупных и авторитетных научных учреждений медицинского профиля в России, интегрирован в мировое научное пространство в таких областях, как онкология, кардиология, детская кардиология, медицинская генетика, фармакология, психиатрия.

Академик Е.Л. Чойнзонов вносит огромный вклад в подготовку биомедицинских кадров высшего звена. В 2006 г. по его инициативе на базе НИИ онкологии открыта кафедра онкологии Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ), бессменным заведующим которой он является. Такое объединение дает возможность повысить качество подготовки кадров для работы в медицинских учреждениях онкологического профиля и смежных специальностей. В институте готовят специалистов-онкологов для всего региона Сибири и Дальнего Востока в ординатуре, аспирантуре, по программам дополнительного образования. Евгений Лхамацыренович Чойнзонов является председателем диссертационного совета 24.1.215.02 по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинские науки) при НИИ онкологии Томского НИМЦ, входит в состав диссертационного совета 24.1.215.03 по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки) при НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Академик Е.Л. Чойнзонов активно участвует в процессе интеграции академической и вузовской науки, является одним из организаторов ряда лабораторий международного уровня в ТПУ, ТГУ, ТУСУРе с участием ведущих мировых онкологических учреждений Германии, Швеции, Швейцарии и других стран. В рамках национального проекта «Наука» создана молодежная лаборатория, изучающая механизмы метастазирования. Активная жизненная позиция, инициативность и широкий диапазон научных интересов академика являются образцом для молодых сотрудников института и стимулом к научно-исследовательской деятельности.

Е.Л. Чойнзонов является организатором крупных конференций по проблемам онкологии в России и странах СНГ и авторитетно представляет отечественную науку на основных российских и зарубежных форумах. На протяжении более 30 лет в институте ежегодно проводятся международные конференции по фундаментальной и клинической онкологии, в том числе конференции молодых ученых-онкологов, которые служат важным инструментом подготовки кадров. В институте созданы все условия для стажировок молодых специалистов в ведущих научно-образовательных учреждениях России и за рубежом.

Академик Е.Л. Чойнзонов является основателем научной школы «Злокачественные опухоли головы и шеи. Разработка персонифицированных подходов к проведению современных методов лечения и реабилитации больных со злокачественными новообразованиями на основе изучения клинико-морфологических и молекулярно-генетических особенностей опухолевого процесса». Среди ее представителей – известные ученые, профессора, занимающие высокие позиции в научно-образовательных и лечебных учреждениях, и молодые специалисты, владеющие современными высокотехнологичными методами научных исследований и лечения пациентов. Под его научным руководством защищены 21 кандидатская и 16 докторских диссертаций.

Е.Л. Чойнзонов является признанным в России лидером в области лечения и реабилитации больных со злокачественными новообразованиями челюстно-лицевой области. Еще в 80-х годах XX века он создал новое для России направление по реабилитации пациентов с опухолями головы и шеи для сохранения качества их жизни и социально-трудовой адаптации. Сейчас НИИ онкологии занимает лидирующие позиции по этому направлению в России, осуществляет помощь пациентам из регионов Сибири, Дальнего Востока. Совместно с учениками разработаны методики реконструктивных операций с использованием новейших достижений в сфере медицинского материаловедения и аддитивных технологий. Разработаны и внедрены в клиническую практику новые высокотехнологичные методы органосохраняющих и реконструктивно-пластических оперативных вмешательств с использованием микрохирургической техники и биосовместимых имплантатов, что позволяет обеспечить высокое качество жизни пациентов, их способность к трудовой деятельности и социальную адаптацию.

Евгением Лхамацыреновичем совместно с коллегами создано и развивается актуальное направление голосовой реабилитации больных после комбинированного лечения рака области головы и шеи с применением биологической обратной связи на основе математического моделирования. Предложенные технологии обеспечивают снижение инвалидизации, повышение качества жизни пациентов, их социально-трудовую адаптацию, возвращая к полноценной жизни более 70 % пациентов. Академик активно использует ресурсы научно-образовательных учреждений технического профиля для проведения междисциплинарных исследований, результатом которых является создание оригинальных методов реабилитации, незамедлительно транслирующихся в клини-

ческую практику. Совместно с ТГУ им разработана и впервые в России успешно применяется методика восстановления челюстно-лицевой области с использованием персонифицированных биокерамических имплантатов на основе оксида циркония, изготовленных с применением аддитивных технологий. С учетом мировых трендов проводится экспериментально-клиническая работа по разработке и внедрению новых методик комплексной реконструкции челюстно-лицевой области с использованием тканеинженерных технологий, основу которых составляют формообразующие скаффолды. Разработана уникальная технология создания искусственных индивидуальных имплантатов с функционализированной поверхностью, способных к высокой интеграции с костными и мягкими тканями организма. Совместно с ТПУ созданы инновационные радиофармпрепараты для диагностики и лечения, сконструированы оригинальные установки для проведения таких уникальных в своем роде методов лечения, как нейтронная терапия, интраоперационное облучение, которые позволяют повысить эффективность лечения целевой категории онкологических пациентов.

