

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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

Том 23, № 4' 2024

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

Лекции

Клинические
исследования

Экспериментальные и
лабораторные исследования

Обзоры

История медицины

Протоколы общества онкологов

Юбилеи

Информация. Хроника

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

сайт: www.siboncoj.ru

Журнал издается при поддержке
Национального союза «Ассоциация онкологов России»

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

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

Журнал зарегистрирован 13.06.2023 в Федеральной службе
по надзору в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций. Серия ПИ № ФС77-85416.

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

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

Редакторы:

В.С. Сумарокова, Е.В. Лукина

Верстка:



Дата выхода 06.09.2024 г.

Формат 60x84^{1/8}.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.

Гарнитура Times New Roman Cyr

Печ. л. 25,5; усл. печ. л. 23,7; уч.-изд. л. 23,2.

Тираж 1000 экз. Заказ 526. 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 23, № 4 2024

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., член-корр. РАН, 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, д.б.н. (г. Томск, Россия)

Л.Д. Жуйкова, д.м.н. (г. Томск, Россия)

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

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

профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)

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

Л.А. 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., профессор РАН (г. Томск, Россия)

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

С.В. Миллер, д.м.н. (г. Томск, 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. Тюлядин, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)

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

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

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

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

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

С. Айер, профессор (г. Кочи, Индия)

М. Джугашвили, MD, PhD (Испания)

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

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

Т. Кондо, профессор (Япония)

Г. Марголин, профессор (Швеция)

Л. Унгар, профессор (Венгрия)

М. Фрейдин, PhD (Великобритания)

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

Дж. Ша, MS MD, F.A.C.S. (США)

А. Шаха, профессор (Нью Йорк, США)

Founder of the Journal

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

Web-site: www.siboncoj.ru

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

The Journal was founded in 2002
Subscription index according to the catalog
of OOO Ural-Press Okrug is 46827

Address of the Editorial Office:

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

The journal is registered with the Federal Service
for Supervision of Communications, Information Technology
and Mass Media (Digital Certificate No FC77-85416 of June 13,
2023). Series PI No. ΦC77-85416.

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: 06.09.2024
Format: 60x84 1/8. Litho

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

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

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL
ISSUED ONCE IN TWO MONTHS

Vol. 23, № 4 2024

Editor-in-Chief:

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

Associate Editors:

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

Executive Editors:

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

Editorial Board:

L.A. Ashrafyan, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)
L.M. Bershtein, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)
E.V. Denisov, PhD, DSc (Tomsk, Russia)
L.D. Zhuikova, MD, PhD, DSc (Tomsk, Russia)
D.G. Zaridze, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)
E.N. Imyaninov, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (St. Petersburg, Russia)
A.D. Kaprin, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)
L.A. Kolomiets, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)
M.A. Krasilnikov, PhD, Professor (Moscow, Russia)
A.V. Lisitsa, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)
N.V. Litvyakov, DSc, Professor of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)
L.N. Lyubchenko, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)
S.V. Miller, MD, DSc (Tomsk, Russia)
V.M. Moiseenko, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)
S.A. Nekrylov, PhD, Professor (Tomsk, Russia)
V.A. Novikov, MD, PhD, DSc (Tomsk, Russia)
I.N. Odintsova, PhD, DSc (Tomsk, Russia)
V.M. Perelmutter, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)
I.V. Reshetov, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)
E.M. Slonimskaya, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)
V.V. Starinsky, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)
Zh.A. Startseva, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)
V.A. Tkachuk, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)
S.A. 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. Dzhygashvili, MD, PhD (Spain)
V. Kesik, MD, PhD, Professor (Croatia)
Yu. Kzhyshkovska, Professor (Germany)
T. Kondo, Professor (Japan)
G. Margolin, Professor (Sweden)
L. Ungar, Professor (Hungary)
M. Freidin, PhD (United Kingdom)
Tak-Hong Cheung, MBBS, MD, Professor (Hong-Kong, China)
J. Shah, MS MD, F.A.C.S. (USA)
Ashok Shaha, MD, PhD, F.A.C.S. (New York, USA)

СОДЕРЖАНИЕ

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Гордиенко В.П.** Заболеваемость и смертность населения от злокачественных новообразований в Дальневосточном Федеральном округе (2013–2022) 5
- Palizgir A., Khodakarim N., Mohammadi S., Rezaei F., Hosseinienejad M.** Влияние диагноза рак на статус занятости трудоспособного населения (на англ.) 19

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Рябов А.Б., Чайка А.В., Хомяков В.М., Александров О.А., Кострыгин А.К., Соболев Д.Д., Погосян Г.С., Арзуманов С.В., Воробьев Н.В., Черемисов В.В., Уткина А.Б., Аксенов С.А., Макурина М.П., Салимзянов К.И.** Нефронсберегающие операции в хирургическом лечении ретроперитонеальных сарком 32

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Жукова Г.В., Ульянова, Меньшенина А.П., Моисеенко Т.И., Златник Е.Ю., Непомнящая Е.М., Сагакянц А.Б., Вереникина Т.И.** Иммуногистохимические показатели серозных карцином яичников и возможный механизм развития резистентности к препаратам платины 45
- Сударских Т.С., Ларионова И.В., Ракина М.А., Кжышкова Ю.Г.** Биомаркеры модельных опухолеассоциированных макрофагов *ex vivo* (на англ.) 54
- Плотников Е.В., Белоусов М.В., Бразовский К.С., Ларькина М.С., Артамонов А.А., Стучебров С.Г., Чернов В.И.** Экспериментальное исследование радиопротекторных свойств пирувата лития *in vitro* 66
- Hashemi M., Panahi A., Nosrati R., Oranj G.D., Jafari-Shakib R.** Оценка цитотоксического эффекта и индукции апоптоза экстракта *Cuscuta epithymum* при плоскоклеточном раке пищевода (на англ.) 77
- Григорьева Е.С., Таширева Л.А., Алифанов В.В., Завьялова М.В., Перельмутер В.М.** Интегриновый профиль циркулирующих опухолевых клеток у больных раком молочной железы 86

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

- Лавринович О.Е., Татищева Ю.А., Берлев И.В., Яковлева М.Г., Карицкий А.П., Калугина А.С.** ОТО-IVM – метод сохранения фертильности пациенткам с опухолевым поражением яичников 96
- Тонеев Е.А., Кешян Э.А., Нуретдинов Д.И., Мартынов А.А., Жинов А.В., Шагдалеев Р.Ф.** Панкреатическая фистула после гастрэктомии. Ретроспективный одноцентровый анализ 108
- Patil K., Kaggare Puttaraju M., Solayappan E.** Оценка биопсихосоциальной модели контроля над болью у пациентов после лечения рака полости рта (на англ.) 117

ОБЗОРЫ

- Максимова В.П., Макусъ Ю.В., Попова В.Г., Усалка О.Г., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г., Кирсанов К.И.** Подходы к противоопухолевой терапии на основе модуляции метилирования ДНК 125
- Романко Ю.С., Решетов И.В.** Экспериментальная и клиническая комбинированная фотодинамическая терапия опухолевых и предопухолевых заболеваний с использованием различных видов излучений 141
- Полатова Д.Ш., Мадаминов А.Ю., Савкин А.В., Ибрагимова Д.А.** Генная инженерия в онкологии, основанная на технологии CRISPR-Cas9 152
- Аеров К.О., Шатик С.В., Самойлович М.П.** Способы уменьшения накопления радиоактивности в почках при таргетной терапии с использованием малых молекул, пептидов и фрагментов антител 162
- Майбородин И.В., Гончаров М.А., Шевела А.И., Красильников С.Э., Шумейкина А.О., Майбородина В.И.** Ангиогенез при раке эндометрия: клиническое и биологическое значение 172

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

- Константинова В.В., Дашян Г.А., Ахмедов Р.М., Белоусов А.М.** Полный патоморфологический регресс местнораспространенного трижды негативного рака молочной железы после неoadъювантной химиотерапии: клинический случай 186
- Афанасьев С.Г., Азовский Д.И., Ронин Я.С., Волков М.Ю., Августиневич А.В., Безгодова Н.В., Черемисина О.В., Ермоленко Р.И., Фролова И.Г.** Случай успешного хирургического лечения метакхронного рака Фатерова соска и протоковой карциномы дистальных отделов поджелудочной железы 194

CONTENTS

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Gordienko V.P. Cancer incidence and mortality in the Far Eastern Federal District (2013–2022)	5
Palizgir A., Khodakarim N., Mohammadi S., Rezaei F., Hosseinienejad M. The impact of cancer diagnosis on employment status in a working population	19

CLINICAL STUDIES

Ryabov A.B., Chaika A.V., Khomyakov V.M., Alexandrov O.A., Kostrygin A.K., Sobolev D.D., Pogosyan G.S., Arzumano S.V., Vorobyov N.V., Cheremisev V.V., Utkina A.B., Aksenov S.A., Makurina M.P., Salimzyanov K.I. Nephron-sparing surgery for retroperitoneal sarcomas	32
---	----

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

Zhukova G.V., Ulyanova E.P., Menshenina A.P., Moiseenko T.I., Zlatnik E.Yu., Nepomnyashchaya E.M., Sagakants A.B., Verenikina T.I. Immunohistochemical parameters of serous ovarian carcinomas and possible mechanism of development of resistance to platinum-based drugs	45
Sudarskikh T.S., Larionova I.V., Rakina M.A., Kzhyshkowska J.G. Biomarkers for modeling of cancer-specific tumor-associated macrophages <i>ex vivo</i>	54
Plotnikov E.V., Belousov M.V., Brazovsky K.S., Larkina M.S., Artamonov A.A., Stuchebrov S.G., Chernov V.I. Experimental study of radioprotective properties of lithium pyruvate <i>in vitro</i>	66
Hashemi M., Panahi A., Nosrati R., Oranj G.D., Jafari-Shakib R. Evaluation of the cytotoxic effects and apoptosis inducing of <i>Cuscuta epithymum</i> extract on esophageal squamous cell carcinoma	77
Grigoryeva E.S., Tashireva L.A., Alifanov V.V., Zavyalova M.V., Perelmutter V.M. Integrin profile of circulating tumour cells in breast cancer patients	86

ONCOLOGY PRACTICE

Lavrinovich O.E., Tatischeva Ju.A., Berlev I.V., Yakovleva M.G., Karitski A.P., Kalugina A.S. OTO-IVM is a method of fertility preservation for patients with ovarian tumors	96
Toneev E.A., Keshyan E.A., Nuretdinov D.I., Martynov A.A., Zhinov A.V., Shagdaleev R.F. Pancreatic fistula after gastrectomy. Retrospective single-center analysis	108
Patil K., Kaggare Puttaraju M., Solayappan E. Evaluation of biopsychosocial model for pain management in post-oral cancer therapy patients	117

REVIEWS

Maksimova V.P., Makus J.V., Popova V.G., Usalka O.G., Belitsky G.A., Yakubovskaya M.G., Kirsanov K.I. Approaches to anticancer therapy based on modulation of DNA methylation	125
Romanko Yu.S., Reshetov I.V. Experimental and clinical combined photodynamic therapy for malignant and premalignant lesions using various types of radiation	141
Polatova D.Sh., Madaminov A.Yu., Savkin A.V., Ibragimova D.A. Genetic engineering in oncology based on CRISPR-Cas9 technology	152
Avrov K.O., Shatik S.V., Samoilovich M.P. Ways to reduce radioactivity accumulation in the kidney during targeted therapy using small molecules, peptides and antibody fragments	162
Maiborodin I.V., Goncharov M.A., Shevela A.I., Krasilnikov S.E., Shumeikina A.O., Maiborodina V.I. Angiogenesis in endometrial cancer: clinical and biological significance	172

CASE REPORTS

Konstantinova V.V., Dashyan G.A., Ahmedov R.M., Belousov A.M. Pathological complete response of locally advanced triple-negative breast cancer: case report	186
Afanasyev S.G., Azovsky D.I., Ronin Ya.S., Volkov M.Yu., Avgustinovich A.V., N.V. Bezgodova, Cheremisina O.V., Ermolenko R.V., Frolova I.G. Successful surgical treatment of metachronous carcinoma of the appulla of Vater and ductal carcinoma of the distal parts of the pancreas: A case report	194

DOI: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-5-18
УДК: 616-006.04:312.2(571.6)



Для цитирования: Гордиенко В.П. Заболеваемость и смертность населения от злокачественных новообразований в Дальневосточном федеральном округе (2013–2022). Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 5–18. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-5-18

For citation: Gordienko V.P. Cancer incidence and mortality in the Far Eastern Federal District (2013–2022). Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 5–18. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-5-18

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И СМЕРТНОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ ОТ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ (2013–2022)

В.П. Гордиенко

ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия»
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

Аннотация

Цель исследования – оценка территориальных особенностей основных показателей заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований населения Дальневосточного федерального округа в период 2013–2022 гг. **Материал и методы.** Результаты официальной отчетности онкослужбы (ф.35 и ф.7) и данные территориальных органов Федеральной службы государственной статистики по смертности, обработанные с помощью стандартных программ онкологической статистики. **Результаты.** На востоке страны в 2022 г. зарегистрировано 31 822 новых случая злокачественных новообразований, что на 1,3 % больше, чем в 2021 г. Среднее значение статистического показателя заболеваемости составило у мужчин $294,06 \pm 5,05\text{‰}_{0000}$ (2020 г. – $296,94 \pm 4,66\text{‰}_{0000}$) на 100 000 населения при темпах убыли с 2013 г. -3,0 %. В женской популяции подобный показатель увеличился до $240,96 \pm 5,73\text{‰}_{0000}$ (2020 г. – $237,92 \pm 6,26\text{‰}_{0000}$) с темпами прироста +6,3 %. В структуре первичной заболеваемости наибольший удельный вес имели рак кожи (11,6 %), трахеи, бронхов и легкого (11,5 %), молочной железы (11,3 %) и ободочной кишки (6,3 %). Число активно выявляемых больных повысилось до 23,2 % (2013 г. – 14,0 %), так же как и индекс накопления контингентов – 7,3 (2013 г. – 5,3). Возросло количество больных с I–II стадиями опухолевого процесса – 57,0 % (2013 г. – 47,5 %) с одновременным снижением числа запущенных форм заболевания – 20,8 % (2013 г. – 24,7 %). Количество морфологических исследований (94,1 %) оказалось ниже среднероссийского показателя (95,8 %), как и удельный вес больных, состоящих на учете пять и более лет, – 57,2 % (РФ – 58,2 %). Среднее значение статистического показателя смертности у мужчин составило $174,99 \pm 3,10\text{‰}_{0000}$ (2020 г. – $181,76 \pm 2,51\text{‰}_{0000}$) на 100 000 населения, что превысило аналогичный показатель у женщин – $91,34 \pm 1,20\text{‰}_{0000}$ (2020 г. – $93,71 \pm 0,80\text{‰}_{0000}$). В структуре общей смертности лидировали опухоли трахеи, бронхов и легкого (20,0 %), желудка (8,9 %), ободочной кишки (7,0 %) и молочной железы (6,6 %). **Заключение.** Низкий уровень активного выявления болезни не позволил существенно изменить показатели заболеваемости за исследуемый период. Большой объем профилактических мероприятий с улучшением их качества даст возможность первичному звену здравоохранения выявлять ранние формы рака и формировать группы «риска» для последующего наблюдения за фоновыми и предраковыми состояниями, а, следовательно, снизить показатели смертности населения. Необходимым условием совершенствования медицинской помощи онкологическим больным являются постоянная подготовка профессиональных кадров и использование современных технологий диагностики и лечения.

Ключевые слова: злокачественные новообразования, заболеваемость, смертность, Дальний Восток.

CANCER INCIDENCE AND MORTALITY IN THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT (2013–2022)

V.P. Gordienko

Amur State Medical Academy
95, Gorky St., Blagoveshchensk, 675000, Russia

Abstract

The aim of the study was to assess the territorial patterns in cancer incidence and mortality among the population of the Far Eastern Federal District in the period 2013–2022. **Material and Methods.** Data from official reports of cancer services (form No 35, No. 7) processed using standard cancer statistics programs were presented. **Results.** In the east of the country, 31,822 new cancer cases were registered in 2022, which was 1.3 % more than in 2021. The average cancer incidence rate in males was 294.06 ± 5.05 per 100,000 (2020: 296.94 ± 4.66), with a decrease rate of 3.0 %. In females, the equivalent rate increased to 240.96 ± 5.73 per 100,000 (2020: 237.92 ± 6.26 per 100,000) with a rise of 6.3 %. Skin cancer was the most common malignancy (11.6 %) followed by trachea, bronchi, lung (11.5 %), breast (11.3 %) and colon (6.3 %) cancers. The percent of actively detected patients increased to 23.2 % (2013: 14.0 %) as did the index of accumulation of contingents – 7.3 (2013: 5.3). The number of patients with stage I–II cancer increased to 57.0 % (2013: 47.5 %), while the number of stage III–IV cancers decreased to 20.8 % (2013: 24.7 %). The number of morphologic studies (94.1 %) was lower than the average for RF (95.8 %). The proportion of patients registered for five or more years decreased to 57.2 % (RF: 58.2 %). The average cancer mortality rate in men was 174.99 ± 3.10 per 100,000 (2020: 181.76 ± 2.51 per 100,000). The average cancer mortality rate in women was lower than in men, being 91.34 ± 1.20 per 100,000 (2020: 93.71 ± 0.80 per 100,000). Cancers of trachea, bronchi and lung (20.0 %), stomach (8.9 %), colon (7.0 %) and breast (6.6 %) were the leading causes of mortality. **Conclusion.** The low level of active cancer detection did not significantly change the incidence rates during the study period. A greater volume of preventive measures with improvement of their quality will enable the primary health care system to detect cancer at early stages, form groups being at high risk for cancer development and, consequently, to reduce mortality rates. A prerequisite for improving medical care for cancer patients is the continuous training of professional staff and the use of modern diagnostic and treatment technologies.

Key words: malignant neoplasms, incidence, mortality, Far East.

Проблема злокачественных новообразований (ЗНО) в современных условиях оказания медицинской помощи в Российской Федерации (РФ) остается в центре внимания всех ветвей власти, так как в полной мере невозможно оценить моральный и материальный ущерб от изменений в качестве жизни онкологического больного при, как правило, непредсказуемом прогнозе ее продолжительности. Первые десятилетия XXI в. характеризуются постоянной тенденцией к снижению числа проживающих в России и на отдельных ее территориях, что, прежде всего, определяется низким уровнем рождаемости (2022 г. – 1,3 млн чел.) при высоких показателях смертности (2022 г. – 1,9 млн чел.), которая во многом зависит и от роста числа заболевающих злокачественными новообразованиями (2013 г. – $229,22 \text{ ‰}$; 2022 г. – $236,47 \text{ ‰}$) [1].

В 2022 г. в нашей стране зарегистрировано 624 835 онкологических больных (мужчин – 283 179, женщин – 341 656), что свидетельствует об увеличении их числа на 7,65 % относительно 2021 г. (580 415 человек: мужчин – 265 039, женщин – 315 376), когда была распространена коронавирусная инфекция (COVID-19). Рост числа заболевших с 2013 г. произошел по большинству локализаций

ЗНО: рак кожи – на 20,0 %, рак молочной железы – на 25,8 %, рак ободочной кишки – на 27,5 %, меланома – на 34,5 %, рак предстательной железы – на 52,1 %. В территориальных специализированных учреждениях страны под диспансерным наблюдением находилось 4 023 446 пациентов (в 2021 г. – 3 940 529). Ушли из жизни 276 878 человек (в 2021 г. – 278 992): из них мужчины составили 53,3 %, женщины – 46,7 %. Ведущими локализациями в общей структуре заболеваемости стали рак кожи 12,7 % (в 2013 г. – 12,3 %), рак молочной железы – 12,3 % (в 2013 г. – 11,4 %), рак трахеи, бронхов и легкого – 9,2 % (в 2013 г. – 10,5 %), рак ободочной кишки – 7,1 % (в 2013 г. – 6,5 %). Среди причин смертности от ЗНО на первом месте оказался рак трахеи, бронхов и легкого – 16,8 % (в 2013 г. – 17,4 %), на втором – рак желудка – 8,8 % (в 2013 г. – 10,9 %), на третьем – рак ободочной кишки – 8,4 % (в 2013 г. – 7,6 %) и четвертом – рак молочной железы – 7,4 % (в 2013 г. – 8,0 %) [2–4].

Аналогичная картина состояния медицинской помощи онкологическим больным наблюдалась и в Дальневосточном федеральном округе (ДФО), занимающем свыше 40 % территории РФ с насе-

лением 7 935 219 человек. Особенности климато-географических и геохимических факторов здесь могут явиться этиологическими причинами провоцирования онко-эпидемиологических процессов и развития опухолевой болезни [5, 6].

Целью исследования явилась оценка территориальных особенностей основных показателей заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований населения Дальневосточного федерального округа в период 2013–2022 гг.

Материал и методы

Изучалась динамика показателей заболеваемости и смертности больных с онкологической патологией (2013–2022) в соответствии с Международной статистической классификацией болезней десятого пересмотра. Использовались данные официальной отчетности онкослужбы (ф.35 и ф.7, объединенные с 2016 г. в единую ф.7 – «Сведения о злокачественных новообразованиях»), и показатели смертности, по данным территориальных органов Федеральной службы государственной статистики за 2013–2022 гг. Определялся показатель отношения смертности и заболеваемости (индекс достоверности учета – ИДУ), величина которого дает возможность получения более точной информации о состоянии медицинской помощи больным с ЗНО [7]. В качестве объекта для сопоставления данных

использовались публикуемые в открытом доступе официальные справочные материалы МНИОИ им. П.А. Герцена, информация Федеральной службы государственной статистики [8], интерпретируемые автором, с учетом собственных предложений по совершенствованию онкологической помощи населению на территориях отдельно взятых регионов РФ [9]. Все полученные результаты были обработаны с помощью стандартных программ онкологической статистики [10] в системе EXCEL и STATISTICA-10 с использованием критерия Манна–Уитни.

Результаты

За последние 30 лет произошел существенный рост числа больных со злокачественными новообразованиями на территории ДФО («грубый» показатель на 100 тыс. населения: 1993 г. – мужчины – 297,3, женщины – 178,4; 2022 г. – мужчины – 379,2, женщины – 420,6). Стандартизованный (мировой стандарт) показатель в 2022 г. – 248,5 ‰ (мужчины – 274,9 ‰, женщины – 240,0 ‰). Увеличение количества заболевших, возможно, объясняется заметным постарением населения, большим притоком мигрантов из бывших республик СССР и постоянно меняющимися, не в лучшую сторону, воздействиями внешних факторов на организм с присущими только для Дальнего Востока климати-

Таблица 1/Table 1

Заболеваемость и смертность от ЗНО (стандартизованные показатели) на 100 тыс. населения ДФО (C00–96)

Standardized cancer incidence and mortality rates in FEFD (C00–96)

Годы/ Years	Заболеваемость/Incidence						Смертность/Mortality					
	ДФО/EFD			Россия/Russia			ДФО/EFD			Россия/Russia		
	Всего/ Total	Муж/ Men	Жен/ Women	Всего/ Total	Муж/ Men	Жен/ Women	Всего/ Total	Муж/ Men	Жен/ Women	Всего/ Total	Муж/ Men	Жен/ Women
2013	243,1	283,3	225,9	229,2	271,3	210,6	129,8	184,7	97,3	116,8	167,5	86,9
2014	254,3	302,9	232,9	235,2	277,6	216,9	123,9	179,3	91,5	114,6	164,2	85,4
2015	257,7	304,9	237,4	241,4	284,0	223,0	128,6	187,7	93,9	114,8	164,0	85,7
2016	255,6	309,9	238,0	242,6	283,1	225,6	121,8	180,9	92,1	112,8	162,1	83,5
2017	263,3	309,9	243,6	246,6	286,7	229,5	121,9	174,7	90,7	108,9	155,6	81,1
2018	264,7	307,0	284,4	246,8	286,5	230,2	124,3	177,3	93,0	108,6	155,3	80,6
2019	269,2	309,7	254,2	249,5	288,8	234,5	124,8	176,9	92,9	106,8	152,4	78,5
2020	230,9	267,4	217,7	216,6	249,1	203,4	120,1	169,9	91,6	104,6	148,7	78,3
2021	245,7	279,8	235,3	224,9	255,5	213,6	114,5	162,5	86,4	99,8	141,3	74,7
2022	248,5	275,0	240,0	236,5	264,2	226,3	111,3	155,8	83,8	97,3	135,3	73,8
M ± m	253,3 ± 3,64	294,98 ± 5,26	240,94 ± 5,73	236,93 ± 3,37	274,68 ± 4,46	221,36 ± 3,13	122,1 ± 1,81	174,97 ± 3,11	91,32 ± 1,2	108,5 ± 2,06	154,64 ± 3,32	80,85 ± 1,44
S	11,52	16,65	18,12	10,66	14,12	9,89	5,73	9,82	3,79	6,53	10,51	4,15
95 % ДИ/CI	245,06 ÷ 261,54	283,07 ÷ 306,89	227,97 ÷ 253,91	229,38 ÷ 244,55	264,58 ÷ 284,78	214,28 ÷ 228,44	118,0 ÷ 126,2	167,94 ÷ 182,0	88,61 ÷ 94,03	108,83 ÷ 113,17	147,12 ÷ 162,16	73,58 ÷ 84,12

Примечания: S – среднееквадратичное отклонение (сигма); уровень статистической значимости различий заболеваемости и смертности в ДФО и России по критерию Манна–Уитни: заболеваемость: всего – $p < 0,01$, муж – $p < 0,01$, жен – $p < 0,01$; смертность: всего – $p < 0,001$, муж – $p < 0,001$, жен – $p < 0,001$; таблица составлена автором.

Notes: S – the standard deviation (sigma); EFD – Far Eastern Federal District; the level of statistical significance of differences in incidence and mortality in the Far Eastern Federal District and Russia according to the Mann–Whitney test: morbidity: total – $p < 0.01$, male – $p < 0.01$, women – $p < 0.01$; mortality: total – $p < 0.001$, men – $p < 0.001$, female – $p < 0.001$; created by the author.

Таблица 2/Table 2

Динамика заболеваемости ЗНО (стандартизованные показатели) на 100 тыс. населения в регионах ДФО (C00–96)
Changes in standardized incidence rates per 100,000 population in the regions of the Far Eastern Federal District (C00–96)

Годы/Years	Приморский край/ Primorsky Territory	Хабаровский край/ Khabarovsk Territory	Амурская область/ Amur Region	Камчатский край/ Kamchatka Territory	Магаданская область/ Magadan Region	Сахалинская область/ Sakhalin Region	Забайкальский край/ Zabaykalsky Territory	Чукотский АО/ Chukotka AD	Республика Бурятия/ Republic of Buryatia	Республика Саха (Якутия)/ Republic of Sakha (Yakutia)	Еврейская АО/ Jewish Autonomous Region	ДФО/FED
2013	224,46	268,95	230,76	256,2	284,87	303	221,37	333,24	211,85	201,09	270,56	243,13
2014	248,88	269,85	249,91	277,22	280,12	284,96	239,00	319,34	212,29	207,39	258,81	254,28
2015	251,39	251,99	259,7	298,33	269,96	313,71	243,65	239,02	236	228,34	273,62	257,66
2016	248,31	263,53	243,07	270,61	320,12	326,79	261,43	285,88	237,91	205,42	285,94	255,56
2017	244,8	295,15	267,66	283,13	284,79	307,4	272,67	332	247,17	213,35	254,82	263,34
2018	254,64	286,39	268,36	279,24	287,93	318,64	279,88	239	247,15	212,12	250,96	264,66
2019	274,98	287,34	273,34	277,81	284,11	333,53	241,61	166,56	260,41	220,04	283,89	269,15
2020	221,25	253,36	238,82	217,19	232,58	296,19	232,37	195,71	233,3	171,28	238,9	230,99
2021	236,28	268,9	264,91	264,53	223,17	313,75	227,99	187,04	245,74	193,75	254,94	245,94
2022	218,15	269,24	290,63	272,44	251,87	302,88	247,24	182,77	259,56	200,59	261,22	248,54
	242,31	271,47	258,72	269,67	271,95	310,09	246,72	248,06	239,14	205,34	263,37	253,33
M ± m	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	5,55	4,50	5,72	6,82	9,10	4,55	6,04	20,64	5,33	4,94	4,73	3,63
p	0,147	0,019	0,490	0,019	0,084	0,001	0,301	0,581	0,084	0,001	0,190	1,00
95 %	229,77	261,28	245,78	254,24	251,36	299,80	233,06	201,36	227,09	194,17	252,68	245,12
ДИ/CI	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷	÷
	254,86	281,66	271,66	285,10	292,55	320,37	260,39	294,75	251,19	216,51	274,06	261,53

Примечания: S – среднеквадратичное отклонение (сигма); уровни статистической значимости различий (p) заболеваемости ЗНО в ДФО и его регионах определялись по критерию Манна–Уитни; таблица составлена автором.
Notes: S – the standard deviation (sigma); EFD – Far Eastern Federal District; the he levels of statistical significance of differences in the incidence of MN (p) in the FEFD and its regions were determined by the Mann–Whitney test; created by the author.

ческими особенностями – метео-геофизическими стрессами на фоне постоянных изменений геохимической среды [11–13]. Уровень заболеваемости мужского населения соответствовал четвертому месту среди восьми федеральных округов Российской Федерации, а у женщин – шестому. За исследуемый период времени количество больных увеличилось на 43,9 %, тогда как по России их число стало больше на 16,6 %. Удельный вес заболевших женщин (55,2 %) был выше, чем мужчин (44,8 %). На сельских жителей приходилось 25,4 % (2013 г. – 20,9 %). Максимальное количество заболеваний регистрировалось в возрасте 50–69 лет. Средние значения показателя заболеваемости в исследуемом периоде составили $253,31 \pm 3,64 \text{ ‰}$, РФ – $236,93 \pm 3,37 \text{ ‰}$. У мужчин эта величина равнялась $294,06 \pm 5,05 \text{ ‰}$, РФ – $274,68 \pm 4,46 \text{ ‰}$, а у женщин – $240,96 \pm 5,73 \text{ ‰}$, РФ – $221,36 \pm 3,13 \text{ ‰}$ (табл. 1). Прирост/убыль количества больных характеризовался увеличением стандартизованных показателей среди женского населения ДФО – $240,0 \text{ ‰}$ (2013 г. – $225,9 \text{ ‰}$),

в то время как у мужчин наблюдался прямо противоположный процесс – $275,0 \text{ ‰}$ (2013 г. – $283,3 \text{ ‰}$). Следует отметить неравномерность среднестатистических показателей заболеваемости среди регионов ДФО, наибольшие значения которых были отмечены в Амурской области – $258,729 \pm 5,72 \text{ ‰}$ ($p=0,490$) и Камчатском крае – $269,67 \pm 6,82 \text{ ‰}$ ($p=0,019$), наименьшие – в Чукотском АО – $248,06 \pm 20,64 \text{ ‰}$ ($p=0,581$) и в Республике Саха (Якутия) – $205,34 \pm 4,94 \text{ ‰}$ ($p=0,001$) (табл. 2).
Ведущими локализациями в регионе в общей структуре онкологической заболеваемости в 2022 г. (оба пола) стали рак молочной железы – 11,3 %, РФ – 12,3 % (2013 г. – 11,4 %), рак кожи (без меланомы) – 11,6 %; РФ – 12,7 % (2013 г. – 11,3 %), рак трахеи, бронхов и легкого – 11,5 %, РФ – 9,2 % (2013г. – 12,7 %). У мужчин на протяжении многих лет основными ЗНО оставались опухоли трахеи, бронхов и легкого – 18,9 %, РФ – 15,5 % (2013 г. – 21,4 %), предстательной железы – 13,2 %, РФ – 17,0 % (2013 г. – 8,8 %), кожи – 9,1 %, РФ –

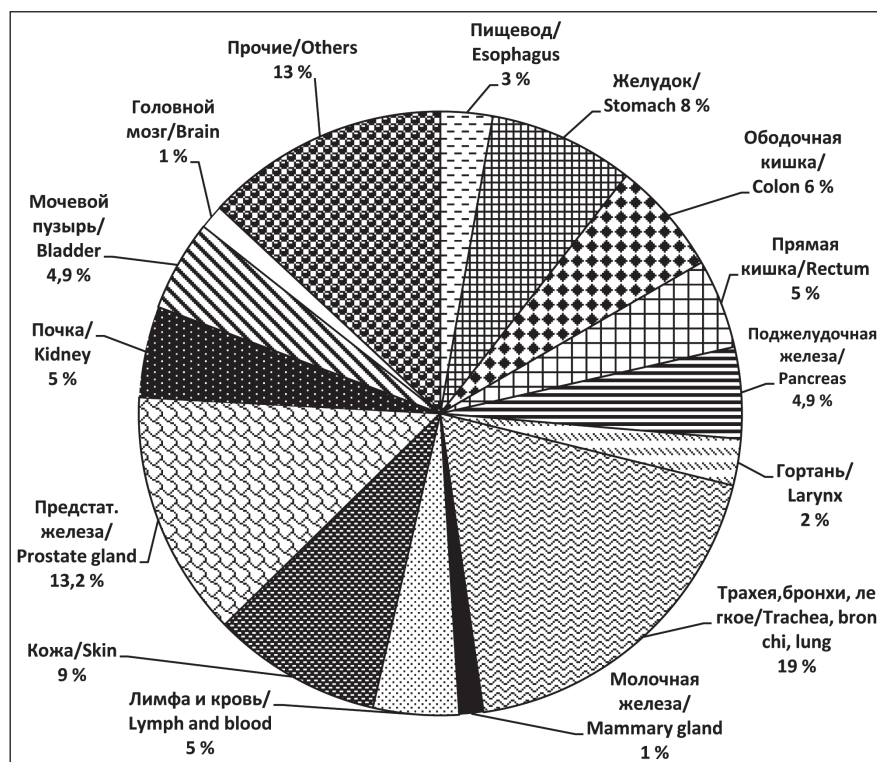


Рис. 1. Структура заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения Дальневосточного федерального округа в 2022 г. Примечание: диаграмма выполнена автором

Fig. 1. Cancer incidence in males of the Far Eastern Federal District in 2022. Note: created by the author

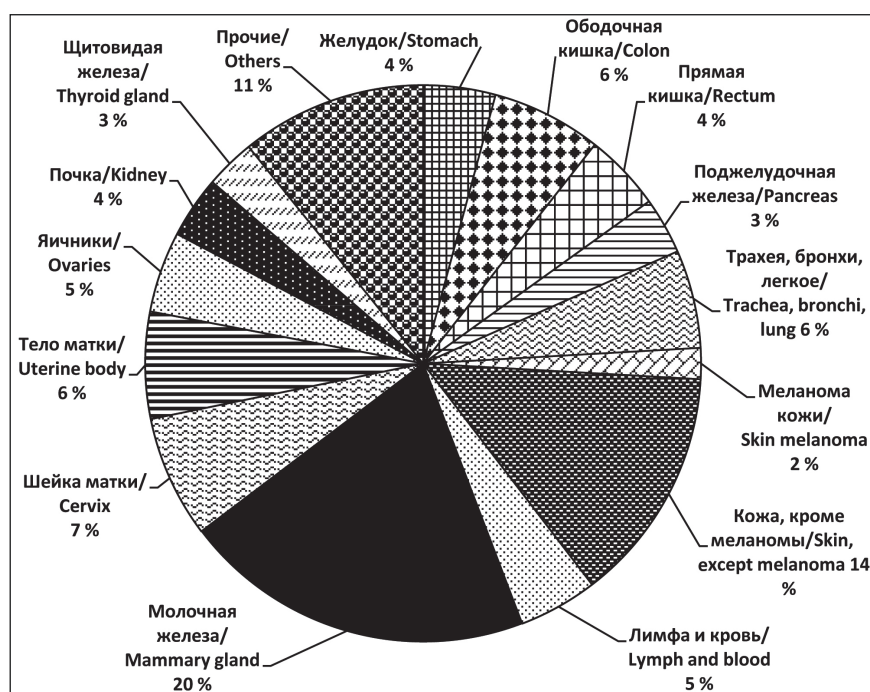


Рис. 2. Структура заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения Дальневосточного федерального округа в 2022 г. Примечание: диаграмма выполнена автором

Fig. 2. Cancer incidence in females of the Far Eastern Federal District in 2022. Note: created by the author

10,5 % (2013 г. – 9,2 %) и ободочной кишки – 6,1 %, РФ – 6,9 % (2013 г. – 4,9 %). У женщин лидирующие позиции занимали рак молочной железы – 20,5 %, РФ – 22,4 % (2013 г. – 21,0 %), рак кожи – 13,7 %, РФ – 14,6 % (2013 г. – 13,1 %), рак шейки матки – 7,1 %, РФ – 5,3 % (2013 г. – 6,3 %) и рак ободочной кишки – 6,4 %, РФ – 7,2 % (2013 г. – 6,3 %). В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями отмечены значительные различия цифровых показателей среди отдельных нозологических проявлений

болезни у мужского и женского населения ДФО. Так, удельный вес ЗНО органов дыхания у мужчин в 2,9 раза превышал таковой у женщин, а вовлечение в злокачественный процесс органов пищеварительного тракта у мужчин было больше в 1,1 раза (рис. 1, 2).

Критерии улучшения качества жизни и ее прогноз у онкологических больных определялись отношением показателей смертности и заболеваемости – индексом достоверности учета (ИДУ), что дало возможность оценить многие составляющие

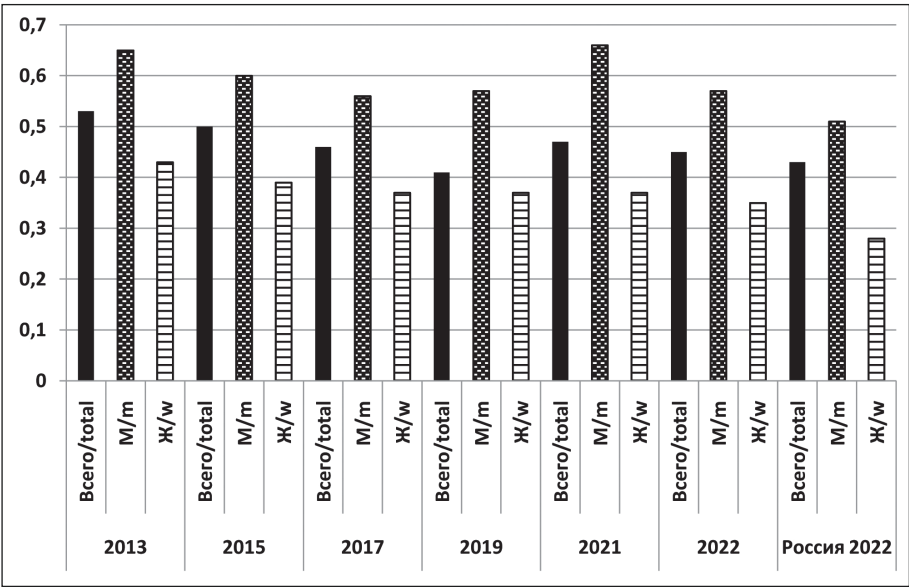


Рис. 3. Динамика ИДУ больных злокачественными новообразованиями (C00–96) в Дальневосточном федеральном округе. Примечание: диаграмма выполнена автором

Fig. 3. Dynamics of Metering reliability index of cancer patients (C00–96) in the Far Eastern Federal District. Note: created by the author

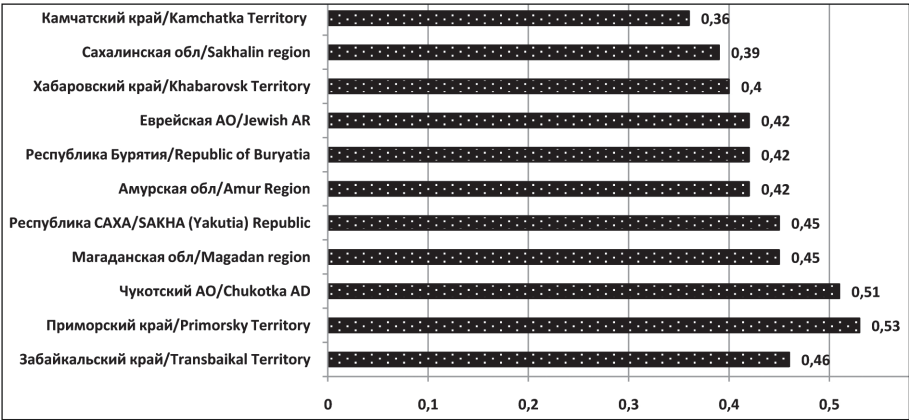


Рис. 4. Ранговое распределение ИДУ больных злокачественными новообразованиями (C00–96) в Дальневосточном федеральном округе в 2022 г. Примечание: диаграмма выполнена автором

Fig. 4. Rank distribution of Metering reliability index of cancer patients (C00–96) in the Far Eastern Federal District in 2022. Note: created by the author

большого количества различных мероприятий, начиная с первичного медицинского звена и заканчивая ведущими клиниками вместе с научно-исследовательскими учреждениями страны [14]. Постоянное стремление органов практического здравоохранения довести это соотношение до минимального значения (0) характеризует работу всех уровней оказания медицинской помощи онкологическим больным (рис. 3, 4). Наименьшие значения ИДУ в 2022 г. у больных со злокачественными новообразованиями регистрировались в Камчатском крае – 0,36 и Сахалинской области – 0,39 (ДФО – 0,45, РФ – 0,41).

В 2022 г. в Дальневосточном федеральном округе было зарегистрировано 202 ребенка (мальчики – 113, девочки – 89) в возрасте от 0 до 17 лет (стандартизованный показатель – 11,68 ‰) с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного новообразования. Число онкопатологии у детей в возрасте от 0 до 14 лет среди заболевших у мальчиков составило 92 (55,9 %), у девочек – 75 (44,9 %) случаев. Доля ЗНО среди заболевших детей в возрасте от 0 до 17 лет у мальчиков – 55,9 %, у девочек – 44,1 %. В структуре заболеваемости

многие годы лидируют гемобластозы (до 40 %), опухоли почек, нервной системы, мягких тканей, костей и суставных хрящей. В 2022 г. на территории ДФО от ЗНО умерло 50 детей (27 мальчиков и 23 девочки), в возрасте от 0 до 17 лет (стандартизованный показатель – 2,85 ‰), что поставило округ по этому виду статистической отчетности на предпоследнее место среди восьми регионов Российской Федерации.

Основные показатели онкологической патологии взрослого населения ДФО представлены в табл. 3. Активное выявление злокачественных новообразований и пациентов с фоновыми и предраковыми состояниями является одной из важнейших составляющих первичной профилактики среди населения всех территориальных образований Дальнего Востока. В 2022 г. средние значения статистического показателя активного выявления больных с ЗНО составили $22,39 \pm 1,8 \%$, РФ – $23,3 \pm 1,09 \%$ (2013 г. – $9,67 \pm 0,55 \%$, РФ – $12,89 \pm 0,78 \%$).

В рассматриваемый период доля лиц с I–II стадиями злокачественного процесса среди больных с впервые в жизни установленным диагнозом уве-

Таблица 3/Table3

Динамика состояния основных показателей онкологической помощи населению ДФО (С00–96)
Changes in the main parameters of cancer care in the Far Eastern Federal District (C00–96)

Годы/Years	Число заболевших/Cases	Заболелаемость на 100 000 населения/ Incidence per 100 000 people	Стадии заболевания, %/ Stage of tumors, %				Стадия не установлена/Stage unknown	Активно выявлены, %/ Active detected, %	Верификация диагноза, %/ Diagnosis verification, %	На учете в конце года на 100 000 населения/ Registered at the end of the year per 100 000	На учете 5 и более лет, %/ Registered more than 5 years, %	Индекс накопления контингентов/ Contingent accumulation index	Число умерших/ Death number	Смертность на 100 000 населения/ Mortality per 100 000 of people	Одногодичная летальность, %/ One-year mortality, %
			I–II стадии/Stages I–II	III стадия/Stage III	IV стадия/Stage IV										
2013	22104	243,13	47,5	21,1	24,7	6,8	14,0	84,2	1679,4	48,1	5,3	12057	129,80	27,1	
2014	23338	254,28	48,8	20,8	23,8	6,6	13,2	86,0	1797,4	50,8	5,4	11689	123,99	26,1	
2015	23951	257,66	51,1	19,2	23,5	6,2	19,8	86,3	1901,1	51,2	5,6	12264	128,64	24,9	
2016	24061	255,56	51,3	18,8	24,4	5,5	20,2	87,1	2000,8	52,3	5,9	12179	125,14	24,9	
2017	25155	263,34	53,6	18,6	23,0	4,8	29,0	88,1	2080,6	52,4	5,9	12073	121,91	24,5	
2018	33111	264,66	54,0	19,4	21,5	5,1	28,7	89,6	2166,8	53,0	6,2	16167	124,31	23,7	
2019	34152	269,15	55,7	18,2	21,4	4,7	28,4	91,0	2299,5	54,2	6,4	16513	124,75	23,5	
2020	29289	230,99	53,8	19,1	22,0	5,1	24,3	91,6	2360,1	55,0	7,7	16054	120,11	22,7	
2021	31399	245,71	55,1	18,3	21,4	5,2	23,1	92,7	2378,1	56,0	7,3	15377	114,49	22,9	
2022	31822	248,54	57,0	17,8	20,8	4,4	23,2	94,1	2420,3	57,2	7,3	14930	111,27	21,6	
M ± m	27838,21	253,30	52,79	19,13	22,65	5,44	22,39	89,07	2108,4	53,02	6,3	13930,8	122,44	24,19	
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
S	1445,42	3,63	0,96	0,34	0,44	0,26	1,8	1,02	82,29	0,85	0,27	642,06	1,84	0,52	
Δ, %	+43,96	+2,22	+20,00	- 15,54	15,79	-35,30	+65,71	+11,75	+44,13	+18,91	+37,73	+23,82	-14,28	-20,30	

Примечания: S – среднеквадратичное отклонение (сигма); Δ, % – прирост/убыль показателей; таблица составлена автором.

Notes: S – the standard deviation (sigma); Δ, % – rates of increase/decrease; created by the author.

личилась с 47,5 % (2013 г.) до 57,0 %. Данный рост произошел за счет уменьшения числа пациентов с третьей – 17,8 % (2013 г. – 21,1 %); РФ – 16,8 % и четвертой – 20,8 % (2013 г. – 24,7 %); РФ – 19,8 % стадиями болезни, а также за счет больных с неустановленной стадией опухолевого процесса – 4,4 % (2013 г. – 6,8 %); РФ – 4,1 %.

Число онкологических больных на 100 000 населения, находящихся на учете в специализированных клиниках ДФО, в конце 2022 г. составило 2420 человек относительно 1679 человек в 2013 г. Абсолютное количество пациентов за исследуемый период увеличилось в 1,9 раза (РФ – в 1,3). Это сыграло определенную роль в повышении цифровых значений индекса накопления контингентов (ИНК) – соотношения состоящих на учете на конец отчетного года к числу взятых на учет в отчетном году – до 7,3 (2013 г. – 5,3) с наиболее высокими значениями в Камчатском – 8,6 (2013 г. – 6,6) и Забайкальском – 8,5 (2013 г. – 7,1) краях. Низкие уровни ИНК регистрировались в республиках

Саха (Якутия) – 5,9 (2013 – 5,1) и Бурятия – 6,1 (2013 г. – 5,0).

Основная задача медицинской помощи онкологическим больным заключается в увеличении продолжительности их жизни при удовлетворительном ее качестве, что определяется показателями активного выявления ранних форм ЗНО лечебно-профилактическими учреждениями первичного звена здравоохранения. В 2022 г. удельный вес пациентов, состоящих на учете 5 и более лет, равнялся 57,2 % (2013 г. – 48,1 %); РФ – 58,2 %. В абсолютных цифрах количество больных этой категории отчетности за 10 лет увеличилось в 2,2 раза.