Академика Е.Л. Чойнзонова отличают широкие научные интересы в области изучения патогенеза рака. Он активно занимается фундаментальными проблемами злокачественного роста, исследованием закономерностей распространения и молекулярного патогенеза злокачественных новообразований на территории региона Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера. Он инициировал и возглавляет исследования по изучению особенностей патогенеза рака у коренных этносов Сибири. Получены приоритетные данные о генетической и вирусологической компоненте предрасположенности к онкозаболеваниям в регионе, позволяющие обосновать подходы по совершенствованию ранней диагностики и лечения с учетом этнической принадлежности. Успешно развиваются перспективные направления, посвященные персонализации лечения больных раком различных локализаций, при этом достигается повышение его эффективности до 25 %. Полученные данные являются теоретической базой для создания оригинальных подходов, позволяющих индивидуализировать тактику лечения онкологических больных, повысить выживаемость и снизить смертность пациентов.

Масштабность и научную и практическую значимость работ Е.Л. Чойнзонова и созданной им научной школы подтверждают многочисленные гранты, полученные коллективом для выполнения исследований в рамках Федеральных целевых программ Министерства науки и высшего образования РФ, Российского фонда фундаментальных исследований, Российского научного фонда и других российских и зарубежных фондов.

Е.Л. Чойнзонов внес огромный вклад в развитие практического здравоохранения, осуществляя научно-методическое руководство лечебно-профилактическими учреждениями Сибирского федерального округа по вопросам онкологии и активно внедряя передовые научные разработки в практику здравоохранения региона. Является высококлассным специалистом в онкохирургии и признанным лидером в России в области лечения опухолей сложных локализацией с высокой социальной значимостью, активно оперирующим онкологом высшей категории. На его личном счету около трех тысяч оперативных вмешательств. Наиболее сложные операции по профилю выполняются им лично, самые тяжелые больные проходят лечение под его личным контролем.

Им внедрены в клиническую практику уникальные хирургические вмешательства с использованием одномоментного замещения послеоперационных дефектов эндопротезами из пористого никелида титана и микрохирургической аутотрансплантацией тканей, что снимает необходимость повторной операции. Созданы и транслированы в клинику новые подходы к лечению рака щитовидной, околоушной желез, полости носа и околоносовых пазух на основе органосохраняющих операций в сочетании с интраоперационной электронной и дистанционной нейтронной терапией.

Разработаны методы комбинированной терапии с применением современных противоопухолевых препаратов и различных видов лучевого лечения, молекулярных маркеров прогноза и мишеней для таргетной терапии, успешно транслированные в медицинскую практику.

Важным направлением деятельности является развитие опережающих технологий ядерной медицины для клинического применения, создание уникальных радиофармпрепаратов для диагностики и лечения, продвижение новых технологий ядерной медицины в клинику.

В последние годы особенно значимым достижением является разработанный при финансировании Минобрнауки России совместно с ТГУ мультисенсорный газоанализатор – сенсорная система диагностики по образцам выдыхаемого воздуха для выявления злокачественных новообразований.

С 2017 по 2020 г. в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ проведена модернизация: оптимизирован коечный фонд, открыты новые отделения (абдоминальной онкологии, торакальной онкологии, радиотерапии, дневного стационара, консультативно-терапевтическое отделение), увеличилось количество операционных. Это позволило создать оптимальные условия для оказания профильной специализированной, в том числе высокотехнологичной, медицинской помощи, решить вопросы подготовки медицинских кадров по специальности «онкология» и смежным дисциплинам, ускорить развитие новых информационных технологий и телемедицины.