Морфологическое подтверждение клинического диагноза онкологическому больному лежит в основе тактики и стратегии выбора методов лечения, которые зависят от детальной характеристики образующих опухоль клеточных структур с учетом мутаций отдельных генов. В 2022 г. этому виду исследования подвергнуто 94,1 % (РФ – 95,8 %)

Таблица 4 / Table 4

Динамика смертности от ЗНО (стандартизированные показатели) на 100 тыс. населения в регионах ДФО (C00–96)
Changes in standardized cancer mortality rates per 100,000 population in the regions of the FFD (C00–96)

Годы/Years	Приморский край/ Primorsky Territory	Хабаровский край/ Khabarovsk Territory	Амурская область/ Amur Region	Камчатский край/ Kamchatka Territory	Магаданская область/ Magadan Region	Сахалинская область/ Sakhalin Region	Забайкальский край/ Zabaykalsky Territory	Чукотский АО/ Chukotka AD	Республика Бурятия/ Republic of Buryatia	Республика Саха (Якутия)/ Republic of Sakha (Yakutia)	Еврейская АО/ Jewish Autonomous Region	ДФО/FED
2013	132,14	126,76	129,57	133,88	156,18	144,29	126,77	149,81	131,72	113,04	148,24	129,8
2014	126,69	121,68	120,31	127,83	136,72	135,71	126,21	163,42	127,33	111,6	140,31	123,99
2015	133,07	126,62	132,33	124,07	146,12	142,56	133,19	112,11	123,79	110,54	132,23	128,64
2016	131,41	114,6	127,4	115,44	134,12	141,53	131,35	145,11	126,81	113,3	147,66	125,14
2017	128,23	115,0	124,03	111,12	136,64	137,52	128,94	120,53	128,21	109,74	126,16	121,91
2018	128,41	113,71	123,03	102,93	123,79	138,91	135,35	148,88	130,68	110,54	143,3	124,31
2019	133,08	117,51	136,14	109,85	122,94	143,58	119,49	115,38	125,65	107,05	133,24	124,75
2020	125,01	116,56	135,12	95,66	120,75	131,09	125,48	90,15	124,12	97,2	111,42	120,11
2021	119,45	115,33	129,98	95,3	121,42	126,88	115	100,94	112,74	91,21	109,78	114,49
2022	115,73	108,29	123,34	99,13	113,52	118,97	118,64	93,04	109,54	90,63	109,49	111,27
M ± m	127,32 ± 1,86	117,61 ± 1,84	128,13 ± 1,71	111,52 ± 4,33	131,22 ± 4,16	136,10 ± 2,60	126,04 ± 2,09	123,94 ± 8,27	124,06 ± 2,31	105,49 ± 2,83	130,18 ± 4,87	122,44 ± 1,84
p	0,084	0,168	0,112	0,084	0,301	0,006	0,190	0,783	0,408	0,001	0,190	1,00
95 % ДИ/CI	123,12 ÷ 131,52	113,44 ÷ 121,78	124,25 ÷ 132,00	101,74 ÷ 121,31	121,81 ÷ 140,63	130,23 ÷ 141,98	121,30 ÷ 130,78	105,24 ÷ 142,63	118,84 ÷ 129,28	99,09 ÷ 111,88	119,17 ÷ 141,19	118,28 ÷ 126,60

Примечания: S – среднееквадратичное отклонение (сигма); уровни статистической значимости различий (p) по уровню смертности от ЗНО в ДФО и его регионах определялись по критерию Манна–Уитни; таблица составлена автором.

Notes: S – the standard deviation (sigma); EFD – Far Eastern Federal District; levels of statistical significance of differences in cancer mortality rates (p) in the Far Eastern Federal District and its regions were determined by the Mann–Whitney test; created by the author.

обследованных. Количество верифицированных диагнозов почти в 1,6 раза превысило показатель 2013 г. Максимальная интенсивность морфологических исследований регистрировалась в Сахалинской области (98,1 %), Камчатском крае (97,8 %) и Республике Саха (97,0 %), а минимальная – в Хабаровском (91,5 %) и Приморском (91,1 %) краях.

В Российской Федерации злокачественные новообразования по причинам смертности в последний год исследуемого периода закрепились на втором месте (14,8 %) после заболеваний органов кровообращения (43,8 %). Третье место занимают внешние причины (7,7 %) [Росстат, 2022]. Стандартизированные показатели (мировой стандарт) смертности от ЗНО на территориях Дальневосточного федерального округа свидетельствуют о ее снижении в 2022 г. до 111,27 ‰, РФ – 97,28 ‰ (табл. 4), тогда как в абсолютных числах количество умерших с 2013 г. увеличилось на 2871 человека (1501 – мужчины, 1370 – женщины). Представленные материалы по абсолютному числу умерших от ЗНО в регионе за десять лет не выглядят обнадеживающими на фоне постоянно

снижающегося числа проживающих на территории, равной почти половине площади РФ, а миграционный прирост населения, не приспособленного к сложным климатическим условиям Дальнего Востока, возможно, только усугубит сложившуюся ситуацию [15–17]. В структуре общей смертности населения от злокачественных новообразований в Дальневосточном федеральном округе в 2022 г. наибольший удельный вес имели опухоли трахеи, бронхов и легкого – 20,0 % (РФ – 16,8 %), желудка – 8,9 % (РФ – 8,8 %), поджелудочной железы – 7,0 % (РФ – 7,2 %), ободочной кишки – 7,0 % (РФ – 8,4 %), молочной железы – 6,6 % (РФ – 7,4 %).

Показатели основных причин смертности мужского населения от ЗНО распределились следующим образом: почти треть умерла от рака трахеи, бронхов и легкого – 28,1 % (РФ – 25,1 %), опухоли желудка явились причиной смерти 10,1 % мужчин (РФ – 9,8 %), далее следовали новообразования предстательной – 7,2 % (РФ – 8,9 %) и поджелудочной желез – 6,3 % (РФ – 6,6 %), ободочной кишки – 5,5 % (РФ – 7,0 %) и прямой кишки – 4,5 % (РФ – 5,5 %). В структуре онкологической смертности женского

Таблица 5/Table 5

Летальность (%) на первом году с момента установления диагноза ЗНО в регионах России (C00–96)
Death rate (%) in the first year from cancer diagnosis in the Russian regions (C00–96)

Годы/Years	Центральный ФО/ Central FD	Северо-Западный ФО/ Northwest FD	Южный ФО/ Southern FD	Северо-Кавказский ФО/ North Caucasian FD	Крымский ФО/ Crimean FD	Приволжский ФО/ Volga FD	Уральский ФО/ Ural FD	Сибирский ФО/ Siberian FD	ДФО/EFD	РФ/RF
2013	24,0	25,4	23,1	26,1	–	26,5	24,3	27,6	27,1	25,3
2014	23,2	25,2	23,4	24,5	23,2	25,9	24,0	27,1	26,1	24,8
2015	22,3	23,1	22,0	23,2	21,6	25,2	23,3	25,1	24,9	23,6
2016	21,7	22,2	21,1	23,3	26,5	24,9	24,3	25,2	24,9	23,2
2017	20,8	22,7	20,2	22,5	24,1	24,0	23,6	24,1	24,5	22,5
2018	21,0	22,7	20,4	20,7	21,6	23,1	23,1	24,2	23,7	22,2
2019	19,7	21,3	20,3	21,1	22,2	22,7	23,4	24,1	23,5	21,7
2020	18,9	20,9	18,7	19,9	18,9	21,4	22,2	22,7	22,7	20,6
2021	17,8	21,1	28,9	19,6	20,5	21,4	22,1	22,6	22,9	20,3
2022	17,1	19,8	17,9	18,7	16,4	19,7	19,8	21,2	21,6	19,1
M ± m	20,6 ± 0,7	22,4 ± 0,6	21,6 ± 0,9	21,9 ± 0,7	21,7 ± 0,9	23,5 ± 0,7	23,0 ± 0,4	24,4 ± 0,6	24,2 ± 0,5	22,3 ± 0,6
S	2,27	1,81	3,10	2,36	2,93	2,21	1,36	1,98	1,65	1,98
Δ, %	–28,84	–22,15	–22,52	–28,36	–29,32	–25,77	–18,52	–23,19	–20,30	–24,51
p	0,006	0,062	0,084	0,045	–	0,558	0,168	0,836	1,0	0,073

Примечания: S – среднееквадратичное отклонение (сигма); Δ, % – прирост/убыль показателей; таблица составлена автором.

Notes: FD – Federal District; EFD – Far Eastern Federal District; S – the standard deviation (sigma); Δ, % – rates of increase/decrease; created by the author.

Таблица 6/Table 6

**Отношение показателей одногодичной летальности отчетного года и запущенности предыдущего
отчетного года в регионах ДФО (C00–96)**

**Ratio of one-year mortality rate of the reporting year to the advanced stage of the previous reporting year
in the regions of the EFD (C00–96)**

Годы/Years	Приморский край/ Primorsky Territory	Хабаровский край/ Khabarovsk Territory	Амурская область/ Amur Region	Камчатский край/ Kamchatka Territory	Магаданская об- ласть/ Magadan Region	Сахалинская об- ласть/ Sakhalin Region	Забайкальский край/ Zabavkalskv Territory	Чукотский АО/ Chukotka AD	Республика Бурятия/ Republic of Buryatia	Республика Саха (Якутия)/Republic of Sakha (Yakutia)	Еврейская АО/ Jewish Autonomous Region	ДФО/EFD	РФ/Russia
2013	1,03	1,13	0,86	0,84	1,08	1,04	1,06	0,69	0,86	0,94	0,75	1,04	1,19
2014	0,96	0,91	1,03	0,94	1,07	1,26	1,34	0,97	1,67	1,16	1,57	1,06	1,17
2015	0,99	0,98	1,07	1,11	1,08	0,92	1,15	1,01	0,74	1,37	1,07	1,05	1,14
2016	1,02	0,93	1,28	1,10	1,03	1,20	0,99	0,77	1,51	1,36	1,13	1,06	1,14
2017	0,91	0,92	1,25	0,97	1,11	1,02	1,00	0,95	1,62	1,02	1,25	1,00	1,10
2018	1,04	0,96	1,13	0,81	0,94	1,04	1,07	1,09	1,59	1,16	0,82	1,03	1,00
2019	0,92	1,08	1,08	0,98	1,18	1,02	0,94	0,85	1,45	1,20	1,15	1,00	0,98
2020	0,97	1,13	1,14	0,96	0,89	0,98	0,95	1,56	1,40	1,11	0,92	1,06	1,05
2021	1,05	0,96	1,02	0,91	0,80	0,93	1,14	1,42	1,30	1,08	0,88	1,04	0,97
2022	1,07	0,99	1,03	1,06	0,85	0,76	1,03	1,05	1,20	0,94	0,99	1,01	0,93
M ± m	1,0 ± 0,02	1,0 ± 0,03	1,09 ± 0,04	0,97 ± 0,03	1,0 ± 0,04	1,02 ± 0,04	1,07 ± 0,04	1,04 ± 0,09	1,39 ± 0,09	1,14 ± 0,05	1,05 ± 0,08	1,05 ± 0,01	1,07 ± 0,03
S	0,06	0,08	0,12	0,10	0,13	0,14	0,12	0,27	0,30	0,15	0,24	0,02	0,09
Δ, %	+3,88	+12,39	+19,76	+26,19	–21,30	–26,07	–2,84	+52,17	+39,57	+1,06	+32,00	–2,89	–21,85
p	0,129	0,168	0,168	0,136	0,809	0,334	0,836	0,448	0,038	0,112	1,0	1,0	0,605

Примечания: S – среднееквадратичное отклонение (сигма); Δ, % – прирост/убыль показателей; таблица составлена автором.

Notes: EFD – Far Eastern Federal District; S – the standard deviation (sigma); Δ, % – rates of increase/decrease; created by the author.

населения лидирующее положение занимал рак молочной железы – 14,3 % (РФ – 15,8 %). Далее в порядке убывания следовали опухоли трахеи, бронхов и легкого – 10,1 % (РФ – 7,3 %), ободочной кишки – 8,8 % (РФ – 10,1 %), поджелудочной железы – 7,8 % (РФ – 8,0 %) и желудка – 7,4 % (РФ – 7,7). Смертность от злокачественных новообразований женской репродуктивной системы (шейка матки – 6,3 % (РФ – 4,7 %), тело матки – 4,6 % (РФ – 5,3 %), яичники – 4,9 % (РФ – 5,6 %)) составила 15,8 % (РФ – 15,6 %) от общего числа умерших, в то время как от опухолей других женских половых органов – 1,3 % (РФ – 0,6 %). Анализируя показатели летальности на первом году с момента установления диагноза за последние 10 лет, необходимо отметить их постоянное снижение во всех округах Российской Федерации. В ДФО в 2022 г. количество умерших в течение первого года с момента постановки диагноза находилось в пределах самых высоких значений ($24,2 \pm 0,5$ %; РФ – $22,3 \pm 0,6$ %) среди всех регионов страны (табл. 5).

Неблагополучная ситуация в ДФО зарегистрирована и при оценке отношения показателей одногодичной летальности отчетного года и запущенности (IV ст.) предыдущего отчетного года, на протяжении 10 лет эти значения ни в одном календарном году не опускались ниже единицы – 1,01 (2021 г. – 1,04; 2020 г. – 1,06), в РФ – 0,93 (2021 г. – 0,97; 2020 г. – 1,05). Максимальные соотношения в 2022 г. наблюдались в Республике Бурятия – 1,20 (2021 г. – 1,30; 2020 г. – 1,40) и Приморском крае – 1,07 (2021 г. – 1,05; 2020 г. – 0,97) (табл. 6). Следует отметить, что территории с соотношением, равным 0,80 и выше, следует относить к регионам особого внимания.

Обсуждение

Ежегодный неуклонный рост абсолютного числа больных с впервые в жизни установленным диагнозом ЗНО обусловлен крайне низким уровнем управляемости заболеваемостью, прежде всего из-за невозможности в подавляющем большинстве случаев связать ее с конкретной причиной, а, следовательно, и устранить. Медико-социальная составляющая онкологической ситуации в Дальневосточном федеральном округе характеризуется рядом факторов, неблагоприятно влияющих на результаты медицинского обслуживания населения [18]. Во-первых, это значительная площадь территории (6 952 555 км²) и низкая плотность ее заселения (1,17 человека на 1 км²); во-вторых, удаленность от ведущих онкологических центров более одной трети (35,3 %) жителей, преимущественно сельской местности, что снижает доступность медицинской помощи и оказывает отрицательное влияние на ее качество; в-третьих, недостаточная обеспеченность первичного звена практического здравоохранения специалистами, подготовленными по онкологии.

В восточных регионах России заболеваемость ЗНО в исследуемом периоде характеризовалась постоянными изменениями в числе заболевших, причем, согласно стандартизованным показателям, у мужчин она снижалась, а у женщин повышалась, что не противоречило общей ситуации в РФ (рис. 5). С 2013 г. количество заболевших ЗНО увеличилось на 43,9 % (РФ – 16,6 %), что можно объяснить постоянной модернизацией диагностического и лечебного процесса за счет внедрения современных технологий, а также постарением населения и, возможно, прогрессирующим усилением влияния факторов внешней среды на организм здорового человека.

В период 2020–2022 гг. на территории ДФО, как и во всей стране, изменились условия для работы службы профилактики и диспансеризации онкологических больных в связи с широким распространением коронавирусной инфекции (COVID-19), что привело к снижению показателей онкологической заболеваемости (в 2018 г. – $264,66 \text{ ‰}$, в 2022 г. – $248,54 \text{ ‰}$) и смертности (в 2018 г. – $80,58 \text{ ‰}$, в 2022 г. – $73,78 \text{ ‰}$). Подобная динамика снижения этих значений в это время наблюдалась и с основными показателями, характеризующими качество медицинской помощи больным ЗНО (табл. 3). При анализе стандартизованных показателей заболеваемости на 100 000 населения в отдельных территориях ДФО получено следующее распределение: Чукотский АО – 182,77, Республика Саха (Якутия) – 200,59, Забайкальский край – 247,24, Приморский край – 248,54, Магаданская область – 251,87, Республика Бурятия – 259,56, Еврейская АО – 261,22, Хабаровский – 269,24 и Камчатский – 272,44 края, Амурская – 290,63 и Сахалинская – 302,88 области.

В 2022 г. зарегистрирован рост показателей заболеваемости населения восточных регионов РФ и по отдельным нозологиям: рак предстательной железы – $35,27 \text{ ‰}$ (2013 г. – $26,0 \text{ ‰}$), шейки матки – $21,56 \text{ ‰}$ (2013 г. – $16,6 \text{ ‰}$), мочевого пузыря – $6,37 \text{ ‰}$ (2013 г. – $6,2 \text{ ‰}$), щитовидной железы – $5,51 \text{ ‰}$ (2013 г. – $4,8 \text{ ‰}$), меланома кожи – $3,97 \text{ ‰}$ (2013 г. – $3,6 \text{ ‰}$). В это же время начиная с последних десятилетий XX века происходило последовательное снижение показателей заболеваемости у таких, прежде «грозных» по уровню смертности локализаций, как рак трахеи, бронхов, легкого – $27,76 \text{ ‰}$ (2013 г. – $28,9 \text{ ‰}$) и рак желудка – $13,68 \text{ ‰}$ (2013 г. – $16,5 \text{ ‰}$). Из года в год ведущими остаются одни и те же ЗНО: рак кожи – 11,6 % (2013 г. – 11,3 %), рак трахеи, бронхов и легкого – 11,5 % (2013 г. – 12,7), рак молочной железы – 11,3 % (2013 г. – 11,4 %), рак ободочной кишки – 6,3 % (2013 г. – 5,7 %). На рубеже второго и третьего десятилетий XXI века «обороты» набирают опухоли толстой кишки с лидирующим поражением ободочной кишки. Подобная ситуация наблюдалась при сопоставлении

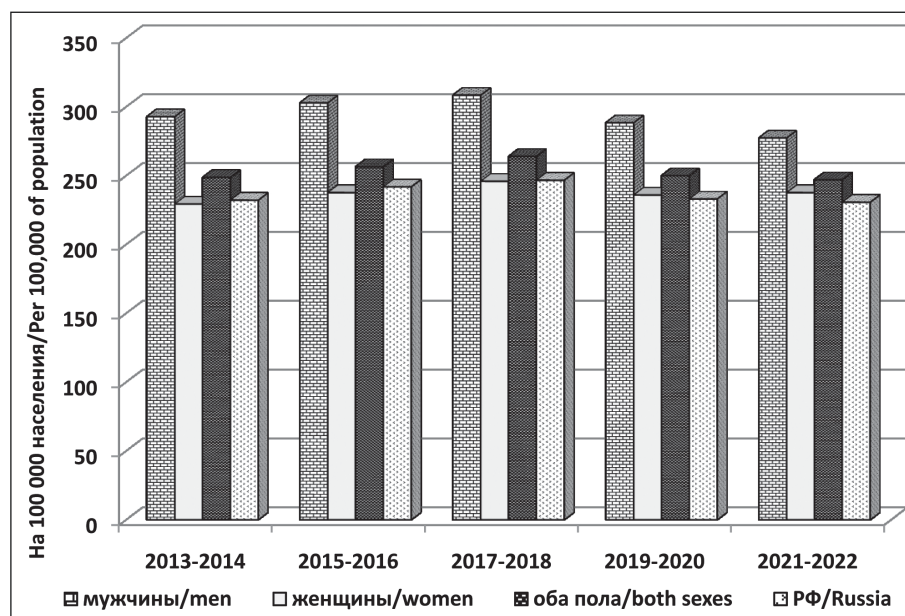


Рис. 5. Заболеваемость населения Дальневосточного федерального округа злокачественными новообразованиями (C00–96). Стандартизованный показатель. Примечание: диаграмма выполнена автором
Fig. 5. Standardized cancer incidence in the population of the Far Eastern Federal District (C00–96). Note: created by the author

показателей заболеваемости как у мужского, так и у женского населения ДФО. Необходимо отметить и возраст заболевающих злокачественными новообразованиями, который становится все более «молодым», что может значительно ухудшить репродуктивное здоровье дальневосточников, повысить их инвалидизацию и снизить их производственные возможности [19].

Увеличение народонаселения и старение проживающих в мире людей могут стать причиной дальнейшего роста онкологической заболеваемости и смертности (согласно прогнозу ВОЗ, к 2022 г. свыше 15 млн и до 10 млн человек соответственно). Подобная статистика требует от здравоохранения РФ принятия мер по раннему и своевременному выявлению злокачественных новообразований, что в последующем обеспечит адекватное щадящее, органосохраняющее лечение, высокое качество и продолжительность жизни онкологическому больному. В России в последние годы наблюдается повышенное внимание руководства практическим здравоохранением к «несколько забытым» методам первичной профилактики, дающим возможность не только выявлять ЗНО на ранних стадиях, но и проводить диспансерное наблюдение за больными с фоновыми и предраковыми состояниями, то есть в большем объеме формировать группы онкологического риска [20].

Низкий уровень активно выявляемых больных – 23,2 %, РФ – 24,5 % (2013 г. – 14,0 %) – не позволил значительно увеличить долю ЗНО I–II стадий, что, в свою очередь, существенно не снизило количество запущенных случаев – 20,8 %, РФ – 19,8 % (2013 г. – 24,7 %), когда каждый пятый онкологический больной не подлежал радикальному лечению, что являлось одной из основных причин смертности на первом году с момента постановки диагноза – 21,6 %, РФ – 19,1 % (2013 г. – 27,1 %). К этому сле-

дует добавить и ЗНО III стадии, характеризующие запущенность опухолевого процесса для визуальных локализаций новообразований. На протяжении всего рассмотренного периода высокой остается летальность в течение первого года у больных раком трахеи, бронхов и легкого, желудка, пищевода, ободочной кишки. Значительна она и при злокачественных опухолях с относительно благоприятным прогнозом (ЗНО молочной железы, шейки матки, прямой кишки и др.), что свидетельствует о поздней диагностике. В 2022 г. наименьшие показатели однодневной летальности отмечены в Забайкальском крае (18,1 %) и Сахалинской области (19,2 %), наибольшие – в Амурской области (28,4 %) и Чукотском АО (27,1 %).

Средние значения статистического показателя смертности от ЗНО составили $122,44 \pm 1,84 \text{ ‰}_{0000}$ (2020 г. – $126,04 \pm 1,45 \text{ ‰}_{0000}$). У мужчин этот показатель – $174,99 \pm 3,10 \text{ ‰}_{0000}$ (2020 г. – $181,76 \pm 2,51 \text{ ‰}_{0000}$) – существенно превышал таковой у женщин – $91,34 \pm 1,20 \text{ ‰}_{0000}$ (2020 г. – $93,71 \pm 0,80 \text{ ‰}_{0000}$) – на протяжении всего периода исследования (рис. 6). Максимальные цифры суммарной онкологической смертности (стандартизованные показатели на 100 000 населения) позволили распределить места между отдельными территориями ДФО в следующем порядке: Республика Саха (90,83), Чукотский АО (93,04), Камчатский (99,13), Хабаровский (108,29) края, Еврейская АО (109,49), Республика Бурятия (112,74), Магаданская область (113,52), Приморский край (115,73), Забайкальский край (118,64), Сахалинская (118,97) и Амурская (123,24) области.

Постоянные усилия медицинских учреждений общего профиля по улучшению качества онкологической помощи населению Дальнего Востока дали возможность с 2013 г. увеличить в 1,4 раза количество больных, состоящих на

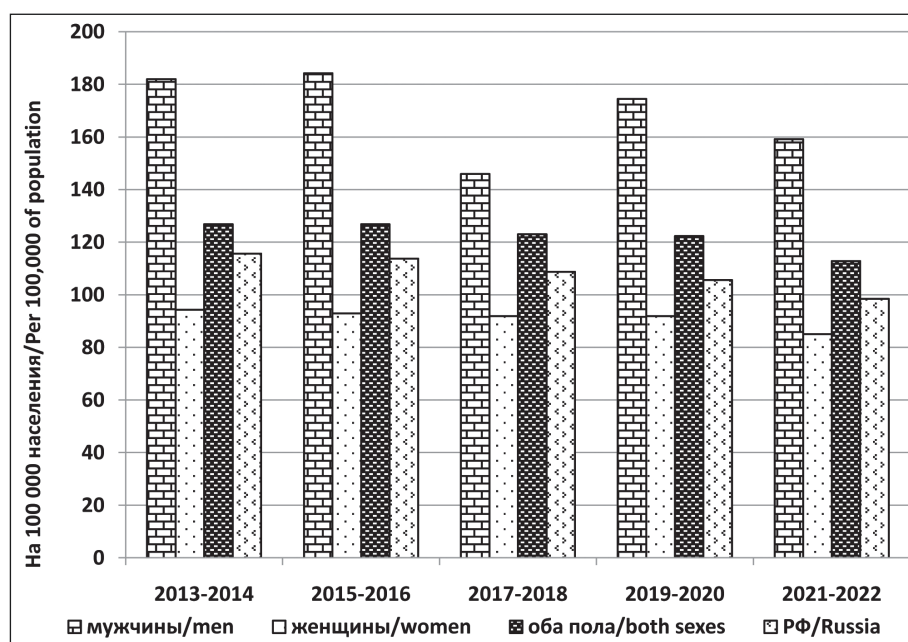


Рис. 6. Смертность населения Дальневосточного федерального округа от злокачественных новообразований (C00–96). Стандартизованный показатель. Примечание: диаграмма выполнена автором Fig. 6. Standardized cancer mortality rates in the population of the Far Eastern Federal District (C00–96). Note: created by the author

учете в конце каждого года, на что указывали цифровые значения индекса накопления контингентов – 7,3 (2013 г. – 5,3). Морфологическое подтверждение диагноза – 94,1 % (2013 г. – 84,2 %) – представлено показателями, не превышающими среднероссийские – 95,8 % (2013 г. – 87,7 %). Удельный вес больных, состоящих на учете 5 и более лет, – 57,2 %, (2013 г. – 48,1 %) оказался меньше среднего показателя по стране – 58,2 % (2013 г. – 51,7 %). Обозначенное качество деятельности онкологической службы по индексу достоверности учета показало, что ни в одной из территорий округа ИДУ не опускался ниже 0,36 (2013 г. – 0,45).

Сравнение планируемых противораковых мероприятий с оценкой фактически полученных результатов определялось одним из объективных показателей деятельности онкологической службы региона – отношением одногодичной летальности отчетного года к числу запущенных случаев ЗНО в предыдущем отчетном году. Данный показатель позволяет выявлять ошибки в учете онкологических больных, прежде всего, при первичном их обращении за медицинской помощью. При общепринятом стандарте (1,0) среднестатистический показатель в ДФО составил $1,05 \pm 0,01$ (РФ – $1,07 \pm 0,03$), что вызывает серьезную обеспокоенность за неблагоприятно развивающуюся ситуацию, которая не дает возможности исключить данную патологию из важнейших территориальных проблем.

Заключение

Деятельность онкологической службы Дальневосточного федерального округа по основным критериям статистической отчетности имеет позитивные тенденции в преобладающем числе

параметров, что проявляется в большинстве административных территорий ДФО снижением стандартизованных показателей заболеваемости у мужского населения и снижающейся смертностью у лиц обоего пола, положительной динамикой уровней общей и годичной летальности, увеличением количества больных, находящихся на учете 5 и более лет. Однако имеется неоднозначность средних значений статистического показателя заболеваемости, который у мужского населения ДФО в 2022 г. составил $294,06 \pm 5,05$ ‰ (в 2020 г. – $296,94 \pm 4,66$ ‰), при темпах прироста абсолютного числа заболевших – 40,3 % (+33,9 % в 2020 г.). У женской части населения ДФО также наблюдалось повышение средних значений – $240,96 \pm 5,73$ ‰ (в 2020 г. – $237,92 \pm 6,26$ ‰). Темпы прироста абсолютного числа больных были аналогичны показателям у мужчин – 47,1 % (+31,3 % в 2020 г.). Средние уровни статистического показателя заболеваемости ЗНО у лиц обоего пола в исследуемом периоде составили $253,31 \pm 3,63$ ‰ (минимально-максимальные колебания цифровых значений у мужчин – 282,63–305,49, у женщин – 227,98 – 253,93).

Средние значения статистического показателя смертности от ЗНО у мужчин в 2022 г. составили $174,99 \pm 3,10$ ‰ (в 2020 г. – $181,76 \pm 2,51$ ‰), что значительно выше аналогичного показателя в женской популяции – $91,34 \pm 1,20$ ‰ (в 2020 г. – $93,71 \pm 0,80$ ‰). Средние значения показателей смертности от ЗНО у лиц обоего пола составили $122,44 \pm 1,84$ ‰ (минимально-максимальный разброс 118,28 – 126,60).

Положительная динамика повышающихся уровней активного выявления злокачественных новообразований – 23,2 % (2013 г. – 14,0 %) в ре-

гионах ДФО все еще не соответствует требованиям современной медицины, результаты деятельности которой определяются основополагающими разделами противораковых мероприятий. Это относится, в первую очередь, к профилактическим осмотрам населения, которые должны не только выявлять онкологическую патологию, но и в обязательном порядке формировать группы «онкологического риска» для диспансерного наблюдения за больными с фоновыми и предраковыми заболеваниями, что даст возможность обнаруживать злокачественные новообразования на ранних этапах и позволит

существенно улучшить прогноз и качество жизни онкологических пациентов.

Прогресс в укреплении материально-технической базы первичного звена здравоохранения на огромных территориях Дальнего Востока в последние годы должен сопровождаться параллельным обеспечением лечебно-профилактических учреждений любых уровней профессиональными кадрами (врачами-онкологами), что является одной из важнейших задач, стоящих перед региональными ветвями власти.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2023. 275 с. [*Malignant tumors in Russia in 2022 (morbidity and mortality)*]. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2023. 275 p. (in Russian)].
2. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2015. 250 с. [*Malignant tumors in Russia in 2013 (morbidity and mortality)*]. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. Moscow, 2015. 250 p. (in Russian)].
3. Состояние онкологической помощи населению России в 2013 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2014. 235 с. [*Cancer care for the population of Russia in 2013*]. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2014. 235 p. (in Russian)].
4. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2023. 252 с. [*Cancer care for the population of Russia in 2022*]. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2023. 252 p. (in Russian)].
5. Агаджанян Н.А., Уйба В.В., Куликова М.П., Кочеткова А.В. Актуальные проблемы адаптационной, экологической и восстановительной медицины. М., 2006. 208 с. [*Agajanian N.A., Uyba V.V., Kulikova M.P., Kochetkova A.V. Actual problems of adaptation, ecological and restorative medicine*]. Moscow, 2006. 208 p. (in Russian)].
6. Higginson J., Muir C.S., Munoz N. Human Cancer: Epidemiology and Environmental Causes. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. 577 p.
7. Мерабишвили В.М. Индекс достоверности учета – важнейший критерий объективной оценки деятельности онкологической службы для всех локализаций злокачественных новообразований, независимо от уровня летальности больных. Вопросы онкологии. 2019; 65(4): 510–5. [*Merabishvili V.M. The Index accuracy – the most important criterion of an objective assessment of activity of oncological service for all localizations of malignant tumors, irrespective of level of lethality of patients*]. Problems in Oncology. 2019; 65(4): 510–5. (in Russian)].
8. Российский статистический ежегодник. 2023. Росстат. М., 2023. 701 с. [*Russian Statistical Yearbook. 2023*]. Rosstat. M., 2023. 701 p. (in Russian)].
9. Гордиенко В.П., Вахненко А.А., Янушевский К.В. Основные показатели заболеваемости и смертности населения от злокачественных новообразований в Дальневосточном федеральном округе. Социальные аспекты здоровья населения. 2018; 64(6). [*Gordienko V.P., Vakhnenko A.A., Yanushevsky K.V. Main indicators of morbidity and mortality of the population from malignant neoplasms in the Far Eastern Federal District. Social Aspects of Public Health*]. 2018; 64(6). (in Russian)]. doi: 10.21045/2071-5021-2018-64-6-5.
10. Петрова Г.В., Грецова О.П., Каприн А.Д., Старинский В.В. Характеристика и методы расчета медико-статистических показателей, применяемых в онкологии. Практические рекомендации. М., 2014. 40 с. [*Petrova G.V., Gretsova O.P., Kaprin A.D., Starinsky V.V. Characteristics and methods of calculation of medical and statistical indicators used in oncology. Practical recommendations*]. Moscow, 2014. 40 p. (in Russian)].
11. Кулаков Ю.В., Каминский Н.В. Метеогеофизический стресс и пути его преодоления. Владивосток, 2003. 199 с. [*Kulakov Yu.V., Kaminsky N.V. Meteorogeophysical stress and ways of overcoming it*]. Vladivostok, 2003. 199 p. (in Russian)].
12. Soung N.K., Kim B.Y. Psychological stress and cancer. J Anal Sci Technol. 2015; 30: 1–6. doi: 10.1186/s40543-015-0070-5.
13. Абдуразакова Х.Н., Магомедов М.Г., Омарова С.О., Гасанова З.М. Влияние стрессогенных факторов риска на распространенность злокачественных новообразований (обзор литературы). Лечащий врач. 2022; 10(25): 44–7. [*Abdurazakova Kh.N., Magomedov M.G., Omarova S.O., Gasanova Z.M. The role of socioeconomic and stressful risk factors in the prevalence of malignancies (literature review)*]. Lechaschi Vrach. 2022; 10(25): 44–7. (in Russian)]. doi: 10.51793/OS.2022.25.10.007.
14. Мерабишвили В.М. Аналитические показатели. Индекс достоверности учета. Вопросы онкологии. 2018; 64(3): 445–52. [*Merabishvili V.M. analytical indicators. The index of reliability of accounting*]. Problems in Oncology. 2018; 64(3): 445–52. (in Russian)]. doi: 10.37469/0507-3758-2018-64-3-445-452.
15. Чердынцева Н.В., Писарева Л.Ф., Панферова Е.В., Иванова А.А., Малиновская Е.А., Одинцова И.Н., Дорошенко А.В., Гервас П.А., Слонимская Е.М., Шивит-оол А.А., Дворниченко В.В., Чойнзонов Е.Л. Этнические аспекты наследственного рака молочной железы в регионе Сибири. Актуальные вопросы онкологии. Вестник РАМН. 2014; (11–12): 72–9. [*Cherdyntseva N.V., Pisareva L.F., Panferova E.V., Ivanova A.A., Malinovskaya E.A., Odintsova I.N., Doroshenko A.V., Gervas P.A., Slonimskaya E.M., Shivit-ool A.A., Dvornichenko V.V., Choinzonov E.L. Ethnic Aspects of Hereditary Breast Cancer in the Region of Siberia. Actual questions of oncology. Vestnik RAMS*]. 2014; (11–12): 72–9. (in Russian)].
16. Arnold M., Razum O., Coebergh J.W. Cancer risk diversity in non-western migrants to Europe: An overview of the literature. Eur J Cancer. 2010; 46(14): 2647–59. doi: 10.1016/j.ejca.2010.07.050.
17. Vanthomme K., Roskamp M., De Schutter H., Vandenheede H. Lung cancer incidence differences in migrant men in Belgium, 2004–2013: histology-specific analyses. BMC Cancer. 2021; 21(1). doi: 10.1186/s12885-021-08038-6.
18. Авдеев Ю.А. Дальний Восток: как остановить отток населения и сделать его привлекательным? (полемические размышления). Уровень жизни населения регионов России. 2021; 17(3): 299–313. [*Avdeev Yu.A. The Far East: How to Stop Population Outflow and Make it Attractive? (polemical reflections)*]. Level of Life of the Population of the Regions of Russia. 2021; 17(3): 299–313. (in Russian)]. doi: 10.1918/11spr. 2021.17.3.1.
19. Жуикова Л.Д., Чойнзонов Е.Л., Ананина О.А., Пикалова Л.В., Кононова Г.А. Распространенность онкологических заболеваний среди населения региона Сибири и Дальнего Востока. Здравоохранение Российской Федерации. 2023; 67(1): 64–71. [*Zhuikova L.D., Choinzonov E.L., Ananina O.A., Pikalova L.V., Kononova G.A. The prevalence of oncological diseases among the population of the Siberia region and the Far East. Health Care of the Russian Federation*]. 2023; 67(1): 64–71. (in Russian)]. doi: 10.47470/0044-197X-2023-67-1-64-71.
20. Балашов П.Ю., Старинский В.В., Александрова Л.М. Кадровые ресурсы онкологической службы России. Европейский онкологический журнал. 2014; 3(03). [*Balashov P.Yu., Starinsky V.V., Alexandrova L.M. Human resources of the oncological service of Russia*]. European Oncology Journal. 2014; 3 (03). (in Russian)].

Поступила/Received 16.02.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 05.08.2024

Принята к публикации/Accepted 15.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Гордиенко Виктор Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой лучевой диагностики, лучевой терапии с курсом онкологии, ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» (г. Благовещенск, Россия). ORCID: 0000-0001-9289-8513.

ВКЛАД АВТОРА

Гордиенко Виктор Петрович: разработка концепции научной работы, сбор и обработка данных, написание статьи. Автор одобрил финальную версию статьи перед публикацией, выразил согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHOR

Viktor P. Gordienko, MD, Professor, Head of the Department of Radiation Diagnostics, Radiation Therapy with an Oncology Course, Amur State Medical Academy (Blagoveshchensk, Russia). ORCID: 0000-0001-9289-8513.

AUTHOR CONTRIBUTION

Viktor P. Gordienko: study conception, data collection and analysis, writing of the manuscript. The author approved the final manuscript before publication and agreed to be responsible for all aspects of the work, ensuring that issues related to the accuracy or integrity of any part of the work are properly investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The author declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Palizgir A., Khodakarim N., Mohammadi S., Rezaei F., Hosseininejad M. Влияние диагноза рак на статус занятости трудоспособного населения. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 19–31. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-19-31

For citation: Palizgir A., Khodakarim N., Mohammadi S., Rezaei F., Hosseininejad M. The impact of cancer diagnosis on employment status in a working population. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 19–31. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-19-31

THE IMPACT OF CANCER DIAGNOSIS ON EMPLOYMENT STATUS IN A WORKING POPULATION

A. Palizgir, N. Khodakarim, S. Mohammadi, F. Rezaei, M. Hosseininejad

Iran University of Medical Sciences
Tehran, Iran

Abstract

The aim of this study was to investigate the status of return to work and the influencing factors in patients with common cancers referring to three medical centers during the years 2020 to 2022. **Material and Methods.** In the present study (a retrospective cohort), all patients who visited three medical centers during the years 2020–2022 and were diagnosed with common cancers (non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's lymphoma, gastrointestinal cancers and sarcoma), were included in the study. Work ability index (WAI) was assessed based on selected questions from the WAI questionnaire. Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) was used to assess depression and anxiety, and Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20) was used to assess the level of fatigue. Then, the data obtained from individuals who returned to work were compared with those who did not return. **Results.** Out of 750 eligible patients, 135 individuals were enrolled in the study. 114 patients were male (84.4 %). The mean age of individuals was 50.2 ± 10.4 years. The most of individuals were diagnosed with gastric cancer ($n=66$, 48.9 %). After treatment, 36 (26.7 %) individuals returned to work, with the majority (24 individuals: 66.6 %) reporting a decrease in physical ability to do work. Sixty-six (73.3 %) patients did not return to work, with the most common reason being physical inability to work in 60 (66.6 %) individuals. Higher quality of life score was reported in individuals who returned to work. **Conclusion.** The rate of return to work was approximately 27 %. The return to work rate was highest among individuals with non-Hodgkin's lymphoma and lowest among individuals with oesophageal cancer and Hodgkin's lymphoma. The most influential factors affecting the return to work include disease recurrence and quality of life.

Key words: cancer, quality of life, return to work.

ВЛИЯНИЕ ДИАГНОЗА РАК НА СТАТУС ЗАНЯТОСТИ ТРУДОСПОСОБНОГО НАСЕЛЕНИЯ

A. Palizgir, N. Khodakarim, S. Mohammadi, F. Rezaei, M. Hosseininejad

Иранский университет медицинских наук
Иран, г. Тегеран

Аннотация

Цель исследования – изучение статуса возвращения к работе и влияющих на это факторов у пациентов с распространенными видами рака, обратившихся в три медицинских центра в период с 2020 по 2022 г. **Материал и методы.** Ретроспективное исследование включало пациентов, которые обращались в 3 медицинских центра в 2020–2022 гг. и у которых диагностированы различные виды злокачественных опухолей (неходжкинская лимфома, лимфома Ходжкина, рак органов желудочно-кишечного тракта и саркома). Оценка трудоспособности проводилась с помощью анкеты WAI (Work Ability Index). Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS) использовалась для оценки уровня тревоги и депрессии, а субъективная шкала оценки астении (MFI-20) – для оценки уровня усталости. Затем ответы, полученные от лиц, вернувшихся к трудовой деятельности, сравнивались с данными

тех, кто не вернулся на работу. **Результаты.** Из 750 пациентов, соответствующих критериям для включения в исследование, было выбрано 135 человек. Из них 114 (84,4 %) пациентов мужского пола. Средний возраст составил $50,2 \pm 10,4$ года. У большинства диагностирован рак желудка ($n=66$; 48,9 %). После завершения лечения 36 (26,7 %) пациентов вернулись к трудовой деятельности, причем большинство ($n=24$; 66,6 %) сообщили о снижении физической способности выполнять привычную работу. Не вернулись к работе 66 (73,3 %) пациентов, наиболее частой причиной была физическая нетрудоспособность – у 60 (66,6 %) человек. У людей, вернувшихся к трудовой деятельности, отмечен более высокий показатель качества жизни. **Заключение.** Показатель возвращения к работе составил около 27 %. Он был самым высоким у пациентов с неходжкинской лимфомой и самым низким – у больных раком пищевода и лимфомой Ходжкина. Наиболее значимыми факторами, влияющими на трудовую реабилитацию, являются рецидив заболевания и качество жизни.

Ключевые слова: рак, качество жизни, трудовая реабилитация.

Introduction

Occupational illness and injuries can create employment difficulties for individuals to the extent that they may not be able to return to their previous jobs. The span of this problem partly relates to the extent of the damage, the type of disease, and the individual's occupation [1, 2]. With the development of societies, new technologies, and equipment in medical science, conditions can be created where individuals can return to work after a period of treatment [3, 4].

Cancer is one of the primary diseases that disrupt the normal lives of individuals, forcing many patients to temporarily leave their jobs during treatment [3, 5]. In severe cases, they may be forced to permanently quit their jobs [6]. Individuals who are unable to return to their workplace impose a burden on their families and society. Losing a job due to illness, regardless of the financial costs, also carries negative psychological consequences for patients, reducing not only their hope for life and motivation but also causing anxiety in their families [7, 8].

In recent years, the number of cancer survivors has increased due to advances in diagnosis and treatment. Returning to society after treatment is a crucial goal for cancer patients following initial therapies, which can help more patients return to work and resume their normal lives [9]. Returning to work after cancer treatment is a complex phenomenon influenced by factors beyond the disease itself [6, 10]. Cancer survivors who were employed at the time of diagnosis may face economic pressure if they lose their jobs, especially if alternative sources of income are not available or if they lose access to job-related health insurance.

Some studies indicate that 26–53 % of cancer survivors lose or leave their jobs during or after treatment [9]. The physical and mental burden of cancer and its treatment, along with side effects such as fatigue, pain and anxiety, can lead to disruptions in patients' ability to work. These patients need help to overcome personal (physical and psychological) and occupational issues to return to work [3]. Employment rates among cancer survivors reported in various studies range from 41 % to 84 % [1]. The results obtained in different studies are not consistent due to the diversity of cancer types. In recent years, several factors related to return to work

after cancer treatment have been identified and more evidence has emerged regarding the importance of demographic, occupational and disease-related factors. In our country, few studies have been conducted on the rate of return to work of cancer patients and the factors affecting it. Therefore, in this study, we examined the return-to-work status of patients with common cancers and the factors related to their employment after completing the treatment period.

The aim of this study was to investigate the status of return to work and the influencing factors in patients with common cancers referring to three medical centers during the years 2020 to 2022.

Material and Methods

This observational study was conducted as a retrospective cohort. In this study, 750 individuals who were admitted for the first time with a cancer diagnosis in three medical centres of Iran University of Medical Sciences during the years 2020–2022 and were among common cancers (non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's lymphoma, gastrointestinal cancers such as oesophageal, gastric, colon, and various sarcomas), were examined. 540 individuals (337 deceased, 79 non-responders to telephone calls, 64 homemakers, 31 unemployed, 16 wrong phone numbers, 10 with less than six months since diagnosis, and 3 without a phone number) were excluded from the study. 210 individuals met the criteria, of which 135 individuals completed the questionnaire (response rate 64.2 %).

The mean age of the participants at the time of diagnosis and treatment completion was 50.2 ± 10.4 and 53.0 ± 10.8 years, respectively. There were 114 (84.4 %) male patients and 21 (15.7 %) female patients. The majority of individuals (82.2 %) were married. Most individuals were diagnosed with gastric cancer (66 individuals: 48.9 %).

The files of these individuals were reviewed for the required variables, including personal factors such as age, gender, marital status, education level, smoking status, and disease-related factors such as date of diagnosis, cancer type, treatment type (surgery, chemotherapy, radiotherapy), cancer stage, treatment duration, time since completion of treatment, disease recurrence, and pre-existing comorbidities that could

affect return to work (including neurological, cardiovascular, respiratory, gastrointestinal, renal, hepatobiliary, endocrine, musculoskeletal, genitourinary, hematologic, dermatologic, and psychiatric disorders). Results were recorded.

Additionally, a checklist containing variables related to work absence days or unemployment, the first day of full-time work, job title at the time of hospitalization and after returning to work, monthly income in the previous and current jobs, spouse's employment status, insurance support, employer support, co-worker support, job satisfaction, employment status, working hours in the previous and current jobs, obstacles to returning to work (including disease and treatment-related symptoms such as fatigue, weight loss, anxiety and stress, cognitive problems, pain, physical appearance changes, or job termination), number of family members, treatment side effects (leukopenia, nausea and vomiting, anemia, tingling, numbness in hands and feet, etc.), medications (anxiolytics, antidepressants), receipt of rehabilitation and psychiatric counselling, availability of sick leave in the current job, was prepared. Then, these items were asked from the patients via telephone contact using the phone number recorded in the medical records.

The work ability index (WAI) was assessed based on selected questions from the WAI questionnaire, which has been shown in previous studies to be a suitable substitute for this questionnaire, including current work ability (0 to 10) and work ability regarding the physical and mental demands of the job (2 to 10) [11]. The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) was used to assess the depression and anxiety [12]. HADS contains 14 items, 7 items are related to anxiety subscale and 7 items are related to depression. A higher score indicates more severe emotional distress. In this study, a score of 8 or higher in each subscale indicates the presence of anxiety or depression [13]. The Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20) questionnaire was used to assess the level of fatigue. The MFI questionnaire includes 20 items and 5 subscales of general, physical and mental fatigue, decreased activity and decreased motivation. The total score for each domain ranges from 4 to 20, and the total fatigue score, which is determined by summing the scores of the domains, can range from 20 to 100. A higher score indicates more severe fatigue [14]. Quality of life was assessed on a scale of 1 to 100 (1 being the lowest and 100 being the highest quality of life) [15].

Then, all demographic, occupational, and disease related variables mentioned above were compared between individuals who returned to work and those who did not. The results for quantitative variables were expressed as mean and standard deviation, and for qualitative variables, frequency and percentage were reported. Quantitative data were compared using the t-test, and qualitative data were analyzed using the Chi-square test. Non-normally distributed variables were expressed as median with 25th and 75th percentiles, and

were compared between the two groups applying the Mann-Whitney U test. Statistical analysis was performed using SPSS software version 22, considering a significance level of less than 0.05.

Participation in this study was voluntary. The patients were not charged for entering the study. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. All patient data remained confidential. This study was approved by the Ethics Committee with the ethics code IR.IUMS.FMD.REC.1400.137.

Results

Descriptive analysis of demographic and occupational variables is presented in Table 1. According to the information in Table 2, 120 (89 %) of individuals experienced treatment side effects. 87 (64 %) of individuals had at least one concomitant comorbidity. 27 (20 %) of participants experienced disease recurrence. Only 12 (8.9 %) individuals received psychiatric counselling, with 50 % reporting depression and 50 % reporting stress. None of the study participants received psychiatric medications. Other disease-related information is shown in Table 2.

In Table 3, descriptive analysis of quantitative variables including fatigue, anxiety, depression, and work ability is provided. According to the MFI questionnaire, the mean total fatigue score among the study participants was 62.2 ± 15.3 , indicating high levels of fatigue. Additionally, the mean anxiety and depression scores were above 8, indicating emotional distress among the study participants.

The job titles of the study participants before diagnosis and after completing treatment are given in Table 4. The most job title before cancer diagnosis was manual work, while none of the participants were in this job after completing the treatment. Due to the small sample size in each subgroup, it was not possible to perform further analysis on the job title.

After completing the treatment, 36 (26.7 %) of the patients returned to work. The majority of these individuals ($n=24$, 66.6 %) reported a decrease in physical ability to work. 12 (33.3 %) individuals reported early fatigue, 3 (8.3 %) individuals reported reduced opportunity for promotion, and 3 (8.3 %) individuals reported a reduction in wages. Sixty-six (73.3 %) patients did not return to work, with the most common reason being physical inability to work in 60 individuals (66.6 %). The employment status of those who returned to work and the reasons for not returning to work are shown in Table 5.

About 58 % of individuals who returned to work could not use sick leave. The average weekly working hours among individuals who returned to work were approximately 8 hours less than the average working hours before diagnosis.

Regarding the type of cancer, the highest rate of return to work was observed in individuals with non-Hodgkin's lymphoma (60 %), and the lowest rate

Table 1/Таблица 1

Descriptive analysis of demographic and occupational variables
Анализ демографических и профессиональных показателей

Variables/Показатели		Number of patients/ Число больных
Gender/Пол	Male/Мужской	114 (84.4 %)
	Female/Женский	21 (15.7 %)
Marital status/Семейный статус	Married/Женат, замужем	111 (82.2 %)
	Single/Не женат, не замужем	24 (17.8 %)
Smoking status/Курение	Yes/Да	48 (35.6 %)
	No/Нет	87 (64.4 %)
Education level/Уровень образования	Low/Низкий	87 (62.2 %)
	Moderate/Средний	36 (26.7 %)
	High/Высокий	15 (11.1 %)
Employment at the time of diagnosis/ Занятость на момент постановки диагноза	Public servant/Государственный служащий	12 (8.9 %)
	Employee/Наемный работник	27 (20 %)
	Self employed/Самозанятый	36 (26.7 %)
	Daily worker/Временный работник	60 (44.4 %)
Income level in previous job/ Уровень дохода на предыдущей работе	Low/Низкий	81 (60 %)
	Moderate/Средний	45 (33.3 %)
	High/Высокий	9 (6.7 %)
Income level in current job/ Уровень дохода на настоящей работе	Low/Низкий	13 (36.2 %)
	Moderate/Средний	11 (30.5 %)
	High/Высокий	12 (33.3 %)
Spouse's employment status/ Статус занятости супруга	Yes/Да	21 (18.9 %)
	No/Нет	90 (81.1 %)
Sick leave feasibility in the current/ Возможность взять больничный на настоящей работе	Yes/Да	15 (41.6 %)
	No/Нет	21 (58.3 %)

Note: created by the authors.

Примечание: таблица составлена авторами.

was in individuals with Hodgkin's lymphoma and oesophageal cancer, none of whom returned to work. The return-to-work rate in individuals with gastric, colon, and sarcoma cancers was 31.8 %, 20 %, and 16.7 %, respectively.

The analysis of the association between returning to work and qualitative variables showed a significant association between return to work and disease recurrence (p -value=0.04). None of the individuals who returned to work had disease recurrence. No significant association was found between returning to work and other qualitative variables (Table 6).

The analysis of the relationship between returning to work and quantitative variables showed a significant association between returning to work and quality of life (p -value=0.01). The median (interquartile range) of quality of life score was 45 (28.7–50) in individuals who returned to work and 20 (6.0–35) in those who did not. Additionally, individuals who returned to work had a younger age at the time of diagnosis and treatment completion, longer work experience, fewer weekly working hours, more employer support, co-worker support, and job satisfaction compared to those who did not return to work, but these differences were not statistically significant. No significant association was found between returning to work and other quantitative variables (Table 7).

We further assessed the relationship between return to work with quantitative and qualitative variables for non-Hodgkin lymphoma and gastric cancer, which had the highest return to work rate. We found that in patients with non-Hodgkin lymphoma, a higher rate of return to work was associated with being a non-smoker, no recurrence of the disease, lower income, shorter treatment duration and more time since treatment completion, less insurance support and job satisfaction, higher quality of life, more fatigue (with less restricted activity) and more depression. In patients with gastric cancer, a higher rate of returning to work was associated with the spouse's employment, no recurrence of the disease, receiving rehabilitation, chemotherapy treatment, younger age, fewer working hours per week, more support from the employer, co-workers, and insurance, higher job satisfaction and quality of life, and a lower depression score (Tables 8, 9).

Discussion

The aim of this study was to investigate the status of return to work and the influencing factors in patients with common cancers referring to three medical centers during the years 2020 to 2022. Our study results showed that 26.7 % of individuals had returned to work. These individuals reported a decrease in physical ability, early fatigue, reduced opportunity for pro-

Table 2/Таблица 2

Descriptive analysis of the disease-related variables
Анализ показателей, связанных с заболеванием

Variables/Показатели		Number of patients/ Число больных
Type of cancer/ Вид опухоли	Hodgkin's lymphoma/Лимфома Ходжкина	18 (13.3 %)
	Non-Hodgkin's lymphoma/Неходжкинская лимфома	15 (11.1 %)
	Sarcoma/Саркома	18 (13.3 %)
	Stomach/Пак желудка	66 (48.9 %)
	Esophagus/Пак пищевода	3 (2.2 %)
Treatment side effects/ Побочные эффекты лечения	Colon/Пак толстой кишки	15 (11.1 %)
	Yes/Да	120 (88.9 %)
	No/Нет	15 (11.1 %)
Types of treatment side effects/ Типы побочных эффектов лечения*	Decreased WBC/Сниженная работоспособность	51 (37.8 %)
	Nausea/Тошнота	60 (44.4 %)
	Vomiting/Рвота	39 (28.9 %)
	Anemia/Анемия	51 (37.8 %)
	Tingling or numbness in extremities/Парестезии в конечностях	66 (48.9 %)
Comorbidity/ Коморбидность	Other/Другие	36 (26.7 %)
	Yes/Да	87 (64.4 %)
	No/Нет	48 (35.6 %)
Type of comorbidities/ Сопутствующая патология*	Neurologic/Неврологическая	18 (13.3 %)
	Respiratory/Респираторная	3 (2.2 %)
	Cardiac/Кардиологическая	18 (13.3 %)
	Gastrointestinal/Гастроэнтерологическая	33 (24.4 %)
	Renal/Почечная	6 (4.4 %)
	Hepatobiliary/Гепатобилиарная	9 (6.7 %)
	Endocrine/Эндокринная	9 (6.7 %)
	Musculoskeletal/Опорно-двигательный аппарат	15 (11.1 %)
	Urogenital/Урогенитальная	9 (6.7 %)
	Hematologic/Гематологическая	6 (4.4 %)
	Dermatologic/Дерматологическая	9 (6.7 %)
	Psychiatric/Психиатрическая	6 (4.4 %)
Recurrence/ Рецидив	Other/Другие	15 (11.1 %)
	Yes/Да	27 (20 %)
	No/Нет	108 (80 %)
Psychiatric counselling/ Психиатрическая поддержка	Yes/Да	12 (8.9 %)
	No/Нет	123 (91.1 %)
Rehabilitation/Реабилитация	Yes/Да	12 (8.9 %)
	No/Нет	123 (91.1 %)
Treatment plan/Вид лечения	Curative/Радикальное лечение	129 (95.6 %)
	Palliative/Паллиативное лечение	6 (4.4 %)
	Surgery/Операция	48 (35.6 %)
Type of treatment/Метод лечения	Radiation/Лучевая терапия	21 (15.6 %)
	Chemotherapy/Химиотерапия	66 (48.9 %)

Notes: * – a person may have reported more than one item; created by the authors.

Примечания: * – у одного больного могло быть несколько признаков; таблица составлена авторами.

motion, and reduced wages after returning to work, respectively. 73.3 % of individuals did not return to work, with the most common reason being physical disability.

In our study, the factors influencing return to work included disease recurrence and quality of life. A study in Taiwan showed that age, gender, income level and treatment method are important factors affecting the return to work of patients with early diagnosis of cancer

[16]. However, in our study, there was no significant association between return to work and these factors. The large sample size of the Taiwan study, collected over 7 years, could explain the differences in results.

Fontani et al showed that a large percentage of employed breast cancer patients returned to work within 36 months of treatment. However, in our study, with an average time since treatment of 22 months, only 26.7 % of patients had returned to work [17]. The reason for

Table 3/Таблица 3

Descriptive analysis of the quantitative variables
Описательный анализ количественных переменных

Variables/ Переменные	Mean ± SD/Median (interquartile range)/ Среднее ± SD/ Медиана (межквар- тильный размах)	Variables/ Показатели	Mean ± SD /Median (interquartile range)/ Среднее ± SD/ Медиана (межквар- тильный размах)
Age at the time of diagnosis/ Возраст на время постановки диагноза	50.2 ± 10.4	Job satisfaction/ Удовлетворение работой (1–10)	2.0 (1.0–8.0)
Number of family members/ Количество членов семьи	2.0 (1.0–2.5)	Quality of life/ Качество жизни (0–100)	30 (10–40)
Duration of treatment (months)/ Продолжительность лечения (мес)	12 (6.0–24)	General fatigue/ Общая усталость (20–100)	62.2 ± 15.3
Time since treatment completion (months)/ Время от завершения лечения (мес)	12 (8.0–24)	Physical fatigue/ Физическая усталость (4–20)	13.5 ± 3.9
Smoking (pack/year)/ Курение (пачка/год)	17.5 (5.9–37.5)	Restricted activity/ Ограниченная активность (4–20)	13.2 ± 4.3
Rehabilitation period (months)/ Период реабилитации (мес)	3.0 (1.5–32.2)	Restricted motivation/ Ограниченная мотивация (4–20)	10.8 ± 3.6
Work experience (year)/ Опыт работы (год)	20.7 ± 13.2	Mental fatigue/ Умственное утомление (4–20)	11.6 ± 4.1
Weekly work hours in previous job/ Еженедельные рабочие часы на предыдущей работе	48 (30–60)	Current work ability/ Текущая трудоспособность (0–10)	1.0 (1.0–5.0)
Weekly work hours in current job/ Еженедельные рабочие часы на настоящей работе	46 (28.5–66.5)	Current physical work ability/ Текущая физическая работоспособность (2–10)	2.9 ± 1.4
Employer support/ Поддержка работодателя (1–10)	1.0 (1.0–4.5)	Current mental work ability/ Текущая умственная работоспособность (2–10)	2.6 ± 1.1
Co-worker support/ Поддержка коллег (1–10)	1.0 (1.0–6.5)	HADS anxiety/Тревожность по шкале HADS (0–21)	9.5 ± 5.9
Insurance support/ Страховая поддержка (1–10)	2.0 (1.0–5.0)	HADS depression/ Депрессия по шкале HADS (0–21)	9.0 ± 4.8

Note: created by the authors.
Примечание: таблица составлена авторами.

Table 4/Таблица 4

Job title of participants, before diagnosis and after completion of treatment
Вид трудовой деятельности до постановки диагноза и после лечения

Job title/Профессия	Frequency before disease diagnosis/ До постановки диагноза	Frequency after treatment/ После лечения
Carpenter/Плотник	6 (4.4 %)	0 (0 %)
Farmer/Фермер	12 (8.9 %)	9 (6.7 %)
Owner, retail/Владелец, розничная торговля	30 (22.1 %)	15 (11.1 %)
Teacher/Учитель	4 (2.9 %)	0 (0 %)
Guard/Охранник	9 (6.7 %)	0 (0 %)
Manual worker/Рабочий	33 (24.4 %)	0 (0 %)
Engineer/Инженер	3 (2.2 %)	0 (0 %)
Driver/Водитель	15 (11.1 %)	3 (2.2 %)
Office worker/Офисный работник	18 (13.3 %)	9 (6.7 %)
Gardener/Садовник	3 (2.2 %)	0 (0 %)
General practitioner/Врач общей практики	2 (1.4 %)	0 (0 %)
Not working/Не работал	0 (0 %)	99 (73.3 %)

Note: created by the authors.
Примечание: таблица составлена авторами.

Table 5/Таблица 5

The employment status of individual who returned to work and the reason for not returning to work in individual who did not return to work

Статус занятости лиц, вернувшихся к трудовой деятельности, и причина невозвращения к работе

Work related difficulties experienced by worker*/ Испытываемые трудности, связанные с работой*		Reasons for non-working*/ Причины нетрудоспособности*	
Lessened work-related ability than before/ Снижение трудоспособности по сравнению с предыдущим периодом	24 (66.6 %)	Not having been employed after diagnosis/ Не трудоустроен после постановки диагноза	3 (3.0 %)
Reduced opportunity for promotion/ Сокращение возможностей для продвижения по службе	3 (8.3 %)	Physical limitation/ Физические ограничения	60 (60.6 %)
Reduced working hours/ Сокращение рабочего времени	0 (0 %)	Emotional distress (depression or anxiety)/ Эмоциональный стресс (депрессия и тревожность)	12 (12.1 %)
Easily fatigued and exhausted/ Быстрая утомляемость	12 (33.3 %)	Not wanting to work/Нет желания работать	6 (6.0 %)
Decreased wages/Сниженная зарплата	3 (8.3 %)	Easily fatigued but no physical limitation/ Быстрая утомляемость, но без физических ограничений	21 (21.2 %)
Unchanged/Нет изменений	18 (50 %)	Treatment side effect/Побочные эффекты лечения	27 (27.2 %)
		Other/Другое	33 (33.3 %)

Notes: * – a person may have reported more than one item; created by the authors.

Примечания: * – у одного больного могло быть несколько признаков; таблица составлена авторами.

Table 6/Таблица 6

Analysis of the relationship between return to work and qualitative variables

Анализ взаимосвязи между возвращением к работе и качественными переменными

Variables/Переменные		Return to work/ Вернулся к работе	Non return to work/ Не вернулся к работе	p-value	Odds ratio/ Отношение шансов (95 % CI)
Gender/Пол	Male/Муж	27 (23.7 %)	87 (76.3 %)	0.29	0.4 (0.0–2.3)
	Female/Жен	9 (42.9 %)	12 (57.1 %)		
Marital status/ Семейное положение	Married/Женат, замужем	30 (27 %)	81 (73 %)	0.90	1.1 (0.1–6.4)
	Single/Не женат, не замужем	6 (25 %)	18 (75 %)		
Smoking status/ Статус курения	No/Нет	30 (34.5 %)	57 (65.5 %)	0.11	0.2 (0.0–1.4)
	Yes/Да	6 (12.5 %)	42 (87.5 %)		
Spouse's employment status/ Статус занятости супруга	No/Нет	18 (20 %)	72 (80 %)	0.06	0.1 (0.0–1.0)
	Yes/Да	12 (57.1 %)	9 (42.9 %)		
Income level in previous job/ Уровень дохода на предыдущей работе	Low/Низкий	24 (33.3 %)	57 (66.7 %)	0.62	–
	Moderate/Средний	12 (33.3 %)	33 (70.7 %)		
	High/Высокий	0 (0 %)	9 (100 %)		
Treatment side effects/ Побочные эффекты лечения	No/Нет	3 (20 %)	12 (80 %)	0.72	1.5 (0.1–15.1)
	Yes/Да	33 (27.5 %)	87 (72.5 %)		
Comorbidity/Коморбидность	No/Нет	15 (31.3 %)	33 (68.7 %)	0.63	0.7 (0.1–2.7)
	Yes/Да	21 (24.1 %)	66 (75.9 %)		
Recurrence/Рецидив	No/Нет	36 (33.3 %)	72 (66.7 %)	0.04	0.7 (0.5–0.8)
	Yes/Да	0 (0 %)	27 (100 %)		
Psychiatric counselling/ Психиатрическая поддержка	No/Нет	33 (26.8 %)	90 (73.2 %)	0.93	0.9 (0.0–9.6)
	Yes/Да	3 (25 %)	9 (75 %)		
Rehabilitation/Реабилитация	No/Нет	30 (24.4 %)	93 (75.6 %)	0.26	3.1 (0.9–10.3)
	Yes/Да	6 (50 %)	6 (50 %)		
Stage at diagnosis/ Стадия при постановке диагноза	Early/Ранняя	36 (28.6 %)	90 (71.4 %)	0.06	0.9 (0.8–0.9)
	Advanced/Распространенная	0 (0 %)	9 (100 %)		
Treatment plan/Вид лечения	Curative/Лечебный	36 (27.9 %)	93 (72.2 %)	0.38	0.9 (0.8–0.9)
	Palliative/Паллиативный	0 (0 %)	6 (100 %)		
Type of treatment/ Метод лечения	Surgery/Операция	9 (18.8 %)	39 (81.3 %)	0.66	–
	Radiation/Лучевая терапия	6 (28.6 %)	15 (71.4 %)		
	Chemotherapy/Химиотерапия	21 (31.8 %)	45 (68.2 %)		

Note: created by the authors.

Примечание: таблица составлена авторами.

Table 7/Таблица 7

Analysis of the relationship between return to work and quantitative variables
Анализ взаимосвязи между возвращением к работе и количественными переменными

Variables/Переменные	Return to work/ Вернулся к работе Mean $\pm$ SD/Median (interquartile range)/ Среднее значение $\pm$ SD/ Медиана (межквартильный размах)	Non return to work/ Не вернулся к работе	p-value
Age at the time of diagnosis/Возраст на момент постановки диагноза	47.9 $\pm$ 10.9	51.1 $\pm$ 10.3	0.36
Age at treatment completion/Возраст на момент завершения лечения	49.1 $\pm$ 10.8	52.8 $\pm$ 10.7	0.08
Number of family members/Количество членов семьи	1.5 (0.2–3.7)	2.0 (1.0–2.0)	0.73
Duration of treatment (months)/Длительность лечения (мес)	12 (6.0–18.7)	12 (6.5–24)	0.40
Time since treatment completion (months)/ Время с момента завершения лечения (мес)	13.5 (9.7–36)	12 (8–24)	0.26
Smoking (pack/year)/Курение (пачка/год)	40 (30–45)	12.5 (5–32.5)	0.29
Rehabilitation period (months)/Период реабилитации (мес)	2.0 (1.0–3.0)	21.5 (1.0–21.5)	0.60
Work experience (year)/Стаж работы (год)	21.8 $\pm$ 12.1	17.6 $\pm$ 16.0	0.35
Weekly work hours in previous job/ Недельные рабочие часы на предыдущей работе	46 (30–54)	48 (21–63)	0.42
Employer support/Поддержка работодателя (1–10)	2.5 (1.0–7.2)	1.0 (1.0–3.0)	0.45
Co-worker support/Поддержка коллег (1–10)	4.0 (1.0–8.0)	1.0 (1.0–4.5)	0.40
Insurance support/Страховая поддержка (1–10)	3.5 (1.2–5.0)	2.0 (1.0–4.0)	0.31
Job satisfaction/Удовлетворенность работой (1–10)	4.0 (1.0–8.0)	2.0 (1.0–8.5)	0.77
Quality of life/Качество жизни (0–100)	45 (28.7–50)	20 (6.0–35)	0.01
General fatigue/Общая усталость (20–100)	12.9 $\pm$ 3.4	13.1 $\pm$ 3.9	0.87
Physical fatigue/Физическая усталость (4–20)	13.1 $\pm$ 3.4	13.6 $\pm$ 4.1	0.73
Restricted activity/Ограниченная активность (4–20)	11.5 $\pm$ 3.5	13.8 $\pm$ 4.4	0.10
Restricted motivation/Ограниченная мотивация (4–20)	11.2 $\pm$ 3.4	10.6 $\pm$ 3.7	0.62
Mental fatigue/Умственная усталость (4–20)	11.0 $\pm$ 4.9	11.7 $\pm$ 3.8	0.61
Current work ability/Текущая трудоспособность (0–10)	5.5 (2.5–7)	4 (3–6.5)	0.16
Current physical work ability/Текущая физическая трудоспособность (2–10)	2.3 $\pm$ 1.2	3.2 $\pm$ 1.4	0.06
Current mental work ability/Текущая умственная трудоспособность (2–10)	2.5 $\pm$ 1.3	2.6 $\pm$ 1.0	0.60
HADS anxiety/Тревожность по шкале HADS (0–21)	9.9 $\pm$ 6.8	9.4 $\pm$ 5.6	0.80
HADS depression/Депрессия HADS (0–21)	7.9 $\pm$ 5.5	9.4 $\pm$ 4.5	0.34

Note: created by the authors.

Примечание: таблица составлена авторами.

this difference in the rate of return to work can be partly attributed to the difference in the type of cancer investigated and the population studied.

Our study showed that out of 48 individuals undergoing surgery, 9 (18.8 %) returned to work, while out of 87 individuals undergoing chemotherapy and radiotherapy, 27 (31.03 %) returned to work. However, no significant difference was found between these three treatment methods and the rate of return to work. One study found that patients who underwent surgical treatment had a higher rate of returning to work. Patients who received chemotherapy and radiotherapy had a relatively lower rate of returning to work [16]. This could be because patients who are treated only with surgery have their cancer diagnosed at an early stage. Most patients in advanced stages may need chemotherapy and radiotherapy. In addition, chemotherapy and radiotherapy take several months and require multiple visits to the hospital or clinic, making patients prone to side effects or discomfort. A study of breast cancer survivors found that chemotherapy or radiotherapy

limited or delayed return to work, possibly because end-stage cancer patients require several treatment strategies [17].

Our study found that people who received palliative care did not return to work, and other studies found that patients who received palliative care had a lower rate of return to work [18].

Regarding the types of cancer, our study showed that the return to work rate was highest in individuals with non-Hodgkin lymphoma and lowest in oesophageal cancer and Hodgkin lymphoma. Previous studies have shown that liver, lung, brain, hematologic, gastrointestinal, and pancreatic cancer are associated with decreased likelihood of employment or increased possibility of job loss [18, 19]. Another study showed that within two years of diagnosis, male and female reproductive, skin, and breast cancer had the highest rates of return to work. [20]. Breast and cervical cancer survivors are more likely to return to work, possibly due to Pap smear screening and early breast cancer screening and detection. Screening programs

Table 8/Таблица 8

Analysis of the relationship between return to work and qualitative variables in patients with gastric cancer and Non-Hodgkin's lymphoma

Анализ взаимосвязи между возвращением к работе и качественными переменными у пациентов с раком желудка и неходжкинской лимфомой

Variables/ Переменные		Gastric cancer/ Рак желудка (n=66)			Non-Hodgkin's lymphoma/ Неходжкинская лимфома (n=15)		
		Return to work/ Вернулся к работе (n=21)	Non return to work/ Не вернулся к работе (n=45)	p-value	Return to work/ Вернулся к работе (n=9)	Non return to work/ Не вернулся к работе (n=6)	p-value
Gender/Пол	Male/Муж	15 (27.8 %)	39 (72.2 %)	0.13	3 (100 %)	0 (0 %)	0.11
	Female/Жен	6 (50.0 %)	6 (50.0 %)		6 (50.0 %)	6 (50.0 %)	
Marital status/ Семейное положение	Married/Женат	15 (29.4 %)	36 (70.6 %)	0.43	9 (60.0 %)	6 (40.0 %)	—
	Single/Холост	6 (40.0 %)	9 (60.0 %)		0 (0 %)	0 (0 %)	
Smoking status/ Статус курения	No/Нет	15 (33.3 %)	30 (66.7 %)	0.69	9 (75.0 %)	3 (25.0 %)	0.04
	Yes/Да	6 (28.6 %)	15 (71.4 %)		0 (0 %)	3 (100 %)	
Spouse's employment status/ Статус занятости супруга	No/Нет	9 (20.0 %)	36 (80.0 %)	0.01	6 (50.0 %)	6 (50.0 %)	0.11
	Yes/Да	6 (100 %)	0 (0 %)		3 (100 %)	0 (0 %)	
Income level in previous job/ Уровень дохода на предыдущем месте работы	Low/Низкий	12 (26.7 %)	33 (73.3 %)	0.96	6 (100 %)	0 (0 %)	0.02
	Moderate/Средний	9 (50.0 %)	9 (50.0 %)		3 (33.3 %)	6 (66.7 %)	
	High/Высокий	0 (0 %)	3 (100 %)		0 (0 %)	0 (0 %)	
Treatment side effects/ Побочные эффекты лечения	No/Нет	3 (50.0 %)	3 (50.0 %)	0.31	0 (0 %)	3 (100 %)	0.05
	Yes/Да	18 (30.0 %)	42 (70.0 %)		9 (75.0 %)	3 (25.0 %)	
Comorbidity/Коморбидность	No/Нет	9 (33.3 %)	18 (66.7 %)	0.82	6 (50.0 %)	6 (50.0 %)	0.11
	Yes/Да	12 (30.8 %)	27 (69.2 %)		3 (100 %)	0 (0 %)	
Recurrence/Рецидив	No/Нет	21 (43.8 %)	27 (56.3 %)	0.01	9 (75.0 %)	3 (25.0 %)	0.04
	Yes/Да	0 (0 %)	18 (100 %)		0 (0 %)	3 (100 %)	
Psychiatric counselling/ Психиатрическая поддержка	No/Нет	18 (30.0 %)	42 (70.0 %)	0.93	9 (60.0 %)	6 (40.0 %)	—
	Yes/Да	3 (50.0 %)	3 (50.0 %)		0 (0 %)	0 (0 %)	
Rehabilitation/Реабилитация	No/Нет	15 (25.0 %)	45 (75.0 %)	0.01	9 (60.0 %)	6 (40.0 %)	—
	Yes/Да	6 (100 %)	0 (0 %)		0 (0 %)	0 (0 %)	
Type of treatment/ Метод лечения	Surgery/Операция	6 (28.6 %)	15 (71.4 %)	0.01	3 (50.0 %)	3 (50.0 %)	0.51
	Radiation/ Лучевая терапия	0 (0 %)	12 (100 %)		0 (0 %)	0 (0 %)	
	Chemotherapy/ Химиотерапия	15 (45.5 %)	18 (54.5 %)		6 (66.6 %)	3 (33.3 %)	

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

can significantly improve early detection of cancer and thereby reduce work-related disabilities and problems in working population [21–23].

In terms of demographic factors, in our study it was found that the older people are the less likely they are to return to work, although this difference was not statistically significant. The average age of the patients was 50.2 ± 10.4 years. As this average age is close to retirement age, patients may be less motivated to

return to work. In one study, the unemployment rate was higher in older patients (50–60 years old). In addition, studies have shown that gender and low socioeconomic levels are among the demographic factors affecting return to work [18]. Another study found that within two years of a cancer diagnosis, older women returned to work earlier than older men, but return to work was delayed for married women compared to married men [24]. In our study, the unemployment rate

Table 9/Таблица 9

Analysis of the relationship between return to work and quantitative variables in patients with gastric cancer and Non-Hodgkin's lymphoma

Анализ взаимосвязи между возвращением к работе и количественными переменными у пациентов с раком желудка и неходжкинской лимфомой

Variables/Переменные	Gastric cancer/ Рак желудка (n=66)			Non-Hodgkin's lymphoma/ Неходжкинская лимфома (n=15)		
	Return to work/ Вернулся к работе (n=21)	Non return to work/ Не вернулся к работе (n=45)	p-value	Return to work/ Вернулся к работе (n=9)	Non return to work/ Не вернулся к работе (n=6)	p-value
	Mean ± SD/ Median (interquartile range)/ Среднее ± SD/Медиана (межквартильный размах)			Mean ± SD/ Median (interquartile range)/ Среднее ± SD/Медиана (межквартильный размах)		
Age at the time of diagnosis/ Возраст на момент постановки диагноза	45.4 ± 9.9	53.5 ± 10.7	0.00	51.0 ± 11.2	55.0 ± 0.0	0.31
Number of family members/ Количество членов семьи	1.0(0.5–4.0)	2.0 (1.0–2.0)	0.84	1.0 (0.0–2.0)	1.5 (1.0–2.0)	0.32
Duration of treatment (months)/ Длительность лечения (мес)	14.0 (6.0–20)	12.0 (6.0–24)	0.99	9.0 (6.0–48)	40.5 (21–60)	0.03
Time since treatment completion (months)/ Время с момента завершения лечения (мес)	12.0 (6.0–15)	12.0 (8.0–30)	0.13	36.0 (36–42)	10.5 (9.0–12)	0.00
Work experience (year)/Стаж работы (лет)	15.1 ± 6.1	20.6 ± 8.2	0.15	22.6 ± 14.7	22.5 ± 8.2	0.98
Weekly work hours in previous job/ Недельные рабочие часы на предыдущей работе	30.0 (28–48)	54.0 (30–72)	0.01	56.0 (36–70)	52.5 (45–60)	0.99
Employer support/ Поддержка работодателя (1–10)	4.0 (1.0–8.0)	1.0 (1.0–2.0)	0.00	1.0 (1.0–8.0)	2.0 (1.0–3.0)	0.99
Co-worker support/Поддержка коллег (1–10)	5.0 (1.0–8.0)	1.0 (1.0–5.0)	0.01	1.0 (1.0–8.0)	3.5 (3.0–4.0)	0.32
Insurance support/Страховая поддержка (1–10)	4.0 (1.0–5.0)	1.0 (1.0–3.0)	0.03	2.0 (1.0–3.0)	4.0 (3.0–5.0)	0.00
Job satisfaction/ Удовлетворенность работой (1–10)	5.0 (2.0–8.0)	1.0 (1.0–3.0)	0.00	1.0 (1.0–8.0)	8.0 (7.0–9.0)	0.03
Quality of life/Качество жизни (0–100)	40.0 (25–50)	10.0 (0.0–30)	0.02	50.0 (20–75)	20.0 (10–30)	0.03
General fatigue/Общая усталость (20–100)	13.1 ± 3.8	13.4 ± 3.5	0.74	14.0 ± 2.2	10.5 ± 1.6	0.00
Physical fatigue/Физическая усталость (4–20)	14.1 ± 3.3	16.6 ± 2.7	0.56	13.3 ± 2.5	13.5 ± 4.9	0.94
Restricted activity/ Ограниченная активность (4–20)	12.1 ± 3.4	13.6 ± 4.4	0.18	11.6 ± 1.8	15.5 ± 2.7	0.01
Restricted motivation/ Ограниченная мотивация (4–20)	11.1 ± 3.9	11.6 ± 3.6	0.59	12.6 ± 2.1	5.5 ± 0.5	0.00
Mental fatigue/Умственная усталость (4–20)	12.1 ± 5.1	11.9 ± 3.7	0.85	11.3 ± 3.6	11.5 ± 7.1	0.95
Current work ability/Трудоспособность (0–10)	5.5 (2.0–6.5)	4.5 (3.1–7.0)	0.21	5.0 (1.5–5.5)	4.0 (3.5–6.0)	0.41
Current physical work ability/ Текущая физическая трудоспособность (2–10)	2.6 ± 1.1	3.4 ± 1.2	0.10	2.1 ± 1.0	2.3 ± 1.1	0.18
Current mental work ability/ Текущая умственная трудоспособность (2–10)	2.1 ± 1.3	2.7 ± 1.0	0.52	2.4 ± 1.2	2.5 ± 1.0	0.76
HADS anxiety/ Тревожность по шкале HADS (0–21)	10.4 ± 7.4	11.1 ± 5.8	0.67	11.6 ± 4.7	8.0 ± 3.2	0.12
HADS depression/Депрессия HADS (0–21)	7.8 ± 5.6	10.6 ± 4.2	0.02	9.6 ± 4.3	5.5 ± 1.6	0.02

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

was higher in single people and in men, but it was not statistically significant.

In present study, return to work in patients with non-Hodgkin's lymphoma was associated with smoking status, disease recurrence, lower income, shorter treatment duration and longer time to treatment completion, lower insurance support and job satisfaction, and higher quality of life. Interestingly, in these patients, return to work was associated with more fatigue (but with less restricted activity) and more depression. This finding suggests that the major cause of not returning to work in these patients is physical incapacity rather than psychological factors. However, due to the small sample size in this subgroup of cancers, it is recommended to conduct studies with a larger sample size. As mentioned, according to previous studies, hematological malignancies are among cancers with a low rate of return to work. For instance, in a study to investigate the differences in the rate of partial and full return to work between different types of cancer among cancer survivors, blood cancers were included in the "lower full return to work rate" group [25]. In the study of Horsboel et al., with the aim of determining the rate of returning to work among patients with blood cancers, the use of antidepressants or anxiolytics after diagnosis, gender, age and education level were associated with return to work [26].

In patients with gastric cancer, return to work was associated with disease-related factors (recurrence, receiving rehabilitation, chemotherapy), demographic and psychosocial factors (spouse's employment, younger age, higher quality of life, and a lower depression score), and work-related factors (less working hours per week, more support from the employer and co-workers, and higher job satisfaction). The results of different studies on the factors affecting return to work in patients with stomach cancer are different. In the study of de Boer et al. on survivors of gastrointestinal cancers, it was found that employed patients on sick leave had more fatigue and distress compared to patients who worked [27]. Chen et al. found that in patients with gastric cancer, old age, male gender, comorbidities, chemotherapy, radiotherapy, and manual occupations were associated with less return-

ing to work. Surgery and early stages of cancer were associated with an increased probability of returning to work [28]. In a study to compare the employment status of stomach cancer survivors with the general population, it was found that the survivors were more fatigued in performing housework and gainful work. More cancer survivors reported reduced working hours and work-related abilities compared to the general population [29].

Overall, the return to work rate in our study was approximately 26.7 %, which is lower than the prevalence of return to work in cancer survivors in other studies. The average prevalence of return to work in other studies is 62 % (range 30–93 %) one to two years after diagnosis [30]. This low rate of return to work in our country may indicate the inadequacy of work environments modifications for cancer survivors.

This study is one of the few studies conducted on influencing factors for return to work in cancer survivors in our country. In this study, unlike previous studies that only focused on the return to work rate in one type of cancer, patients with common cancers were included in the study. In addition to demographic, occupational, and disease-related variables, the MFI was used to measure fatigue, and HADS were also used to measure anxiety and depression. One limitation of this study is the problems associated with collecting telephone data. Prospective studies are recommended with larger sample sizes to investigate the factors predicting the return to work rate in cancer survivors.

Conclusion

Based on the findings of our study, the return to work rate in cancer survivors was approximately 27 %. The return to work rate was highest in individuals with non-Hodgkin lymphoma and lowest in oesophageal cancer and Hodgkin lymphoma. The most important factors influencing the return to work of these individuals include disease recurrence and quality of life. Helping cancer survivors in returning to work after treatment must be a priority to protect their employment rights and maintain the health of the workforce.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Butow P., Laidsaar-Powell R., Konings S., Lim C.Y.S., Koczwara B. Return to work after a cancer diagnosis: a meta-review of reviews and a meta-synthesis of recent qualitative studies. *J Cancer Surviv.* 2020; 14(2): 114–34. doi: 10.1007/s11764-019-00828-z.
2. Hosseinienejad M., Javadifar S., Mohammadi S., Mirzamohammadi E. Assessment of the relationship between the return to work and the severity of work-related upper limb injuries using the whole person impairment. *Chin J Traumatol.* 2023; 26(2): 77–82. doi: 10.1016/j.cjte.2022.11.001.
3. Lamore K., Dubois T., Rothe U., Leonardi M., Girard I., Manuwald U., Nazarov S., Silvaggi F., Guastafierro E., Scaratti C., Breton T., Foucaud J. Return to Work Interventions for Cancer Survivors: A Systematic Review and a Methodological Critique. *Int J Environ Res Public Health.* 2019; 16(8). doi: 10.3390/ijerph16081343.
4. Olsson Möller U., Beck I., Rydén L., Malmström M. A comprehensive approach to rehabilitation interventions following breast cancer treatment - a systematic review of systematic reviews. *BMC Cancer.* 2019; 19(1). doi: 10.1186/s12885-019-5648-7.

5. Morales C.Z., McDowell L., Lisy K., Piper A., Jefford M. Return to Work in Survivors of Human Papillomavirus-Associated Oropharyngeal Cancer: An Australian Experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2020; 106(1): 146–56. doi: 10.1016/j.ijrobp.2019.09.001.
6. Fitch M.I., Nicoll I. Returning to work after cancer: Survivors', caregivers', and employers' perspectives. *Psychooncology.* 2019; 28(4): 792–8. doi: 10.1002/pon.5021.
7. Hosseinienejad M., Bikdeli H., Hajsadeghi S., Mohammadi S. Return to Work and Associated Factors After the First Hospitalization for Heart Failure. *Türk Kardiyol Dern Ars.* 2022; 50(6): 445–51. doi: 10.5543/tkda.2022.22345.
8. Remnant J. Managing cancer in contemporary workforces: how employees with cancer and line managers negotiate post-diagnosis support in the workplace. *Employee Relations: The International Journal.* 2022; 44(1): 229–43. doi: 10.1108/ER-06-2020-0285.
9. Shim H.Y., Lee C.W., Yu E.S., Park B.Y., Yang E.J. Cancer Survivors and Returning to Work Perspectives from Occupational Health Physicians in Korea. *J Korean Med Sci.* 2019; 34(11). doi: 10.3346/jkms.2019.34.e98.

10. Silvaggi F, Leonardi M, Raggi A, Eigenmann M, Mariniello A, Silvani A, Lamperti E, Schiavolin S. Employment and Work Ability of Persons With Brain Tumors: A Systematic Review. *Front Hum Neurosci*. 2020; 14. doi: 10.3389/fnhum.2020.571191.
11. Zaman A.G., de Boer A.G., Tytgat K.M., Klinkenbijl J.H., Frings-Dresen M.H. What is the perceived importance of work and work ability of patients with gastrointestinal cancer shortly after diagnosis? *Occup Environ Med*. 2018; 75(s2). doi: 10.1136/oemed-2018-ICOHabstracts.1557.
12. Zigmond A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983; 67(6): 361–70. doi: 10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x.
13. Tan J.Y., Molassiotis A., Lloyd-Williams M., Yorke J. Burden, emotional distress and quality of life among informal caregivers of lung cancer patients: An exploratory study. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2018; 27(1). doi: 10.1111/ecc.12691.
14. Smets E.M., Garssen B., Bonke B., De Haes J.C. The Multidimensional Fatigue Inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *J Psychosom Res*. 1995; 39(3): 315–25. doi: 10.1016/0022-3999(94)00125-o.
15. Morrison E.J., Ehlers S.L., Bronars C.A., Patten C.A., Brockman T.A., Cerhan J.R., Hogan W.J., Hashmi S.K., Gastineau D.A. Employment Status as an Indicator of Recovery and Function One Year after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016; 22(9): 1690–5. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.05.013.
16. Chen W.L., Chen Y.Y., Wu W.T., Ho C.L., Wang C.C. Life expectancy estimations and determinants of return to work among cancer survivors over a 7-year period. *Sci Rep*. 2021; 11(1). doi: 10.1038/s41598-021-92306-9.
17. Fantoni S.Q., Peugniez C., Duhamel A., Skrzypczak J., Frimat P., Leroyer A. Factors related to return to work by women with breast cancer in northern France. *J Occup Rehabil*. 2010; 20(1): 49–58. doi: 10.1007/s10926-009-9215-y.
18. Short P.F., Vasey J.J., Tunceli K. Employment pathways in a large cohort of adult cancer survivors. *Cancer*. 2005; 103(6): 1292–301. doi: 10.1002/cncr.20912.
19. de Boer A.G., Taskila T., Ojajarvi A., van Dijk F.J., Verbeek J.H. Cancer survivors and unemployment: a meta-analysis and meta-regression. *JAMA*. 2009; 301(7): 753–62. doi: 10.1001/jama.2009.187.
20. Roelen C.A., Koopmans P.C., Groothoff J.W., van der Klink J.J., Bültmann U. Sickness absence and full return to work after cancer: 2-year follow-up of register data for different cancer sites. *Psychooncology*. 2011; 20(9): 1001–6. doi: 10.1002/pon.1820.
21. Carlsen K., Dalton S.O., Diderichsen F., Johansen C.; Danish Cohort Study. Risk for unemployment of cancer survivors: A Danish cohort study. *Eur J Cancer*. 2008; 44(13): 1866–74. doi: 10.1016/j.ejca.2008.05.020.
22. Schmidt M.E., Scherer S., Wiskemann J., Steindorf K. Return to work after breast cancer: The role of treatment-related side effects and potential impact on quality of life. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2019; 28(4). doi: 10.1111/ecc.13051.
23. Dumas A., Vaz Luis I., Bovagnet T., El Mouhebb M., Di Meglio A., Pinto S., Charles C., Dauchy S., Delalogue S., Arveux P., Coutant C., Cottu P., Lesur A., Lerebours F., Tredan O., Vanlemmens L., Levy C., Lemonnier J., Mesleard C., Andre F., Menvielle G. Impact of Breast Cancer Treatment on Employment: Results of a Multicenter Prospective Cohort Study (CANTO). *J Clin Oncol*. 2020; 38(7): 734–43. doi: 10.1200/JCO.19.01726.
24. Marino P., Teyssier L.S., Malavolti L., Le Corroller-Soriano A.G. Sex differences in the return-to-work process of cancer survivors 2 years after diagnosis: results from a large French population-based sample. *J Clin Oncol*. 2013; 31(10): 1277–84. doi: 10.1200/JCO.2011.38.5401.
25. Endo M., Haruyama Y., Takahashi M., Nishiura C., Kojimahara N., Yamaguchi N. Returning to work after sick leave due to cancer: a 365-day cohort study of Japanese cancer survivors. *J Cancer Surviv*. 2016; 10(2): 320–9. doi: 10.1007/s11764-015-0478-3.
26. Horsboel T.A., Nielsen C.V., Nielsen B., Jensen C., Andersen N.T., de Thurah A. Type of hematological malignancy is crucial for the return to work prognosis: a register-based cohort study. *J Cancer Surviv*. 2013; 7(4): 614–23. doi: 10.1007/s11764-013-0300-z.
27. de Boer A.G., Bruinvels D.J., Tytgat K.M., Schoorlemmer A., Klinkenbijl J.H., Frings-Dresen M.H. Employment status and work-related problems of gastrointestinal cancer patients at diagnosis: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2011; 1(2). doi: 10.1136/bmjopen-2011-000190.
28. Chen Y.Y., Chen W.L., Wu W.T., Ho C.L., Wang C.C. Return to Work in the Gastric Cancer Survivors. 2021. doi: 10.21203/rs.3.rs-144594/v1.
29. Lee M.K., Lee K.M., Bae J.M., Kim S., Kim Y.W., Ryu K.W., Lee J.H., Noh J.H., Sohn T.S., Hong S.K., Yun Y.H. Employment status and work-related difficulties in stomach cancer survivors compared with the general population. *Br J Cancer*. 2008; 98(4): 708–15. doi: 10.1038/sj.bjc.6604236.
30. Duijts S.F., van Egmond M.P., Spelten E., van Muijen P., Anema J.R., van der Beek A.J. Physical and psychosocial problems in cancer survivors beyond return to work: a systematic review. *Psychooncology*. 2014; 23(5): 481–92. doi: 10.1002/pon.3467.

Поступила/Received 13.03.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 25.07.2024

Принята к публикации/Accepted 12.08.2024

ABOUT THE AUTHORS

Ali Palizgir, MD, Occupational Medicine Specialist, Occupational Medicine Department, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). ORCID: 0009-0003-6366-0356.

Nastaran Khodakarim, MD, Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). Author ID (Scopus): 36018502200. ORCID: 0000-0002-2123-9956.

Saber Mohammadi, MD, Professor, Occupational Medicine Department, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). Author ID (Scopus): 8726719600. Researcher ID (WOS): C-9484-2011. ORCID: 0000-0003-0650-6654.

Fakhri Rezaei, MD, Occupational Medicine Specialist, Occupational Medicine Department, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). ORCID: 0009-0002-0668-5699.

Mahin Hosseinienejad, MD, Assistant Professor, Occupational Medicine Department, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences (Tehran, Iran). Author ID (Scopus): 57211712285. Researcher ID (WOS): J-2582-2018. ORCID: 0000-0002-0443-4717.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Ali Palizgir: data collection, drafting of the manuscript.

Nastaran Khodakarim: study supervision, critical revision of the manuscript.

Saber Mohammadi: study conception and design, drafting of the manuscript.

Fakhri Rezaei: analysis and interpretation, drafting of the manuscript.

Mahin Hosseinienejad: study conception and design, analysis and interpretation, drafting of the manuscript, critical revision of the manuscript.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgement

This study was supported by deputy of research of Iran University of Medical Sciences.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ali Palizgir, специалист по профессиональной медицине кафедры профессиональной медицины, медицинский факультет, Иранский университет медицинских наук (г. Тегеран, Иран). ORCID: 0009-0003-6366-0356.

Nastaran Khodakarim, доцент кафедры внутренних болезней, медицинский факультет, Иранский университет медицинских наук (г. Тегеран, Иран). Author ID (Scopus): 36018502200. ORCID: 0000-0002-2123-9956.

Saber Mohammadi, профессор кафедры профессиональной медицины, медицинский факультет, Иранский университет медицинских наук (г. Тегеран, Иран). Author ID (Scopus): 8726719600. Researcher ID (WOS): C-9484-2011. ORCID: 0000-0003-0650-6654.

Fakhri Rezaei, специалист по профессиональной медицине кафедры профессиональной медицины, медицинский факультет, Иранский университет медицинских наук (г. Тегеран, Иран). ORCID: 0009-0002-0668-5699.

Mahin Hosseinienejad, доцент кафедры профессиональной медицины, медицинский факультет, Иранский университет медицинских наук (г. Тегеран, Иран). Author ID (Scopus): 57211712285. Researcher ID (WOS): J-2582-2018. ORCID: 0000-0002-0443-4717.

ВКЛАД АВТОРОВ

Ali Palizgir: сбор данных, написание черновика статьи.

Nastaran Khodakarim: руководство исследованием, критическая переработка статьи.

Saber Mohammadi: концепция и дизайн исследования, написание черновика статьи.

Fakhri Rezaei: анализ и интерпретация, написание черновика статьи.

Mahin Hosseinienejad: концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация, написание черновика статьи, критическая доработка статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность

Данное исследование было поддержано заместителем по научной работе Иранского университета медицинских наук.

DOI: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-32-44
УДК: 617.553+616-006.3.04+616.61]-089



Для цитирования: Рябов А.Б., Чайка А.В., Хомяков В.М., Александров О.А., Кострыгин А.К., Соболев Д.Д., Погосян Г.С., Арзуманов С.В., Воробьев Н.В., Черемисов В.В., Уткина А.Б., Аксенов С.А., Макурина М.П., Салимзянов К.И. Нефронсберегающие операции в хирургическом лечении ретроперитонеальных сарком. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 32–44. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-32-44

For citation: Ryabov A.B., Chaika A.V., Khomyakov V.M., Alexandrov O.A., Kostrygin A.K., Sobolev D.D., Pogoyan G.S., Arzumanov S.V., Vorobyov N.V., Cheremisov V.V., Utkina A.B., Aksenov S.A., Makurina M.P., Salimzyanov K.I. Nephron-sparing surgery for retroperitoneal sarcomas. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 32–44. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-32-44

НЕФРОНСБЕРЕГАЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ РЕТРОПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ САРКОМ

А.Б. Рябов^{1,2}, А.В. Чайка¹, В.М. Хомяков¹, О.А. Александров¹,
А.К. Кострыгин¹, Д.Д. Соболев¹, Г.С. Погосян¹, С.В. Арзуманов³,
Н.В. Воробьев^{1,4}, В.В. Черемисов^{1,4}, А.Б. Уткина¹, С.А. Аксенов¹,
М.П. Макурина¹, К.И. Салимзянов¹

¹Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России
Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр-д, 3

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России
Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4

³Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии
им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр радиологии» Минздрава России
Россия, 105425, г. Москва, ул. 3-я Парковая, 51, стр. 1

⁴ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова» Минздрава России
Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2

Аннотация

Цель исследования – уточнение показаний к применению нефронсберегающих технологий при хирургическом лечении больных с ретроперитонеальными саркомами. **Материал и методы.** В исследование включены 64 пациента с первичными ретроперитонеальными саркомами с вовлечением почки и структур почечной ножки, проходивших хирургическое лечение в торакоабдоминальном отделении МНИОИ им. П.А. Герцена (2010–2021). Нефрэктомии выполнены у 21 больного, у 43 больных применены нефронсберегающие технологии. Изучен морфологический профиль сарком, половозрастной состав, возможности нефронсберегающих технологий, частота послеоперационных осложнений в обеих группах, а также отдаленные результаты лечения, в том числе в зависимости от различных факторов. С этой целью проведен многофакторный анализ. **Результаты.** У 43 больных с первичными ретроперитонеальными саркомами с вовлечением в опухолевый процесс почки, мочеточника, сосудистой ножки почки операции выполнялись с применением нефронсберегающих технологий: прецизионное выделение почки, мочеточника и сосудистых структур почки из опухолевых узлов, резекция почки, стентирование мочеточника, резекция устьев почечных вен, резекция мочеточников, аутотрансплантация почки. Послеоперационные осложнения: группа нефрэктомий – 19,0 % (4 пациента, типы II, IIIB, IV и V по Clavien–Dindo), группа нефронсберегающих операций – 30,2 % (13 пациентов: типы II – 8, IIIA – 1, IIIB – 3, IV – 1); летальных исходов не было. При статистическом анализе групп нефрэктомий и нефронсберегающих операций безрецидивный период и выживаемость статистически не отличались. Однолетняя выживаемость во всей группе составила 84,1 %, 3-летняя – 65,9 %, 5-летняя – 51,4 %. При мультифакторном анализе достоверно повышается смертность у пациентов старше 64 лет, связанная как с рецидивом процесса, так и наличием сопутствующей патологии ($p=0,009$). Также выявлена тенденция к уменьшению вы-

живаемости у больных лейомиосаркомой ($p=0,066$). **Выводы.** При ретроперитонеальных саркомах рациональной хирургической тактикой представляется удаление опухоли с сохранением органов и структур, не вовлеченных непосредственно в опухолевый процесс. Нефронсберегающие технологии не ухудшают как непосредственные, так и отдаленные результаты лечения. При лейомиосаркомах более целесообразным является удаление опухоли с нефрэктомией.

Ключевые слова: неорганные забрюшинные опухоли, ретроперитонеальные саркомы, нефронсберегающие операции, липосаркома.