Огромный оригинальный фактический материал, накопленный за многие годы интенсивной научной работы Е.Л. Чойнзоновым, обобщен в 27 монографиях, 1 пособии для врачей, 1 методическом пособии, 7 клинических рекомендациях. Приоритетность исследований подтверждается 53 российскими патентами на изобретения, 25 свидетельствами о государственной регистрации программных продуктов, 5 лицензионными соглашениями о предоставлении права использования патентов. Он является автором более 1000 печатных трудов, около 350 российских и зарубежных статей, индексируемых в российской и зарубежных базах цитирования РИНЦ, Scopus, Web of Science.

Будучи одним из ведущих онкологов России, Евгений Лхамацыренович Чойнзонов активно участвует в работе редколлегий многих российских и зарубежных научных журналов. Он является главным редактором «Сибирского онкологического журнала», членом редколлегии журналов: «Онкология. Журнал им. П.А. Герцена», «Вопросы онкологии», «Онкохирургия», «Опухоли головы и шеи», «Сибирский научный медицинский журнал», «Бюллетень сибирской медицины», «Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины», членом редакционного совета журналов: «Annals of Oncology, Новые подходы в онкологии», «Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи», «Голова и шея», «Евразийский онкологический журнал», «Онкологический журнал», «Креативная хирургия и онкология», «Территория интеллекта», «Онкологический журнал: Лучевая диагностика и лучевая терапия», «CA: A Cancer Journal for Clinicians. Русское издание».

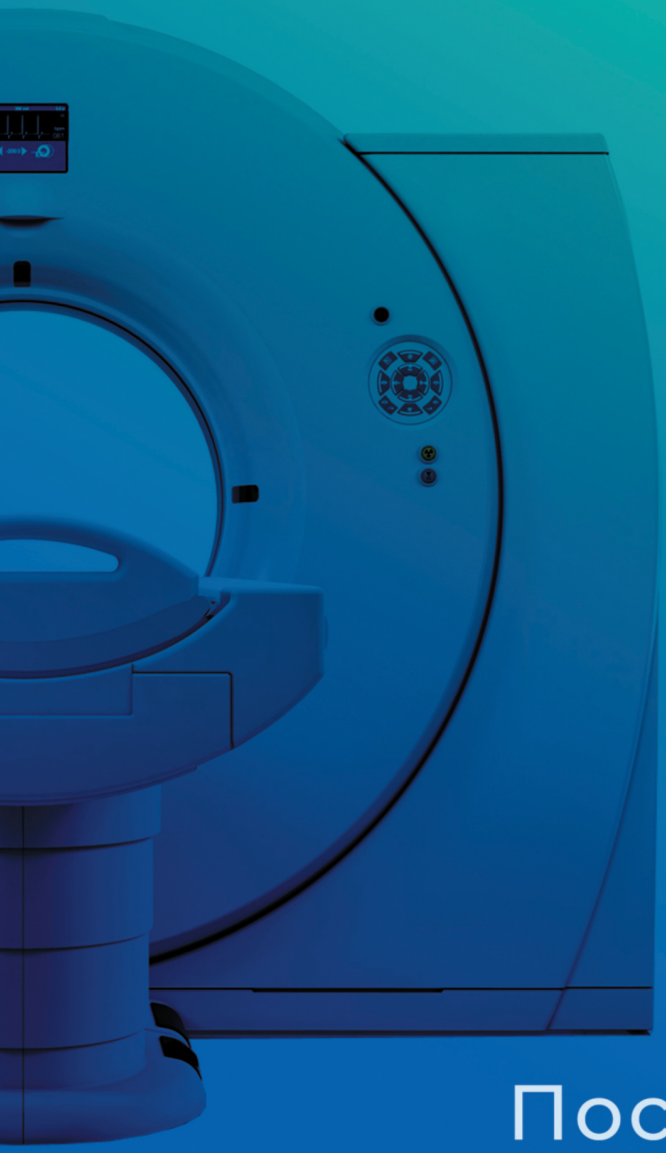
Академик Е.Л. Чойнзонов входит в состав Президиума РАН, является членом Совета РАН по эволюционной медицине и медицинскому наследию, экспертом РАН, членом Президиума Ассоциации онкологов России, Совета по приоритетному направлению научно-технологического развития Российской Федерации «Переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных)», заместителем председателя проблемной комиссии «Опухоли головы и шеи» Научного совета по злокачественным новообразованиям РФ, председателем проблемной комиссии «Онкология» Научного совета по медицинским проблемам Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера РФ, членом комиссии при губернаторе Томской области по мониторингу достижения Томской областью целевых значений показателей социально-экономического развития, определенных Президентом Российской Федерации; главным внештатным специалистом-онкологом Сибирского федерального округа, председателем Томского областного общества онкологов, представителем Российской Федерации в Международной федерации специалистов по опухолям головы и шеи (IFHNOS, USA) и Евразийского сообщества специалистов по опухолям головы и шеи, входит в состав Координационного совета (Совета директоров) Томского НИМЦ, Ученого совета Томского НИМЦ, является председателем Ученого совета НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Под руководством академика Е.Л. Чойнзонова выполнено 10 проектов в рамках федеральных целевых программ (2006–2007, 2010–2012, 2016), 6 проектов, поддержанных грантами РФФИ (2008–2015), интеграционный проект СО РАМН (2006–2007), а также проведены исследования, поддержанные грантом Администрации Томской области (2008), 3 крупными грантами РНФ (2016–2018, 2019–2021, 2022–2024), осуществлены проект в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (2017–2019) и 2 проекта ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (2017–2019, 2019–2020).