NEPHRON-SPARING SURGERY FOR RETROPERITONEAL SARCOMAS

A.B. Ryabov^{1,2}, A.V. Chaika¹, V.M. Khomyakov¹, O.A. Alexandrov¹,
A.K. Kostrygin¹, D.D. Sobolev¹, G.S. Pogosyan¹, S.V. Arzumanov³,
N.V. Vorobyov^{1,4}, V.V. Cheremisev^{1,4}, A.B. Utkina¹, S.A. Aksenov¹,
M.P. Makurina¹, K.I. Salimzyanov¹

¹P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia
3, 2nd Botkinsky Drive, Moscow, 125284, Russia

²National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia
4, Koroleva St., Obninsk, 249036, Russia

³N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – branch of National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia
51, build. 1, 3rd Parkovaya St., Moscow, 105425, Russia

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia
8/2, Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia

Abstract

Objective: to clarify the indications for the use of nephron-sparing technologies in surgical treatment of patients with retroperitoneal sarcomas. **Material and Methods.** The study included 64 patients with primary retroperitoneal sarcomas with kidney and renal pedicle invasion, who underwent surgical treatment in the Thoracic-abdominal Department of the P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute from 2010 to 2021. Twenty-one patients underwent nephrectomies, and 43 patients underwent nephron-sparing surgery. The morphological profile of sarcomas, age and gender of the patients, feasibility of using nephron-sparing technologies, postoperative complications, and long-term outcomes in patients of both groups were analyzed. **Results.** Forty-three patients with primary retroperitoneal sarcomas with invasion of the renal parenchyma, ureter, and renal pedicle underwent nephron-sparing surgery (precision mobilization of the kidney, ureter and vascular structures of the kidney from tumor tissue, kidney resection, ureteral stenting, resection of the renal vein orifices, resection of the ureters, and kidney autotransplantation). Postoperative complications were observed in 19.0 % of nephrectomy group patients (4 pts: II, IIIB, IV and V types according to Clavien–Dindo) and in 30.2 % of nephron-sparing group patients (15 pts: types II – 8, IIIA – 1, IIIB – 3, IV – 1). No statistical differences in the relapse-free period and survival time between two groups were observed. The 1-, 3- and 5-year survival rates were 84.1 %, 65.9 %, and 51.4 %, respectively. Multifactorial analysis showed that mortality increased significantly in patients over 64 years of age and was associated with both disease recurrence and concomitant pathology ($p=0.009$). There was also a trend toward decreased survival in patients with leiomyosarcoma ($p=0.066$). **Conclusion.** In retroperitoneal sarcomas, tumor resection with preservation of organs and structures not directly invaded by the tumor is the optimal surgical strategy. Nephron-sparing technologies do not worsen both immediate and long-term treatment outcomes. For leiomyosarcoma, tumor resection with nephrectomy is the most suitable approach.

Key words: retroperitoneal neoplasm/surgery, liposarcomas, nephron surgery, disease progression, nephrectomy, nephron-sparing resection.

Введение

В настоящее время хирургическое лечение ретроперитонеальных сарком (РПС) является активно изучаемой темой. Неорганные забрюшинные опухоли (НЗО) являются достаточно редкой патологией и составляют менее 1 % всех

злокачественных опухолей [1, 2]. Из-за относительно медленного роста и длительного отсутствия симптомов чаще всего выявляются РПС больших размеров. Данные новообразования представляют собой гистологически гетерогенную группу опухолей, включающую около 140 гистологических

подтипов [1, 3], частота местных рецидивов и метастазирования РПС после хирургического лечения зависит от морфологического строения опухоли. Липосаркомы составляют около 60 % всех РПС, могут возникать везде, где присутствует жировая ткань, 12–40 % липосарком исходит из забрюшинного пространства и 35 % приходится на паранефральную жировую клетчатку. Второй по распространенности гистологический вариант – лейомиосаркомы (16 %), они подразделяются на опухоли, исходящие из тканей нижней полой вены (НПВ), и опухоли, не исходящие из НПВ, характеризуются как выраженным местнораспространенным ростом, в том числе с истинной инвазией в стенку органов и сосудов [4], так и высокой частотой отдаленного метастазирования. Плеоморфная саркома (ранее известная как злокачественная фиброзная гистиоцитома) составляет 5 % всех РПС. Образования, исходящие из клеток нервной ткани (невриномы, ганглионевромы, параганглиомы различной степени злокачественности и другие), составляют примерно 4 % всех (НЗО) [1, 3].

Хирургическое удаление НЗО в настоящее время является безальтернативным методом лечения больных с РПС как радикального характера, так и циторедуктивного, при отсутствии возможности радикально удалить опухоль. В литературе идет дискуссия по поводу необходимости компартментального удаления РПС, с обязательным удалением органов (почка, отдел ободочной кишки и т.д.), входящих в определенные компартменты, из которых исходит опухоль, даже если эти органы непосредственно не вовлечены в опухолевый процесс [5, 6]. Циторедуктивное удаление РПС применяется в основном при большой распространенности опухоли и невозможности удаления без существенного анатомического дефекта, не совместимого с приемлемым функционированием организма. Массивные РПС с вовлечением более одного компартмента зачастую возможно удалить только путем фрагментирования.

Ряд авторов убежден в необходимости сбалансированного подхода к хирургическому лечению резектабельных РПС, заключающегося в одновременном моноблочном удалении опухоли, но с сохранением органов и структур, не вовлеченных непосредственно в опухолевый процесс, посредством прецизионного их выделения. В нашем исследовании применяется именно этот сбалансированный подход, заключающийся в одновременном стремлении к моноблочному удалению опухоли с максимально возможным сохранением органов и структур. В частности, нефронсберегающие операции подразумевают полное удаление опухоли с паранефральной клетчаткой с прецизионным выделением и сохранением почки, элементов ворот почки и мочеточника. При необходимости возможно выполнение резекции структур почечной ножки с последующим их вос-

становлением, а также проведение аутотрансплантации почки с удалением остаточной опухолевой ткани *ex vivo* и последующей реплантацией органа и ангиопластикой [7–9].

Цель исследования – уточнение показаний к применению нефронсберегающих технологий при хирургическом лечении больных с ретроперитонеальными саркомами.

Материал и методы

В торакоабдоминальном отделении МНИОИ им. П.А. Герцена в 2010–2021 гг. по поводу НЗО хирургическое лечение получили 196 больных; в общей сложности им проведено 224 операции, включая повторные вмешательства при рецидивах заболевания. С резекцией (или удалением) одного и более органов выполнено 143 операции. Всего при первичных РПС ($n=110$) вовлечение в том или ином виде паренхимы почки и структур почечной ножки, мочеточника отмечалось у 64 (58,18 %) пациентов. Нефрэктомии выполнены у 21 больного, у 43 применены нефронсберегающие технологии.

При представлении материалов, методов и результатов исследования количественные показатели даны в виде средних арифметических величин (M) $\pm$ стандартное отклонение (SD). При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных применялся t -критерий Стьюдента. Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U -критерий Манна–Уитни. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона. Различия показателей считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Оценка функции выживаемости пациентов проводилась по методу Каплана–Мейера. Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, разрабатывалась с помощью метода линейной регрессии. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена. Накопление, коррективировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик – IBM Corporation).

В группе пациентов с вовлечением почки или ее структур половозрастной состав не имел существенных различий, средний возраст составил 63,14 года. Морфологические типы удаленных опухолей составляли традиционную картину: большинство (около 60 %) – различные варианты липосарком, меньшая доля (около 17,2 %) – лейо-

Таблица 1/Table 1

**Клинико-морфологические характеристики пациентов с первичными РПС с вовлечением почки
либо почечных структур**

**Clinical and morphological characteristics of patients in the group with primary retroperitoneal sarcomas
with invasion of renal structures**

Параметры/Parameters	Вся группа/ Whole group (n=64)	Нефрэктомии/ Nephrectomy (n=21)	Нефронсберегающие операции/ Nephron-sparing (n=43)
Муж/Жен/Male/Female	26/38	7/14	19/24
Средний возраст (min-max), лет/ Median age (min-max), years	57,56 ± 12,6 (31–80)	61,14 ± 9,38 (48–80)	55,32 ± 13,45 (31–77)
Гистологический тип/Histology type			
Липосаркомы/Liposarcoma	38 (~60 %)	16 (76 %)	22 (51,1 %)
Лейомиосаркома/Leiomyosarcoma	11 (17,2 %)	2 (9,5 %)	9 (20,9 %)
Опухоли периферических нервов, оболочек нервов, нейрогенного происхождения/ Malignant peripheral nerve sheath tumor	9 (14,0 %)	2 (9,5 %)	7 (16,3 %)
Десмоидные фибромы/Desmoid tumors	1 (1,5 %)	0 (0 %)	1 (2,3 %)
Плеоморфная саркома (Злокачественная фиброзная гистиоцитома)/ Malignant fibrous histiocytoma	4 (6,2 %)	0 (0 %)	4 (9,3 %)
Гемангиоперицитома/Hemangiopericytoma	1 (1,5 %)	1 (4,7 %)	0 (0 %)

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

миосаркомы, 14,0 % – опухоли периферической нервной системы и др. (табл. 1).

Следует отметить, что в нашем исследовании нефрэктомия выполнялась не по принципиальным показаниям, когда почка удаляется в составе компартмента, независимо от того, вовлечен орган, его структуры или сосуды в опухолевый процесс или нет, в чем, собственно, и заключается максимально радикальный подход хирургии ретроперитонеальных сарком. Мы придерживаемся органосохраняющей тактики, и нефрэктомия выполнялась только при вовлечении в опухолевый процесс почки либо ее структур (мочеточника, сосудов ворот почки), когда их невозможно было сохранить либо отсутствовала функция почки, и ее атрофии при длительно существующем блоке мочеточника и/или сосудистых структур. В ряде случаев на предоперационном этапе отмечалось резкое нарушение функции вовлеченной почки из-за обструкции мочевых путей, но освобождение этих структур из опухолевых масс позволило восстановить выделительную функцию почки при условии отсутствия ее атрофии. Кроме того, у 1 пациента с нефрэктомией в анамнезе по поводу рака почки применение нефронсберегающей технологии оказалось жизненной необходимостью в связи с тем, что другая почка была удалена ранее по поводу другой патологии. По нашему мнению, применение нефронсберегающих технологий оправдано, так как риск развития рецидива заболевания высокий, как правило, независимо от радикальности операции, и в дальнейшем пациенту, возможно, будет необходимо проводить и

повторные операции, и системную химиотерапию, а в случае выполнения циторедуктивной операции (R2) выполнение нефрэктомии нецелесообразно.

В группе нефронсберегающих технологий (n=43) у 29 больных проводилось прецизионное выделение почки, мочеточника и сосудистых структур почки из опухолевых узлов, не нарушая при этом целостности капсулы опухоли. Стентирование мочеточника на дооперационном этапе или во время операции выполнено в 10 наблюдениях. Стентирование на дооперационном этапе выполнялось при цистоскопии, его целью была лучшая визуализация мочеточника в опухолевом или спаечном процессе, однако в ряде случаев при выраженном стенозе и извитости хода мочеточника в плотных опухолевых массах стентирование мочеточника на дооперационном этапе может быть опасным из-за риска перфорации. Интраоперационное стентирование производилось, как правило, при необходимости резекции мочеточника и формировании анастомозов органов мочевыделительной системы. В других случаях катетеризация имела целью не только визуализировать, но и создать каркас для мочеточника, поскольку зачастую по мере роста опухоли мочеточник растягивается и удлиняется, стенки его становятся тонкими и более подверженными микроциркуляторным нарушениям с возможным очаговым некрозом стенки. Стентирование мочеточника предупреждает обструкцию мочевых путей вследствие его перегиба в послеоперационном периоде.

Резекция почки при инвазии в паренхиму выполнена 3 больным, у 2 пациентов в виде частичной

Таблица 2/Table 2

Применение нефронсберегающих технологий
Nephron-sparing technologies

Варианты нефронсберегающих технологий/ Nephron-sparing technologies	Количество выполненных хирургических приемов/ Number of surgical procedures
Прецизионное выделение почки, мочеточника и сосудистых структур почки из опухолевых узлов/ Precision mobilization of the kidney, ureter and vascular structures of the kidney from tumor tissue	29
Резекция почки/Partial Nephrectomy	3
Резекция НПВ и/или устьев почечных вен с ангиопластикой/ Resection of V. cava inferior and/or renal veins' resection with angioplasty	2
Аутотрансплантация почки/Kidney autotransplantation	2
Варианты с резекцией мочеточника/ов с формированием уретеро-уретероанастомозов, уретеро-пиелоанастомоза, уретеро-цистоанастомоза, уретерокутанеостомии/ Options with resection of the ureter with the uretero-ureteroanastomosis, uretero-pyeloanastomosis, uretero-cystoanastomosis, ureterocutaneostomy	7
Всего/Total	43

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

или полной декапсуляции, у одного – в виде резекции паренхимы. При плановом морфологическом исследовании операционного препарата отмечалось истинное врастание опухоли в капсулу почки, опухоль имела строение лейомиосаркомы.

При вовлечении мочеточников на разных уровнях, не позволяющем выделить их из опухолевых масс, применялись различные варианты резекции мочеточников с формированием уретеро-уретероанастомозов, уретеро-пиелоанастомоза, уретеро-цистоанастомоза, уретерокутанеостомии. Операции этого типа выполнены у 7 больных. При формировании анастомозов стентирование мочеточника проводится в обязательном порядке для предотвращения стриктуры соустья. Резекция нижней поллой вены и устьев почечных вен с последующей ангиопластикой проведена у 2 больных; еще 2 пациентам выполнено удаление РПС больших размеров с последующим экстракорпоральным удалением опухолевых масс и жировой клетчатки, окружающей орган, и аутотрансплантацией почки (табл. 2).

Результаты

Частота послеоперационных осложнений в группе нефрэктомий и нефронсберегающих операций – 17 (26,5 %): в группе нефрэктомий – 19,0 % (4 пациента, типы II, IIIB, IV и V по Clavien–Dindo), в группе нефронсберегающих операций – 30,2 % (13 пациентов: типы II – 8, IIIA – 1, IIIB – 3, IV – 1); летальных исходов не было (табл. 3).

На момент исследования прослеженность отдаленных результатов составила 97 %. Средняя продолжительность безрецидивного периода во всей группе из 64 пациентов с РПС с вовлечением почки и ее структур составила 31,2 мес (медиана –

24 мес). При последующем наблюдении в сроки от 3 до 84 мес диагностирован 31 (48,4 %) рецидив у 64 больных. Одногодичная безрецидивная выживаемость составила 70,0 %, 3-летняя – 50 %, 5-летняя – 40 %. При статистическом анализе подгрупп с нефрэктомией и нефронсберегающих операций разница в безрецидивной выживаемости статистически недостоверна (рис. 1). Таким образом, применение нефронсберегающих технологий не влияет на безрецидивный период после хирургического лечения пациентов с вовлечением в опухолевый процесс почки и ее структур.

Многие исследования показали, что частота рецидивов РПС зависит, прежде всего, от морфологического строения опухоли и ее биологической

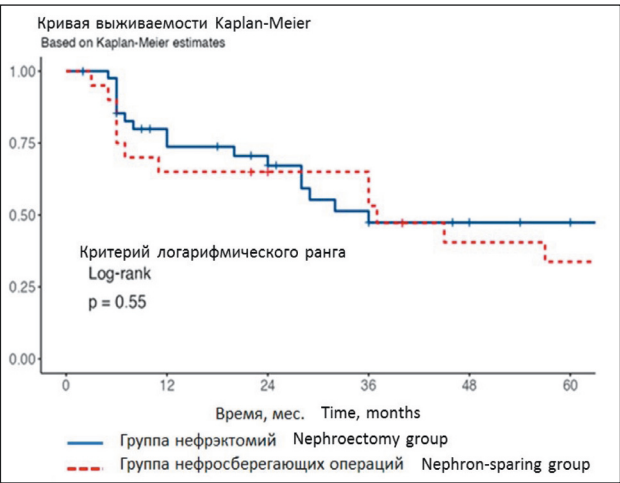


Рис. 1. Сравнительная безрецидивная выживаемость в группах нефрэктомий и нефронсберегающих технологий (p=0,55).

Примечание: график выполнен авторами
Fig. 1. Comparative disease-free survival in the groups of nephrectomy and nephron-sparing surgery (p=0.55). Note: created by the authors

Таблица 3/Table 3

Послеоперационные осложнения Postoperative complications		
Категория послеоперационных осложнений по Clavien–Dindo/Clavien–Dindo’s grades	Нефрэктомии/ Nephrectomy (n=21)	Нефронсберегающие операции/ Nephron-sparing (n=43)
II	8 (пневмонии, послеоперационные гематома, купировавшиеся консервативно, неврологические нарушения терапевтического спектра)/ 8 (pneumonia, postsurgical hematoma, relieved by conservative treatment, neurological disorders of the therapeutic spectrum associated)	1 (двухсторонняя пневмония)/ 1 (bilateral pneumonia)
IIIA	1 (послеоперационный панкреатит, очаговый панкреонекроз, дренирование под местной анестезией под УЗИ-навигацией)/ 1 (postoperative pancreatitis, focal pancreatic necrosis, minimally invasive drainage with ultrasound navigation under local anesthesia)	
IIIB	3 (2 – деструктивный панкреатит, очаговый панкреонекроз: 1 – осложнившийся кишечным свищем, 1 – аррозивным кровотечением; 1 – тромбоз артериального анастомоза бедренной артерии, потребовавший ампутации нижней конечности)/ 3 (2 – destructive pancreatitis; focal pancreatic necrosis: 1 – with intestinal fistula complication, 1 – with arrosive bleeding; 1 – arterial anastomosis’ thrombosis of femoral artery, requiring lower extremity amputation)	1 (внутрибрюшное кровотечение, релапаротомия)/ 1 (intra-abdominal bleeding, relaparotomy)
IV	1 (острое нарушение мозгового кровообращения, сопровождавшееся эпилептиформным приступом)/ 1 (acute cerebrovascular accident accompanied by an epileptiform attack)	1 (острый инфаркт миокарда, переведена в кардиологический стационар)/ 1 (acute myocardial infarction, transported to a cardiology hospital)
V	–	1 (несостоятельность желудочного анастомоза, перфорация кишки, перитонит, полиорганная недостаточность)/ 1 (gastric anastomosis leakage, intestinal perforation, peritonitis, multiple organ failure syndrome)

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

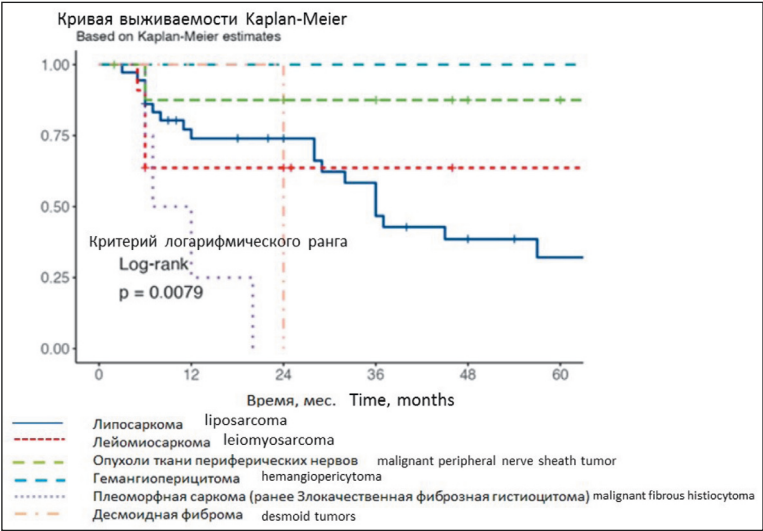


Рис. 2. Безрецидивная выживаемость в зависимости от гистологического строения опухоли.
Примечание: график выполнен авторами
Fig. 2. Recurrence-free survival depending on the tumor histology.

Note: created by the authors

агрессивности. В нашем исследовании при анализе влияния гистологического типа опухоли на безрецидивную выживаемость выявлены значимые различия ($p=0,0079$): самый короткий безрецидивный период наблюдался у больных с плеоморфными саркомами (ранее известна как злокачественная фиброзная гистиоцитома) и липосаркомами (ввиду

небольшой численности групп выявление зависимости от степени дифференцировки не представляется статистически достоверным) (рис. 2).
Ряд авторов выявил, что частота рецидивов достоверно выше при непосредственном вовлечении в опухолевый процесс одного или нескольких органов [3, 7, 8]. Наша выборка сравнительно

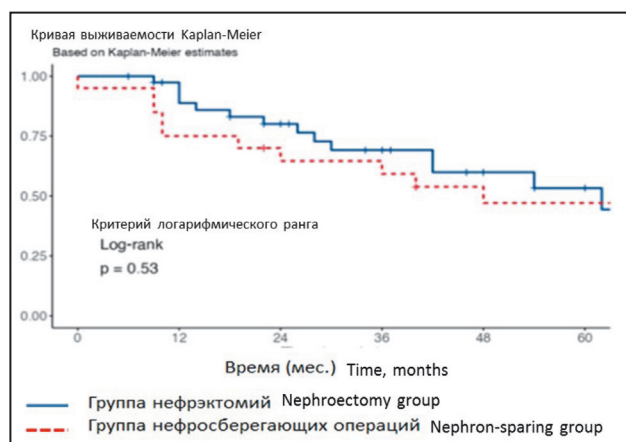


Рис. 3. Сравнительная общая выживаемость в группах нефрэктомий и нефросберегающих технологий ($p=0,53$). Примечание: график выполнен авторами
Fig. 3. Comparative overall survival in the groups of nephrectomy and nephron-sparing surgery ($p=0,53$). Note: created by the authors

небольшая, и достоверно оценить зависимость частоты рецидивов от тех или иных причин объективно не представляется возможным, поскольку РПС достаточно разнородны по морфологическим характеристикам, распространенности процесса, объему хирургического вмешательства и т.д.

Общая средняя продолжительность жизни после лечения во всей группе ($n=64$) составила 39,1 мес, медиана – 32 мес. На момент исследования живы 36 пациентов (из 62 прослеженных), умерло 23 (36 %) больных в сроки от 0 до 96 мес. Одногодичная выживаемость во всей группе составила 84,1 %, 3-летняя – 65,9 %, 5-летняя – 51,4 %. При статистическом анализе подгрупп нефрэктомий и нефросберегающих операций разница в общей выживаемости статистически недостоверна (рис. 3). При анализе влияния гистологического типа опухоли на безрецидивную выживаемость выявлены значимые различия ($p=0,0083$): самая

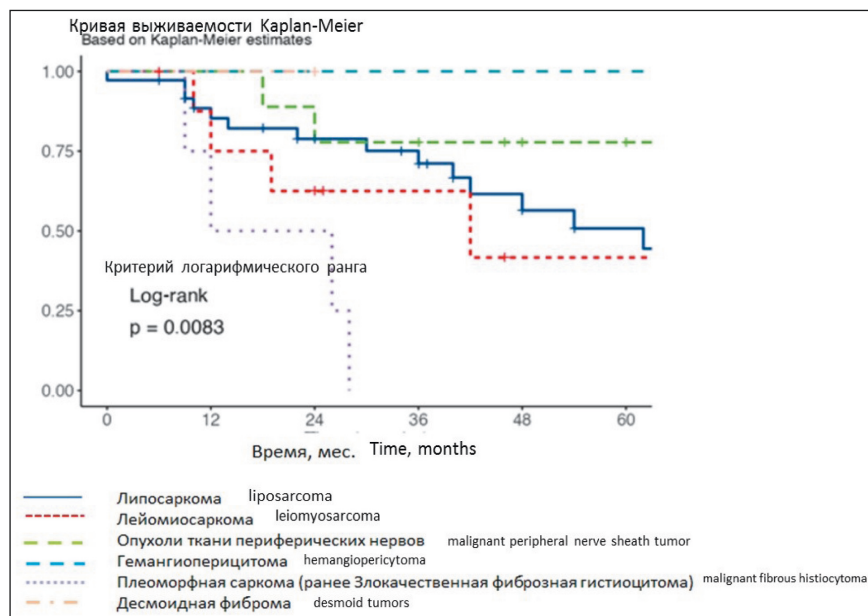


Рис. 4. Общая выживаемость в зависимости от гистологического строения опухоли. Примечание: график выполнен авторами
Fig. 4. Overall survival depending on the tumor histology. Note: created by the authors

большая продолжительность выявлена у больных с липосаркомами и опухолями из оболочек периферических нервов, а наиболее неблагоприятный прогноз имели больные с лейомиосаркомами и плеоморфными саркомами (рис. 4). Опухоль, имеющая строение гемангиоперицитомы, наблюдалась у 1 больного, пациент жив в настоящее время без признаков рецидива опухоли.

При анализе факторов риска неблагоприятного исхода выявлена достоверная связь с возрастом (HR 1,05, 95 % CI [1,01, 1,08], $p=0,009$). Пороговое значение составило 64 года. У больных старше этого возраста значительно повышается смертность в ходе динамического наблюдения после хирургического лечения первичной РПС, связанная как с рецидивом процесса, так и наличием сопутствующей патологии. При мультифакторном анализе факторов, влияющих на общую выживаемость, также выявлена связь между показателями возраста ($p=0,026$), гистологическим строением (плеоморфная саркома (злокачественная фиброзная гистиоцитома), $p=0,005$). Также отмечена тенденция к уменьшению выживаемости у больных с лейомиосаркомой ($p=0,066$) (табл. 4).

Нефросберегающие операции при рецидивах ($n=23$) выполнялись при следующих ситуациях: как органосохраняющие операции при радикальном удалении рецидивной опухоли ($n=5$); в случае, если одна почка была уже удалена при предыдущих вмешательствах (у 16 из 23 пациентов – нефрэктомия во время первой операции, еще у 10 – при последующих рецидивах); при операциях циторедуктивного характера с целью улучшения качества жизни после заведомо нерадикальной операции, в том числе с возможным последующим проведением системной химиотерапии ($n=2$). Нефрэктомия при рецидивах НЗО выполнялась в общей сложности у 26 больных с рецидивами НЗО (вне зависимости от того, какой по счету был рецидив).

Таблица 4/Table 4

Мультифакторный анализ предикторов неблагоприятного прогноза хирургического лечения РПС с вовлечением почки и ее структур

Multifactor analysis of poor prognosis predictors in surgical treatment of retroperitoneal sarcomas involving the kidney and its structures

Показатель/Categories		Число больных/ Number of patients	HR (монофакторный)/ HR (monofactor analysis)	HR (мультифакторный)/ HR (multifactor analysis)
Осложнения/ Complications	Нет/No	47 (75,8 %)	–	–
	Да/Yes	15 (24,2 %)	1,05 (0,42–2,65, p=0,909)	1,63 (0,57–4,69, p=0,363)
Нефронсберегающая операция/ Nephron-sparing surgery	Да/Yes	42 (67,7 %)	–	–
	Нет (нефрэктомии)/ No (total nephrectomies)	20 (32,3 %)	1,28 (0,59–2,81, p=0,534)	2,07 (0,76–5,60, p=0,154)
Пол/Gender	Жен/Female	36 (58,1 %)	–	–
	Муж/Male	26 (41,9 %)	1,16 (0,54–2,53, p=0,700)	1,45 (0,62–3,43, p=0,394)
Гистология/ Histology	Липосаркома/Liposarcoma,	36 (58,1 %)	–	–
	Лейомиосаркома/ Leiomyosarcoma	11 (17,7 %)	1,35 (0,45–4,08, p=0,595)	3,46 (0,92–12,98, p=0,066)
	Периферические нервы/ Malignant peripheral nerve sheath tumor	9 (14,5 %)	0,33 (0,08–1,45, p=0,142)	0,63 (0,13–2,99, p=0,563)
	Гемангиоперицитомы/ Gemangiopericytoma	1 (1,6 %)	0,00 (0,00–Inf, p=0,998)	0,00 (0,00–Inf, p=0,998)
	Злокачественная гистоцитомы/ Malignant fibrous histiocytoma	4 (6,5 %)	5,16 (1,60–16,60, p=0,006)	7,58 (1,86–31,00, p=0,005)
	Десмоид/Desmoid tumors	1 (1,6 %)	0,00 (0,00–Inf, p=0,999)	0,00 (0,00–Inf, p=0,999)
Возраст/Age	Среднее (SD)/Average	57,5 (12,7)	1,05 (1,01–1,08, p=0,009)	1,04 (1,00–1,08, p=0,026)

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

Обсуждение

В современной литературе нет единого мнения относительно целесообразности применения нефронсберегающих технологий. Ряд авторов обосновывает нефронсберегающий подход тем, что у большинства пациентов нефрэктомия выполняется без истинной инвазии опухоли в почку. Р. Russo et al. (1997) [7] на материале 75 пациентов из 371 с РПС, которым была произведена нефрэктомия при удалении основной опухоли, продемонстрировали, что инвазия почечной капсулы была у 15 % пациентов, инвазия в почечную паренхиму – у 9 %, инвазия в почечную вену – у 3 %. У большинства пациентов (73 %) прямая почечная инвазия отсутствовала.

По данным N. Ikoma et al. (2018) [8], из 83 пациентов, включенных в исследование, 76 (92 %) больных подверглись радикальному удалению опухоли (R0/R1), резекции смежных органов выполнены в 38 (46 %) случаях, при этом инвазия резецированного органа/органов наблюдалась у 6 (7 %) пациентов. Расчетная общая выживаемость составила 11,3 года (5-летняя выживаемость – 86 %), безрецидивная выживаемость – 5,4 года (5-летняя безрецидивная выживаемость – 51 %).

При многофакторном анализе установлено, что резекция смежного органа не связана с улучшением общей выживаемости (ОВ) (p=0,428) или безрецидивной выживаемости (БВ) (p=0,946), а ее отсутствие связано с меньшим риском послеоперационных осложнений (p=0,01). Исследование показало отсутствие преимущества по безрецидивной и общей выживаемости при мультиорганных резекциях у больных с высокодифференцированными липосаркомками при отсутствии истинной инвазии опухоли. В этом случае авторы рекомендуют проведение органосохраняющих операций.

Ряд авторов выступает против нефрэктомии из-за потенциального долгосрочного риска хронического заболевания почек (ХБП), требующего в дальнейшем диализа и ограничений при назначении системной химиотерапии. Имеются сообщения об изменениях функции почек после нефрэктомии, выполненной по разным причинам, в том числе при РПС. С. Cho et al. (2017) [9] в сравнительном исследовании, включавшем 114 пациентов, одновременно анализировали онкологические результаты и функцию оставшейся почки после нефрэктомии единым блоком по поводу РПС (n=65) по сравнению с резекцией без нефрэктомии

($n=49$). Авторы при исследовании скорости клубочковой фильтрации (СКФ) в различные сроки до и после операции оценивали степень компенсации функции оставшейся почки. В течение периода наблюдения, равного 29 мес, медиана послеоперационной СКФ в группе нефрэктомии снизилась до 73,5 % относительно дооперационной СКФ. У 38 (58 %) пациентов наблюдалось прогрессирование стадии ХБП после нефрэктомии, но ни у одного пациента она не перешла в терминальную стадию почечной недостаточности. В то же время у пациентов после нефрэктомии отмечались значимые преимущества локального контроля по сравнению с группой без нефрэктомии ($p=0,048$).

W.W. Tseng et al. (2014) [10] на материале 247 пациентов с первичными или рецидивирующими ретроперитонеальными липосаркомками показали, что у 34 % пациентов заболевание носило мультифокальный характер роста. Среди пациентов с первичным монофокальным ростом опухоли у 57 % заболевание прогрессировало до многоочагового локорегионарного заболевания с последующим рецидивом после хирургического лечения, в том числе у 11 % – с новыми опухолями вне исходного поля резекции. Мультифакторный анализ показал, что никакая клинико-патологическая или связанная с лечением переменная, включая гистотип опухоли и объем операции, не являлась предиктором дальнейшего мультифокального или «внепольного» прогрессирования.

Напротив, другие исследователи демонстрируют лучшие результаты хирургического лечения РПС с удалением почки. J. Phu et al. [11] изучили эффективность хирургического лечения больных с РПС, исходящими преимущественно из околопочечной клетчатки. Авторы утверждают, что резекция смежных органов безопасна и улучшает локорегионарный контроль. Исследование включало 79 пациентов, у 68 – операция выполнялась с нефрэктомией, из них 33 больным проведено сочетанное удаление или резекция другого органа помимо почки. У 11 больных удаление РПС проведено без нефрэктомии, при этом 2 больным операция выполнена с резекцией другого органа. При инвазии опухоли в другие органы, кроме почки, безрецидивная выживаемость была значимо ниже, чем при отсутствии таковой, вне зависимости от того, выполнялась нефрэктомия или нет. Удаление забрюшинной опухоли с нефрэктомией значимо улучшало локальный контроль по сравнению с группой без нефрэктомии, независимо от того, выявлялась ли инвазия в почку и ее структуры или нет, в тех случаях, когда не было инвазии в другие соседние органы и структуры [11]. Авторы также делают вывод, что нефрэктомия при НЗО, которые зачастую исходят из периренальной клетчатки, является положительным прогностическим фактором даже в том случае, если истинной инвазии почки нет.

По данным K. Karadayi et al. [12], 5-летняя выживаемость для высокодифференцированных подтипов составляет 90 %, для дедифференцированных – 75 %, для миксоидных/круглоклеточных липосарком – 60–90 %, для плеоморфных – 30–50 %. Очевидно также, что смертность от ретроперитонеальных липосарком является результатом локального рецидива вследствие неполной резекции опухолевой массы из-за сложности дифференциации липосаркомы от прилегающей нормальной жировой ткани и отсутствия анатомически выраженной сосудисто-лимфатической ножки опухоли. Это затрудняет радикальное удаление опухоли в пределах здоровых тканей без резекции органов и структур, прилегающих к опухоли [13], и липосаркомы, наиболее склонные к инвазивному характеру роста, более требовательны к моноблочной (компаратментальной) хирургии [12, 14].

В 2003 г. S. Singer et al. [14] показали, что наличие среди липосарком низкодифференцированного и дедифференцированного вариантов, а также вовлечение смежных с опухолью органов связано с повышенным риском местного рецидива и ухудшением отдаленных результатов. У 68 (38 %) из 177 больных с ретроперитонеальными липосаркомками была выполнена нефрэктомия. Липосаркомы, особенно высокодифференцированные, как правило, не имели истинной инвазии в почечную паренхиму, в этих случаях подход заключался в удалении наружной капсулы почки для достижения «чистого» хирургического края. В случаях циркулярного вовлечения ворот почки в опухолевый процесс обычно выполнялась нефрэктомия. Опираясь на данные многофакторного анализа, авторы делают вывод, что для достижения радикализма операции может потребоваться выполнение нефрэктомии, но она не оказывает заметного влияния на общую выживаемость [14].

Данная тема исследования получила продолжение в работе S. Bonvalot et al. (2009) [15]. Авторы изучили прогностические факторы, влияющие на безрецидивную и общую выживаемость при РПС всех гистотипов в группе, состоявшей из 382 пациентов. Мультифакторный анализ показателей, ассоциированных с локальным контролем после удаления РПС, продемонстрировал положительное влияние низкой степени злокачественности, отсутствия разрыва опухоли, «чистого» хирургического края, а также компартментальной хирургии по сравнению со стандартным объемом операции. Агрессивный рост с инвазией прилежащих органов, высокая степень злокачественности опухоли, нарушение целостности капсулы, макроскопически остаточная ткань опухоли и положительный край резекции являются негативными прогностическими факторами.

Таким образом, нет единого мнения относительно целесообразности компартментального подхода к хирургическому лечению РПС, многие

исследователи рекомендуют дифференцированный подход, обосновывая необходимость сохранения не вовлеченного в опухолевый процесс органа. Нефронсберегающая тактика представляется важной, если принимать во внимание, что развитие в последующем острого повреждения почек и/или наличие хронической болезни почек увеличивает риск смертности у онкологических пациентов от неонкологических причин. Сохранение массы функционирующих нефронов позволяет увеличить ожидаемую продолжительность жизни пациентов, а также не иметь ограничений при адъювантной терапии. Все вышеперечисленные факты побуждают выработать показания к применению нефронсберегающих технологий, используя индивидуальный подход. Благодаря совершенствованию хирургической техники, внедрению в практику различных современных инструментов и технологий и применению физических факторов воздействия на биологические ткани возможно также удаление опухолей с безопасной резекцией почечной паренхимы. При вовлечении в опухолевый процесс области ворот почки, чашечно-лоханочной системы, сосудистой ножки почки разработаны методики прецизионного удаления опухолевых масс с сохранением органа и его структур.

Заключение

Объем резекции органов при удалении РПС должен вырабатываться индивидуально, с обоснованием целесообразности органосберегающего или органосоносящего этапа. На основании анализа литературы и собственного клинического опыта следует отметить важность взвешенного подхода в отношении нефрэктомии. Выбор в пользу нефронсберегающих технологий при неорганных забрюшинных саркомах представляется не всегда обоснованным, особенно при инвазивном росте опухоли, затрагивающем паранефральную зону. Локализация первичной опухоли в паранефральной области, особенно с вовлечением (не только подрастанием, но и интимным прилеганием) почки, лоханки с мочеточником, почечных сосудов, скорее, может служить показанием к нефрэктомии в едином блоке с опухолью. Вовлечение в опухолевый процесс, помимо почки и ее структур, других органов, особенно относящихся к верхнему этажу брюшной полости, предполагает высокий риск рецидива (независимо от радикальности) и, как следствие, необходимость повторных операций и проведение системной химиотерапии. В таких случаях предпочтение следует отдать нефронсберегающим операциям.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Toulmonde M., Bonvalot S., Ray-Coquard I., Stoeckle E., Riou O., Isambert N., Bompas E., Penel N., Delcambre-Lair C., Saada E., Lecesne A., Le Péchoux C., Blay J.Y., Piperno-Neumann S., Chevreau C., Bay J.O., Brouste V., Terrier P., Ranchère-Vince D., Neuville A., Italiano A.; French Sarcoma Group. Retroperitoneal sarcomas: patterns of care in advanced stages, prognostic factors and focus on main histological subtypes: a multicenter analysis of the French Sarcoma Group. *Ann Oncol.* 2014; 25(3): 730–4. doi: 10.1093/annonc/mdt576.
2. Fairweather M., Gonzalez R.J., Strauss D., Raut C.P. Current principles of surgery for retroperitoneal sarcomas. *J Surg Oncol.* 2018; 117(1): 33–41. doi: 10.1002/jso.24919.
3. Sassa N., Yokoyama Y., Nishida Y., Yamada S., Uchida H., Kajiyama H., Nagino M., Kadera Y., Gotoh M. Clinical characteristics and surgical outcomes of retroperitoneal tumors: a comprehensive data collection from multiple departments. *Int J Clin Oncol.* 2020; 25(5): 929–36. doi: 10.1007/s10147-020-01620-1.
4. Cooley C.L., Jagannathan J.P., Kurra V., Tirumani S.H., Saboo S.S., Ramaiya N.H., Shinagare A.B. Imaging features and metastatic pattern of non-IVC retroperitoneal leiomyosarcomas: are they different from IVC leiomyosarcomas? *J Comput Assist Tomogr.* 2014; 38(5): 687–92. doi: 10.1097/RCT.0000000000000097.
5. Faron M., Cavalcanti A., Honore C. Compartmental resection of a retroperitoneal sarcoma. *Journal of Visceral Surgery.* 2019; 156(3): 245–51. doi: 10.1016/j.jvisc Surg. 2019.02.002.
6. Willis F., Schneider M. Retroperitoneale Weichteilsarkome: Chirurgische Therapie [Retroperitoneal soft tissue sarcoma: surgical management]. *Chirurg.* 2022; 93(1): 16–26. German. doi: 10.1007/s00104-021-01506-6.
7. Russo P., Kim Y., Ravindran S., Huang W., Brennan M.F. Nephrectomy during operative management of retroperitoneal sarcoma. *Ann Surg Oncol.* 1997; 4(5): 421–4. doi: 10.1007/BF02305556.
8. Ikoma N., Roland C.L., Torres K.E., Chiang Y.J., Wang W.L., Somaiah N., Mann G.N., Hunt K.K., Cormier J.N., Feig B.W. Concomitant organ resection does not improve outcomes in primary retroperitoneal well-differentiated liposarcoma: A retrospective cohort study at a major sarcoma center. *J Surg Oncol.* 2018; 117(6): 1188–94. doi: 10.1002/jso.24951.
9. Cho C.W., Lee K.W., Park H., Kim H.J., Park J.B., Choi Y.L., Yu J.I., Lee S.J., Choi D.I., Kim S.J. Clinical benefit and residual kidney function of en bloc nephrectomy for perirenal retroperitoneal sarcoma. *Asia Pac J Clin Oncol.* 2018; 14(5): 465–71. doi: 10.1111/ajco.12769.
10. Tseng W.W., Madewell J.E., Wei W., Somaiah N., Lazar A.J., Ghadimi M.P., Hoffman A., Pisters P.W., Lev D.C., Pollock R.E. Locoregional disease patterns in well-differentiated and dedifferentiated retroperitoneal liposarcoma: implications for the extent of resection? *Ann Surg Oncol.* 2014; 21(7): 2136–43. doi: 10.1245/s10434-014-3643-4.
11. Rhu J., Cho C.W., Lee K.W., Park H., Park J.B., Choi Y.L., Kim S.J. Radical Nephrectomy for Primary Retroperitoneal Liposarcoma Near the Kidney has a Beneficial Effect on Disease-Free Survival. *World J Surg.* 2018; 42(1): 254–62. doi: 10.1007/s00268-017-4157-6.
12. Karadayi K., Yildiz C., Karakus S., Kurt A., Bozkurt B., Soyulu S., Cicekli A.A., Egilmez R., Cetin A. Well-differentiated abdominal liposarcoma: experience of a tertiary care center. *World J Surg Oncol.* 2015; 13: 166. doi: 10.1186/s12957-015-0580-z.
13. Nijhuis P.H., Sars P.R., Plaat B.E., Molenaar W.M., Sluiter W.J., Hoekstra H.J. Clinico-pathological data and prognostic factors in completely resected AJCC stage I-III liposarcomas. *Ann Surg Oncol.* 2000; 7(7): 535–43. doi: 10.1007/s10434-000-0535-6.
14. Singer S., Antonescu C.R., Riedel E., Brennan M.F. Histologic subtype and margin of resection predict pattern of recurrence and survival for retroperitoneal liposarcoma. *Ann Surg.* 2003; 238(3): 358–70; discussion 370–1. doi: 10.1097/01.sla.0000086542.11899.38.
15. Bonvalot S., Rivoire M., Castaing M., Stoeckle E., Le Cesne A., Blay J.Y., Laplanche A. Primary retroperitoneal sarcomas: a multivariate analysis of surgical factors associated with local control. *J Clin Oncol.* 2009; 27(1): 31–7. doi: 10.1200/JCO.2008.18.0802.

Поступила/Received 05.02.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 17.06.2024

Принята к публикации/Accepted 05.07.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

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. Researcher ID (WOS): E-8515-2018. Author ID (Scopus): 56879929500. ORCID: 0000-0002-1037-2364.

Чайка Анна Валентиновна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения 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: 6781-1890. Researcher ID (WOS): AАН-1566-2020. Author ID (Scopus): 57200366803. ORCID: 0000-0002-2178-9317.

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. Researcher ID (WOS): W-4911-2019. Author ID (Scopus): 56740937000. ORCID: 0000-0001-8301-4528.

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). SPIN-код: 7170-8030. ORCID: 0000-0002-4131-9179.

Кострыгин 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. ORCID: 0000-0003-1840-8111.

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.

Погосян Гегам Степанович, кандидат медицинских наук, врач торакоабдоминального хирургического отделения, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Арзуманов Сергей Викторович, доктор медицинских наук, заведующий группой трансплантации и заместительной почечной терапии, Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8317-3723. ORCID: 0000-0001-7358-3364.

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

Черемисов Вадим Владимирович, 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; доцент, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9649-7794. Researcher ID (WOS): X-7838-2019. Author ID (Scopus): 56626538400. ORCID: 0000-0001-5979-7745.

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.

Салимзянов Камилль Иршатович, онколог, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8851-6638. ORCID: 0000-0002-9424-3825.

ВКЛАД АВТОРОВ

Рябов Андрей Борисович: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Чайка Анна Валентиновна: разработка концепции научной работы, анализ материала, написание текста.

Хомяков Владимир Михайлович: разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Александров Олег Александрович: статистический анализ материала.

Кострыгин Александр Константинович: сбор материала.

Соболев Дмитрий Дмитриевич: сбор материала.

Погосян Гегам Степанович: сбор материала.

Арзуманов Сергей Викторович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Воробьев Николай Владимирович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Черемисов Вадим Владимирович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Уткина Анна Борисовна: сбор материала.

Аксенов Сергей Александрович: сбор материала.

Макурина Марина Павловна: сбор материала.

Салимзянов Камиль Иршатович: сбор материала.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена (Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр-д, 3), протокол № 113 от 12.04.2024 г.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Andrey B. Ryabov, MD, DSc, Deputy Director, National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Obninsk, Russia); Head of the Department of Thoracic and Abdominal Oncosurgery, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): E-8515-2018. Author ID (Scopus): 56879929500. ORCID: 0000-0002-1037-2364.

Anna V. Chaika, MD, PhD, Researcher, Department of Thoracic and Abdominal Oncosurgery, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAH-1566-2020. Author ID (Scopus): 57200366803. ORCID: 0000-0002-2178-9317.

Vladimir M. Khomyakov, MD, PhD, Head of Department of Thoracic and Abdominal Oncosurgery, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): W-4911-2019. Author ID (Scopus): 56740937000. ORCID: 0000-0001-8301-4528.

Oleg A. Alexandrov, MD, Junior Researcher, Thoracic Surgery Department, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-4131-9179.

Alexander K. Kostygin, 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 Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-1840-8111.

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 Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5305-4705.

Gegam S. Pogosyan, MD, PhD, 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 Russia (Moscow, Russia).

Sergey V. Arzumanov, MD, DSc, Head of Transplantation and Renal Replacement Therapy Group, N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – branch of National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-7358-3364.

Nikolai V. Vorobyov, MD, PhD, Deputy Director, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia; Associate Professor, Department of Oncology, Radiotherapy and Reconstructive Surgery, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5597-9533.

Vadim V. Cheremisov, 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 Russia; Associate Professor, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): X-7838-2019. Author ID (Scopus): 56626538400. ORCID: 0000-0001-5979-7745.

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 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 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 Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-5521-8379.

Kamil I. Salimzyanov, MD, Oncologist, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9424-3825.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Andrey B. Ryabov: concept and design of the study, editing, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Anna V. Chaika: concept and design of the study, data collection and analysis, writing of the manuscript.

Vladimir M. Khomyakov: concept of the study, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Oleg A. Alexandrov: statistical processing, analysis.

Alexander K. Kostrygin: data collection and analysis.

Dmitry D. Sobolev: data collection and analysis.

Gegam S. Pogosyan: data collection and analysis.

Sergey V. Arzumanov: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Nikolai V. Vorobyov: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Vadim V. Cheremisov: concept of the study, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Anna B. Utkina: data collection and analysis.

Sergei A. Aksenov: data collection and analysis.

Marina P. Makurina: data collection and analysis.

Kamil I. Salimzyanov: data collection and analysis.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute (3, 2nd Botkinsky Drive, Moscow, 125284, Russia), protocol No. 113 dated April 12, 2024.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data in medical journal.

DOI: 10.21294/1814-4861-2024-23-45-53
УДК: 618.11-006.66-08:615.28:57.053



Для цитирования: Жукова Г.В., Ульянова Е.П., Меньшенина А.П., Моисеенко Т.И., Златник Е.Ю., Непомнящая Е.М., Сагакянц А.Б., Вереникина Т.И. Иммуногистохимические показатели серозных карцином яичников и возможный механизм развития резистентности к препаратам платины. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 45–53. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-45-53

For citation: Zhukova G.V., Ulyanova E.P., Menshenina A.P., Moiseenko T.I., Zlatnik E.Yu., Nepomnyashchaya E.M., Sagakyants A.B., Verenikina T.I. Immunohistochemical parameters of serous ovarian carcinomas and possible mechanism of development of resistance to platinum-based drugs. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 45–53. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-45-53

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРОЗНЫХ КАРЦИНОМ ЯИЧНИКОВ И ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ПРЕПАРАТАМ ПЛАТИНЫ

Г.В. Жукова, Е.П. Ульянова, А.П. Меньшенина, Т.И. Моисеенко,
Е.Ю. Златник, Е.М. Непомнящая, А.Б. Сагакянц, Т.И. Вереникина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

Аннотация

Цель исследования – определение информативности иммуногистохимических показателей серозных карцином яичников и их статистических связей после неоадьювантного лечения для оценки развития резистентности опухолей к платиносодержащим режимам адьювантной полихимиотерапии (АПХТ). **Материал и методы.** Проводили иммуногистохимическое исследование опухолевой ткани у больных серозным раком яичников высокой степени злокачественности IIIС–IV стадии в возрасте 49–72 лет, чувствительных (n=59) и резистентных (n=22) к платиносодержащим режимам адьювантной полихимиотерапии, у которых был отмечен положительный эффект на неоадьювантную терапию. В ткани опухолей яичников, полученной на этапе хирургического вмешательства после неоадьювантной полихимиотерапии, изучали иммуногистохимические показатели пролиферативной активности (Ki67), экспрессии белка эксцизионной репарации ДНК ERCC1 и белков семейства ABC-транспортёров – Pgp и BCRP, а также статистические связи между этими показателями (коэффициент ранговой корреляции Спирмена). **Результаты.** На этапе хирургического лечения после эффективной неоадьювантной полихимиотерапии в серозных карциномах яичников, продемонстрировавших в дальнейшем резистентность к платиносодержащим режимам полихимиотерапии, отмечены более выраженные признаки активности процессов пролиферации, репарации ДНК и эффлюкса ксенобиотиков по сравнению с опухолями, сохранившими платиночувствительность. При этом более чем в 40 % случаев наблюдалось совпадение диапазонов значений исследованных показателей в опухолях с различной чувствительностью к препаратам платины. Показано, что экспрессия белков-транспортёров, превышающая 60 % для BCRP и 65 % для Pgp, предшествует развитию резистентности к адьювантному лечению с карбоплатином. В исследуемых группах наблюдались различия по числу, направленности и выраженности статистических связей между изученными показателями. Наиболее значительные отличия отмечены для корреляционной связи Ki67 – BCRP, имевшей противоположную направленность в группах с различной чувствительностью к адьювантному лечению с карбоплатином. **Заключение.** Получена комплексная иммуногистохимическая характеристика серозных карцином яичников после неоадьювантной полихимиотерапии, продемонстрировавших впоследствии различную чувствительность к платиносодержащим режимам адьювантной полихимиотерапии, с оценкой прогностического значения изученных показателей. Прогностическое значение в отношении эффекта АПХТ могут иметь выявленные критические уровни экспрессии Pgp и BCRP в ткани опухоли. Результаты корреляционного анализа позволяют предполагать связь формирования платинорезистентности с изменением характера регуляторных отношений между пролиферативной активностью и транспортными процессами в ткани опухоли.

Ключевые слова: серозная карцинома яичников высокой степени злокачественности, платинорезистентность, пролиферация, транспортные белки, статистическая связь, биологическая обратная связь.

IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS OF SEROUS OVARIAN CARCINOMAS AND POSSIBLE MECHANISM OF DEVELOPMENT OF RESISTANCE TO PLATINUM-BASED DRUGS

G.V. Zhukova, E.P. Ulyanova, A.P. Menshenina, T.I. Moiseenko, E.Yu. Zlatnik, E.M. Nepomnyashchaya, A.B. Sagakyants, T.I. Verenikina

National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia
63, 14-th Liniya St., Rostov-on-Don, 344037, Russia

Abstract

The aim of the study was to evaluate a prognostic significance of immunohistochemical parameters in serous ovarian carcinomas and their statistical relationships after neoadjuvant treatment to assess the development of tumor resistance to platinum-containing adjuvant polychemotherapy regimens. **Material and Methods.** An immunohistochemical study of tumor tissue was carried out in patients with high-grade serous ovarian cancer (stage IIIC–IV). The age of the patients ranged from 49–72 years. There were 59 patients who were sensitive and 22 patients who were resistant to platinum-containing adjuvant polychemotherapy. In the tissue of ovarian tumors obtained during surgery after neoadjuvant polychemotherapy, we studied immunohistochemical indicators of proliferative activity (Ki67), expression of the DNA excision repair protein ERCC1 and proteins of the ABC transporter family – Pgp and BCRP, as well as statistical relationships between these indicators (Spearman's rank correlation coefficient). **Results.** After effective neoadjuvant polychemotherapy, more pronounced signs of activity in the processes of proliferation, DNA repair and xenobiotic efflux were noted in serous ovarian carcinomas, which subsequently demonstrated resistance to platinum-containing polychemotherapy regimens compared to tumors that retained platinum sensitivity. Moreover, in 40 % of cases or more, there was a coincidence in the ranges of values of the studied parameters in tumors with different sensitivity to platinum drugs. The expression of transporter proteins greater than 60 % for BCRP and 65 % for Pgp was shown to precede the development of resistance to adjuvant treatment with carboplatin. In the studied groups, differences in the number and significance of statistical relationships between the variables were observed. The most significant differences were noted for the Ki67 – BCRP correlation, which had the opposite direction in groups with different sensitivity to adjuvant treatment with carboplatin. **Conclusion.** A comprehensive immunohistochemical analysis of high-grade serous ovarian carcinomas after neoadjuvant polychemotherapy, which further demonstrated different sensitivity to platinum-containing adjuvant regimens, was carried out, and the prognostic value of the studied parameters was assessed. The revealed critical levels of Pgp and BCRP expression in tumor tissue may have a prognostic value regarding the effect of adjuvant polychemotherapy. The results of the correlation analysis suggest a relationship between the development of platinum resistance and changes in the nature of the regulatory relationships between proliferative activity and transport processes in tumor tissue.

Key words: high-grade serous ovarian cancer, platinum resistance, proliferation, transport proteins, statistical relationship, biofeedback.

Введение

В настоящее время развитие резистентности к препаратам платины, формирующейся у 75–90 % больных раком яичников (РЯ), является острой проблемой клинической онкологии, резко снижающей шансы пациенток с распространенным РЯ на получение эффективной помощи и определяющей высокую летальность [1, 2]. При этом обнадеживающие результаты первых курсов лекарственного лечения не гарантируют сохранение платиночувствительности опухолей на дальнейших этапах терапии. Решение данной проблемы связано с выявлением механизмов развития платинорезистентности и поиском эффективных прогностических маркеров. На современном этапе еще не удалось выявить ни одного молекулярно-генетического, иммуногистохимического (ИГХ) или биохимического показателя, позволяющего прогнозировать развитие устойчивости к платиносодержащим

режимам химиотерапии [3–5], подобно тому, как это имеет место в отношении выживаемости пациентов с опухолями некоторых других локализаций [6–8].

Известно о связи мутаций в генах *BRCA 1/2* с чувствительностью к препаратам платины при РЯ и раке молочной железы (РМЖ) [9]. Однако чувствительностью к указанным факторам могут обладать и пациентки, у которых такие мутации отсутствуют. Ранее в качестве маркеров динамики чувствительности РЯ к препаратам платины рассматривались показатели активности белка ERCC1 [6, 7], однако дальнейшие исследования не подтвердили их прогностическую значимость [8, 9]. Распространенность случаев отсутствия сверхэкспрессии эффлюксных белков при платинорезистентном РЯ и выраженного лечебного эффекта при ингибировании их активности [10, 11] свидетельствует о малой изученности кон-

кретных форм участия белков-транспортёров в развитии лекарственной резистентности. Остается открытым вопрос о соотношении эффлюкса противоопухолевых химиопрепаратов и транспорта эндогенных проопухолевых факторов, о динамике пролиферативных и транспортных процессов [12]. Не исследована роль не связанных с изменением генов регуляторных нарушений, развивающихся на различных структурно-функциональных уровнях организма, которые могут проявляться не только в виде резких сдвигов тех или иных показателей, но и в изменении динамики их соотношений и корреляционных связей на фоне терапии [13, 14]. Все вышесказанное обуславливает целесообразность проведения комплексного исследования, направленного на уточнение информативности ИГХ характеристик карцином яичников и их статистических связей для прогноза динамики чувствительности опухолей к лекарственной терапии с использованием препаратов платины.

Целью исследования явилось определение информативности иммуногистохимических показателей серозных карцином яичников и их статистических связей после неоадъювантного лечения для оценки развития резистентности опухолей к платиносодержащим режимам адъювантной полихимиотерапии (АПХТ).

Материал и методы

Ретроспективно изучены ИГХ показатели в ткани опухолей яичников у больных РЯ III–IV стадии постменопаузального возраста (49–72 года), у которых был отмечен положительный эффект на неоадъювантную полихимиотерапию (НАПХТ), позволивший перейти к этапу хирургического лечения в объеме оптимальной циторедукции и последующей АПХТ. По данным гистологического исследования у всех пациенток наблюдалась серозная карцинома высокой степени злокачественности (high grade). Больным проводилось 3 курса НАПХТ карбоплатином и паклитакселом. Схема АПХТ также включала карбоплатин и паклитаксел, количество курсов варьировало от 4 до 6. Всем пациенткам проводились стандартные клинико-лабораторные исследования в соответствии с клиническими рекомендациями [15], включая определение концентрации сывороточных маркеров CA-125 и He-4. Всем больным исследован мутационный статус генов *BRCA 1/2* с помощью метода HRM-PCR (High Resolution Melt Polymerase chain reaction) и секвенирования по Сэнгеру.

Больные были распределены на 2 группы в зависимости от сроков развития рецидива заболевания, по которому определялась чувствительность опухоли к платиносодержащим режимам АПХТ [15]. В группу больных с опухолями, сохранившими чувствительность к АПХТ (платиночувствительные опухоли), вошло 59 женщин, у которых рецидив РЯ развивался в сроки, превышавшие 6 мес

с момента окончания последнего курса АПХТ. Группу больных с опухолями, резистентными к платиносодержащим режимам АПХТ (платинорезистентные опухоли), составили 22 пациентки, у которых прогрессирование отмечено на фоне проведения АПХТ или в течение 6 мес после ее завершения. Четвертая стадия РЯ выявлена у 17 (29 %) больных с платиночувствительными опухолями и у 7 (32 %) пациенток с платинорезистентными карциномами. Больные исследованных групп не имели значимых различий по распространенности процесса, возрасту, характеру и выраженности сопутствующих заболеваний.

В последние годы для оценки ответа распространенного РЯ на химиотерапию часто используется система CRS (Chemotherapy Response Score), предусматривающая оценку изменений в ткани большого сальника на фоне НАПХТ. Имеются противоречивые данные об информативности показателей CRS в отношении прогноза платинорезистентности, а также отмечается недостаточная стандартизация методических подходов при их определении [16]. В силу этого мы сочли целесообразным использовать традиционные критерии лечебного патоморфоза и сосредоточиться на изменениях в опухолях яичников как при оценке лечебного патоморфоза НАПХТ, так и при выявлении связи резистентности с особенностями экспрессии ИГХ показателей. В результате при гистологическом исследовании опухолевой ткани в обеих группах после НАПХТ отмечены четко выраженное нарушение структуры опухоли и уменьшение ее площади на 30 % и более, а также другие признаки, указывающие на лечебный патоморфоз II или III степени по Г.А. Лавниковой [17].

В ткани серозных карцином яичников, полученных после проведения НАПХТ, с помощью ИГХ методов проводили сравнительное изучение пролиферативной активности (Ki67), а также экспрессии белка эксцизионной репарации ДНК ERCC1 и двух белков семейства ABC-транспортёров – Pgp и BCRP. Для этого использовали поликлональные кроличьи антитела к Pgp (или MDR1, 1:600) и ERCC1 (1:300) фирмы Affinity Biosciences, поликлональные кроличьи антитела к Ki67 (1:200, Diagnostic BioSystem), моноклональные мышинные антитела к BCRP (клон JF0994, 1:300, Hangzhou HuaAn Biotechnology Co.Ltd.). Срезы докрашивали гематоксилином Карацци, для заключения использовали витрогель. Оценка результатов ИГХ реакции проводилась с применением светового микроскопа «AxioLab.A1» (Германия) при $\times 10$, $\times 20$ и $\times 40$.

Для определения экспрессии Ki67 подсчитывали процентное содержание окрашенных в результате ИГХ реакции опухолевых клеток, приходящихся на 100 опухолевых клеток. В соответствии с традиционным способом оценки значения 0–20 % расценивали как низкие, 21–50 % – как умеренные

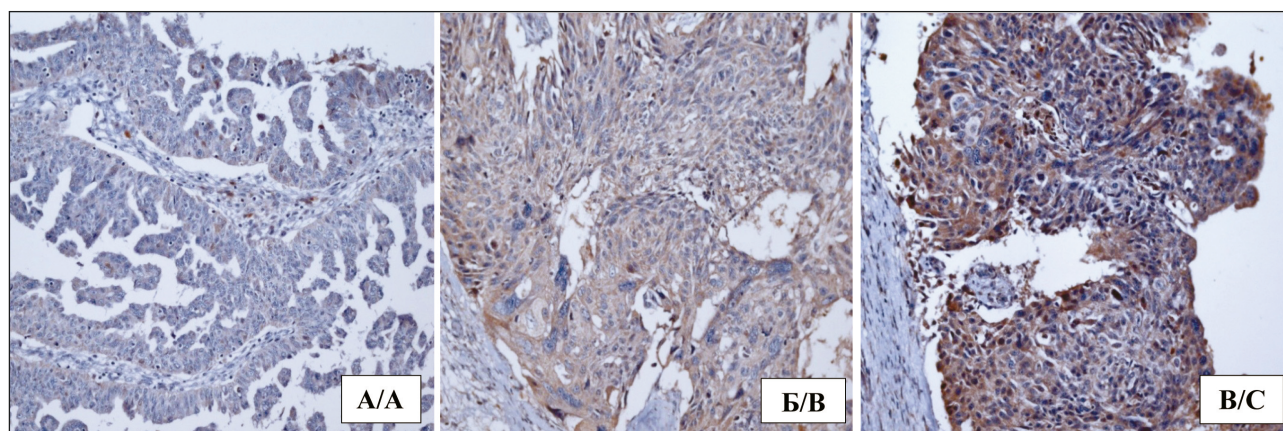


Рис. 1. Микрофото. Различная выраженность экспрессии белка ERCC-1 в серозных карциномах яичников, $\times 200$. А – отсутствие экспрессии; Б – низкая экспрессия, 1+; В – высокая экспрессия, 2+. Примечание: микрофото выполнены авторами
 Fig. 1. Microphoto. Different expression of ERCC-1 protein in serous ovarian carcinomas, $\times 200$. А – lack of expression; Б – low expression, 1+; В – high expression, 2+. Note: created by the authors

и 51–100 % – как высокие. Аналогичным образом, но с применением более подробной градации, оценивали экспрессию маркеров Pgp, BCRP и ERCC1: 1 (0–10 %), 2 (11–50 %), 3 (50–74 %), 4 (>75 %). При этом выраженность экспрессии ИГХ параметров в клетке определяли также полуколичественно по интенсивности окрашивания: 1+ – низкая, 2+ – умеренная, 3+ – высокая. Экспрессия считалась положительной при оценке не менее 2 по каждой из двух указанных шкал. На рис. 1 представлены микрофотографии ткани серозных карцином яичников у больных с различной выраженностью экспрессии ИГХ маркеров на примере белка экспозиционной репарации ДНК ERCC1.

Межгрупповые сравнения показателей проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (U-критерий) и критерия согласия Пирсона χ^2 . В силу важности выявления критических величин, имеющих прогностическое значение, при анализе вариационных рядов обращали внимание на минимальные и максимальные значения рассматриваемых показателей ($x_{\min} - x_{\max}$) [18]. Статистические связи между исследованными показателями оценивали с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена (с оценкой его статистической значимости) и общепринятой градации выраженности («тесноты») связи на «слабую», «умеренную», «заметную» и «высокую», определяемой абсолютным значением коэффициента (шкала Чеддока). Использовали пакет программ «Statistica 13.3» (StatSoft Inc., США).

Исследования проведены с соблюдением «Этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием человека» и в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации».

Результаты и обсуждение

Медиана продолжительности безрецидивного периода у больных с платиночувствительными

опухолями составила 19 мес, у больных с платинорезистентными опухолями – 5,2 мес ($p=0,00001$ Log-Ranktest). Также в исследуемых группах более чем в 2 раза различались показатели 3-летней общей выживаемости: у больных с чувствительностью к АПХТ – 51 %, у больных с резистентным течением – 23 % ($p<0,05$). Межгрупповые различия в выраженности токсических осложнений АПХТ не отмечены.

При молекулярно-генетическом исследовании у больных с платинорезистентным течением заболевания случаев мутаций в генах *BRCA 1/2* не выявлено. У пациенток с опухолями, сохранившими чувствительность к АПХТ с карбоплатином, не наблюдались герминальные мутации в гене *BRCA2*. В гене *BRCA1* мутации выявлены у 8 из 59 таких больных (13 %). Эти мутации относились к 4 патогенным типам – 5382insC, 300T>G (C61G), 2080delA и с.1960A>T. При этом наиболее часто ($n=4$) встречалась минорная для российской популяции мутация 300T>G(C61G). В одном случае наблюдалась мутация Asp 1344del с неопределенным клиническим значением. Таким образом, в ходе исследования не отмечено связи между развитием платинорезистентности серозных карцином яичников на этапе АПХТ и наличием герминальных мутаций в генах *BRCA 1/2* больных РЯ.

При изучении ИГХ показателей состояния ткани серозных карцином яичников после НАПХТ в целом выявлены признаки более высокого уровня пролиферации (Ki67), а также более высокой активности белков ERCC1, Pgp и BCRP у больных при развитии резистентности к препаратам платины на этапе АПХТ (табл. 1, 2). В то же время у больных с платиночувствительными карциномами также отмечены случаи выраженной экспрессии исследуемых факторов, а у пациенток с платинорезистентными карциномами нередко встречались случаи сниженной экспрессии того или иного фактора. В наибольшей степени это

Таблица 1/Table 1

Характеристики пролиферативной активности после НАПХТ в серозных карциномах яичников, продемонстрировавших в дальнейшем различную чувствительность к платиносодержащим режимам АПХТ

Characteristics of proliferative activity in serous ovarian carcinomas after NAPCT, which further demonstrated different sensitivity to platinum-containing APCT regimens

Группа (опухоли)/ Groups (tumors)	Частота встречаемости умеренных и высоких значений Ki67/ Frequency of moderate and high Ki67 values	Значения Ki67 Me [x _{min} –x _{max}]/ Ki67 values Me [x _{min} –x _{max}]
Платиночувствительные/ Platinum sensitive	42 %	17 [1–60] %
Платинорезистентные/ Platinum resistant	77 %* p=0,006	38,5 [10–60] % p=0,305

Примечания: * – статистически значимо отличается от показателей платиночувствительных опухолей. Критерии χ^2 Пирсона и Манна–Уитни; таблица составлена авторами.

Notes: * – statistically significantly differs from the indexes in platinum-sensitive tumors. χ^2 Pearson’s and Mann–Whitney tests; created by the authors.

Таблица 2/Table 2

Показатели активности белков, ответственных за репарацию ДНК и эффлюкс химиопрепаратов, после НАПХТ в серозных карциномах яичников, продемонстрировавших в дальнейшем различную чувствительность к платиносодержащим режимам АПХТ

Characteristics of activity of proteins responsible for DNA repair and chemotherapy efflux in serous ovarian carcinomas after NAPCT, which further demonstrated different sensitivity to platinum-containing APCT regimens

Маркеры (белки)/ Markers (proteins)	Группы (опухоли)/ Groups (tumors)	Частота положительной экспрессии маркера/ Frequency of cases of positive marker expression	Относительное число клеток, экспрессирующих маркер Me [x _{min} –x _{max}]/ Relative number of cells expressing the marker Me [x _{min} –x _{max}]
ERCC1	Платиночувствительные/ Platinum sensitive	10 %	8 [0–33] %
	Платинорезистентные/ Platinum resistant	54 %* p<0,001	20 [0–80] % p=0,063
Pgr	Платиночувствительные/ Platinum sensitive	68 %	40 [4–65] %
	Платинорезистентные/ Platinum resistant	95,5 %* p=0,011	70 [40–100] %* p=0,003
BCRP	Платиночувствительные/ Platinum sensitive	80 %	35 [10–60] %
	Платинорезистентные/ Platinum resistant	91 %	65 [45–90] %* p=0,013

Примечания: * – статистически значимо отличается от показателей платиночувствительных опухолей. Критерии χ^2 Пирсона и Манна–Уитни; таблица составлена авторами.

Notes: * – statistically significantly differs from the indexes in platinum-sensitive tumors. χ^2 Pearson’s and Mann–Whitney tests; created by the authors.

было выражено для показателей экспрессии Ki67 и ERCC1, что ограничивало диагностическую ценность этих маркеров. Так, при высокой частоте случаев умеренных и высоких значений Ki67 в платинорезистентных опухолях (77 %) частота таких случаев среди больных с платиночувствительными опухолями была, хотя статистически и ниже (p=0,006), но все же весьма значительной – 42 % случаев (табл. 1).

Результаты экспрессии белков ERRCI, Pgr и BCRP представлены в табл. 2. Опухоли, платинорезистентные на этапе АПХТ, заметно превосходили карциномы, оставшиеся платиночувствительными, по числу случаев положительной экспрессии этих факторов и/или по относительному числу

опухолевых клеток, их экспрессирующих. При этом в случае развития платинорезистентности относительное число карцином с положительной экспрессией ERRCI (54 %) незначительно превышало относительное число опухолей с отрицательной экспрессией (46 %), что соответствовало сведениям об отсутствии прогностического значения данного маркера для развития лекарственной резистентности [8, 9].

Более информативными оказались различия в экспрессии исследованных белков ABC-транспортеров. Несмотря на высокую частоту случаев положительной экспрессии в группе пациентов с платиночувствительными опухолями (68 % для Pgr и 80 % для BCRP), относительное

Таблица 3/Table 3

Корреляционные связи между изученными ИГХ показателями после НАПХТ в серозных карциномах яичников, продемонстрировавших в дальнейшем различную чувствительность к платиносодержащим режимам АПХТ. Значения коэффициента Спирмена
Correlations between the studied immunohistochemical indexes in serous ovarian carcinomas after NAPCT, which further demonstrated different sensitivity to platinum-containing APCT regimens. Spearman coefficient values

А. Платиночувствительные опухоли (n=59)/A. Platinum sensitive tumors (n=59)				
Параметры/Parameters	Ki67	ERRCI	Pgp	BCRP
Ki67	1	0,206	-0,045	-0,675*
ERRCI	0,206	1	0,042	0,075
PgP	-0,045	0,042	1	0,325*
BCRP	-0,675*	0,075	0,325	1
Б. Платинорезистентные опухоли (n=22)/ B. Platinum resistant tumors (n=22)				
Параметры/Parameters	Ki67	ERRCI	Pgp	BCRP
Ki67	1	0,000	0,313	0,813*
ERRCI	-0,045	1	0,329	0,500*
PgP	0,042	0,329	1	0,500*
BCRP	0,813*	0,500*	0,500*	1

Примечания: * – статистически значимые связи, $p < 0,05$; таблица составлена авторами.

Notes: * – statistically significant relationships, $p < 0.05$; created by the authors.

число клеток, экспрессирующих маркеры белков-транспортёров, в платинорезистентных карциномах весьма значительно превышало эти показатели в платиночувствительных опухолях ($p \leq 0,013$, значения медиан различались не менее чем в 1,75 раза, табл. 2). При этом более чем в половине карцином, ставших впоследствии платинорезистентными, относительное число экспрессирующих клеток было выше максимальных значений этих показателей в платиночувствительных опухолях, которые составили для BCRP и Pgp 60 и 65 % соответственно (табл. 2). Таким образом, во всех случаях превышения показателями экспрессии белков-транспортёров указанных критических значений было отмечено развитие платинорезистентности РЯ на этапе АПХТ. Ранее зарубежными исследователями показано увеличение продолжительности жизни пациенток с распространенным РЯ в случае положительной экспрессии Pgp и некоторых других ИГХ маркеров в ткани пораженных яичников [10, 12], что косвенно отражало связь транспортных процессов в серозных карциномах яичников с развитием платинорезистентности. Мы считаем, что полученный нами результат дополняет представления о такой связи.

При корреляционном анализе выявлены значимые связи между процентным числом опухолевых клеток, экспрессирующих исследованные маркеры, которые различались у пациенток с платиночувствительным и платинорезистентным РЯ по числу, выраженности и направленности. При этом наиболее тесные связи по шкале Чеддока наблюдались между Ki67 и BCRP (табл. 3).

Так, в опухолях, сохранивших платиночувствительность на этапе АПХТ, значимая корреляционная связь Ki67 – BCRP, выраженность

которой по шкале Чеддока характеризовалась как «заметная», имела отрицательный знак (-0,675, $p < 0,05$, табл. 3А). В опухолях, продемонстрировавших в дальнейшем платинорезистентность, эта связь оказалась более выраженной («высокой») и имела уже положительный знак (+0,813, $p < 0,05$; табл. 3Б). Кроме того, при платинорезистентном РЯ была более выраженной положительная связь BCRP – Pgp («заметная» связь, +0,500, $p < 0,05$, табл. 3Б) по сравнению с положительной «умеренной» статистической связью в случае платиночувствительных опухолей (+0,375, $p < 0,05$, табл. 3А). Еще одно отличие платинорезистентного РЯ заключалось в наличии «заметной» положительной связи BCRP – ERRCI (+0,500, $p < 0,05$; табл. 3Б), которая не проявилась в случае платиночувствительных опухолей яичников (+0,075, $p > 0,05$; табл. 3А).

Выявленные межгрупповые различия могут указывать на изменения в клеточной регуляции серозных карцином яичников, связанные с развитием платинорезистентности. Так, заметная отрицательная корреляция между Ki67 и экспрессией BCRP в платиночувствительных опухолях может отражать замедление выведения препаратов платины из ткани серозных карцином яичников опухоли при росте пролиферативной активности клеток. Возможно, осуществление такой регуляции по принципу отрицательной биологической обратной связи, направленной на сдерживание пролиферации опухолевых клеток, способствует сохранению чувствительности опухоли к препаратам платины. Следуя этой логике, можно предположить, что развитие платинорезистентности связано с утратой такого механизма и «включением» регуляции по принципу положительной биологической обратной связи, при которой транспортные белки будут,

напротив, способствовать усилению клеточной пролиферации в опухоли путем ускорения вывода химиопрепаратов из опухолевых клеток вследствие повышения и синхронизации активности BCRP и Pgp. При этом некоторый вклад в формирование лекарственной устойчивости могла вносить синхронизация активности BCRP и ERCC1.

Заключение

Частота развития платинорезистентных опухолей яичников не ограничивается случаями первичнорезистентного РЯ, встречающегося в 15 % случаев. Формирование платинорезистентности наблюдается у значительной части больных распространенным РЯ после выраженного эффекта первых курсов ПХТ. В настоящем исследовании проведено изучение информативности ИГХ показателей пролиферативной активности (Ki67), эксцизионной репарации ДНК (ERCC1) и эффлюкса (ABC-транспортеры Pgp и BCR) в серозных карциномах яичников high grade, а также статистических связей между ними после эффективной НАПХТ для прогнозирования развития платинорезистентности на этапе АПХТ. Показано, что опухоли, впоследствии утратившие чувствительность к препаратам платины на этапе АПХТ, в целом имели более высокие показатели по сравнению с карциномами, сохранившими платиночувствительность. В то же время низкая и отрицательная экспрессия наблюдались в ряде случаев и при формировании платинорезистентного РЯ, а выраженная экспрессия изученных показателей нередко отмечалась и в платиночувствительных опухолях, несмотря на эффективность НАПХТ. Это отражало изначально высокий агрессивный потенциал серозных карцином яичников и высокую пластичность процессов эксцизионной репарации ДНК и эффлюкса химиопрепаратов в опухолевых клетках, способных в последующем обеспечить развитие их платинорезистентности. Совпадение диапазонов значе-

ний показателей пролиферативной активности и эксцизионной репарации ДНК в опухолях с различной чувствительностью к препаратам платины более чем в 40 % случаев свидетельствует о недостаточной выраженности границы для валидации пациенток с высоким или низким риском развития платинорезистентного серозного РЯ по указанным показателям. При этом имеется основание для предположения о прогностическом значении уровня экспрессии белков-транспортеров, превышающих 60 % для BCRP и 65 % – для Pgp, в отношении формирования резистентного фенотипа.

Результаты корреляционного анализа указывают на связь развития платинорезистентности с перестройками регуляторных отношений между пролиферацией и активностью эффлюксных белков, что может составлять один из механизмов развития устойчивости серозного РЯ к платиносодержащим режимам АПХТ. Так, сохранению платиночувствительности опухоли может способствовать отрицательная биологическая обратная связь, направленная на сдерживание пролиферации опухолевых клеток путем замедления выведения препаратов платины из ткани опухоли при росте ее пролиферативной активности. В свою очередь, развитие платинорезистентности может быть связано с утратой такого механизма и формированием положительной биологической обратной связи, при которой ускорение вывода химиопрепаратов из опухолевых клеток с помощью изученных белков-транспортеров будет способствовать усилению клеточной пролиферации в опухоли. Экспериментальное подтверждение существования предполагаемого механизма развития резистентности РЯ к платиносодержащим режимам ПХТ может способствовать не только разработке способов прогнозирования эффекта терапии препаратами I линии, включая препараты платины, но и возможности таргетного воздействия на эти механизмы для преодоления лекарственной резистентности.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Юнусова Н.В., Фесик Е.А. Молекулярно-генетические подтипы рака яичников: перспективы дальнейших исследований. Вопросы онкологии. 2019; 65(1): 56–62. [Villert A.B., Kolomiets L.A., Yunusova N.V., Fesik E.A. Molecular and genetic subtypes of ovarian cancer: prospects for further studies. Problem in Oncology. 2019; 65(1): 56–62. (in Russian)].
2. Motohara T., Yoshida G.J., Katabuchi H. The hallmarks of ovarian cancer stem cells and niches: Exploring their harmonious interplay in therapy resistance. Semin Cancer Biol. 2021; 77: 182–93. doi: 10.1016/j.semcancer.2021.03.038.
3. Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Кут О.И., Кутин Д.С. Зависимость общей и безрецидивной выживаемости больных от молекулярно-генетического подтипа плоскоклеточного рака пищевода. Вопросы онкологии. 2019; 65(5): 691–700. [Kolesnikov E.N., Maksimov A.Yu., Kut O.I., Kutin D.S. Dependence of overall and relapse-free patient's survival from molecular genetic subtype of esophageal squamous cell cancer. Problem in Oncology. 2019; 65(5): 691–700. (in Russian)]. doi: 10.37469/0507-3758-2019-65-5-691-700.
4. Yu L., Jiang R., Chen W., Liu Ya., Wang G., Xin Gong X., Wang Yo. Novel prognostic indicator combining inflammatory indicators and tumor markers for gastric cancer. World J Surg Onc. 2023; 21(1). doi: 10.1186/s12957-023-02926-w.
5. Golubeva V.A., Nepomuceno T.C., Monteiro A.N.A. Germline Missense Variants in BRCA1: New Trends and Challenges for Clinical Annotation. Cancers (Basel). 2019; 11(4): 522. doi: 10.3390/cancers11040522.
6. Steffensen K.D., Smoter M., Waldstrom M., Grala B., Bodnar L., Stec R., Szczylik C., Jakobsen A. Resistance to first line platinum paclitaxel chemotherapy in serous epithelial ovarian cancer: The prediction value of ERCC1 and Tau expression. Int J Oncol. 2014; 44(5): 1736–44. doi: 10.3892/ijo.2014.2311.
7. Бозуш Т.А., Попова А.С., Дудко Е.А., Бозуш Е.А., Тюляндина А.С., Тюляндин С.А., Давыдов М.И. ERCC1 как маркер резистентности рака яичников к препаратам платины. Антибиотики и химиотерапия. 2015; 60(3–4): 42–50. [Bogush T.A., Popova A.S., Dudko E.A., Bogush E.A., Tyulyandina A.S., Tyulyandin S.A., Davydov M.I. ERCC1 as a marker of ovarian cancer resistance to platinum drugs. Antibiotics and Chemotherapy. 2015; 60(3–4): 42–50. (in Russian)].
8. Бозуш Т.А., Стенина М.Б., Бозуш Е.А., Заркуа В.Т., Калужный С.А., Мамичев И.А., Тюляндина А.С., Тюляндин С.А. Количественные показатели экспрессии ERCC1 в ткани серозного рака яичников и эффективность I линии химиотерапии с включением препаратов платины. Антибиотики и химиотерапия. 2018; 63(1–2): 24–31. [Bogush T.A., Stenina M. B., Bogush E.A., Zarkua V.T., Kalyuzhny S.A., Mamichev I.A., Tyulyandina A.S., Tyulyandin S.A., Polotsky B.E., Davydov M.M. The Quantitative Indices of ERCC1 Expression in Serous

Ovarian Cancer Tissue and the Efficacy of First-Line Platinum-Based Chemotherapy. Antibiotics and Chemotherapy. 22018; 63(1–2): 24–31. (in Russian)].

9. Bao Y., Yang B., Zhao J., Shen S., Gao J. Role of common ERCC1 polymorphisms in cisplatin-resistant epithelial ovarian cancer patients: A study in Chinese cohort. Int J Immunogenet. 2020; 47(5): 443–53. doi: 10.1111/iji.12484.

10. Lu D., Shi H.C., Wang Z.X., Gu X.W., Zeng Y.J. Multidrug resistance-associated biomarkers PGP, GST-pi, Topo-II and LRP as prognostic factors in primary ovarian carcinoma. Br J Biomed Sci. 2011; 68(2): 69–74. doi: 10.1080/09674845.2011.11730326.

11. Xiao H., Zheng Y., Ma L., Tian L., Sun Q. Clinically-Relevant ABC Transporter for Anti-Cancer Drug Resistance. Front Pharmacol. 2021; 12. doi: 10.3389/fphar.2021.648407.

12. Muriithi W., Macharia L.W., Heming C.P., Echevarria J.L., Nyachio A., Filho P.N., Neto V.M. ABC transporters and the hallmarks of cancer: roles in cancer aggressiveness beyond multidrug resistance. Cancer Biol Med. 2020; 17(2): 253–69. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0284.

13. Glass L. Synchronization and rhythmic processes in physiology. Nature. 2001; 410(6825): 277–84. doi: 10.1038/35065745.

14. Михайлов Н.Ю., Гаркави Л.Х., Мащенко Н.М., Жукова Г.В. Исследование связи параметров лейкоцитарной формулы крови с частотными характеристиками сигнала пульсовой волны. Биофизика. 2012; 57(1): 99–104. [Mikhailov N.Yu., Garkavi L.Kh., Mashchenko N.M., Zhukova G.V. High-frequency oscillations in a pulse wave signal and their

relation to differential blood leucocyte counts. Biophysics. 2012; 57(1): 99–104. (in Russian)]. doi: 10.1134/S0006350912010150.

15. Тюляндина А.С., Коломиец Л.А., Морхов К.Ю., Нечушкина В.М., Покатаев И.А., Румянцев А.А., Тюляндин С.А., Урманчиева А.Ф., Хохлова С.В. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака яичников, первичного рака брюшины и рака маточных труб. Злокачественные опухоли. 2022; 12(3s2-1): 198–211. [Tyulandina A.S., Kolomiets L.A., Morkhov K.Yu., Nechushkina V.M., Pokataev I.A., Rumyantsev A.A., Tyulyandin S.A., Urmancieva A.F., Khokhlova S.V. Practical recommendations for drug treatment of ovarian cancer, primary peritoneal cancer and fallopian tube cancer. Malignant tumors. 2022; 12(3s2-1): 198–211. (in Russian)]. doi: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s2-198-211.

16. Rodolakis I., Pergialiotis V., Lontos M., Haidopoulos D., Loutradis D., Rodolakis A., Bamias A., Thomakos N. Chemotherapy Response Score in Ovarian Cancer Patients: An Overview of Its Clinical Utility. J Clin Med. 2023; 12(6): 2155. doi: 10.3390/jcm12062155.

17. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю., Двинских Н.Ю. Патоморфоз опухолей человека. М., 2021. 224 с. [Lushnikov E.F., Abrosimov A.Yu., Dvinskikh N.Yu. Pathomorphosis of human tumors. Moscow, 2021. 224 p. (in Russian)].

18. Guo C., Lu M., Chen J. An evaluation of time series summary statistics as features for clinical prediction tasks. BMC Med Inform Decis Mak. 2020; 48. doi: 10.1186/s12911-020-1063-x.

Поступила/Received 21.07.2023

Одобрена после рецензирования/Revised 24.06.2024

Принята к публикации/Accepted 08.07.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Жукова Галина Витальевна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1887-7415. Researcher ID (WOS): Y-4243-2016. Author ID (Scopus): 7005456284. ORCID: 0000-0001-8832-8219.

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

Меньшенина Анна Петровна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела опухолей репродуктивных органов, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6845-4794. Author ID (Scopus): 57191983118. ORCID: 0000-0002-7968-5078.

Моисеенко Татьяна Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник отдела опухолей репродуктивных органов, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6341-0549. Author ID (Scopus): 57194270696. ORCID: 0000-0002-9683-2164.

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

Непомнящая Евгения Марковна, доктор медицинских наук, профессор, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 8930-9580. Author ID (Scopus): 6603292428. Researcher ID (WOS): AAN-6917-2020. ORCID: 0000-0003-0521-8837.

Сагакянц Александр Борисович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7272-1408. Researcher ID (WOS): M-8378-2019. Author ID (Scopus): 24329773900. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

Вереникина Екатерина Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая отделением онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6610-7824. Author ID (Scopus): 57194271506. ORCID: 0000-0002-1084-5176.

ВКЛАД АВТОРОВ

Жукова Галина Витальевна: написание текста, интерпретация результатов.

Ульянова Елена Петровна: статистическая обработка, анализ и интерпретация результатов.

Меньшенина Анна Петровна: анализ и интерпретация результатов.

Моисеенко Татьяна Ивановна: разработка концепции исследования.

Златник Елена Юрьевна: участие в интерпретации результатов с внесением ценного интеллектуального содержания.

Непомнящая Евгения Марковна: интерпретация результатов.

Сагакянц Александр Борисович: научное редактирование.

Вереникина Екатерина Владимировна: научное редактирование.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра онкологии (Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63), протокол № 358 от 15.12.2021 г.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных и фотоматериалов в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Galina V. Zhukova, DSc, Senior Researcher, Laboratory for Studying the Pathogenesis of Malignant Tumors, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): Y-4243-2016. Author ID (Scopus): 7005456284. ORCID: 0000-0001-8832-8219.

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

Anna P. Menshenina, MD, PhD, Leading Researcher, Department of Tumors of the Reproductive Organs, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57191983118. ORCID: 0000-0002-7968-5078.

Tatyana I. Moiseenko, MD, Professor, Senior Researcher, Department of Tumors of the Reproductive Organs, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57194270696. ORCID: 0000-0002-9683-2164.

Elena Yu. Zlatnik, MD, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Tumor Immunophenotyping, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 6603160432. ORCID: 0000-0002-1410-122X.

Evgenia M. Nepomnyashchaya, MD, Professor, Pathologist, Pathology Department, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 6603292428. Researcher ID (WOS): AAH-6917-2020. ORCID: 0000-0003-0521-8837.

Alexander B. Sagakyants, PhD, Head of the Laboratory of Tumor Immunophenotyping, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): M-8378-2019. Author ID (Scopus): 24329773900. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

Ekaterina V. Verenikina, MD, DSc, Head of the Department of Gynecological Oncology, National Medical Research Center for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57194271506. ORCID: 0000-0002-1084-5176.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Galina V. Zhukova: writing of the manuscript, interpretation of results.

Elena P. Ulyanova: statistical processing, analysis and interpretation of results.

Anna P. Menshenina: analysis and interpretation of results.

Tatyana I. Moiseenko: development of the research concept.

Elena Yu. Zlatnik: participation in the interpretation of the results with the introduction of valuable intellectual content.

Evgenia M. Nepomnyashchaya: interpretation of the results.

Alexander B. Sagakyants: scientific editing.

Ekaterina V. Verenikina: scientific editing.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of National Medical Research Institute of Oncology (63, 14-th Liniya St., Rostov-on-Don, 344037, Russia), protocol No. 358 dated December 15, 2021.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data and photographs in medical journal.

Для цитирования: Сударских Т.С., Ларионова И.В., Ракина М.А., Кзышкowska Ю.Г. Биомаркеры модельных опухолеассоциированных макрофагов *ex vivo*. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 54–65. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-54-65

For citation: Sudarskikh T.S., Larionova I.V., Rakina M.A., Kzhyshkowska J.G. Biomarkers for modeling of cancer-specific tumor-associated macrophages *ex vivo*. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 54–65. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-54-65

BIOMARKERS FOR MODELING OF CANCER-SPECIFIC TUMOR-ASSOCIATED MACROPHAGES *EX VIVO*

T.S. Sudarskikh¹, I.V. Larionova^{1,2}, M.A. Rakina^{1,2}, J.G. Kzhyshkowska^{1,3,4}

¹National Research Tomsk State University
36, Lenina St., Tomsk, 634050, Russia

²Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences
5, Kooperativny St., Tomsk, 634009, Russia

³University of Heidelberg
1–3, Theodor-Kutzer-Ufer, Mannheim, 68167, Germany

⁴German Red Cross Blood Service Baden-Württemberg-Hessen
107, Friedrich Ebert St., Mannheim, 68167, Germany

Abstract

Introduction. Tumor-associated macrophages (TAMs) are essential innate immune cells in the tumor microenvironment. TAMs can stimulate cancer cell proliferation and primary tumor growth, angiogenesis, lymphangiogenesis, cancer cell invasiveness in vessels and metastatic niche formation as well as support chemotherapy resistance. TAMs are phenotypically diverse both in various cancer localizations and in intratumoral heterogeneous compartments. Tumor-specific modeling of TAMs is necessary to understand the fundamental mechanism of pro- and anti-tumor activity, to test their interaction with existing therapies, and to develop TAM- targeted immunotherapy. **Aim of study:** To investigate cancer-specific transcriptomic features of *ex vivo* human TAM models. **Material and Methods.** Here we compared transcriptomic profiles of TAMs for breast, colorectal, ovarian, lung, and prostate cancers *ex vivo*. Human monocytes were isolated from buffy coats, and then stimulated by the tumor cell conditioned medium *ex vivo*. Using real-time PCR, we quantified the expression of key TAM biomarkers including inflammatory cytokines, scavenger-receptors, angiogenesis-regulating genes, and matrix remodeling factors. **Results.** PCR analysis allowed revealing cancer-specific expression profiles of modeled TAMs. By comparing the existing knowledge about TAM phenotypes in human tumors *in vivo* with the collected data, we discuss the advantages and limitation of *ex vivo* TAM models derived from human blood monocytes. **Conclusion.** Monocytes-derived macrophages stimulated with cancer cell-conditioned medium can, to a certain extent, allow modeling of cancer-specific programming of TAMs. Our model system is valuable to examine agents reprogramming key TAM pro-tumoral activities, and for the reproducible analysis of mechanistic events that program tolerogenic status of TAMs towards cancer cells.

Key words: tumor-associated macrophages, M1/M2 classification, cytokines, scavenger-receptors.

БИОМАРКЕРЫ МОДЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ *EX VIVO*

Т.С. Сударских¹, И.В. Ларионова^{1,2}, М.А. Ракина^{1,2}, Ю.Г. Кжышковска^{1,3,4}

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»

Россия, 634050, г. Томск, ул. Ленина, 36

²Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

³Гейдельбергский университет

Германия, 68167, г. Мангейм, Теодор-Кутцер-Уфер, 1–3

⁴Служба крови Немецкого Красного Креста Баден-Вюртемберг-Гессен

Германия, 68167, г. Мангейм, ул. Фридриха Эберта, 107

Аннотация

Введение. Опухولةассоциированные макрофаги (ОАМ) являются важными клетками врожденного иммунитета в микроокружении опухоли. ОАМ могут стимулировать пролиферацию опухолевых клеток и рост первичной опухоли, ангиогенез, лимфангиогенез, инвазию опухолевых клеток и образование метастатических ниш, а также влиять на чувствительность опухоли к химиотерапии. ОАМ – фенотипически разнообразная популяция клеток, и их гетерогенность наблюдается в зависимости как от локализации рака, так и от их внутриопухолевого расположения. Моделирование ОАМ в системах *ex vivo* необходимо для понимания молекулярных механизмов их про- и противоопухолевой активности, тестирования их взаимодействия с существующими противоопухолевыми препаратами или для разработки ОАМ-таргетной иммунотерапии.

Цель исследования – изучить специфичные для рака транскриптомные особенности модельных ОАМ человека *ex vivo*. **Материал и методы.** Проведено сравнение транскриптомных профилей ОАМ рака молочной железы, колоректального рака, рака яичников, рака легких и рака простаты *ex vivo*. Моноциты человека выделяли из лейкоцитарной пленки, а затем стимулировали средой, кондиционированной опухолевыми клетками. Используя ПЦР в режиме реального времени, количественно оценивалась экспрессия ключевых биомаркеров ОАМ, включая воспалительные цитокины, скавенджер-рецепторы, регуляторы ангиогенеза и факторы ремоделирования внеклеточного матрикса. **Результаты.** ПЦР-анализ позволил выявить специфичные для рака профили экспрессии модельных ОАМ. При сравнении накопленных сведений о фенотипах ОАМ в опухолях человека *in vivo* с собранными данными были обсуждены преимущества и ограничения нашей модели ОАМ *ex vivo*, полученной из моноцитов крови человека. **Выводы.** *Ex vivo* система макрофагов, полученных из моноцитов, стимулированных средой, кондиционированной раковыми клетками, может в определенной степени позволить моделировать специфическое для разных опухолей программирование ОАМ. Наша модельная система может быть полезна для изучения механизмов действия таргетных агентов, перепрограммирующих ключевые проопухолевые активности ОАМ.

Ключевые слова: опухолеассоциированные макрофаги, M1/M2 макрофаги, цитокины, скавенджер-рецепторы.

Introduction

Macrophages are essential components of the innate immune system playing crucial role in inflammation and cancer [1]. Macrophages are generally divided into two polarization states: classically activated pro-inflammatory macrophages 1 (M1) and alternatively activated anti-inflammatory macrophages 2 (M2) [2, 3]. In tumor microenvironment (TME), M1 macrophages are classified as antitumor and are able to recognize and kill cancer cells, while M2 macrophages promote tumor growth [3]. M1 and M2 polarization is triggered by diverse stimuli from the microenvironment, including growth factors, cytokines, chemokines, components of extracellular matrix (ECM), and other molecules [4, 5]. M1 macrophages express nitric oxide, reactive oxygen species, number of pro-inflammatory factors (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, CXCL9, CXCL10, CXCL11, and TNF- α), and surface

receptors including molecules of the main histocompatibility complex [MHC], CD68, CD80, CD86, and MARCO. Oppositely, M2 macrophages abundantly express anti-inflammatory factors, including IL-10, TGF- β , CCL14, CCL17, CCL18, CCL22, CCL24, arginase-1, CD206, CD204, and CD163 [4, 5].

Tumor-associated macrophages (TAMs) stimulate angiogenesis, metastasis, tumor cell immunity evasion, tumor cell proliferation and tumor growth, which has been shown in numerous *in vitro* and *in vivo* studies [1, 3, 6]. The predominance of M2 macrophages in the TME correlates with poor prognosis in lung cancer [7, 8], colorectal cancer [9], breast cancer [6], ovarian cancer [10], and other cancers. In the TME, M2 macrophages contribute to the survival of cancer cells and reduce their apoptosis [11], while M1 macrophages, on the contrary, promote apoptosis of cancer cells [8].

Many studies performed using cancer patient material demonstrate more complex diversity of TAMs inside the tumor that doesn't conform to generally accepted M1/M2 *in vitro* classification [2, 12]. Moreover, state-of-the-art technologies of single cell and spatial analysis open the perspectives to distinguish novel subpopulations of TAMs in different cancers [13, 14]. Despite the fact that *in vitro* studies of TAM activities have been performed for many years, recent advances allowed improvement and modify such models.

In our study, we generated TAMs for breast, colorectal, ovarian, lung, and prostate cancers using CD14+ human monocytes by stimulating them with cancer cell conditioned medium. We analyzed major TAM biomarkers, indicating pro-tumor activity, widely used for the analysis *in vitro* and *in vivo*. The advances and limitations of our models were demonstrated and discussed.

Aim of study: To investigate cancer-specific transcriptomic features of *ex vivo* human TAM models.

Material and Methods

Cell cultures

Tumor cell lines were obtained from the bioresource collection of vertebrate cell cultures of the Institute of Sciences of the Russian Academy of Sciences (St. Petersburg, Russia) and from the collection of The Global Bioresource Center, the American Type Culture Collection (ATCC, USA).

The following tumor cell lines were used for the study: MCF7 (breast adenocarcinoma, subtype LumA), BT474 (breast adenocarcinoma, subtype LumB), MDA-MB-231 (breast adenocarcinoma, triple-negative cancer), SKBR3 (breast adenocarcinoma, expressing human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) cancer), SW837 (rectal adenocarcinoma), SKOV3 (ovarian serous cystadenocarcinoma), PC3 (prostate adenocarcinoma), and A549 (lung adenocarcinoma) [15]. Each cell line was cultured in recommended growth medium supplemented with 1 % antibiotic penicillin/streptomycin (PanEco, Russia) and 10 % fetal bovine serum (FBS) (Capricorn, Germany). Before use, the FBS was inactivated at 56 °C for 30 min. MCF7, MDA-MB-231 and A549 cell lines were grown in DMEM medium (Gibco, USA); BT474, SKBR3, SKOV3, and PC3 cell lines were grown in RPMI1640 medium (Gibco, USA); SW837 cell line was cultivated in Leibovitz's medium (Gibco, USA). Conditioned cancer cell supernatants were collected and filtered through sterile syringe filters with low protein binding ability having a 0.22 µm pore size (Millipore, USA). Filtered tumor cell line conditioned media were frozen at -80 °C until the stimulation of freshly isolated monocytes.