Многолетняя плодотворная научная, научно-организаторская и педагогическая деятельность Евгения Лхамацыреновича получила высокую оценку и признание. В 2022 г. академику Е.Л. Чойнзонову присвоено почётное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации». В 2021 г. Евгений Лхамацыренович Чойнзонов с коллективом авторов стал лауреатом Государственной премии Российской Федерации в области науки и технологий 2020 года за создание фундаментального междисциплинарного биомедицинского подхода к лечению, реконструкции и реабилитации при опухолях органов головы и шеи. Он является лауреатом премии Томской области в сфере образования, науки, здравоохранения и культуры (2012). Награжден медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени (2015), нагрудным знаком «Отличнику здравоохранения» (2004), юбилейной медалью «400 лет городу Томску» (2004), почетной грамотой Государственной думы Томской области (2004), Почетной медалью Р. Вирхова (2005), почетной грамотой профсоюза работников здравоохранения Российской Федерации (2009), медалью «За заслуги перед Сибирским медицинским университетом» (2011), благодарностью департамента здравоохранения Томской области (2011), почетной грамотой Томской области (2012), почетной грамотой Российской академии медицинских наук (2012), Серебряным знаком «Герб Томской области» (2012), Почетным Серебряным орденом «Общественное признание» (2012), нагрудным знаком Федерации независимых профсоюзов России «За содружество» (2012), медалью «За достижения» (2014), почетной грамотой администрации города Томска (2014), юбилейной

медалью «120 лет ТПУ» (2016), почетным званием «Заслуженный ветеран Сибирского отделения РАН» (2017), знаком отличия ФАНО России «За заслуги в развитии науки» (2017), почетным знаком «Гордость Томска» (2017), знаком отличия «За заслуги перед Томской областью» (2017), Почетной грамотой Совета Федерации Федерального Собрания Российской Федерации (2017), грамотой Томской городской палаты общественности (2017), почетной грамотой ФАНО России (2018), юбилейным памятным знаком «Законодательная дума Томской области.25 лет» (2019), юбилейным знаком «75 лет Томской области» (2019); занесен в Книгу почета Федерации профсоюзных организаций Томской области (2013); удостоен звания кавалера золотого почетного знака «Достояние Сибири» (2016) и звания «Почетный профессор Сибирского государственного медицинского университета» (2017), поощрен благодарностью Президента Российской Федерации, благодарностями руководителя народного штаба общественной поддержки кандидата в Президенты Российской Федерации и Полномочного представителя Президента Российской Федерации в Сибирском федеральном округе (2012), благодарностью Совета ректоров вузов Томской области (2019), медалью «За выдающиеся заслуги в онкологии» имени основателя отечественной онкологии профессора Н.Н. Петрова (2021), медалью имени П.А. Герцена за особо выдающиеся заслуги в развитии онкологии (2022). Е.Л. Чойнзонов – почетный гражданин Томской области (2022).

Сотрудники Научно-исследовательского института онкологии, кафедры онкологии Сибирского государственного медицинского университета, редколлегия «Сибирского онкологического журнала» сердечно поздравляют Евгения Лхамацыреновича Чойнзонова с юбилеем и желают ему сохранить на долгие годы крепкое здоровье, бодрость духа и увлеченность научными задачами.



NEOMED

Поставка высокотехнологичного медицинского оборудования

и расходных материалов

Г. Томск, пр. Фрунзе, д.115, оф.413
+7 (3822) 60-99-32
neomed.tomsk.ru