Monocyte isolation

Human monocytes were obtained from the Siberian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency (Seversk, Russia). Monocytes were isolated from the buffy coats of ten healthy donors using magnetic sorting (MACS)

with CD14-positive selection. The buffy coats were diluted with PBS free of Ca²⁺ and Mg²⁺ (Gibco, ThermoFisher) at a ratio of 1:1. The resulting suspension (30 ml) was layered on 15 ml ficoll density 1.077 (PanEco, Russia). The mononuclear fraction after centrifugation was collected from the ficoll/serum interphase, transferred to fresh tubes, and washed twice with PBS. The washed cells were resuspended in 5 ml PBS and applied to a percoll-based continuous gradient consisting of 13.5 ml percoll (Sigma, USA), 1.5 ml 10x Earl's minimum basic medium (Sigma, USA) and 15 ml Spinner's medium (Sigma, USA). After centrifugation, the fraction in the upper part of the gradient enriched in monocytes up to 60–80 % was collected and washed 3 times with PBS. The monocyte-enriched fraction was used for magnetic sorting of cells using human CD14 MicroBeads (Miltenyi Biotech, USA). The purity was 95–98 % that was monitored by analysis of the surface expression of the monocyte marker CD14 by flow cytometry (CytoFLEX, Beckman Coulter, USA).

Modeled system

for tumor-associated macrophages

A model system for tumor-associated macrophages (TAMs) was obtained by the stimulation of primary human monocytes with cytokines (M-CSF 10 ng/µl [RP01221, ABclonal, China] and IL-4 10 ng/µl [RP00995, ABclonal, China]), and Dexamethasone 10⁻⁸M (D4902, Sigma, USA) and cancer cell conditioned media as has been described in our recent study [16]. Monocytes were cultivated at a concentration of 1x10⁶ cells/ml. Tumor cell supernatants were added to freshly isolated monocytes in an amount of 20 % of the total volume of the medium. As a control, monocytes were incubated with 20 % of empty cancer cell culture medium (DMEM, Leibovitz's or RPMI1640). Cells were cultured for 6 days at 37°C. After 6 days of cell incubation, the medium was removed, the plates with cells were placed on ice, and lysis buffer was added. Cell lysates were used for RNA isolation and further cDNA synthesis.

Quantitative real time PCR

RNA isolation from TAM samples was carried out according to the standard method using RNeasy Mini Kit (#74004, Qiagen, USA). cDNA synthesis was performed using RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (#K1621, Thermo Fisher Scientific, USA) with random hexanucleotide primers in accordance with the instructions for the kit. Gene expression was measured using Taqman technology and normalized to housekeeping gene expression for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). 2^{-ΔΔCT} algorithm was used to calculate the expression of genes of interest. First, the difference in threshold cycle between the target and reference genes was calculated:

$$\Delta CT = CT(\text{a target gene}) - CT(\text{a reference gene}).$$

Second, the difference between the target and reference samples was calculated:

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT(\text{a target sample}) - \Delta CT(\text{a reference sample}).$$

Finally, to work out the gene expression we did 2 to the power of negative $\Delta\Delta Ct$:

$$\text{Fold gene expression} = 2^{-(\Delta\Delta Ct)}.$$

Primers were designed using Vector NTI Advance 11.5.4 (Vector NTI, RRID:SCR_014265) and NCBI database. The primers were synthesized by DNA Synthesis (Moscow, Russia). qRT-PCR was performed using AriaMx Real-Time PCR thermocycler (RRID:SCR_019469, Agilent Technologies, USA).

The expression of genes that functionally refer to the pro- and antitumor TAM polarization was analyzed: *IL1 β* , *CXCL8*, *IL6*, *MRC1*, *CD163*, *MARCO*, *CXCL10*, *CCL2*, *MMP9*, *SPP1*, *SPARC*, *S100A4*, *IL10*, *Stab1*, *CHID1*, *CHI3L2*, *CHI3L1*, *CCL18*, *VEGFA*, *TGF β* , *SOC3*, *CCL2*, and *GATA3* (Table 1).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Statistica 8.0 for Windows and GraphPad Prism 8.4.2. Shapiro–Wilk test was used for normality. The Mann–Whitney test for independent groups was implemented. Results of real-time PCR were presented using GraphPad Prism 8.4.2 software. Results were considered to be significant with $p < 0.05$.

Results

The major aim of the present study was to find significant differences in the phenotype of TAMs activated by the stimuli from the conditioned medium (CM) of different cancer cell lines: breast cancer (luminal A, luminal B, triple-negative breast cancer

Table 1/Таблица 1

Sequences of primers with original design Последовательности праймеров оригинального дизайна

Gene/ Ген	Sequence/Последовательность	Gene/ Ген	Sequence/Последовательность
<i>GAPDH</i>	F 5'- GCCAGCCGAGCCACATC-3'	<i>IL6</i>	F 5'- CTGGATTCAATGAGGAGACTTG-3'
	R 5'- GGCAACAATATCCACTTTACCAGA-3'		R 5'- GCTTGTCTCTCACTACTCTCAAA-3'
	FAM-CGCCCAATACGACCAATCCG-BHQ1		FAM-TCATCACTGGTCTTTTGAGTTTGA-BHQ1
<i>CCL2</i>	F 5'- CTCGCTCAGCCAGATGC-3'	<i>IL10</i>	F 5'- GCTGGAGGACTTTAAGGGTTA-3'
	R 5'- ACTTGCTGCTGGTGATTCTTC-3'		R 5'- TGTCTGGGTCTTGGTTCTCA-3'
	FAM-CAATGCCCCAGTCACCTGCTGT-BHQ1		FAM-AGCCTTGTCTGAGATGATCCAGTTT-BHQ1
<i>CCL18</i>	F 5'-CCAAGCCAGGTGTCATCCT-3'	<i>MARCO</i>	F 5'- CAGGGAGTGAAAGGATCTTCT-3'
	R 5'-CTTCAGGTCGCTGATGTATTCT-3'		R 5'- GGACACTGAGTTTTCACCTCTT-3'
	FAM-CCACTTCTATTGGGGTCAGCACAGATC-BHQ1		FAM-AGCAAGGAGTAAAGGGAGAAAAAGG-BHQ1
<i>CCRL2</i>	F 5'- GGCACCAGAGGATGAATATGATG-3'	<i>MMP9</i>	F 5'- CTTCCAGTACCGAGAGAAAGC-3'
	R 5'- GCGTCATACTTGTACATTGC-3'		R 5'- GCAGGATGTCATAGGTCACG-3'
	FAM-CATAGAAGGTGAAGTGGAGAGCGATGAG-BHQ1		FAM-TTCTGCCAGGACCGCTTCTACTG-BHQ1
<i>CD163</i>	F 5'-TAGTGAGTGTGGGCACAAG-3'	<i>MRC1</i>	F 5'- CTGCGACAGTAAACGAGGCT-3'
	R 5'-CCGACTGCAATAAAGGATGA-3'		R 5'- TGTTGAATCGTTGCTGGAGG-3'
	FAM-CACAACAGGTCGCTCATCCCG-BHQ1		FAM-TGCCAGACACGATCCGACCCTTCC-BHQ1
<i>CHID1</i>	F 5'- CCAGGTGGCAAAGAACCA-3'	<i>SOC3</i>	F 5'- GATTCTACTCTGTGCCTCTGA-3'
	R 5'- TGGGTGAGCATGTGGATGA-3'		R 5'- GCTGAGTATGTGGCTTTCCTATG-3'
	FAM-CGATGGCTTCGTGGTGGAGGT-BHQ1		FAM-AGAGATTCGCCTTAAATGCTCCCTGTCC-BHQ1
<i>CHI3L1</i>	F 5'- CTCAAGAACAGGAACCCCAA-3'	<i>SPP1</i>	F 5'- ACCTGACATCCAGTACCCTGA-3'
	R 5'- GGCTATCTTGGAAAATCTTTGAG-3'		R 5'-ACGGCTGTCCCAATCAGAAG-3'
	FAM-TGTGCTGTCGGAGGATGGAACCT-BHQ1		FAM-TGGAAAGCGAGGAGTTGAATGTGCATACA-BHQ1
<i>CHI3L2</i>	F 5'- AACAACAAGGTTATCATCAAGGAC-3'	<i>SPARC</i>	F 5'- CTGTGACCTGGACAATGACAA-3'
	R 5'- TTTGGGATTCTTGGTTTGTAG-3'		R 5'- ATCCTTGTGCGATATCTCTGCTTG-3'
	FAM-AGTGAAGTGATGCTCTACCAGACCAT-BHQ1		FAM-TACATCGCCCTGGATGAGTGGG-BHQ1
<i>CXCL8</i>	F 5'- CACTGTGTGTAAACATGACTTCC-3'	<i>STAB1</i>	F 5'- TCCGCCTCTGGAATATAAG-3'
	R 5'- GGTGAAAAGGTTTGGAGTATGT-3'		R 5'- CAGCTCATCCTGCGACAG-3'
	FAM-CAGTTTTTGCCAAAGGAGTGCTAAAGAACT-BHQ1		FAM-TTCACCATCTTCGTGCCGCA-BHQ1
<i>CXCL10</i>	F 5'- AGTGGCATCAAGGAGTACCT-3'	<i>S100A4</i>	F 5'- TCTTGGTTTGATCCTGACTGC-3'
	R 5'- CTAAAGACCTTGGATTAACAGGTT-3'		R 5'- CACCCTCTTTGCCCGAGTA-3'
	FAM-TGATGCAGGTACAGCGTACAGTTCTA-BHQ1		FAM-CATGGCGTGCCCTCTGGAGAA-BHQ1
<i>GATA3</i>	F 5'- CCTCATTAAGCCCAAGCGAA-3'	<i>TGFβ</i>	F 5'- CCTGGACACCAACTATTGCTT-3'
	R 5'- AGAGTGTGGTTGTGGTGGT-3'		R 5'- TCCTTGCGGAAGTCAATGTAC-3'
	FAM-CAGCCAGGAGAGCAGGACG-BHQ1		FAM-TCCACGGAGAAGAACTGCTGCG-BHQ1
<i>IL1β</i>	F 5'-TGGCTTATTACAGTGGAATG-3'	<i>VEGFA</i>	F 5'- GAATCATCACGAAGTGGTGAA-3'
	R 5'-TGGAAGGAGCACTTCATCTC-3'		R 5'- TGGCTTGAAGATGACTCGAT-3'
	FAM-CCATCAGCTTCAAAGAACAAGTCA-BHQ1		FAM-CGAGACCCCTGGTGGACATCTT-BHQ1

Note: created by the authors.

Примечание: таблица составлена авторами.

Table 2/Таблица 2

Differential expression of macrophage-related genes in models of human *ex vivo* TAMs
Дифференциальная экспрессия генов в модельных ОАМ человека *ex vivo*

Genes	MCF-7	BT-474	MDA-MB-231	SKBR-3	SW-837	SKOV-3	PC-3	A-549
Inflammatory cytokines/Воспалительные цитокины								
<i>Il1b</i>	0.0708	0.6829 p=0.0185	1.1886 p=0.0264	0.7584 p=0.0185	0.0301	0.0556	0.304 p=0.0433	0.7093
<i>IL6</i>	0.642	4.018	15.284 p=0.0653	15.354	-5.558	1.058	2.651	11.284 p=0.0947
<i>CXCL8</i>	0.0891	0.184	0.5903	0.9206 p=0.0052	0.5997 p=0.0753	0.2799 p=0.0524	0.5866	0.7385
<i>IL10</i>	0.2717	0.0953	0.868 p=0.035	0.2802	-0.3514	-0.228	0.2129	-0.0962
Macrophage recruitment and polarization/Рекрутирование и поляризация макрофагов								
<i>CCL2</i>	3.561	2.52	6.063 p=0.0435	8.249 p=0.0355	1.008	1.369	10.849 p=0.0115	5.981 p=0.0101
<i>CCRL2</i>	0.0668	-0.0964	-0.1146	0.4802	-0.046	0.2832 p=0.0892	0.1275	-0.0833
<i>GATA3</i>	0.3042	-0.0948	2.0198 p=0.0814	0.5335	0.1705	-0.1682	0.2665	0.6828
<i>SOCS3</i>	0.05546	0.19895	0.24187	0.21025	-0.03503	0.00763	0.02615	0.01563
<i>CXCL10</i>	-2.3641	0.5281	-2.1778	9.3161 p=0.043	-0.1853	0.9031	3.6161 p=0.0748	-2.674
<i>CHID1</i>	0.1138	-0.0456	-0.10158	-0.017	-0.0513	-0.0697	0.0218	-0.13091
Scavenger receptors/Сквенджер-рецепторы								
<i>STAB1</i>	-0.0851	0.1487	-0.0062	0.0135	-0.2077	-0.3165	0.7053	-0.1652
<i>CD163</i>	-0.0022	0.469	0.4436	-0.1097	-0.1522	-0.1923	0.347	0.1672
<i>MRC1</i>	-0.718	0.053	0.709	-0.122	-0.753	-0.393	1.029 p=0.0787	-0.517
<i>MARCO</i>	0.09016	0.2859	0.46816	0.0458	-0.1616	-0.002	0.244	0.00527
Angiogenesis-regulating proteins/Белки-регуляторы ангиогенеза								
<i>SPP1</i>	-0.1136	-0.2487	-0.2316	-0.6193	1.8967	2.269	0.025	-0.2781
<i>SPARC</i>	-0.1954	-0.1845 p=0.0856	-0.381 p=0.001	-0.3367 p=0.0719	0.5231 p=0.0753	0.0771	-0.3005 p=0.022	-0.3865 p=0.0056
<i>S100A4</i>	-0.6318 p=0.0435	-0.3758 p=0.0606	-0.6588 p=0.0041	-0.282 p=0.0504	-0.1381	-0.2738 p=0.0416	-0.3761 p=0.0122	-0.627 p=0.0764
<i>VEGFA</i>	-0.1784	0.1331	-0.0798	0.4883 p=0.0892	0.3102 p=0.0753	-0.018	0.0415	0.2266
<i>CHI3L1</i>	0.0719	-0.2876	-0.0873	-0.2283	0.0471	-0.2348	-0.38	-0.2332
<i>CHI3L2</i>	-0.1279	0.2445	0.3945	0.2328	-0.1195	0.08	0.0608	0.0507
Matrix remodeling and invasion/Ремоделирование матрикса и инвазия								
<i>MMP9</i>	-0.0091	0.2479	0.3284	0.5292 p=0.0892	0.0717	0.2582	0.2861	-0.0266
<i>TGFb</i>	-0.0806	0.117	-0.1939	0.0345	-0.1822	-0.0232	-0.0405	-0.2692
<i>CCL18</i>	1.251	4.623	4.593	-2.241	-0.182	-2.633	-2.269	4.122

Notes: fold changes are indicated for all stimulations in comparison with control; statistically significant changes are marked in bold; values with minus indicate decreased expression compared to control, values without minus – increased expression; created by the authors.
Примечания: кратность изменений для всех стимуляций указана по сравнению с контролем; значимые различия выделены жирным шрифтом; значения с минусом указывают на снижение экспрессии по сравнению с контролем, без минуса – на повышение; таблица составлена авторами.

[TNBC], and HER2-positive subtypes), colorectal cancer, prostate cancer, lung cancer, and ovarian cancer. The comparative analysis was performed in groups of CM-stimulated TAMs versus TAMs stimulated by empty media.
The most activated state was observed in TAMs modeled for breast cancer. Statistically significant up-regulation of pro-inflammatory cytokines *IL1b* and

CXCL8 as well as anti-inflammatory cytokine *IL10* was found in breast cancer-modeled TAMs compared to control (Table 2, Fig. 1). The mRNA expression of pro-migratory factors *CCL2* and *CXCL10* were elevated in modeled TAMs (Table 2, Fig. 2). In contrast, downregulation of angiogenesis-regulating genes *SPARC* and *S100A4* was detected in breast cancer TAMs compared to control media (Table 2, Fig. 1 supplementary).

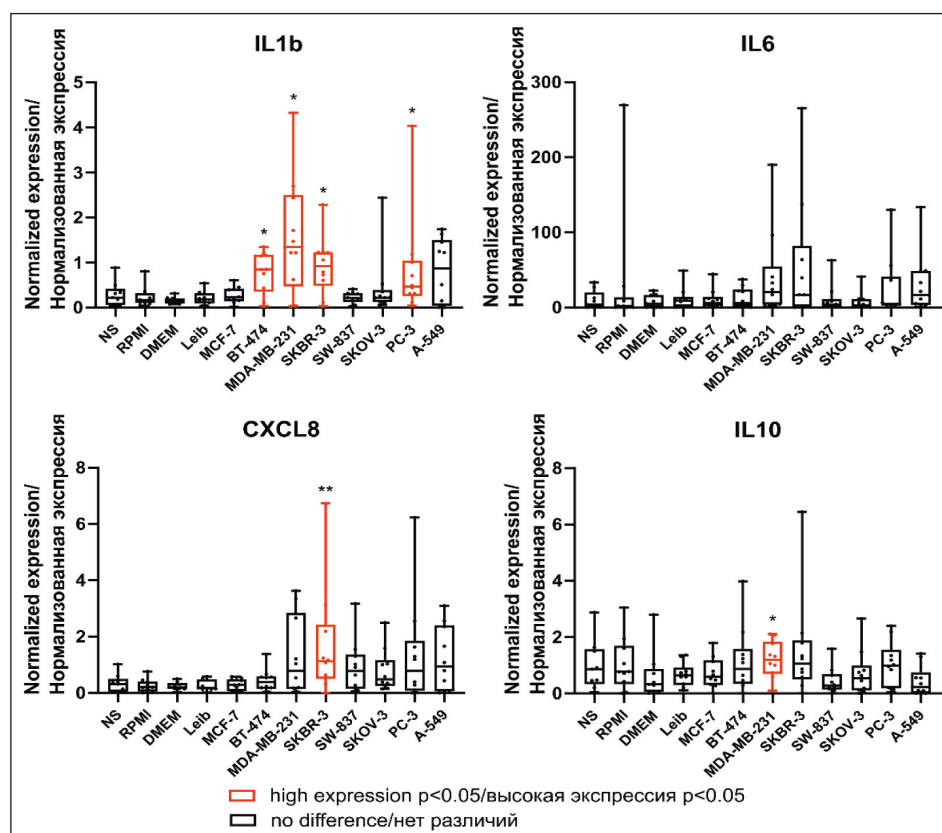


Fig. 1. The mRNA expression of inflammation-related genes in human modeled TAMs.

Notes: * – p<0.05, ** – p<0.01; created by the authors

Рис. 1. Экспрессия мРНК факторов, связанных с воспалением, в модельных ОАМ человека. Примечания: * – p<0,05, ** – p<0,01; диаграммы выполнены авторами

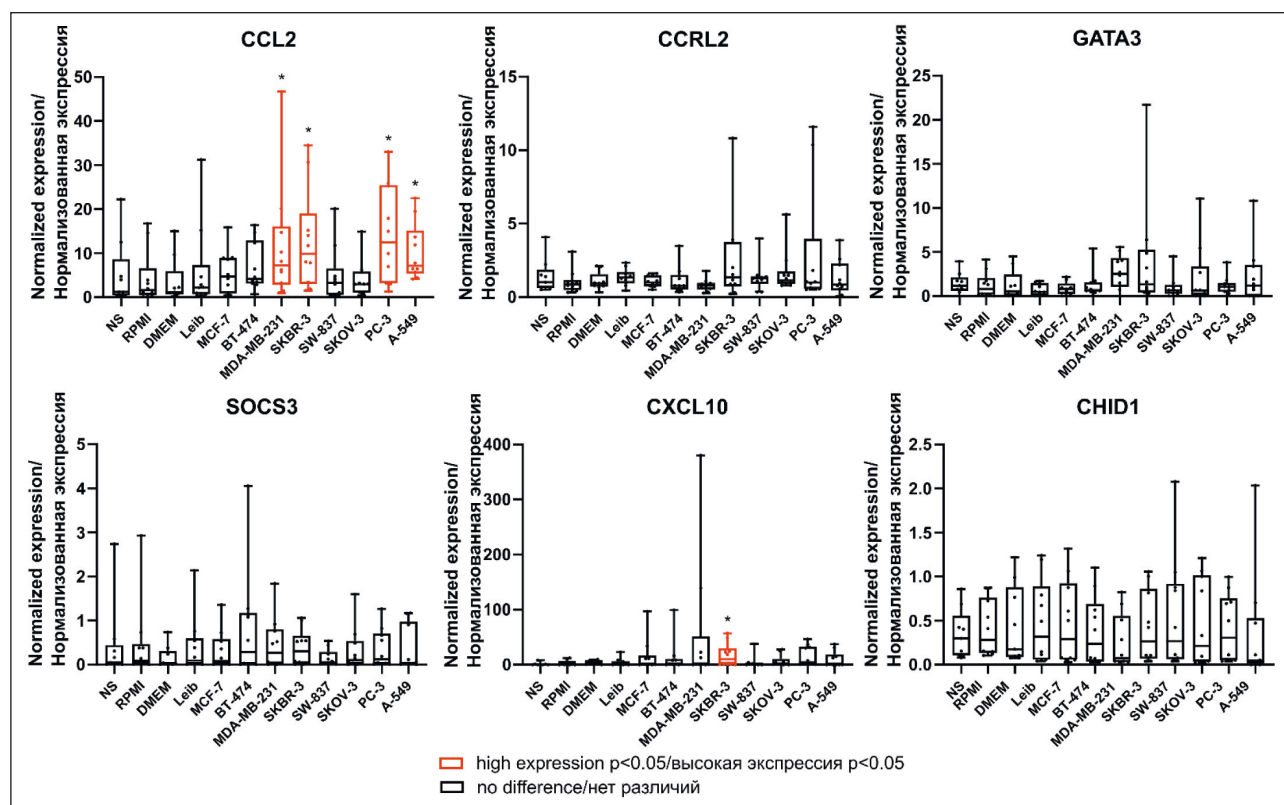


Fig. 2. The mRNA expression of pro-migratory factors in human modeled TAMs.

Notes: * – p<0.05; created by the authors

Рис. 2. Экспрессия мРНК про-миграционных факторов в модельных ОАМ человека.

Примечания: * – p<0,05; диаграммы выполнены авторами

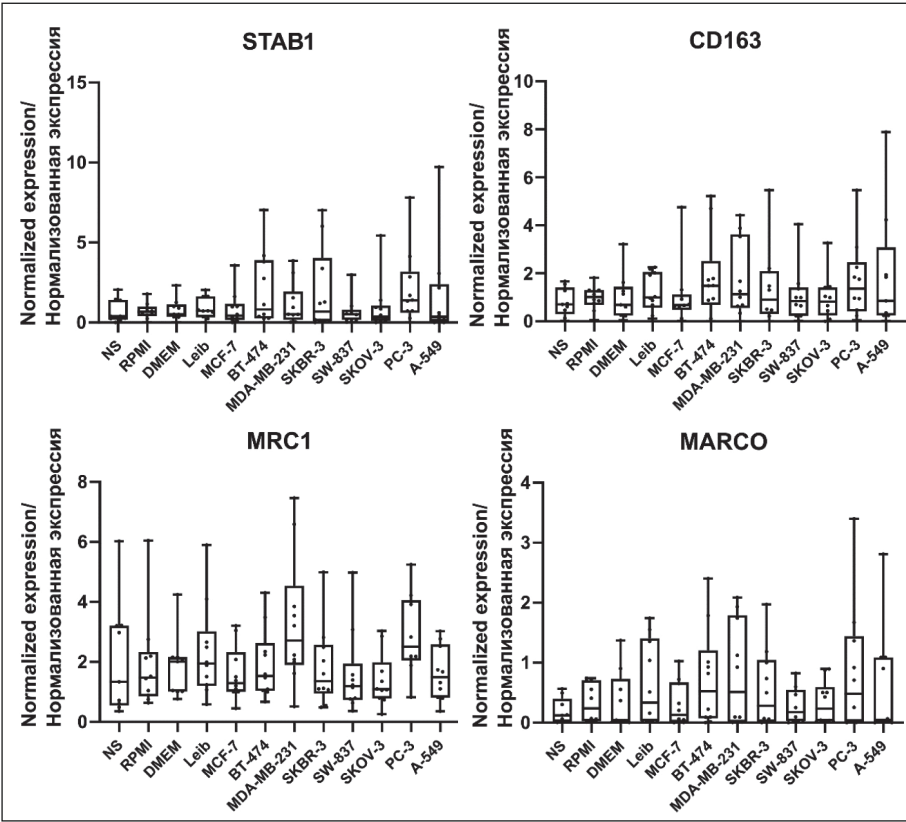


Fig. 3. The mRNA expression of scavenger receptors in human modeled TAMs.
Note: created by the authors
Рис. 3. Экспрессия мРНК сквенджер-рецепторов в модельных ОАМ человека. Примечание: диаграммы выполнены авторами

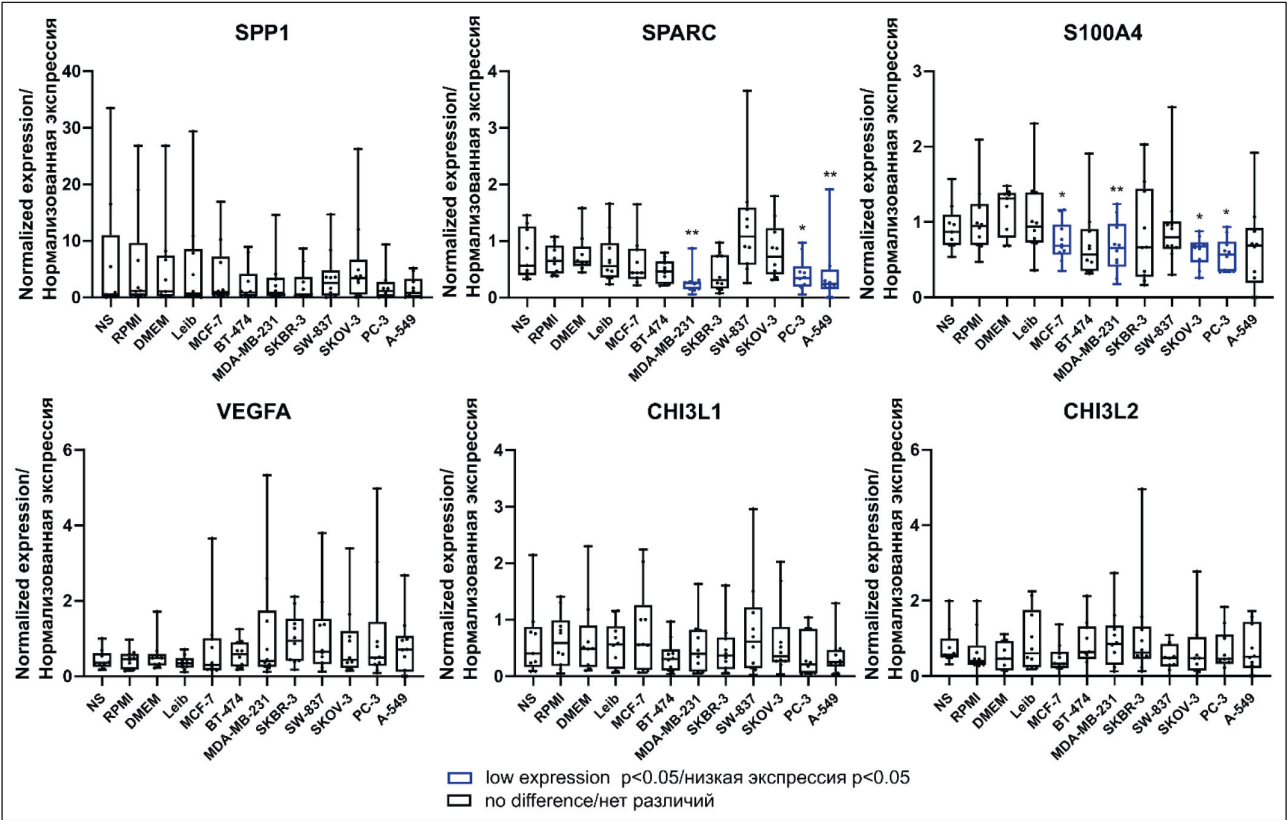


Fig. 1 supplementary. The mRNA expression of angiogenesis-regulating genes in human modeled TAMs.
Notes: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$; created by the authors
Рис. 1, дополнительный. Экспрессия мРНК факторов, регулирующих ангиогенез, в модельных ОАМ человека.
Примечания: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$; диаграммы выполнены авторами

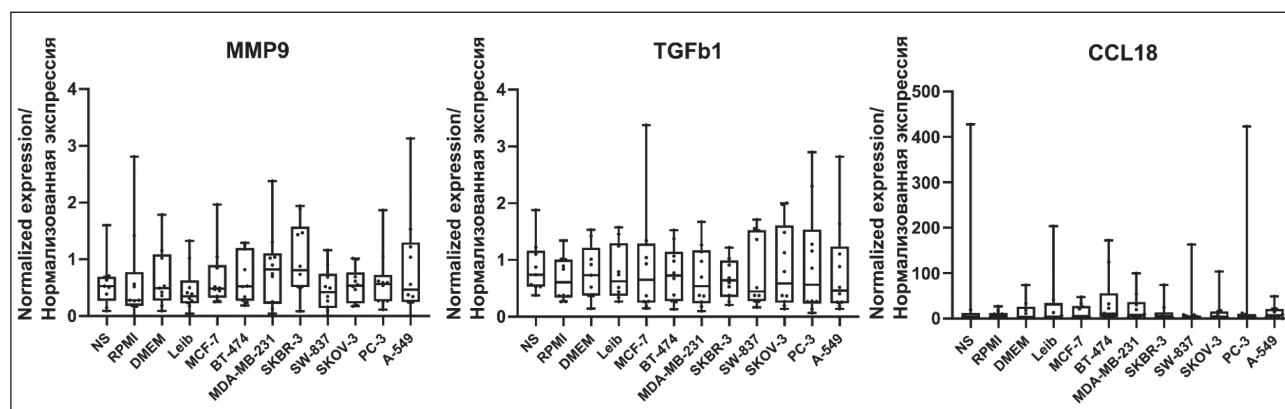


Fig. 2 supplementary. The mRNA expression of matrix remodeling and invasion factors in human modeled TAMs.

Note: created by the authors

Рис. 2, дополнительный. Экспрессия мРНК факторов ремоделирования матрикса и инвазии в модельных ОАМ человека.

Примечание: диаграммы выполнены авторами

The elevated expression of *IL1b* and *CCL2* was observed in TAMs stimulated by CM of HER2-positive (SKBR-3) (0.920 [0.480; 1.226] vs 0.162 [0.102; 0.318], $p=0.018$ for *IL1b* and 9.870 [3.012; 19.04] vs 1.621 [0.526; 6.573], $p=0.035$ for *CCL2*) as well as triple-negative (MDA-MB-231) (1.342 [0.472; 2.501] vs 0.1534 [0.083; 0.208], $p=0.026$ for *IL1b* and 7.208 [2.811; 16.07] vs 1.145 [0.638; 5.957], $p=0.043$ for *CCL2*) cell lines, correspondingly, but not of hormone-dependent luminal subtypes (Table 2, Fig. 1, Fig. 2). Accumulating evidence demonstrated the differences in triple-negative breast cancer (TNBC), or basal-like subtype, compared to luminal subtypes [17, 18]. In our model, *CCL2* expression was also elevated in TAMs of non-luminal subtypes. Up-regulation of pro-inflammatory cytokines *CXCL8* (1.122 [0.497; 2.421] vs 0.201 [0.051; 0.404], $p=0.005$) and pro-migratory factor *CXCL10* (9.913 [0.826; 30.06] vs 0.596 [0; 6.626], $p=0.043$) was detected in TAMs stimulated by CM of HER2-positive (SKBR-3) cell lines, but up-regulation of anti-inflammatory cytokine *IL-10* (1.190 [0.694; 1.846] vs 0.322 [0.057; 0.877], $p=0.035$) was observed only in TAMs stimulated by CM of triple-negative (MDA-MB-231) cell lines (Table 2, Fig. 1, Fig. 2). In addition, in our model, angiogenesis-regulating genes (*SPARC*, *S100A4*) [19] were downregulated in TAMs stimulated by CM of luminal A (MCF-7) (0.683 [0.569; 0.967] vs 1.315 [0.794; 1.385], $p=0.043$ for *S100A4*) and triple-negative (MDA-MB-231) cell lines (0.251 [0.146; 0.285] vs 0.632 [0.556; 0.902], $p=0.001$ for *SPARC* and 0.656 [0.406; 0.979] vs 1.315 [0.794; 1.385], $p=0.004$ for *S100A4*) (Table 2, Fig. 1 supplementary).

Similar to breast cancer-stimulated macrophages, the expression of *IL1b* (0.466 [0.258; 1.044] vs 0.162 [0.102; 0.318], $p=0.043$), *CCL2* (12.47 [3.164; 25.44] vs 1.621 [0.526; 6.573], $p=0.011$), *SPARC* (0.345 [0.190; 0.555] vs 0.645 [0.427; 0.921], $p=0.022$), *S100A4* (0.570 [0.343; 0.741] vs 0.9463 [0.695; 1.241], $p=0.012$) was statistically significant differed in TAMs of prostate cancer, compared to the

control macrophages (Table 2, Fig. 1, Fig. 2, Fig. 1 supplementary).

In modeled lung cancer-associated TAMs, *CCL2* was also upregulated compared (7.126 [5.382; 15.14] vs 1.145 [0.638; 5.957], $p=0.010$) to control media-stimulated TAMs (Table 2, Fig. 2). *CCL2*-CCR2 axis, which is a prominent activator of monocyte/macrophage recruitment, facilitate lung cancer progression [20, 21]. In addition, *S100A4* was downregulated (0.688 [0.194; 0.924] vs 1.315 [0.794; 1.385], $p=0.005$) in TAMs stimulated by CM of lung cancer cell line (A-549) (Table 2, Fig. 1 supplementary).

However, tumor-induced macrophages in our model didn't show any changes in the expression of general markers of TAMs, that belong to scavenger-receptors (*CD163*, *MRC1*, *MARCO*, *Stab1*) [22] (Table 2, Fig. 3) and markers associated with matrix remodeling (Table 2, Fig. 2 supplementary).

Discussion

It is well known that the TME can determine the polarization state of TAMs [4, 23]. M1/M2 paradigm has existed for more than 30 years and it reflects two extreme states of macrophage polarization – pro-inflammatory M1 and anti-inflammatory M2 [24]. In the context of tumor microenvironment, these states were defined as anti-tumor and pro-tumor, consequently [2, 24]. Recently, with the introduction of many advanced technological methods such as single-cell and spatial analysis we can look deeper into tumor composition to dissect multiple cell phenotypes with a distinct functional activity [25, 26]. Following that, a large diversity of dynamic cell subpopulations within a tumor has been revealed. Most recently collected single-cell data suggest that up to 10 subsets of TAMs may be distinguished, depending on the cancer type and localization [27, 28]. These studies allowed identifying new macrophage markers. Interestingly, generally accepted markers of scavenger-receptor macrophages [2] are not always in the top genes of TAM subsets, or aren't even present in the gene

signature [29]. Nevertheless, researchers continue to use them in many *in vitro* and *in vivo* studies as differential markers of M1 and M2 macrophages.

Well-known existing *in vitro* models for human macrophage analysis include either stable macrophage cell lines (e.g. THP-1 cells) or monocyte-derived macrophages [30]. However, most of the methods are based on the use of limited differentiation and polarization factors which determine the monocyte to macrophage transition [31]. It becomes clear that macrophages obtained *in vitro* do not reflect that intricate phenotypic diversity which develops under the influence of tumor environment [2, 12]. This can explain the limitations of existing macrophage targeting and inability of multiple approved clinical trials to overcome therapeutic failure [32, 33]. Thus, translatable and reproducible *in vitro* models for human macrophages are under intensive investigation [31].

In our study, we used an experimental *ex vivo* model of TAMs, which, in our opinion, can most accurately reflect the influence of tumor factors on macrophages. For this purpose, we treated human monocyte-derived macrophages with M2-polarizing cytokines and conditioned tumor supernatants. Generation of monocyte-derived TAMs subjected to the tumor-conditioned media presented more features that are similar to *in vivo* TAMs, compared to macrophages generated by cytokine stimulation alone [34]. The main question we raised was whether this model can adequately reflect the diversity and real functional activity of TAMs in the TME. The most pronounced up-regulation of macrophage-associated markers was detected in breast cancer TAMs. Accumulating evidence demonstrated the differences in triple-negative breast cancer (TNBC), or basal-like subtype, compared to luminal subtypes [17, 18]. Basal-like breast cancer cells determine more prominent differentiation of THP-1 cells compared to luminal cancer cells [35]. *In vitro* stimulation of macrophages with basal-like cells induced mixed M1/M2 phenotype [35] that is similar to observations made by us. However, gene expression analysis did not show differences in the expression of the main markers including scavenger-receptors (*CD163*, *MRC1*, *MARCO*, *Stab1*) or markers associated with matrix remodeling, although, elevated expression of these markers was observed in human tumor tissue TAMs and was significantly correlated with outcome of cancer patients [2, 19, 36].

Different studies show the variety among the induced phenotypes of TAMs. This depends on both the type of the model system and the differentiating and polarizing factors that are used to skewer macrophages into a pro-tumor phenotype. For instance, authors revealed that IL-34 and CXCL4 have similar functions to M-CSF and activate the same pathway for differentiation of macrophages *in vitro* [31]. Monocyte-derived macrophages stimulated by IL-34 acquire macrophage-like morphology and express CD45 and CD68. But, IL-34-treated macrophages show increased phagocytic capacity and higher IL-10

and CCL-17 production after stimulation, and CXCL4-activated macrophages have more pro-inflammatory features compared to M-CSF-stimulated ones [31]. Authors of another study determined that CD40 and CD64 are the most distinctive makers for human M1 macrophage activation and CD163 and MR for M2 macrophage activation *ex vivo* [37]. They also revealed that adherent and floating macrophages could have different activation state. Thus, the expression of MR and CD40 was indicative for adherent cells compared to the floating cells. Distinct activation states of human monocyte-derived macrophages were found when they matured with M-CSF or GM-CSF [37]. Monocyte-derived macrophages (MDMs) differentiated under serum-free conditions displayed greater phagocytic properties and tumor promoting activity for M2 macrophages in contrast to MDMs differentiated in the presence of serum [38]. Monocyte isolation method can also affect the phenotype of resulting macrophages *ex vivo* [39]. Expression of CD163 and CD14 were significantly lower on monocytes isolated by CD14-positive selection and by simple plastic adhesion, compared to untouched peripheral blood mononuclear cells. MDMs from plastic adhesion were M1-skewed (CD80^{high} HLA-DR^{high} CD163^{low}), whereas MDMs obtained by negative selection were M2-skewed (CD80^{low} HLA-DR^{low} CD163^{high}) [39].

Moreover, in the majority of studies insufficient attention is given to the components of culture media used for cancer cell passaging that can contain diverse growth factors affecting macrophage phenotype. In our *ex vivo* models, we provide the necessary control and clearly differentiate between the effects of empty cancer cell culture medium and conditioned cancer cell culture medium.

It becomes clear that traditional *in vitro* models cannot reproduce the genetic, phenotypical and functional features of macrophage environment *in vivo*. In recent review, authors provided the idea of new model systems where macrophages are first generated according to their ontogenetic identity and then induced to obtain their tissue-specific entity. One of such methods is generating macrophages from induced pluripotent stem cells (iPSCs) [30]. The use of 3D organotypic tumor models combining components of tumor microenvironment including macrophages has also become more popular [40, 41]. Authors of recent study developed 3D multicellular tumor spheroid (MCTS) model comprising of cancer cells, fibroblasts, and human monocyte-derived macrophages [42]. They demonstrated the importance of TAM-containing models in drug screening of anti-cancer immunotherapies targeting macrophages [42].

Conclusion

In summary, monocyte-derived macrophages stimulated with cancer cell-conditioned medium can, to a certain extent, allow modeling of cancer-specific programming of TAMs. This model enables analysis

of the differential expression of genes that are involved in the major regulatory activities of TAMs that support primary tumor growth and its metastatic potential. These gene groups cover inflammatory cytokines, regulators of macrophage recruitment and polarization, scavenger receptors, regulators of angiogenesis and extracellular matrix remodeling, as well as cancer cell invasion. Our model system is valuable to examine agents reprogramming key TAM pro-tumoral activities, and for the reproducible analysis of mechanistic events that program tolerogenic status of TAMs towards

cancer cells. However, in order to achieve the full specificity of TAM phenotypes 3D modelling is needed to create the most physiologically relevant context for macrophage interactions with the extracellular matrix, cancer cells and other cells of tumor microenvironment. In this regard, the rapidly developing field of organoids is highly promising direction which will allow to recreate three-dimensional multicellular composition of tumor tissue, and also to model not only cancer-specific but also patient-specific TAM phenotypes and study their functions.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Malekghasemi S, Majidi J, Baghbanzadeh A., Abdolizadeh J., Baradaran B., Aghebati-Maleki L. Tumor-Associated Macrophages: Pro-tumoral Macrophages in Inflammatory Tumor Microenvironment. *Adv Pharm Bull.* 2020; 10(4): 556–65. doi: 10.34172/apb.2020.066.
2. Larionova I., Tuguzbaeva G., Ponomaryova A., Stakheyeva M., Cherdynseva N., Pavlov V., Choinzonov E., Kzhyskowska J. Tumor-Associated Macrophages in Human Breast, Colorectal, Lung, Ovarian and Prostate Cancers. *Front Oncol.* 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.566511.
3. Munir M.T., Kay M.K., Kang M.H., Rahman M.M., Al-Harrasi A., Choudhury M., Moustaid-Moussa N., Hussain F., Rahman S.M. Tumor-Associated Macrophages as Multifaceted Regulators of Breast Tumor Growth. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(12): 6526. doi: 10.3390/ijms22126526.
4. Boutilier A.J., Elsayes S.F. Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(13): 6995. doi: 10.3390/ijms22136995.
5. Wu K., Lin K., Li X., Yuan X., Xu P., Ni P., Xu D. Redefining Tumor-Associated Macrophage Subpopulations and Functions in the Tumor Microenvironment. *Front Immunol.* 2020; 11. doi: 10.3389/fimmu.2020.01731.
6. Monteiro L.N., Rodrigues M.A., Gomes D.A., Salgado B.S., Casali G.D. Tumour-associated macrophages: Relation with progression and invasiveness, and assessment of M1/M2 macrophages in canine mammary tumours. *Vet J.* 2018; 234: 119–25. doi: 10.1016/j.tvjl.2018.02.016.
7. Hwang I., Kim J.W., Ylaya K., Chung E.J., Kitano H., Perry C., Hanaoka J., Fukuoka J., Chung J.Y., Hewitt S.M. Tumor-associated macrophage, angiogenesis and lymphangiogenesis markers predict prognosis of non-small cell lung cancer patients. *J Transl Med.* 2020; 18(1): 443. doi: 10.1186/s12967-020-02618-z.
8. Zheng X., Weigert A., Ren S., Guenther S., Mansouri S., Bassaly B., Gattenlöhner S., Grimminger F., Pullamsetti S., Seeger W., Winter H., Savai R. Spatial Density and Distribution of Tumor-Associated Macrophages Predict Survival in Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Cancer Res.* 2020; 80(20): 4414–25. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-0069.
9. Wei C., Yang C., Wang S., Shi D., Zhang C., Lin X., Liu Q., Dou R., Xiong B. Crosstalk between cancer cells and tumor associated macrophages is required for mesenchymal circulating tumor cell-mediated colorectal cancer metastasis. *Mol Cancer.* 2019; 18(1): 64. doi: 10.1186/s12943-019-0976-4.
10. Tan Q., Liu H., Xu J., Mo Y., Dai F. Integrated analysis of tumor-associated macrophage infiltration and prognosis in ovarian cancer. *Aging (Albany NY).* 2021; 13(19): 23210–32. doi: 10.18632/aging.203613.
11. Genin M., Clement F., Fattaccioli A., Raes M., Michiels C. M1 and M2 macrophages derived from THP-1 cells differentially modulate the response of cancer cells to etoposide. *BMC Cancer.* 2015; 15(1): 577. doi: 10.1186/s12885-015-1546-9.
12. Cassetta L., Pollard J.W. Tumor-associated macrophages. *Curr Biol.* 2020; 30(6): 246–8. doi: 10.1016/j.cub.2020.01.031.
13. Mulder K., Patel A.A., Kong W.T., Piot C., Halitzki E., Dunsmore G., Khalilnezhad S., Irac S.E., Dubuisson A., Chevrier M., Zhang X.M., Tam J.K.C., Lim T.K.H., Wong R.M.M., Pai R., Khalil A.I.S., Chow P.K.H., Wu S.Z., Al-Eryani G., Roden D., Swarbrick A., Chan J.K.Y., Albani S., De-rosa L., Zitvogel L., Sharma A., Chen J., Silvini A., Bertoletti A., Blériot C., Dutertre C.A., Ginhoux F. Cross-tissue single-cell landscape of human monocytes and macrophages in health and disease. *Immunity.* 2021; 54(8): 1883–900. doi: 10.1016/j.immuni.2021.07.007.
14. Ma R.Y., Black A., Qian B.Z. Macrophage diversity in cancer revisited in the era of single-cell omics. *Trends Immunol.* 2022; 43(7): 546–63. doi: 10.1016/j.it.2022.04.008.
15. 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.
16. Larionova I., Kiselev A., Kazakova E., Liu T., Patysheva M., Iamshchikov P., Liu Q., Mossel D.M., Riabov V., Rakina M., Sergushichev A., Bezgodova N., Vtorushin S., Litviakov N., Denisov E., Koshkin P., Pyankov D., Tsyganov M., Ibragimova M., Cherdynseva N., Kzhyskowska J. Tumor-associated macrophages respond to chemotherapy by detrimental transcriptional reprogramming and suppressing stabilin-1 mediated clearance of EGF. *Front Immunol.* 2023; 14. doi: 10.3389/fimmu.2023.1000497.
17. Sun N., Gao P., Li Y., Yan Z., Peng Z., Zhang Y., Han F., Qi X. Screening and Identification of Key Common and Specific Genes and Their Prognostic Roles in Different Molecular Subtypes of Breast Cancer. *Front Mol Biosci.* 2021; 8. doi: 10.3389/fmolb.2021.619110.
18. Hollmén M., Roudnicky F., Karaman S., Detmar M. Characterization of macrophage – cancer cell crosstalk in estrogen receptor positive and triple-negative breast cancer. *Sci Rep.* 2015; 5(1): 9188. doi: 10.1038/srep09188.
19. Kazakova E., Rakina M., Sudarskikh T., Iamshchikov P., Tarasova A., Tashireva L., Afanasiev S., Dobrodeev A., Zhuikova L., Cherdynseva N., Kzhyskowska J., Larionova I. Angiogenesis regulators S100A4, SPARC and SPP1 correlate with macrophage infiltration and are prognostic biomarkers in colon and rectal cancers. *Front Oncol.* 2023; 13. doi: 10.3389/fonc.2023.1058337.
20. Roblek M., Protsyuk D., Becker P.F., Stefanescu C., Gorzelanny C., Glaus Garzon J.F., Knopfova L., Heikenwalder M., Luckow B., Schneider S.W., Borsig L. CCL2 Is a Vascular Permeability Factor Inducing CCR2-Dependent Endothelial Retraction during Lung Metastasis. *Mol Cancer Res.* 2019; 17(3): 783–93. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-18-0530.
21. Schmall A., Al-Tamari H.M., Herold S., Kampschulte M., Weigert A., Wietelmann A., Vipotnik N., Grimminger F., Seeger W., Pullamsetti S.S., Savai R. Macrophage and cancer cell cross-talk via CCR2 and CX3CR1 is a fundamental mechanism driving lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015; 191(4): 437–47. doi: 10.1164/rccm.201406-1137OC.
22. Kazakova E., Iamshchikov P., Larionova I., Kzhyskowska J. Macrophage scavenger receptors: Tumor support and tumor inhibition. *Front Oncol.* 2023; 12. doi: 10.3389/fonc.2022.1096897.
23. Larionova I., Kazakova E., Patysheva M., Kzhyskowska J. Transcriptional, Epigenetic and Metabolic Programming of Tumor-Associated Macrophages. *Cancers (Basel).* 2020; 12(6): 1411. doi: 10.3390/cancers12061411.
24. Hourani T., Holden J.A., Li W., Lenzo J.C., Hadjigil S., O'Brien-Simpson N.M. Tumor Associated Macrophages: Origin, Recruitment, Phenotypic Diversity, and Targeting. *Front Oncol.* 2021; 11. doi: 10.3389/fonc.2021.788365.
25. Li X., Wang C.Y. From bulk, single-cell to spatial RNA sequencing. *Int J Oral Sci.* 2021; 13(1): 36. doi: 10.1038/s41368-021-00146-0.
26. Longo S.K., Guo M.G., Ji A.L., Khavari P.A. Integrating single-cell and spatial transcriptomics to elucidate intercellular tissue dynamics. *Nat Rev Genet.* 2021; 22(10): 627–44. doi: 10.1038/s41576-021-00370-8.
27. Liu Z., Gao Z., Li B., Li J., Ou Y., Yu X., Zhang Z., Liu S., Fu X., Jin H., Wu J., Sun S., Sun S., Wu Q. Lipid-associated macrophages in the tumor-adipose microenvironment facilitate breast cancer progression. *Oncoimmunology.* 2022; 11(1). doi: 10.1080/2162402X.2022.2085432.
28. Lin C., Yang H., Zhao W., Wang W. CTSB+ macrophage repress memory immune hub in the liver metastasis site of colorectal cancer patient revealed by multi-omics analysis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022; 626: 8–14. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.06.037.
29. Wu S.Z., Al-Eryani G., Roden D.L., Junankar S., Harvey K., Andersson A., Thennavan A., Wang C., Torpy J.R., Bartonicek N., Wang T., Larsson L., Kaczorowski D., Weisenfeld N.I., Uytingco C.R., Chew J.G., Bent Z.W., Chan C.L., Gnanasambandapillai V., Dutertre C.A., Gluch L., Hui M.N., Beith J., Parker A., Robbins E., Segara D., Cooper C., Mak C., Chan B., Warrier S., Ginhoux F., Millar E., Powell J.E., Williams S.R., Liu X.S., O'Toole S., Lim E., Lundberg J., Perou C.M., Swarbrick A. A single-cell and spatially resolved atlas of human breast cancers. *Nat Genet.* 2021; 53(9): 1334–47. doi: 10.1038/s41588-021-00911-1.
30. Lee C.Z.W., Kozaki T., Ginhoux F. Studying tissue macrophages in vitro: are iPSC-derived cells the answer? *Nat Rev Immunol.* 2018; 18(11): 663–75. doi: 10.1038/nri.2018.11.

716–25. doi: 10.1038/s41577-018-0054-y. Erratum in: Nat Rev Immunol. 2018; 18(11): 726. doi: 10.1038/s41577-018-0060-0.

31. Luque-Martin R., Mander P.K., Leenen P.J.M., Winther M.P.J. Classic and new mediators for *in vitro* modelling of human macrophages. J Leukoc Biol. 2021; 109(3): 549–60. doi: 10.1002/JLB.1RU0620-018R.

32. Lopez-Yrigoyen M., Cassetta L., Pollard J.W. Macrophage targeting in cancer. Ann N Y Acad Sci. 2021; 1499(1): 18–41. doi: 10.1111/nyas.14377.

33. Wang S., Yang Y., Ma P., Huang H., Tang Q., Miao H., Fang Y., Jiang N., Li Y., Zhu Q., Tao W., Zha Y., Li N. Landscape and perspectives of macrophage-targeted cancer therapy in clinical trials. Mol Ther Oncolytics. 2022; 24: 799–813. doi: 10.1016/j.omto.2022.02.019.

34. Benner B., Scarberry L., Suarez-Kelly L.P., Duggan M.C., Campbell A.R., Smith E., Lapurga G., Jiang K., Butchar J.P., Tridandapani S., Howard J.H., Baiocchi R.A., Mace T.A., Carson W.E. 3rd. Generation of monocyte-derived tumor-associated macrophages using tumor-conditioned media provides a novel method to study tumor-associated macrophages *in vitro*. J Immunother Cancer. 2019; 7(1): 140. doi: 10.1186/s40425-019-0622-0.

35. Stewart D.A., Yang Y., Makowski L., Troester M.A. Basal-like breast cancer cells induce phenotypic and genomic changes in macrophages. Mol Cancer Res. 2012; 10(6): 727–38. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-11-0604.

36. 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.

37. Vogel D.Y., Glim J.E., Stavenhagen A.W., Breur M., Heijnen P., Amor S., Dijkstra C.D., Beelen R.H. Human macrophage polarization *in vitro*: maturation and activation methods compared. Immunobiology. 2014; 219(9): 695–703. doi: 10.1016/j.imbio.2014.05.002.

38. Rey-Giraud F., Hafner M., Ries C.H. *In vitro* generation of monocyte-derived macrophages under serum-free conditions improves their tumor promoting functions. PLoS One. 2012; 7(8). doi: 10.1371/journal.pone.0042656.

39. Nielsen M.C., Andersen M.N., Møller H.J. Monocyte isolation techniques significantly impact the phenotype of both isolated monocytes and derived macrophages *in vitro*. Immunology. 2020; 159(1): 63–74. doi: 10.1111/imm.13125.

40. Golabek A., Kaczmarek M., Dondajewska E., Sakrajda K., Mackiewicz A., Dams-Kozłowska H. Application of a three-dimensional (3D) breast cancer model to study macrophage polarization. Exp Ther Med. 2021; 21(5): 482. doi: 10.3892/etm.2021.9913.

41. Rebelo S.P., Pinto C., Martins T.R., Harrer N., Estrada M.F., Loza-Alvarez P., Cabecadas J., Alves P.M., Gualda E.J., Sommergruber W., Brito C. 3D-3-culture: A tool to unveil macrophage plasticity in the tumour microenvironment. Biomaterials. 2018; 163: 185–97. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.02.030.

42. Helleberg Madsen N., Schnack Nielsen B., Larsen J., Gad M. *In vitro* 2D and 3D cancer models to evaluate compounds that modulate macrophage polarization. Cell Immunol. 2022; 378. doi: 10.1016/j.cellimm.2022.104574.

Поступила/Received 07.12.2023

Одобрена после рецензирования/Revised 27.05.2024

Принята к публикации/Accepted 10.07.2024

ABOUT THE AUTHORS

Tatiana S. Sudarskikh, Postgraduate, Junior Researcher, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): ACA-0715-2022. Author ID (Scopus): 57705706500. ORCID: 0009-0001-3835-5259.

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

Militsa A. Rakina, Postgraduate, Junior Researcher, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University; Junior Researcher, Laboratory of Molecular Therapy of Cancer, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAH-6086-2021. Author ID (Scopus): 57208775013. ORCID: 0000-0001-8334-7445.

Julia G. Kzhyshkowska, DSc, Professor, Head of Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia); Head of Department of Innate Immunity and Immunological Tolerance, Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Institute for Innate Immunoscience (MI3), Medical Faculty Mannheim, University of Heidelberg; German Red Cross Blood Service Baden-Württemberg-Hessen (Mannheim, Germany). Researcher ID (WOS): J-5835-2016. Author ID (Scopus): 6603091281. ORCID: 0000-0003-0898-3075.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Tatiana S. Sudarskikh: data collection, literature review, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Irina V. Larionova: data collection and analysis, writing of the manuscript, scientific editing.

Militsa A. Rakina: data collection.

Julia G. Kzhyshkowska: study conception and design, scientific editing, approval of the final version of the manuscript, study supervision.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This work was supported by the Russian Science Foundation under research project № 19-15-00151.

Conflict of interests

Prof. Kzhyshkowska J.G. is a member of the editorial board of Siberian Journal of Oncology. The authors are not aware of any other potential conflicts of interest related to this manuscript.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сударских Татьяна Сергеевна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3533-1219. Researcher ID (WOS): ACA-0715-2022. Author ID (Scopus): 57705706500. ORCID: 0009-0001-3835-5259.

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

Ракина Милица Александровна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»; младший научный сотрудник лаборатории молекулярной терапии рака, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6827-3181. Researcher ID (WOS): AАН-6086-2021. Author ID (Scopus): 57208775013. ORCID: 0000-0001-8334-7445.

Кжышковска Юлия Георгиевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск, Россия); заведующая отделом врожденного иммунитета и иммунологической толерантности, Институт трансфузионной медицины и иммунологии, Институт врожденной иммунологии (МИЗ), медицинский факультет Мангейма, Гейдельбергский университет; Служба крови Немецкого Красного Креста Баден-Вюртемберг-Гессен (г. Маннгейм, Германия). SPIN-код: 2465-2280. Researcher ID (WOS): J-5835-2016. Author ID (Scopus): 6603091281. ORCID: 0000-0003-0898-3075.

ВКЛАД АВТОРОВ

Сударских Татьяна Сергеевна: сбор материала исследования, обзор литературы, статистическая обработка данных, написание черновика статьи.

Ларионова Ирина Валерьевна: сбор и обработка данных, написание статьи, научное редактирование.

Ракина Милица Александровна: сбор материала исследования.

Кжышковска Юлия Георгиевна: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, общее руководство проектом.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 19-15-00151.

Конфликт интересов

Автор Кжышковска Ю.Г. (доктор биологических наук, профессор) является членом редколлегии «Сибирского онкологического журнала». Авторам неизвестно о каком-либо другом потенциальном конфликте интересов, связанном с этой статьей.

Для цитирования: Плотников Е.В., Белоусов М.В., Бразовский К.С., Ларькина М.С., Артамонов А.А., Стучебров С.Г., Чернов В.И. Экспериментальное исследование радиопротекторных свойств пирувата лития *in vitro*. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 66–76. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-66-76
For citation: Plotnikov E.V., Belousov M.V., Brazovsky K.S., Larkina M.S., Artamonov A.A., Stuchebrov S.G., Chernov V.I. Experimental study of radioprotective properties of lithium pyruvate *in vitro*. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 66–76. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-66-76

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ПИРУВАТА ЛИТИЯ *IN VITRO*

Е.В. Плотников^{1,2,3}, М.В. Белоусов^{1,2}, К.С. Бразовский¹, М.С. Ларькина^{1,2},
А.А. Артамонов⁴, С.Г. Стучебров¹, В.И. Чернов^{1,5}

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

³Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук
Россия, 634021, г. Томск, ул. Алеутская, 4

⁴Институт медико-биологических проблем РАН
Россия, 123007, г. Москва, Хорошевское ш., 76А

⁵Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

Аннотация

Радиотоксичность является серьезной проблемой для пациентов, проходящих лучевую терапию, поэтому поиск новых препаратов-радиопротекторов для ослабления ее последствий крайне актуален. Радиопротекторы должны обладать рядом свойств, в том числе прямым антиоксидантным действием, снижать окислительный стресс, индуцировать репарацию ДНК или ингибировать апоптоз и при этом не вызывать собственных побочных эффектов. По совокупности свойств перспективными выглядят антиоксиданты на основе солей лития. **Целью исследования** явилось изучение радиопротекторных свойств пирувата лития *in vitro*. **Материал и методы.** В качестве биомоделей для оценки воздействия рентгеновского излучения использовали относительно радиочувствительные мононуклеарные клетки крови и относительно радиоустойчивые фибробласты линии 3T3L1. Клетки инкубировали и облучали в 96-луночных планшетах. Пируват лития применяли в финальной концентрации 1,2 мМ. Облучение проводили с интенсивностью 15 мГр/с в диапазоне поглощенных доз 0–5 Гр на рентгеновской установке (анодное напряжение 160 кВ, средний ток 3,5 мА). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью МТТ-теста и резазуринового теста. Оценку вариантов клеточной гибели и уровень окислительного стресса определяли цитофлуориметрическим методом. **Результаты.** Установлено цитопротекторное действие пирувата лития, проявляющееся в повышении выживаемости клеток и снижении уровня окислительного стресса после облучения в широком диапазоне поглощенных доз. Относительно большая эффективность показана в отношении мононуклеарных клеток крови с повышением жизнеспособной фракции клеток на 5–7 % и снижением уровня окислительного стресса при облучении в диапазоне 1,0–3,0 Гр. Установлено, что апоптоз является основным механизмом гибели клеток после облучения. Пируват лития снижает уровень индукции апоптоза в популяции клеток при облучении и при химически индуцированном окислительном стрессе. **Заключение.** Показано радиопротекторное действие пирувата лития при рентгеновском облучении *in vitro*. Выявлено снижение окислительного стресса при действии пирувата лития, что создает патогенетическую основу для потенциального применения данного соединения в качестве радиопротектора, что требует дальнейших исследований на моделях *in vivo*.

Ключевые слова: пируват лития, радиопротекция, фибробласты линии 3T3L1, мононуклеарные клетки крови, рентгеновское излучение, окислительный стресс, апоптоз.

EXPERIMENTAL STUDY OF RADIOPROTECTIVE PROPERTIES OF LITHIUM PYRUVATE *IN VITRO*

E.V. Plotnikov^{1,2,3}, M.V. Belousov^{1,2}, K.S. Brazovsky¹, M.S. Larkina^{1,2},
A.A. Artamonov⁴, S.G. Stuchebrov¹, V.I. Chernov^{1,5}

¹National Research Tomsk Polytechnic University

30, Lenin Ave., Tomsk, 634050, Russia

²Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia

2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia

³Mental Health Research Institute of the Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences

4, Aleutskaya St., Tomsk, 634021, Russia

⁴Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences

76A, Khoroshevskoe sh., Moscow, 123007, Russia

⁵Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

5, Kooperativny St., Tomsk, 634009, Russia

Abstract

Radiotoxicity is a serious problem for patients undergoing radiotherapy, so the search for new radioprotective drugs to mitigate its effects is highly relevant. Radioprotectors should have a number of properties, including direct antioxidant action, reduction of oxidative stress, ability to induce DNA repair or inhibit apoptosis, and at the same time not cause their own side effects. Antioxidants based on lithium salts look promising in terms of their properties. **The aim of study** was to study the radioprotective properties of lithium pyruvate *in vitro*. **Material and Methods.** Relatively radiosensitive blood mononuclear cells and relatively radioresistant fibroblasts of 3T3L1 line were used as biomodels for X-ray exposure. Cells were incubated and irradiated in 96-well plates. Lithium pyruvate was used at a final concentration of 1.2 mM. Cells were irradiated at a dose rate of 15 mGy/s in the absorbed-dose range from 0 to 5 Gy using an X-ray unit (anode voltage: 160 kV, average current: 3.5 mA). Cell viability was assessed by MTT test and resazurin test. The evaluation of cell death variants and the level of oxidative stress were determined by cytofluorimetric method. **Results.** The cytoprotective effect of lithium pyruvate was established. Cytoprotection was manifested in the increased cell survival and decreased oxidative stress level under lithium pyruvate after X-ray in a wide range of absorbed doses. Relatively high efficiency was shown in relation to blood mononuclear cells with an increase in the viable fraction by 5–7 % and a decrease in oxidative stress level during irradiation in the range of 1.0–3.0 Gy. Apoptosis was found to be the main mechanism of cell death after irradiation. Lithium pyruvate reduced the level of apoptosis in cell population under irradiation and chemically induced oxidative stress. **Conclusion.** Radioprotective effect of lithium pyruvate under X-ray irradiation *in vitro* has been shown. Reduction of oxidative stress under the action of pyruvate provides a pathogenetic basis for the potential use of this compound as a radioprotector, which requires further studies on *in vivo* models.

Key words: lithium pyruvate, radioprotection, fibroblast line 3T3L1, blood mononuclear cells, X-ray radiation, oxidative stress, apoptosis.

Введение

Лучевая терапия является одним из наиболее распространенных методов лечения злокачественных новообразований, до 50 % больных на определенном этапе подвергаются лучевой терапии в терапевтических или в паллиативных целях [1]. Для достижения оптимальных результатов необходимо обеспечить разумное равновесие между суммарной лучевой нагрузкой на опухоль и пороговым значением для прилегающих здоровых тканей. Очевидно, что ионизирующее излучение повреждает как нормальные, так и раковые клетки. Отметим, что эффективность лучевой терапии основана на биологическом принципе, согласно которому здоровые клетки обладают большей способностью восстанавливаться и возвращаться

к нормальному функциональному состоянию по сравнению с клетками злокачественных опухолей, где репарация и метаболизм в целом проходят неоптимальным путем. Раковые клетки в целом менее эффективно восстанавливают повреждения, вызванные лучевой терапией, что приводит к их преимущественному уничтожению [2]. Для повышения эффективности терапии за счет увеличения дозы необходимо защитить нормальные ткани от радиационного воздействия [3].

С этой целью применяется большое количество физических подходов, включая улучшение оборудования для радиотерапии и проведение рационального фракционирования и зонирования облучения. Перспективным механизмом снижения радиотоксичности нормальных тканей является

использование радиопротекторов – специальных соединений, которые защищают неопухолевые клетки от воздействия радиации [4]. Идеальный радиопротектор должен обладать рядом свойств, включая защиту нормальных тканей без значимого воздействия на опухолевую ткань, оптимальной фармакокинетикой и минимальной токсичностью [5]. Как правило, радиопротекторы являются сульфгидрильными соединениями и антиоксидантами, которые действуют путем нейтрализации свободных радикалов, защищая клетки от повреждений, вызванных облучением [6]. Однако для большинства исследованных соединений не удалось показать заметного эффекта в клинической практике. Несмотря на значительную работу в этой области за последние десятилетия, лишь несколько радиопротекторных средств одобрены для клинического применения, причем их широкое применение ограничено существенными побочными эффектами. Например, палифермин и амифостин, одобренные FDA для применения в онкологии [7, 8], имеют широкий список эффектов, осложняющих их применение, включая тошноту и аллергические реакции. Отмечается низкая селективность амифостина, а его способность защищать от облучения и опухолевые ткани требует дальнейшей верификации и изучения [9]. Продолжается поиск новых соединений, в том числе природных веществ, которые демонстрируют радиопротекторную активность [10]. С целью радиопротекции применяются различные витамины-антиоксиданты, в первую очередь жирорастворимые [11].

В данном контексте весьма перспективными соединениями выглядят соли лития с антиоксидантной активностью на основе естественных внутриклеточных метаболитов, в частности пирувата. Пируват обладает антиоксидантными свойствами и проявляет цитопротекторную и антиапоптотическую активность [12–14]. Литий, в свою очередь, широко применяется в медицине в качестве психотропного препарата, с хорошо изученным терапевтическим (нормотимическим) действием и в некоторых случаях проявляющий цитопротекторную активность при окислительном стрессе [15–17]. К настоящему времени накоплено много данных, подтверждающих широкий спектр биологических эффектов лития, включая нейро-, кардио- и нефропротекторные свойства, регуляцию воспаления и иммунитета [18–23]. Выявлено стимулирующее действие лития на гемопоэз, что имеет важное значение при восстановлении нормального функционирования организма после лучевого воздействия, в т.ч. лучевой терапии в онкологической практике [22]. В целом, лучевая терапия создает заметную токсическую нагрузку на организм вследствие массивной гибели клеток не только в опухоли, но и в сопредельных здоровых тканях. Совокупность описанных свойств исходных компонентов позволяет сделать предпо-

ложение о наличии радиопротекторных свойств у синтезированной соли пирувата лития.

Биологические эффекты ионизирующего излучения связаны с окислительным стрессом, вызванным радиолизом воды и образованием активных форм кислорода, что приводит к повреждению макромолекул, в первую очередь ДНК [24]. Радиационно-индуцированные повреждения ДНК включают однонитевые и двунитевые разрывы, повреждения нуклеотидных оснований, гликозильные повреждения и сшивки ДНК [25]. Наиболее фатальными повреждениями являются двойные разрывы ДНК. В целом повреждение ДНК активирует ряд клеточных регуляторных путей и межклеточных сигналов, которые определяют дальнейшую судьбу клеток, включая активацию репарации ДНК, остановку клеточного цикла или апоптоз. В случае выживания клетки может оставаться серьезное бремя накопленных радиационных повреждений, приводящих к хромосомным aberrациям и нестабильности генома [26]. Интенсивное радиационное и последующее окислительное повреждение нормальных клеток за короткий период приводит к перегрузке систем репарации и индукции апоптоза. Комплексное антиоксидантное и цитопротекторное действие пирувата лития потенциально может обеспечить радиопротекторное действие при ионизирующем излучении.

Целью исследования стало изучение радиопротекторных свойств пирувата лития *in vitro*.

Материал и методы

Пируват лития (рис. 1) получали *ex tempore* в реакции стехиометрического количества карбоната лития (Sigma-Aldrich, Германия) и пировиноградной кислоты (Sigma-Aldrich, Германия) 1:2 в бидистиллированной воде при умеренном нагревании до 40 °С. Для выделения продуктов реакции в кристаллическом состоянии использовали метод выделения из водного раствора протолитическими растворителями (этанолом). После перекристаллизации субстраты промывали, сушили, подтверждали состав соединений (элементный анализ, ИК-спектроскопия) и использовали для экспериментов.

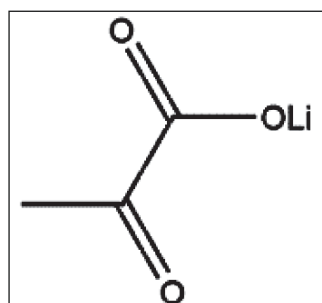


Рис. 1. Структурная формула пирувата лития.

Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 1. Structural formula of lithium pyruvate.

Note: created by the authors

Раствор гидропероксида трет-бутила 70 мас. % в H_2O (Sigma-Aldrich, Германия) использовали в качестве индуктора окисления для модуляции окислительного стресса. МТТ реагент – Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (НПП «ПанЭко», РФ) использовался для определения метаболической активности и жизнеспособности адгезивных клеточных культур. Натриевая соль резазурина (Sigma-Aldrich, Германия) использовалась для стандартного резазуринового теста в виде водного раствора.

Для экспериментов использовались мононуклеарные клетки периферической крови человека и эмбриональные мышечные фибробласты стандартизированной линии 3T3L1 (ATCC CL-173). Мононуклеарные клетки получены из крови центрифугированием на градиенте фикола плотностью $\rho=1,077 \text{ г/см}^3$ (Sigma-Aldrich, USA). Выделенные клетки отмывали, ресуспендировали в среде RPMI 1640 и использовали в экспериментах. Мононуклеарные клетки периферической крови и фибробласты линии 3T3L1 культивировали в питательной среде RPMI-1640 (ПанЭко, РФ). Питательные среды обогащались добавками GlutaMAX (Gibco, США), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (One Shot™, Thermo Fisher Scientific, Бразилия) и антибиотиками (смесь пенициллина и стрептомицина ПанЭко, Россия). Для проведения экспериментов фибробласты предварительно засеивали в лунки 96-луночного планшета в концентрации 3 тыс. клеток/лунка в 100 мкл и инкубировали 24 ч при 37 °C, 5 % CO_2 , далее использовали в эксперименте. Мононуклеарные клетки засеивали непосредственно перед экспериментом в 96-луночный планшет в концентрации 30 тыс. клеток/лунку в 100 мкл. В лунки с клетками вносили пируват лития (из 48 мМ рабочего раствора) для получения диапазона рабочих концентраций 0,6–1,2 мМ в 12 повторях. В контрольные лунки вносили соответствующий объем физраствора. После внесения тестируемого соединения клетки инкубировали в течение 60 мин в обычных условиях (5 % CO_2 , 37 °C, 100 % влажность), после чего проводили облучение с интенсивностью 15 мГр/с с дистанции 30 см в диапазоне поглощенных доз 0,5–5,0 Гр на рентгеновской установке со следующими параметрами: анодное напряжение – 160 кВ, средний ток – 3,5 мА. Контрольный планшет с клетками подвергался аналогичным манипуляциям, но без облучения.

Для химической индукции окислительного стресса использовали гидроперекись трет-бутила (ГПТБ) в виде 70 % водного раствора (Sigma-Aldrich, Германия). Клетки готовили аналогично вышеописанному способу в 96-луночном планшете. Вносили пируват лития в концентрации 1,2 мМ, инкубировали в течение 60 мин. Далее вносили ГПТБ для достижения финальной концентрации 40 мкМ/л. После этого клетки инкубировали в стандартных условиях 37 °C в 5 % CO_2 . Оценку

уровня ГПТБ-индуцированного окислительного стресса проводили на трех временных точках (24, 48 и 72 ч).

Оценку жизнеспособности суспензионных клеток проводили через 72 ч после рентгеновского облучения с помощью стандартного резазуринового теста. Для этого использовали 96-луночные планшеты с клетками. В лунки с клетками добавляли раствор резазурина, получая 0,02 мг/мл. Образцы встряхивали на шейкере в течение 2 мин. Далее планшеты культивировали в течение 4 ч (5 % CO_2 , 37 °C) и измеряли оптическую плотность образцов при 570 нм на спектрофотометре Multiscan FS (ThermoFisher). Жизнеспособность клеток рассчитывали как процентное отношение значения оптической плотности образца к оптической плотности необлученного контроля без воздействия соединения (с вычетом значений пустых лунок).

Жизнеспособность адгезивных культур изучали с помощью МТТ-теста через 72 ч после облучения. В каждую лунку 96-луночного планшета добавляли раствор МТТ 0,45 мг/мл, инкубировали при температуре 37 °C в атмосфере 5 % CO_2 в течение 4 ч до образования кристаллов формазана. После чего среду аспирировали и лунки наполняли 100 мкл диметилсульфоксида (ДМСО) для растворения формазана. В течение 2 мин планшеты перемешивали на шейкере и измеряли оптическую плотность образцов при 570 нм на спектрофотометре Multiscan FS (ThermoFisher). Полученные значения оптической плотности в нескольких повторях усредняли и рассчитывали жизнеспособность в процентах от контроля без воздействия.

Облученные клетки после 72-часовой инкубации в 5 % CO_2 при 37 °C собирали из планшета, центрифугировали 5 мин при 200 g, промывали в фосфатном буфере и ресуспендировали в буфере для флуоресцентного окрашивания из набора детекции апоптоза Annexin V-FITC (Abcam, #14085), содержащем смесь Annexin V-FITC и йодистого пропидия. Далее клетки инкубировали 15 мин при комнатной температуре в темном месте и проводили цитофлуориметрическое исследование. Результаты обрабатывали и подсчитывали жизнеспособность и варианты апоптоза с помощью программного обеспечения цитофлуориметра CytoFlex (Beckman Coulter, США). Стратегия гейтирования включала разделение популяции на четыре группы: живые клетки (неокрашенные), ранние апоптотические клетки (окрашенные только Annexin V-FITC), поздние апоптотические клетки (окрашенные обоими красителями) и некротические клетки (окрашенные йодистым пропидием).

Подготовка клеток к оценке уровня окислительного стресса после облучения выполнена аналогично тесту оценки вариантов клеточной гибели. Клетки собирали, отмывали и ресуспендировали в соответствующем буфере из тестового набора детекции окислительного стресса Cellular ROS

Assay Kit (Abcam, #186029). После этого клетки окрашивали, инкубировали 30 мин в инкубаторе при 37 °C и проводили цитофлуориметрическое измерение параметров. Концентрацию активных форм кислорода в клетках оценивали с помощью программного обеспечения цитофлуориметра CytoFlex (Beckman Coulter, США).

Результаты статистически обрабатывали с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, CA, USA). Данные показаны в виде «среднее значение $\pm$ стандартное отклонение». Различия между группами выявляли с помощью дисперсионного анализ (ANOVA). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Оценка выживаемости фибробластов через 72 ч после лучевого воздействия и сочетанного применения пирувата лития показана на рис. 2. Выявлен относительно высокий уровень радиорезистентности данных клеток, заметное снижение жизнеспособности показано только в поглощенной дозе 3 Гр и выше.

Относительно большей радиочувствительностью обладают нормальные мононуклеарные клетки периферической крови человека (рис. 3). Через 72 ч после воздействия показано достоверное снижение жизнеспособных клеток, облученных в дозе 1,0 Гр и выше, при этом отмечено защитное действие пирувата лития.

Распределение вариантов клеточной смерти после воздействия ионизирующего излучения и радиопротектора показано на рис. 4. Отмечено увеличение доли апоптотических клеток при повышении поглощенной дозы, при этом наблюдаются снижение фракции апоптоза и увеличение фракции живых клеток при использовании пирувата лития в концентрации 1,2 мМ.

Уровень радиационно-индуцированного окислительного стресса в популяции (фракция АФК-позитивных клеток) через 72 ч после воздействия ионизирующего излучения и защитное действие пирувата лития представлены на рис. 5. Отмечается нарастание уровня окислительного стресса при повышении поглощенной дозы до 3 Гр.

Защитное действие пирувата лития на клетки крови при химически-индуцированном окислительном стрессе (40 мкМ гидроперекиси трет-бутила) показано на рис. 6. Отмечено выраженное повышение жизнеспособности клеток на всех временных точках при сочетанном использовании пирувата лития с индуктором окислительного стресса.

Обсуждение

Рентгеновское излучение достаточно широко используется в радиотерапии. Воздействие ионизирующего излучения на биологические ткани характеризуется интенсивностью процесса

ионизации среды и как следствие повреждением биологических макромолекул, приводящим к летальным нарушениям в клетках-мишенях [27]. Защита нормальных клеток является крайне важной в рамках лучевой терапии и требует создания новых радиопротекторов, поэтому в данной работе изучили потенциальное цитопротекторное действие пирувата лития при действии рентгеновского излучения на клеточные культуры крови (мононуклеары) и соединительной ткани (фибробласты) с различной радиоустойчивостью. В эксперименте клетки соединительной ткани проявили относительно высокую устойчивость к действию облучения (рис. 2). Несмотря на то, что использовалась активно пролиферирующая линия эмбриональных фибробластов, статистически значимое снижение жизнеспособности отмечено только при облучении в поглощенной дозе выше 3 Гр. Воздействие рентгеновского излучения в дозе 0,5–1,5 Гр не приводит к достоверным изменениям в популяции. При этом воздействие пирувата лития приводит к достоверному повышению жизнеспособности по сравнению с облученной контрольной группой только в дозах 3 и 5 Гр (рис. 2). Отмечается дозозависимость этого феномена с более выраженным эффектом при концентрации пирувата 1,2 мМ, тогда как при 0,6 мМ значимых отличий не выявлено. Аналогичное лучевое воздействие на мононуклеарные клетки крови выявило большую радиочувствительность клеток, отмечено снижение жизнеспособности до 76 ± 3 % уже при поглощенной дозе в 1,5 Гр и до 23 ± 4 % при 5,0 Гр. Пируват лития показал

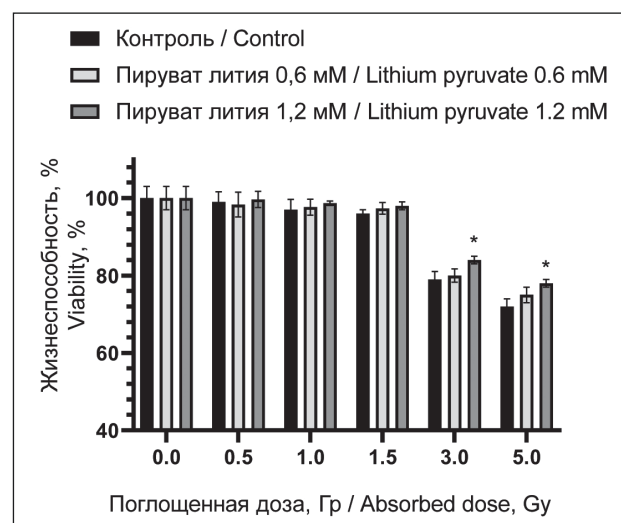


Рис. 2. Жизнеспособность нормальных эмбриональных фибробластов мыши линии 3T3L1 при рентгеновском облучении (0–5 Гр) и воздействии пирувата лития в концентрации 0,6 и 1,2 мМ. Примечания: * – различия значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$); диаграмма выполнена авторами

Fig. 2. Viability of normal mice embryonic fibroblasts 3T3L1 line under X-ray irradiation (0–5 Gy) and lithium pyruvate exposure at 0.6 and 1.2 mM.

Notes: * – significant differences vs control ($p < 0.05$); created by the authors

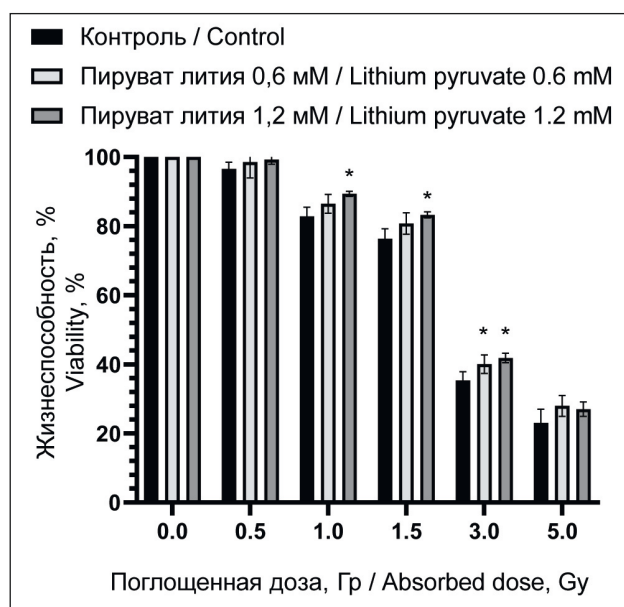


Рис. 3. Жизнеспособность мононуклеарных клеток периферической крови человека при рентгеновском облучении и воздействии пирувата лития в концентрации 0,6 и 1,2 мМ. Примечания: * – различия значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$); диаграмма выполнена авторами
Fig. 3. Viability of human peripheral blood mononuclear cells under X-ray irradiation and lithium pyruvate exposure at 0.6 and 1.2 mM.

Notes: * – significant differences vs control ($p < 0.05$); created by the authors

радиопротекторное действие в отношении мононуклеаров, что проявилось в повышении жизнеспособной фракции клеток в популяции на 5–7 % при облучении в диапазоне 1–3 Гр по сравнению с облученной контрольной группой без воздействия препарата (рис. 3). При этом в больших дозах облучения не выявлено статистически значимого отличия от контрольной группы. Важно отметить, что терапевтическая эффективность лучевой терапии, помимо физических факторов (поглощенная доза, тип излучения, фракционирование и т.п.), зависит от биологических факторов, в первую очередь радиоустойчивости здоровых тканей и радиочувствительности опухолей [1]. Это требует поиска оптимального баланса между максимизацией дозы облучения для уничтожения раковых клеток и минимизацией дозы облучения здоровых клеток. Обычно нормальные клетки более устойчивы к действию облучения, чем активно делящиеся клетки опухоли. Радиочувствительность клеточной популяции определяется рядом параметров, в первую очередь уровнем репарации (способность восстанавливать повреждения ДНК, вызванные облучением), скоростью репопуляции (степень пролиферации клеток в основных субпопуляциях), перераспределением клеток по фазам клеточного цикла (наименее устойчивые к облучению клетки в митозе, в то время как клетки S-фазы более устойчивы), оксигенацией (чувствительность клеток к облучению повышается в оксигенированной

среде) и индивидуальной радиочувствительностью ввиду определенных генетических свойств и мутаций [28, 29]. В этом контексте важно провести оценку основных механизмов клеточной гибели. На примере мононуклеарных клеток крови установлено распределение вариантов гибели клеток при различных поглощенных дозах в сочетании с пируватом лития (рис. 4). Выявлено значительное снижение доли клеток в апоптозе при воздействии пирувата лития, причем наблюдается уменьшение этой фракции во всем диапазоне поглощенных доз по сравнению с контролем. Наблюдается резкое нарастание уровня общей фракции апоптоза на 2–3-и сут после облучения до 29, 63 и 71 % для поглощенных доз 1,5, 3,0 и 5,0 Гр соответственно. При сочетанном применении пирувата лития уровень апоптотических клеток был меньше на 4–8 % для аналогичного диапазона поглощенных доз. Активация апоптоза при облучении напрямую связана с окислительным повреждением ДНК как основной биологической мишенью ввиду критических последствий для клетки, причем одноцепочечные и двухцепочечные разрывы влияют на жизнеспособность клеток по-разному [30]. При значительном накоплении двухцепочечных разрывов не могут быть восстановлены, и это приводит к гибели клеток. Одноцепочечные разрывы могут быть восстановлены клетками при наличии второй нетронутой нити ДНК. Активная репарация ДНК позволяет клетке нивелировать полученные радиационные повреждения, не уходя в апоптоз. Превышение репарационных возможностей клетки, как правило, запускает механизм апоптоза. Выраженный окислительный стресс вследствие интенсивного облучения может приводить к первичной некротической гибели клетки. В данном эксперименте уровень некротической гибели клеток не превышал 9 % даже в максимальных поглощенных дозах, а основным выявленным путем гибели клеток являлся апоптоз. На основании полученных данных предложена концепция радиопротекторного действия пирувата лития, в основе которой лежит цитопротекторное действие пирувата при окислительном стрессе. Снижение уровня продукции АФК при действии пирувата может обеспечивать снижение критических повреждений и дополнительное время для репарации повреждений в клетке без запуска апоптоза, что подтверждается снижением уровня апоптоза и повышением доли жизнеспособных клеток в облученной популяции при действии пирувата лития в концентрации 1,2 мМ (рис. 4). Для подтверждения механизма действия через снижение продукции АФК была выполнена серия тестов по оценке уровня окислительного стресса в клеточной популяции после облучения и применения ГПТБ (химического индуктора окислительного стресса). Экспериментально показано резкое нарастание АФК-позитивных клеток (повышенная продук-

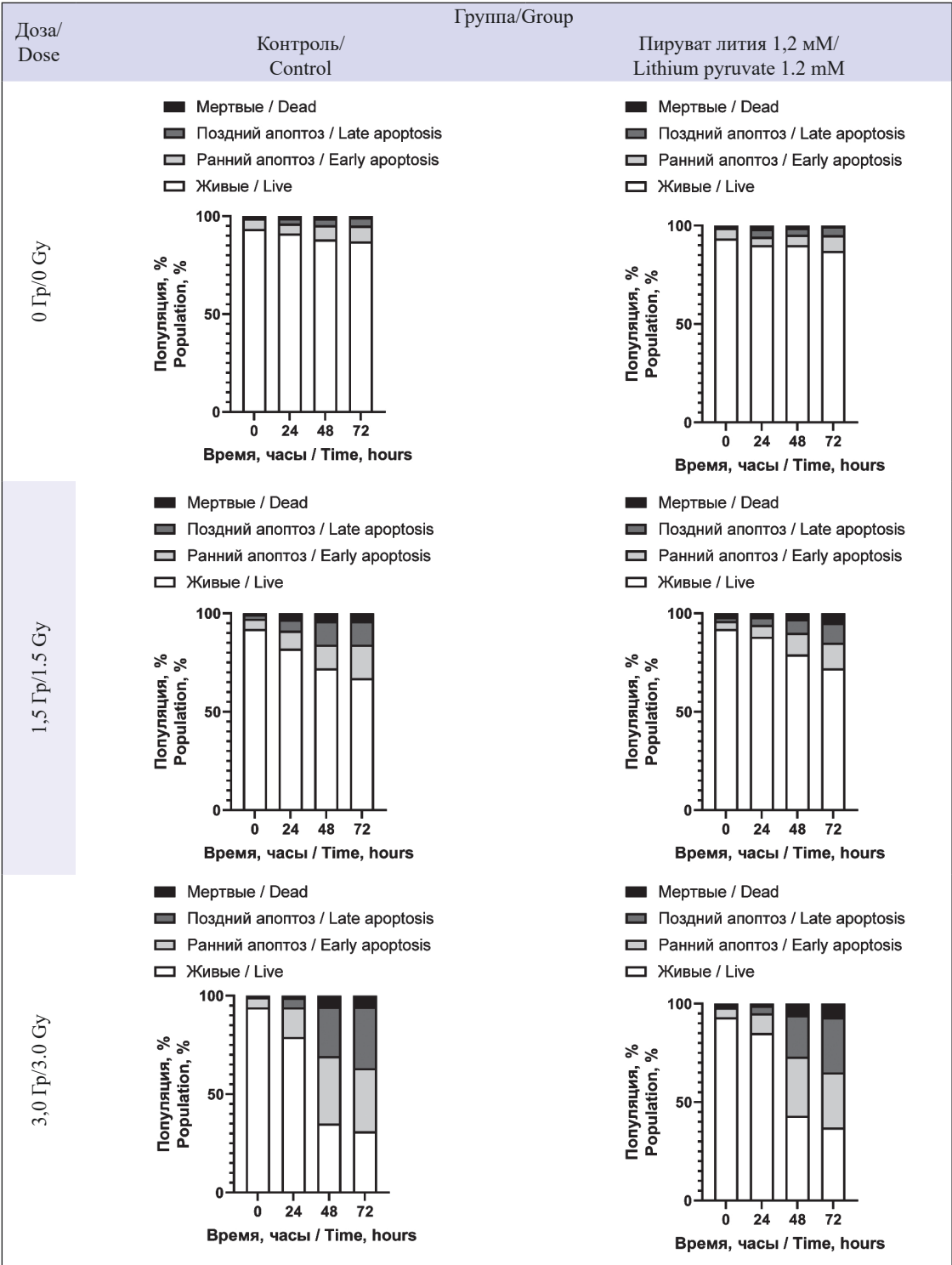


Рис. 4. Распределение вариантов клеточной гибели мононуклеарных клеток периферической крови через 72 ч после рентгеновского облучения 0–3 Гр и воздействия пирувата лития 1,2 мМ. Примечание: диаграммы выполнены авторами
Fig. 4. Distribution of cell death variants of peripheral blood mononuclear cells 72 hours after exposure 0–3 Gy X-ray irradiation and 1.2 mM lithium pyruvate. Note: created by the authors

ция активных форм кислорода), т. е. нарастание окислительного стресса при повышении дозы облучения (рис. 5). Предварительная инкубация клеток с пируватом лития (1,2 мМ) снижает уровень окислительного стресса, но уже при концентрации пирувата лития менее 0,6 мМ можно отметить только некоторый тренд на снижение окисли-

тельного стресса в популяции, без достоверных отличий (рис. 5). Наиболее выраженное цитопротекторное действие пирувата лития установлено при химически-индуцированном окислительном стрессе (рис. 6). Воздействие ГПТВ в концентрации 40 мкМ приводило к гибели до 80 % клеток в 1-е сут. Действие пирувата лития (1,2 мМ) в первые

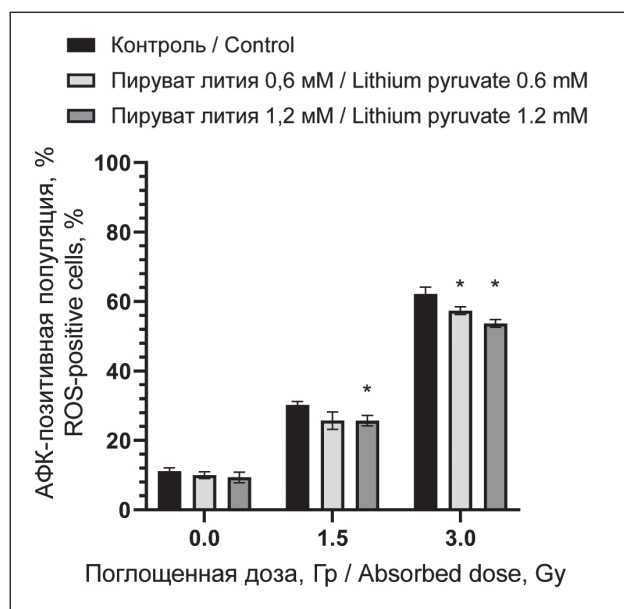


Рис. 5. Окислительный стресс (уровень АФК-позитивных клеток) в популяции мононуклеарных клеток периферической крови через 72 ч после рентгеновского облучения и воздействия пирувата лития. Примечания: * – различия значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0.05$); диаграмма выполнена авторами

Fig. 5. Oxidative stress (level of ROS-positive cells) in the population of peripheral blood mononuclear cells 72 hours after X-ray irradiation and lithium pyruvate exposure. Notes: * – significant differences vs control ($p < 0.05$); created by the authors

24 ч повышало выживаемость клеток более чем вдвое. Аналогичное достоверное снижение уровня окислительного стресса в клетках наблюдалась на всех временных точках во всем диапазоне концентраций пирувата лития (рис. 6). Таким образом, максимально эффективная реализация действия цитопротектора может достигаться снижением уровня окислительного стресса (антиоксидантное действие и прямое снижение повреждений), ингибированием апоптоза клеток (и потенциально увеличением времени репарации до критического момента инициации гибели клетки). Эти процессы являются ключевыми в защите клеток при лучевом воздействии. Полученные результаты выявили, что использование пирувата лития приводит к

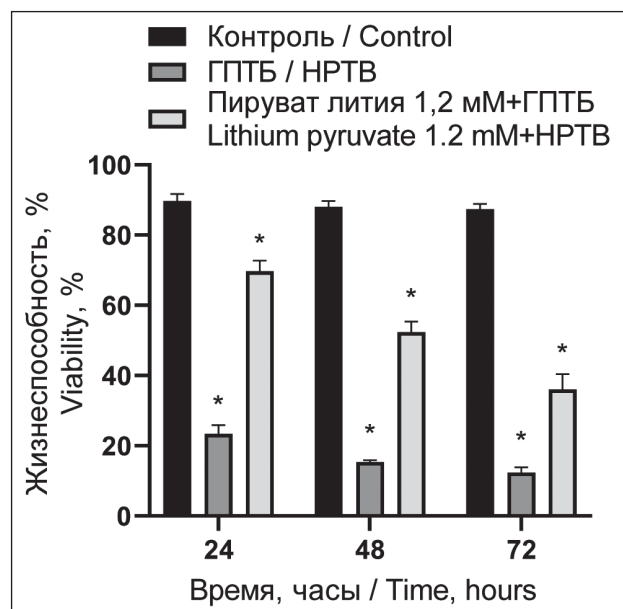


Рис. 6. Цитопротекторное действие пирувата лития в отношении мононуклеарных клеток при индуцированном окислительном стрессе (40 мкМ ГПТБ-гидроперекись трет-бутила). Примечания: * – различия значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0.05$); диаграмма выполнена авторами

Fig. 6. Cytoprotective effect of lithium pyruvate for mononuclear cells against induced oxidative stress (40 μ M HPTB-tret-butyl hydroperoxide).

Notes: * – significant differences vs control ($p < 0.05$); created by the authors

снижению уровня апоптоза в популяции и повышению жизнеспособности клеток. Очевидно, что результаты *in vitro* не отражают всего многообразия биологических процессов в живом организме при облучении, поэтому дальнейшее изучение радиопротекторных свойств и механизмов предполагает использование биомоделей *in vivo*.

Заключение

Полученные результаты выявили защитное действие пирувата лития при рентгеновском облучении нормальных клеточных культур, что создает патогенетическую основу для потенциального применения данного соединения в качестве радиопротектора.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Baskar R., Lee K.A., Yeo R., Yeoh K.W. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *Int J Med Sci.* 2012; 9(3): 193–9. doi: 10.7150/ijms.3635.
2. Begg A.C., Stewart F.A., Vens C. Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11(4): 239–53. doi: 10.1038/nrc3007.
3. Kamran M.Z., Ranjan A., Kaur N., Sur S., Tandon V. Radioprotective Agents: Strategies and Translational Advances. *Med Res Rev.* 2016; 36(3): 461–93. doi: 10.1002/med.21386.
4. Obrador E., Salvador R., Villaescusa J.I., Soriano J.M., Estrela J.M., Montoro A. Radioprotection and Radiomitigation: From the Bench to Clinical Practice. *Biomedicines.* 2020; 8(11): 461. doi: 10.3390/biomedicines8110461.
5. Mishra K., Alsbeih G. Appraisal of biochemical classes of radioprotectors: evidence, current status and guidelines for future development. *3 Biotech.* 2017; 7(5): 292. doi: 10.1007/s13205-017-0925-0.
6. Szejka M., Kołodziejczyk-Czepas J., Żbikowska H.M. Radioprotectors in radiotherapy – advances in the potential application of phytochemicals. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2016; 70(0): 722–34. doi: 10.5604/17322693.1208039.
7. Singh V.K., Seed T.M. The efficacy and safety of amifostine for the acute radiation syndrome. *Expert Opin Drug Saf.* 2019; 18(11): 1077–90. doi: 10.1080/14740338.2019.1666104.
8. Zivkovic Radojevic M., Milosavljevic N., Miladinovic T.B., Janković S., Folc M. Review of compounds that exhibit radioprotective and/or mitigatory effects after application of diagnostic or therapeutic ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 2023; 99(4): 594–603. doi: 10.1080/09553002.2022.2110308.
9. Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Zois C.E., Kalamida D., Pouliliou S., Karagounis I.V., Yeh T.L., Abboud M.I., Claridge T.D., Schofield C.J., Sivridis E., Simopoulos C., Tokmakidis S.P., Harris A.L. Normal tissue radioprotection by amifostine via Warburg-type effects. *Sci Rep.* 2016; 6: 30986. doi: 10.1038/srep30986.
10. Citrin D., Cotrim A.P., Hyodo F., Baum B.J., Krishna M.C., Mitchell J.B. Radioprotectors and mitigators of radiation-induced normal tissue injury. *Oncologist.* 2010; 15(4): 360–71. doi: 10.1634/theoncologist.2009-S104.

11. Lledó I., Ibáñez B., Melero A., Montoro A., Merino-Torres J.F., San Onofre N., Soriano J.M. Vitamins and Radioprotective Effect: A Review. *Antioxidants* (Basel). 2023; 12(3): 611. doi: 10.3390/antiox12030611.

12. Епимахова Е.В., Лосенков И.С., Рощина О.В., Плотников Е.В. Оценка цитопротекторного и антиоксидантного действия пирувата лития на мононуклеары периферической крови больных алкоголизмом. *Вопросы наркологии*. 2018; 12(171): 36–47. [Epimakhova E.V., Losenkov I.S., Roshchina O.V., Plotnikov E.V. Evaluation of the cytoprotective and antioxidant effects of lithium pyruvate on peripheral blood mononuclear cells of alcoholism patients. *Voprosy Narcologii*. 2018; 12(171): 36–47. (in Russian)].

13. Epimakhova E.V., Plotnikov E.V., Boiko A., Losenkov I. Influence of lithium pyruvate on expression of AKT/mTOR-signaling pathway proteins in mononuclear cells of patients with bipolar disorder. *Eur Neuropsychopharmacology*. 2020; 40(5): 200–201. doi: 10.1016/j.euroneuro.2020.09.262.

14. Plotnikov E., Losenkov I., Epimakhova E., Bohan N. Protective Effects of Pyruvic Acid Salt Against Lithium Toxicity and Oxidative Damage in Human Blood Mononuclear Cells. *Adv Pharm Bull*. 2019; 9(2): 302–6. doi: 10.15171/apb.2019.035.

15. Chiu C.T., Wang Z., Hunsberger J.G., Chuang D.M. Therapeutic potential of mood stabilizers lithium and valproic acid: beyond bipolar disorder. *Pharmacol Rev*. 2013; 65(1): 105–42. doi: 10.1124/pr.111.005512.

16. Wang W., Lu D., Shi Y., Wang Y. Exploring the Neuroprotective Effects of Lithium in Ischemic Stroke: A literature review. *Int J Med Sci*. 2024; 21(2): 284–98. doi: 10.7150/ijms.88195.

17. Plotnikov E., Korotkova E., Voronova O. Lithium Salts of Krebs Cycle Substrates as Potential Normothymic Antioxidant Agents. *J Pharm Bioallied Sci*. 2018; 10(4): 240–5. doi: 10.4103/JPBS.JPBS_140_18.

18. Haupt M., Bähr M., Doeppner T.R. Lithium beyond psychiatric indications: the reincarnation of a new old drug. *Neural Regen Res*. 2021; 16(12): 2383–7. doi: 10.4103/1673-5374.313015.

19. Ветлугина Т.П., Епимахова Е.В., Савочкина Д.Н., Плотников Е.В., Прокопьева В.Д., Лосенков И.С. Действие солей лития на лимфоциты пациентов с аддиктивными и депрессивными расстройствами в опытах *in vitro*. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2019; 4(105): 5–11. [Vetlugina T.P., Epimakhova E.V., Savochkina D.N., Plotnikov E.V., Prokopyeva V.D., Losenkov I.S. The effect of lithium salts on the lymphocytes of patients with addictive and depressive disorders in experiments *in vitro*. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2019; 4(105): 5–11. (in Russian)]. doi: 10.26617/1810-3111-2019-4(105)-5-11.

20. Плотников Е.В., Литвак М.М. Применение аскорбата лития в качестве церебропротекторного средства на модели ишемического

инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуск «Инсульт»*. 2020; 3(2): 29–32. [Plotnikov E.V., Litvak M.M. The use of lithium ascorbate as a cerebroprotective agent in a model of ischemic stroke. *Journal of Neurology and Psychiatry*. S.S. Korsakov. Special issue “Stroke”. 2020; 3(2): 29–32. (in Russian)]. doi: 10.17116/jnevro202012003229.

21. Forlenza O.V., De-Paula V.J., Diniz B.S. Neuroprotective effects of lithium: implications for the treatment of Alzheimer's disease and related neurodegenerative disorders. *ACS Chem Neurosci*. 2014; 5(6): 443–50. doi: 10.1021/cn5000309.

22. Greenberg D.B., Younger J., Kaufman S.D. Management of lithium in patients with cancer. *Psychosomatics*. 1993; 34(5): 388–94. doi: 10.1016/s0033-3182(93)71841-1.

23. Ferensztajn-Rochowiak E., Rybakowski J.K. The effect of lithium on hematopoietic, mesenchymal and neural stem cells. *Pharmacol Rep*. 2016; 68(2): 224–30. doi: 10.1016/j.pharep.2015.09.005.

24. Liu J., Bi K., Yang R., Li H., Nikitaki Z., Chang L. Role of DNA damage and repair in radiation cancer therapy: a current update and a look to the future. *Int J Radiat Biol*. 2020; 96(11): 1329–38. doi: 10.1080/09553002.2020.1807641.

25. Zhao L., Bao C., Shang Y., He X., Ma C., Lei X., Mi D., Sun Y. The Determinant of DNA Repair Pathway Choices in Ionising Radiation-Induced DNA Double-Strand Breaks. *Biomed Res Int*. 2020. doi: 10.1155/2020/4834965.

26. Liu L., Liang Z., Ma S., Li L., Liu X. Radioprotective countermeasures for radiation injury (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2023; 27(3): 66. doi: 10.3892/mmr.2023.12953.

27. Schae D., McBride W.H. Opportunities and challenges of radiotherapy for treating cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015; 12(9): 527–40. doi: 10.1038/nrclinonc.2015.120.

28. Thoms J., Bristow R.G. DNA repair targeting and radiotherapy: a focus on the therapeutic ratio. *Semin Radiat Oncol*. 2010; 20(4): 217–22. doi: 10.1016/j.semradonc.2010.06.003.

29. Daguene E., Khalifa J., Tolédano A., Borchellini D., Pointreau Y., Rodriguez-Lafrasse C., Chargari C., Magné N. To exploit the 5 ‘R’ of radiobiology and unleash the 3 ‘E’ of immunoeediting: ‘RE’-inventing the radiotherapy-immunotherapy combination. *Ther Adv Med Oncol*. 2020; 12. doi: 10.1177/1758835920913445.

30. Kargiotis O., Geka A., Rao J.S., Kyritsis A.P. Effects of irradiation on tumor cell survival, invasion and angiogenesis. *J Neurooncol*. 2010; 100(3): 323–38. doi: 10.1007/s11060-010-0199-4.

Поступила/Received 26.04.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 07.05.2024

Принята к публикации/Accepted 02.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Плотников Евгений Владимирович, кандидат химических наук, доцент, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»; научный сотрудник лаборатории химико-фармацевтических исследований, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; старший научный сотрудник отделения эндогенных расстройств, Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1904-2653. Researcher ID (WOS): F-8333-2016. Author ID (Scopus): 56432612900. ORCID: 0000-0002-4374-6422.

Белоусов Михаил Валерьевич, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтического анализа, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; профессор, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8185-8117. Researcher ID (WOS): Q-3827-2016. Author ID (Scopus): 55808990700. ORCID: 0000-0002-2153-7945.

Бразовский Константин Станиславович, доктор технических наук, профессор, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2868-1921. Researcher ID (WOS): O-4043-2016. Author ID (Scopus): 56582319400. ORCID: 0000-0002-4779-9820.

Ларькина Мария Сергеевна, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтического анализа, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; профессор, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2812-7907. Author ID (Scopus): 57194542755. ORCID: 0000-0003-1176-2441.

Артамонов Антон Анатольевич, PhD, старший научный сотрудник, Институт медико-биологических проблем РАН (г. Москва, Россия). Author ID (Scopus): 57089921800. ORCID: 0000-0002-7543-9611.

Стучебров Сергей Геннадьевич, доцент, Исследовательская школа физики высокоэнергетических процессов, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2117-0033. Researcher ID (WOS): C-7029-2015. Author ID (Scopus): 55247303500. ORCID: 0000-0003-3493-2319.

Чернов Владимир Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе и инновационной деятельности, заведующий отделением радионуклидной терапии и диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ведущий инженер, лаборатория № 31 ядерного реактора, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6301-3612. Researcher ID (WOS): B-6789-2016. Author ID (Scopus): 7201429550. ORCID: 0000-0002-5524-9546.

ВКЛАД АВТОРОВ

Плотников Евгений Владимирович: разработка концепции проекта, выполнение исследований, написание статьи.

Белоусов Михаил Валерьевич: анализ результатов с внесением ценного интеллектуального содержания, написание статьи.

Бразовский Константин Станиславович: выполнение исследований, написание статьи.

Ларькина Мария Сергеевна: анализ научной литературы и полученных данных, написание статьи.

Артамонов Антон Анатольевич: статистическая обработка результатов, графическое оформление, написание статьи.

Стучебров Сергей Геннадьевич: техническое сопровождение, написание статьи.

Чернов Владимир Иванович: анализ данных с внесением ценного интеллектуального содержания, написание статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Автор Чернов В.И. (доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН) является заместителем редактора «Сибирского онкологического журнала». Авторам неизвестно о каком-либо другом потенциальном конфликте интересов, связанном с данной статьей.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации. Образцы клеток получены из крови авторов статьи в добровольном порядке.

Информированное согласие

Все доноры подписали письменное согласие на использование образцов крови в научных целях и публикацию результатов в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeny V. Plotnikov, PhD, Associate Professor, Research School of Chemical and Biomedical Technologies, National Research Tomsk Polytechnic University; Researcher, Laboratory of Chemical and Pharmaceutical Research, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia; Senior Researcher, Department of Endogenous Disorders, Mental Health Research Institute of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): F-8333-2017. Author ID (Scopus): 56432612900. ORCID: 0000-0002-4374-6422.

Mikhail V. Belousov, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Analysis, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia; Professor, Research School of Chemical and Biomedical Technologies, National Research Tomsk Polytechnic University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): Q-3827-2016. Author ID (Scopus): 55808990700. ORCID: 0000-0002-2153-7945.

Konstantin S. Brazovsky, Professor, Research School of Chemical and Biomedical Technologies, National Research Tomsk Polytechnic University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): O-4043-2016. Author ID (Scopus): 56582319400. ORCID: 0000-0002-4779-9820.

Maria S. Larkina, Professor, Department of Pharmaceutical Analysis, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia; Professor, Research School of Chemical and Biomedical Technologies, National Research Tomsk Polytechnic University (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57194542755. ORCID: 0000-0003-1176-2441.

Anton A. Artamonov, PhD, Senior Researcher, Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57089921800. ORCID: 0000-0002-7543-9611.

Sergey G. Stuchebrov, Associate Professor, Research School of High-Energy Physics, National Research Tomsk Polytechnic University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-7029-2015. Author ID (Scopus): 55247303500. ORCID: 0000-0003-3493-2319.

Vladimir I. Chernov, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Research and Innovation, Head of the Nuclear Medicine Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Lead Engineer, Nuclear Reactor Laboratory No. 31, National Research Tomsk Polytechnic University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): B-6789-2016. Author ID (Scopus): 7201429550. ORCID: 0000-0002-5524-9546.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Evgeny V. Plotnikov: project conceptualization, research, writing of the manuscript.

Mikhail V. Belousov: analysis of the results, data interpretation, writing of the manuscript.

Konstantin S. Brazovsky: conducting research, writing of the manuscript.

Maria S. Larkina: literature review and analysis of obtained data, writing of the manuscript.

Anton A. Artamonov: statistical processing of results, graphic design, writing of the manuscript.

Sergey G. Stuchebrov: technical support, writing of the manuscript.

Vladimir I. Chernov: analysis of the results, data interpretation, writing of the manuscript.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

Prof. Chernov V.I. is the Deputy Editor-in-Chief of Siberian Journal of Oncology. The authors are not aware of any other potential conflicts of interest related to this manuscript.

Compliance with Ethical Standards

The research complies with the standards of the Declaration of Helsinki. Cell samples were voluntarily obtained from the blood of donors-authors of the article.

Voluntary informed consent

All donors gave their consent to use the blood samples for scientific purposes and to publish the results in medical journal.

Для цитирования: Hashemi M., Panahi A., Nosrati R., Oranj G.D., Jafari-Shakib R. Оценка цитотоксического эффекта и индукции апоптоза экстракта *Cuscuta epithymum* при плоскоклеточном раке пищевода. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 77–85. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-77-85

For citation: Hashemi M., Panahi A., Nosrati R., Oranj G.D., Jafari-Shakib R. Evaluation of the cytotoxic effects and apoptosis inducing of *Cuscuta epithymum* extract on esophageal squamous cell carcinoma. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 77–85. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-77-85

EVALUATION OF THE CYTOTOXIC EFFECTS AND APOPTOSIS INDUCING OF *CUSCUTA EPITHYUM* EXTRACT ON ESOPHAGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

M. Hashemi¹, A. Panahi¹, R. Nosrati², G.D. Oranj³, R. Jafari-Shakib²

¹University of Mohaghegh Ardabili
Ardabil, Iran

²Guilan University of Medical Sciences
Rasht, Iran

³University of Tabriz
Tabriz, Iran

Abstract

Background. Esophageal cancer is the eighth most common cancer in the world. The antitumor effects of medicinal plants have been shown as a therapeutic strategy to treat esophageal cancer. **This study aimed to evaluate *in vitro* effects of *Cuscuta epithymum* extract on the survival and apoptosis of esophageal cancer cell line.** **Material and Methods.** Here, the hydroalcoholic Soxhlet extract of *C. epithymum* plant was prepared. The cell viability of esophageal cancer cell line KYSE-30 was evaluated by MTT assay after 24 h treatment with concentrations of 50, 100, 200, 400, 600, 800 and 1000 µg/ml of the extract. Then, the apoptotic effect of extract was evaluated by flow cytometry using Propidium Iodide (PI) staining and sub-G1 peak analysis, and Annexin V-FITC/PI staining in cells treated with concentrations of 125, 250, 500 and 750 µg/ml as well as morphological change of healthy cells to apoptotic and necrotic form. **Results.** The hydroalcoholic extract of *C. epithymum* decreases the viability of KYSE-30 cells in a dose-dependent manner with an IC₅₀ of 646 µg/ml at 24 h. A significant increase was observed in the percentage of sub-G1 phase in cells treated with 500, 750, and 1000 µg/ml of *C. epithymum* extract for 24 h compared to the control group ($p < 0.01$ and $p < 0.001$). The results also showed a significantly enhanced the percentage of primary and secondary apoptotic cells compared to untreated cells. At concentrations of 250, 500, and 750 µg/ml, approximately 17, 33 and 45 % of cells was apoptotic. The apoptotic and necrotic cells morphology after treatment with 250 and 500 µg/ml of the extract was also confirmed by fluorescence microscopy. **Conclusion.** The findings showed the apoptotic effect of the hydroalcoholic extract of *C. epithymum* on KYSE-30 cells *in vitro*. The effect of this extract on the genes involved in apoptosis as well as the mechanism of action of this extract are recommended.

Key words: *Cuscuta* extract, *Cuscuta epithymum*, MTT, esophageal cancer, apoptosis.

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА И ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА ЭКСТРАКТА *CUSCUTA EPITHYUM* ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ПИЩЕВОДА

M. Hashemi¹, A. Panahi¹, R. Nosrati², G.D. Oranj³, R. Jafari-Shakib²

¹Университет Мохагег Ардебил
Иран, г. Ардебиль

²Гиланский университет медицинских наук
Иран, г. Решт

³Табризский университет
Иран, г. Тебриз

Аннотация

Актуальность. Рак пищевода занимает 8-е место среди всех онкологических заболеваний в мире. В статье продемонстрированы противоопухолевые свойства лекарственных растений в отношении плоско-клеточного рака пищевода. **Цель исследования** – оценка *in vitro* влияния экстракта *Cuscuta epithymum* на выживаемость и апоптоз клеток рака пищевода. **Материал и методы.** В исследовании оценивался водно-спиртовой экстракт Сокслета, приготовленный из растения *C. epithymum*. Жизнеспособность клеток рака пищевода KYSE-30 исследовалась с помощью МТТ-теста после 24-часовой обработки экстрактом в концентрации 50, 100, 200, 400, 600, 800 и 1000 мкг/мл. Оценка апоптотического эффекта экстракта проводилась методом проточной цитометрии с окрашиванием клеток йодидом-пропидия и анализа пика sub-G1, а также с помощью окрашивания аннексином V-FITC/PI в клетках, обработанных экстрактом в концентрации 125, 250, 500 и 750 мкг/мл. **Результаты.** Водно-спиртовой экстракт *C. epithymum* снижает жизнеспособность клеток KYSE-30 в зависимости от дозы с IC50=646 мкг/мл за 24 ч. Значительное увеличение наблюдалось в процентном соотношении суб-G1 фазы в клетках, обработанных экстрактом *C. epithymum* в концентрации 500, 750 и 1000 мкг/мл в течение 24 ч, по сравнению с контрольной группой ($p<0,01$ и $p<0,001$). Показано значительное увеличение доли первичных и вторичных апоптотических клеток по сравнению с необработанными клетками. При концентрациях 250, 500 и 750 мкг/мл приблизительно 17, 33 и 45 % клеток были апоптотическими. Наличие апоптотических и некротических клеток после обработки 250 и 500 мкг/мл экстракта также подтверждено методом флуоресцентной микроскопии. **Заключение.** Водно-спиртовой экстракт *C. epithymum* оказывает апоптотический эффект на клетки KYSE-30 *in vitro*. Необходимо дальнейшее исследование влияния экстракта *C. epithymum* на гены, вовлеченные в апоптоз, а также механизма его действия.

Ключевые слова: экстракт повилики тимьянной (*Cuscuta epithymum*), МТТ, рак пищевода, апоптоз.

Introduction

Esophageal cancer (EC) is the eighth most common cancer and the chance of getting of EC increases with age. EC is the sixth most common cause of cancer-related death in the world [1, 2]. Worldwide 5-year overall survival rates range from 15 % to 25 % [3]. According to the morphology of malignant cells and the kind of cells involved, EC can be classified into several forms. Esophageal adenocarcinoma (EAC) and squamous cell carcinoma (ESCC) are the two most common types of EC. EAC begins in the glandular cells while ESCC develops from the squamous epithelial cells in the esophagus [4, 5]. ESCC is the predominant histological type of EC worldwide [6, 7]. When the esophageal mucosa is exposed to associated risk factors such as tobacco and alcohol consumption, poor diet, lack of exercise, and obesity, epithelial cells proliferate abnormally and eventually develop into invasive EC [8].

EC is extremely malignant cancer and its mortality is increasing rapidly worldwide and its treatment is important. Chemotherapy, esophagectomy, and radiotherapy are the most common approaches for EC therapy [9]. Although esophagectomy and postoperative chemotherapy are considered the main choices for EC treatment, the surgical technique is very invasive and is associated with high rates of mortality and morbidity, and several side effects are may raise from chemotherapy [10, 11]. Accordingly, the cytotoxic and anti-apoptotic effects of natural compounds and medicinal plants with low adverse effects is currently receiving great attention for EC treatment [12, 13].

Cuscuta spp., also known as dodder is one of the medicinal plants consists of 100-170 species that

assigned to the Convolvulaceae family [14]. *Cuscuta* are mainly yellow, orange, red or rarely green parasitic plants. *C. epithymum* is one of the species of *Cuscuta*, which is named in different countries with the names of Kashout, Pittimo, Afimoon, crop parasite, etc [15, 16]. *C. epithymum* is a parasitic plant with several secondary metabolites such as glycosides, saponins, quercetin, tannins, steroids, and kaempferol [16, 17]. *C. epithymum* have been frequently used in traditional medicine due to main biological and pharmacological activities, such as antioxidant, anti-bacterial, anti-fungal, and anticonvulsant activities, urease inhibition, and cytotoxicity [14, 18]. This plant is routinely used for treatment of insanity (Iran), diabetes (Morocco), burn injuries (India), psychometric disorders (India), liver disorders (India), vision improvement (Greece), and rheumatism (China) [17, 18]. Recent studies attribute the anti-cancer effects of the extract of this plant [19].

Given the above evidence, in this study, we have evaluated *in vitro* anticancer effects of hydroalcoholic extracts of *C. epithymum* on the survival and apoptosis of EC KYSE-30 cell line.

This study aimed to evaluate *in vitro* effects of *Cuscuta epithymum* extract on the survival and apoptosis of esophageal cancer cell line.

Material and Methods

Preparation of Cuscuta extract

C. epithymum plant was collected from Namin (Ardabil province) and were identified by the research herbarium of University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (Voucher No. 42,082). The plants were air-dried at room temperature and 50 g of root powder was mixed with 500 mL of 70 % hydroalcoholic

solvent by a Soxhlet extraction method. Then, the resulting mixture was evaporated in several stages by rotary evaporator and the extract was dried in the room temperature away from light and stored at 4 °C until use [17, 20].

Cell lines

ESCC cell line (KYSE-30) and HDF nan-cancerous cell line were achieved from National Bank of Iran, Pasteur Institute, Iran. The cells were cultured in 75 cm² flask (BioIdea, Iran) in RPMI-1640 medium (Gibco; Darmstadt, Germany) supplemented with 10 % FBS and 1 % penicillin/streptomycin (pen/strep) and incubated in a humidified condition at 37 °C and 5 % CO₂. The media was changed twice a week. When cultures reached confluence, the cells were detached from the culture flask by 0.25 % Trypsin-EDTA solution (Gibco; Darmstadt, Germany). Cell counts were performed by Trypan blue (Sigma-Aldrich; Munich, Germany) exclusion method using haemocytometer slide.

Cell viability assay

The Cytotoxicity of *C. epithymum* extract on KYSE-30 cells was investigated using MTT method. Briefly, 5×10^3 cells/well were cultured in RPMI-1640 medium with 10 % FBS and 1 % pen/strep and incubated 24 h at 37 °C and 5 % CO₂ in 96-well plates. Then, cells were treated with concentrations of 1000, 800, 600, 400, 200, 100, and 50 µg/ml of *C. epithymum* extract for 24 h. Then, the culture media were exchanged with fresh medium and added a 20 µL of 5 mg/mL MTT solution (Sigma-Aldrich; Munich, Germany) to each well and a further incubation was carried out ~ 4 h. Then, MTT was replaced with 100 µL of DMSO (Gibco; Darmstadt, Germany) as a formazan solvent to dissolve formazan crystals at room temperature. After the crystals were dissolved, the absorbance of each well of the plate was detected at 570 and 630 nm using a microplate reader (BioTeK, USA) [21].

Propidium iodide assay

Cell staining using the fluorescent dye propidium iodide (PI) and assessing the Sub-G1 Peak by flow cytometry are used to assess cell viability or DNA content in cell cycle analysis. For this purpose, 5×10^4 cells were seeded in a 24-well plate and incubated for 24h. After 24 h, cells were treated with concentrations of 250, 500, and 750 µg/ml of *C. epithymum* extract and were again incubated for 24h. The cells were harvested and washed in PBS, fixed in cold 70 % ethanol and left at 4 °C for 2 h. Then, cells were washed twice with PBS and resuspended cell pellet in 1 ml of hypotonic buffer containing PI reagent (Sigma-Aldrich; Munich, Germany) (100 µg/ml of PI in 0.1 % Triton X-100) and RNase A (Sigma-Aldrich; Munich, Germany) and were incubated for 30 min at 37 °C. Then it was analyzed by FAC Scan flow cytometer [22].

Apoptosis assay

Evaluation of apoptotic and necrotic cells was done by Annexin V-FITC/PI kit staining method (IQ-products; Netherlands). In this reaction, Annexin-V binds to phosphatidylserine (PS) in a specific and

calcium-dependent manner, which is used to detect early apoptosis. Separation of early apoptosis from lately apoptosis is done with the help of PI dye reaction. To perform this test, about 5×10^5 cells/well were cultured in 6-well plates containing RPMI-1640 medium and incubated overnight at 37 °C and 5 % CO₂. Cells were exposed to concentrations of 125, 250, 500 and 750 µg/ml of *C. epithymum* extract and incubated for 24 h. Then, the adherent KYSE-30 cells were trypsinized with trypsin/EDTA and washed with serum-containing media and collected cells by centrifugation at 1500 g for 5 mins. The cells pellets were resuspended in 90 µL of 1X Annexin V binding buffer. 10 µL of Annexin V-FITC solution and 10 µL of PI solution were added to the solution, gently mixed and incubated at room temperature in the dark for 20 mins. Finally, the reaction suspension was replaced with 400 µL of 1X binding buffer and analyzed by FAC Scan flow cytometer. To set up compensation and quadrants of flow cytometry, unstained cells, cells stained with Annexin V-FITC without PI, and cells stained with PI alone (no Annexin V-FITC) were used as controls [23].

Assessment of changes in cellular morphology

The morphological changes of the treated cells were investigated by overnight treatment of 5×10^5 cells with 250 and 500 µg/ml *C. epithymum* extract in 6-well plate using an inverted microscope compared to untreated cells. In addition, apoptotic and necrotic cells morphology were investigated using fluorescent microscope after Annexin V-FITC/PI staining.

Statistical analysis

Statistical analyzes were performed using GraphPad Prism version 8 software. One-way variance test and Tukey's multiple comparisons test were used to perform comparative tests. P-value < 0.05 was also considered as the level of significance and the results were reported as mean ± standard deviation (SD).

Results

Effect of *C. epithymum* on the viability of KYSE-30 cells

In vitro cytotoxicity of different concentrations of hydroalcoholic extract of *C. epithymum* on KYSE-30 cells by MTT assay demonstrated that the cytotoxicity of this extract was evaluated in a dose-dependent manner after 24 h since the concentration of 1000 µg/ml showed the most cytotoxic effects (67.7 %) on the esophageal squamous cell line. According to the results of a dose-escalating experiment, IC₅₀ of hydroalcoholic extract of *C. epithymum* on KYSE-30 cell line was obtained 646 µg/ml. However, in HDF nan-cancerous cell line, the different concentration of extract was not shown significant difference in term of cytotoxicity ($p > 0.05$) (Fig. 1).

Effect of *C. epithymum* on cell cycle in KYSE-30 cells

The flow cytometry results of PI assay showed a significant increase of the sub-G1 percentage in cells

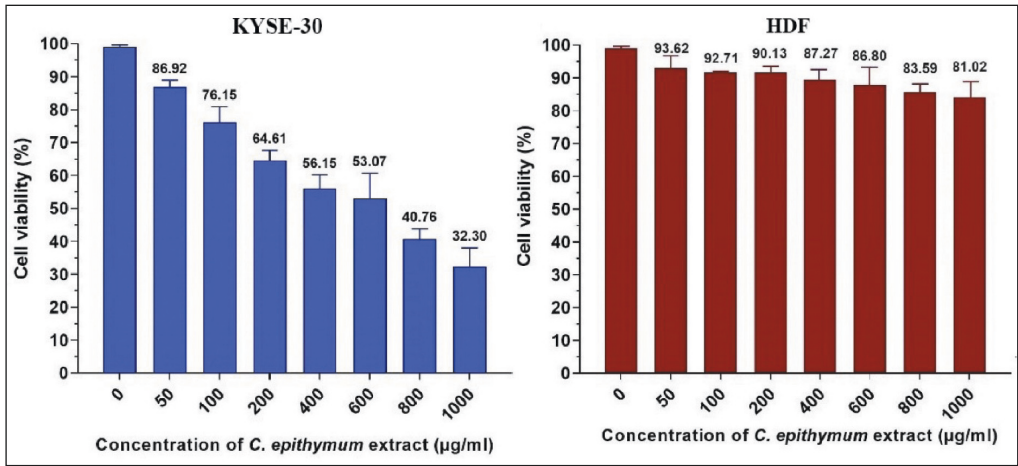


Fig. 1. Cell viability assessments of concentrations of 50–1000 µg/ml of *C. epithymum* extract in KYSE-30 and HDF cell lines after 24 h of incubation at 37 °C. Data are shown as mean ± SD in triplicate. Note: created by the authors

Рис. 1. Оценка жизнеспособности клеток при концентрации 50–1000 мкг/мл экстракта *C. epithymum* в клеточных линиях KYSE-30 и HDF после 24 ч инкубации при 37 °C. Данные представлены как среднее значение ± SD в трехкратном повторении. Примечание: диаграммы выполнены авторами

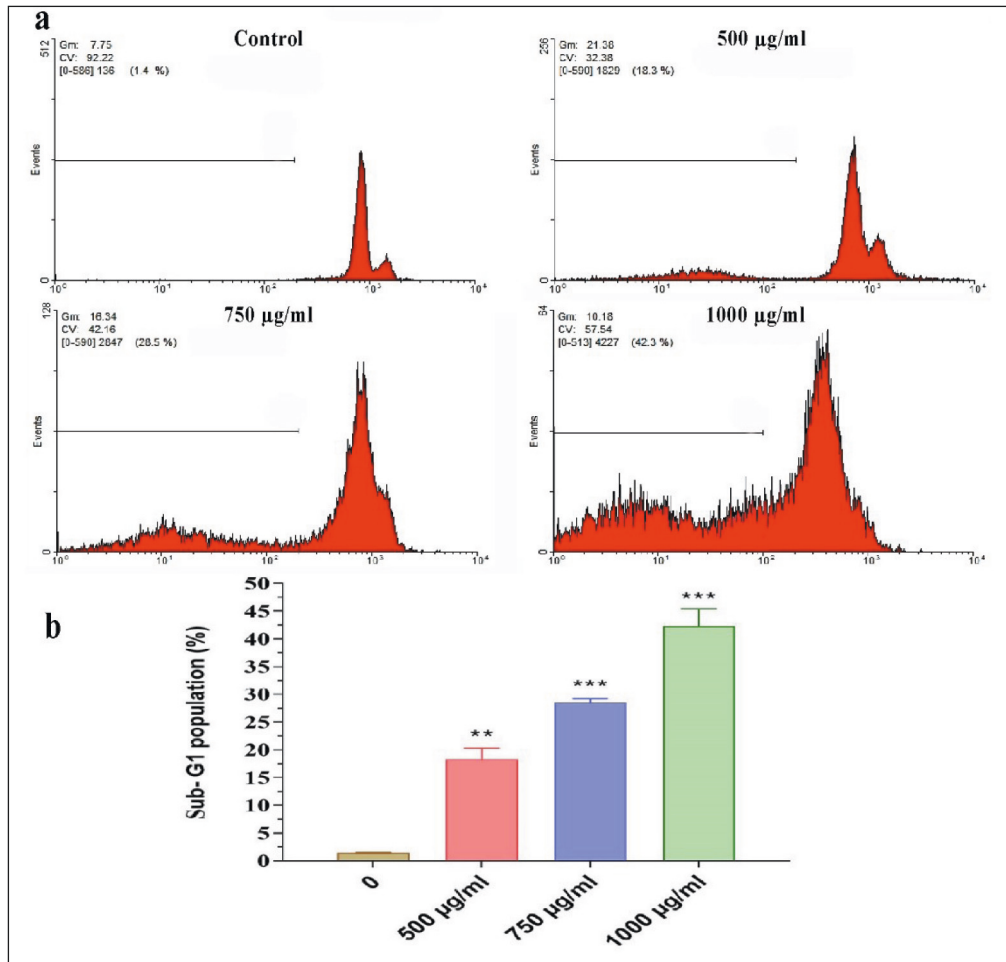


Fig. 2. a) Flow cytometry cell cycle histograms show a significant increase of the sub-G1 area of KYSE-30 cells treated with 500, 750, and 1000 µg/ml of *C. epithymum* extract for 24 h compared to the control group; b) Sub-G1 population percentage of cells treated with same concentration of *C. epithymum* extract for 24 h. (** – $p < 0.01$ and *** – $p < 0.001$ compared to the control group)

Note: created by the authors
Рис. 2. а) гистограммы клеточного цикла, полученные с помощью проточной цитометрии, показывают значительное увеличение области суб-G1 клеток KYSE-30, обработанных 500, 750 и 1000 мкг/мл экстракта *C. epithymum* в течение 24 ч, по сравнению с контрольной группой; б) процент популяции суб-G1 клеток, обработанных той же концентрацией экстракта *C. epithymum* в течение 24 ч (значимость различий по сравнению с контрольной группой: ** – $p < 0,01$ и *** – $p < 0,001$). Примечание: диаграммы выполнены авторами

treated with 500, 750, and 1000 $\mu\text{g/ml}$ of *C. epithymum* extract for 24 h compared to the control group ($p < 0.01$ and $p < 0.001$). Fig. 2a, b shows the flow cytometry histograms and sub-G1 population percentage in different concentration of *C. epithymum* extract.

Apoptosis analysis

Based on Annexin V-FITC/PI double staining and results of flow cytometry, treatment of KYSE-30 cells with 125, 250, 500, and 750 $\mu\text{g/ml}$ caused a higher apoptosis rate than that of untreated cells. As revealed in dot plot of four quadrants (Q1-Q4) images observed by flow cytometry assay (Fig 3a to 3f), there was more viable cells in the untreated group (3b) compared to the treated cells (Q3). In the untreated group, apoptotic and necrotic cells were about 2.5 %, while after the treatment of the cells, an increase in the apoptotic cells was observed in a dose-dependent manner. At the concentration of 125 $\mu\text{g/ml}$, about 9 % of the cells had undergone apoptosis (early and late apoptosis) (Q2 + Q4) and at the concentration of 250, 500, and 750 $\mu\text{g/ml}$ the apoptotic cells (early and late apoptosis) were 17, 33, and 45 %, respectively, which was significant compared to the untreated group ($p < 0.001$).

Morphological analysis

Morphological assessment of KYSE-30 cell line treated with 250 and 500 $\mu\text{g/ml}$ hydroalcoholic extract

of *C. epithymum* after 24 h by an inverted microscope, represented the membrane bubbles, formation of apoptotic bodies, cell aggregation, and dissociation of cell connections. Fluorescence microscopic images of Annexin V-FITC/PI double staining showed the apoptotic and necrotic cells morphology after treatment with 250 and 500 $\mu\text{g/ml}$ of *C. epithymum* extract (Fig. 4). Despite normal morphology and the uniformly green cell membrane of the live cells, early apoptotic cells indicated by green to yellow. Cells with green membrane and red nucleus were late apoptotic cells, and orange to red cells indicated disintegrated morphology of necrotic cells (dead cells). The quantitative average percentage of early and late apoptosis, and necrosis in KYSE-30 cells treated with different concentrations of *C. epithymum* extract was shown in Fig. 5.

Discussion

Nowadays, with the increasing acceptance and public interest in the use of constituents of medicinal plants (herbal medicine) as natural alternatives to chemical-based treatments. Regarding this concern, many studies have shown their cytotoxicity potential as a therapeutic strategy to control the progress of various cancers via apoptosis or necrosis [24, 25]. In the present study, the effect of hydroalcoholic extract

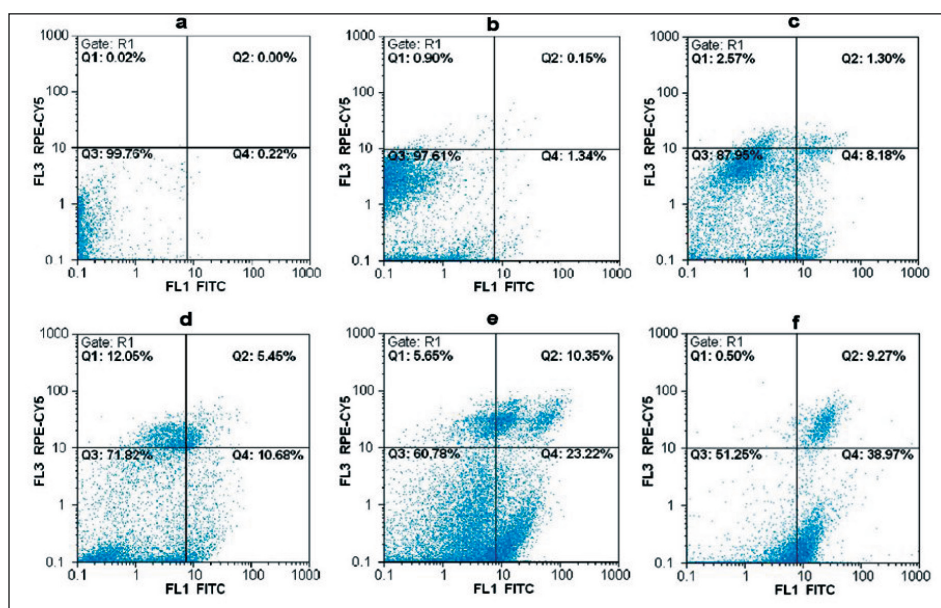


Fig. 3. Flow cytometry analysis of apoptosis of KYSE-30 induced with different concentrations of *C. epithymum* extract using Annexin-FITC/PI. Dot plots show apoptosis ratios of a) unstained control cell, b) untreated cell and stained with Annexin/PI, c) 125 $\mu\text{g/ml}$, d) 250 $\mu\text{g/ml}$, e) 500 $\mu\text{g/ml}$, and f) 750 $\mu\text{g/ml}$ of *C. epithymum* extract. The Q1 quadrant represents unviable cells (PI⁺/AV⁻). The Q2 quadrant shows late apoptosis or necrosis (PI⁺/AV⁺). The Q3 quadrant represents viable cells (PI⁻/AV⁻). The Q4 quadrant represents cells in early apoptosis (AV⁺/PI⁻). Note the remarkable increase in apoptotic cells number (Q2 + Q4) in the *C. epithymum* extract groups. Note: created by the authors

Рис. 3. Выраженность апоптоза KYSE-30, индуцированного различными концентрациями экстракта *C. Epithymum*, оценена методом проточной цитометрии с использованием Аннексина-FITC/PI. Коэффициенты апоптоза в неокрашенной контрольной клетке (a), в необработанной клетке, окрашенной Аннексином/PI (b), в клетках, обработанных экстрактом *C. epithymum* в различных концентрациях: 125 мкг/мл (c), 250 мкг/мл (d), 500 мкг/мл (e), 750 мкг/мл (f). Квадрант Q1 показывает нежизнеспособные клетки (PI⁺/AV⁻); Q2 – поздний апоптоз или некроз (PI⁺/AV⁺); Q3 – жизнеспособные клетки (PI⁻/AV⁻); Q4 – клетки на раннем апоптозе (AV⁺/PI⁻). Отмечается значительное увеличение числа апоптотических клеток (Q2 + Q4) в группах, получавших экстракт *C. epithymum*. Примечание: диаграммы выполнены авторами

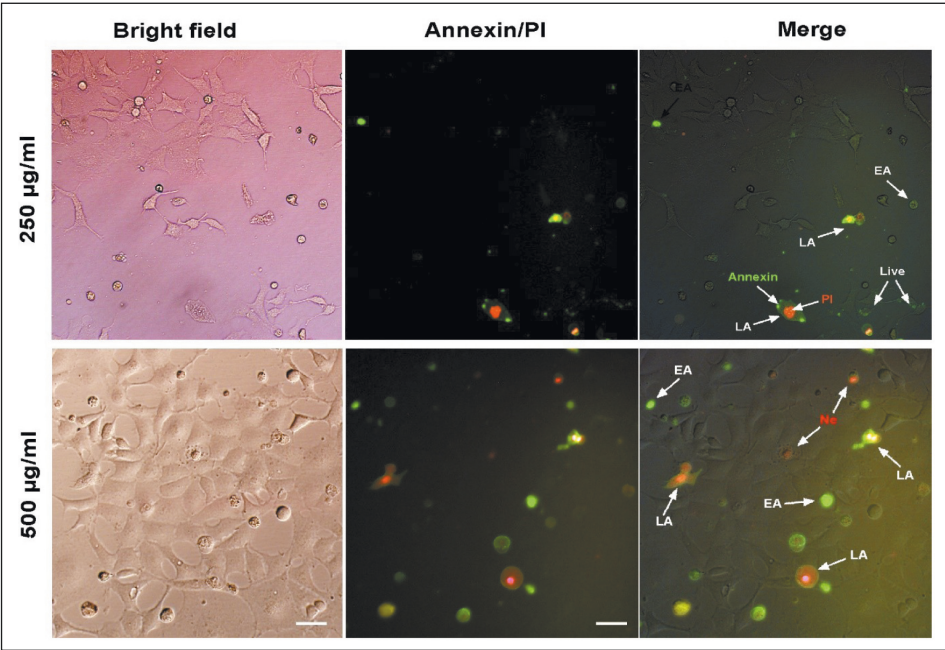


Fig. 4. Microphoto. Fluorescence microscopic images of apoptotic morphology of KYSE-30 cells treated with *C. epithymum* (250 and 500 µg/mL) for 24 h using Annexin V-FITC/PI staining. The earlier apoptotic cells turn green. Cells stained as membrane green and the nuclei red turn orange indicates the late apoptotic phase. The red stained cells indicate the dead cells. (The magnification is ×200. EA: early apoptosis, LA: late apoptosis, Ne: necrotic cells). Note: created by the authors

Рис. 4. Микрофото. Флуоресцентная микроскопия. Апоптоз клеток KYSE-30, обработанных *C. epithymum* (250 и 500 мкг/мл) в течение 24 ч, окраска Аннелин V-FITC/PI, ×200. При ранней фазе апоптоза (ЕА) клетки становятся зелеными. Мембраны клетки, окрашенные в зеленый цвет, а красные ядра, становящиеся оранжевыми, указывают на позднюю фазу апоптоза (LА). Некротизированные (Ne) клетки окрашены красным. Примечание: микрофото выполнены авторами

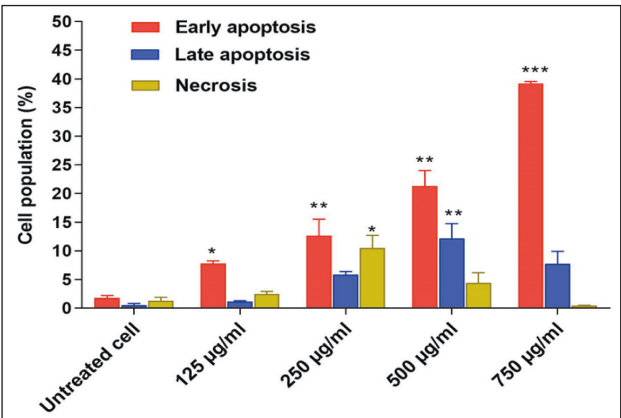


Fig. 5. Bar graph of average percentage of early and late apoptosis, and necrosis in KYSE-30 cells treated with different concentrations of *C. epithymum* extract. The values are presented as means ± SD. (* – p<0.05, ** – p<0.01 and *** – p<0.001 compared to the untreated group). Note: created by the authors

Рис. 5. Средней процент раннего и позднего апоптоза и некроза в клетках KYSE-30, обработанных экстрактом *C. epithymum* различной концентрации. Значения представлены как среднее значение ± SD. (значимость различий по сравнению с контрольной группой: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001). Примечание: диаграмма выполнена авторами

of *C. epithymum* on the *in vitro* survival and apoptosis of KYSE-30 esophageal squamous carcinoma cells was investigated. After treating the cells with different concentrations of *C. epithymum* extract, a significant decrease in cell viability and a significant increase in the number of apoptotic cells were observed in a dose-dependent manner.

C. epithymum has been used in traditional medicine for many years and recently, its anti-tumor properties have been reported. Its therapeutic and protective effects arise from bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids, and saponins. However, the apoptosis induction of esophageal cancer cells has not been investigated so far. Herein, we confirmed a significant toxic effect of its extract on the viability of KYSE-30 cells with the MTT assay. In previous studies, the toxicity of the extract of this species and other species of *Cuscuta* has been shown against different types of cancer. In a study reported by Ghazanfari *et al.*, the cytotoxic effect of *Cuscuta* extract was found on the viability of lymphoma and melanoma cancer cells in a dose- and time-dependent manner since its cytotoxicity was 80 % and 81 % on SK-MEL-3 and Raji cell lines with a IC_{50} value of 3.53 mg/ml and 2.95 mg/ml at 24 h, respectively [26]. In another study, the hydroalcoholic extracts of *C. chinensis* significantly reduced the viability of HT29, Hela and MDA-MB-468 cells as well as the hydroalcoholic extract of *C. epithymum* could significantly decreased the viability of MDA-MB-468 cells (IC_{50} = 340 µg/ml) [27]. Moradzadeh *et al.*, also

showed that the hydroalcoholic extract of *C. campestris* could inhibited the cell viability with values of $IC_{50} = 23.9 \mu\text{g/ml}$ for HL60 and $IC_{50} = 60.3 \mu\text{g/ml}$ for NB4 cells after 72 h post-treatment [28]. The comparison of previous findings and our received IC_{50} values ($646 \mu\text{g/ml}$), suggesting that the epithelial cells of breast adenocarcinoma (MDA-MB-468) are more sensitive than the esophageal epithelial cells, melanoma and Burkitt's lymphoma to the *Cuscuta* extract.

Among the various alcoholic extracts of *C. epithymum*, methanolic and dichloromethane extracts have been shown the high toxicity, so that the lowest IC_{50} for 4T1 and MDA-MB-231 cells was obtained at a concentration of $72.83 \mu\text{g/ml}$ and $24.53 \mu\text{g/ml}$ from methanolic extract after 48 h [29]. The difference between the results of present study and these studies related to the type of extraction method, duration of treatment, and target cell line. In this study, we used the hydroalcoholic extract that it has been found an almost similar output with alcoholic extracts, however, a low cytotoxicity has been reported for hydraulic extract [30]. It has been demonstrated that most anticancer properties of *Cuscuta* species related to the bioactive compounds. Therefore, in the future studies, their cytotoxicity effects of the different fragments of species of this plant should been investigated.

Apoptotic cells are recognized either on the basis of their reduced DNA-associated fluorescence as cells with diminished DNA content (sub-G1) or morphologic changes. Here, a significant increase in the percentage of sub-G1 in flow cytometry histograms and DNA fragmentation was observed in the toxicity caused by the hydroalcoholic extract of *C. epithymum* in esophageal cancer cell line, which indicated the *in vitro* anticancer properties of *C. epithymum* extract. In addition, a significant increase in the percentage of early and late apoptotic cells after

treatment with the extract was observed compared to untreated cells, so that 17, 33 and 45 % of cells were apoptotic (early and lately) at concentrations of 250, 500 and 750 $\mu\text{g/ml}$.

In previous studies, it has been represented that the extracts of various *Cuscuta* species can decrease the viability of cancer cells by inducing apoptosis *in vitro*. In a study, the apoptosis assay showed that dichloromethane extract induces apoptosis more than methanolic, and n-hexane extracts, so that based on the Annexin/PI staining, it induced 9.2 % apoptosis in 4T1 and 24.5 % in MDA-MB-231. Molecular analysis also showed that this extract induced the mRNA expression of caspase-3 and -9 and decreased the expression of Bcl-2 and inhibited the growth of MDA-MB-231 by inducing apoptosis through the intrinsic apoptosis pathway [29]. It was shown that *C. campestris* induces apoptosis in both MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines by evaluation of mRNA expression of apoptotic genes p53, caspase-3 and Bax and reducing of Bcl-2 gene expression [31]. All of these findings might be confirmed the apoptosis induction of different species of *Cuscuta* through regulation of pro-apoptotic and anti-apoptotic genes.

In summary, based on abovementioned results the different concentrations of *Cuscuta* species extract as well as *C. epithymum* decrease the viability of KYSE-30 cancer cells and induce apoptosis in a dose- and time-dependent manner. However, the method of extraction can be influencing the efficacy of *C. epithymum* extract. Our results showed that hydroalcoholic extract of *C. epithymum* might be a good candidate as a therapeutic agent for esophageal cancer from a natural source. Further *in vivo* studies and investigating the effect of this extract on the genes involved in apoptosis as well as the mechanism of action of this extract are recommended.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Liu C.Q., Ma Y.L., Qin Q., Wang P.H., Luo Y., Xu P.F., Cui Y. Epidemiology of esophageal cancer in 2020 and projections to 2030 and 2040. Thorac Cancer. 2023; 14(1): 3–11. doi: 10.1111/1759-7714.14745.
2. Uhlenhopp D.J., Then E.O., Sunkara T., Gaduputi V. Epidemiology of esophageal cancer: update in global trends, etiology and risk factors. Clin J Gastroenterol. 2020; 13(6): 1010–21. doi: 10.1007/s12328-020-01237-x.
3. Yang J., Liu X., Cao S., Dong X., Rao S., Cai K. Understanding Esophageal Cancer: The Challenges and Opportunities for the Next Decade. Front Oncol. 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.01727.
4. Zhang Y. Epidemiology of esophageal cancer. World J Gastroenterol. 2013; 19(34): 5598–606. doi: 10.3748/wjg.v19.i34.5598.
5. Li J., Xu J., Zheng Y., Gao Y., He S., Li H., Zou K., Li N., Tian J., Chen W., He J. Esophageal cancer: Epidemiology, risk factors and screening. Chin J Cancer Res. 2021; 33(5): 535–47. doi: 10.21147/j.issn.1000-9604.2021.05.01.
6. Wang Q.L., Xie S.H., Wahlin K., Lagergren J. Global time trends in the incidence of esophageal squamous cell carcinoma. Clin Epidemiol. 2018; 10: 717–28. doi: 10.2147/CLEP.S166078.
7. Sheikh M., Roshandel G., McCormack V., Malekzadeh R. Current Status and Future Prospects for Esophageal Cancer. Cancers (Basel). 2023; 15(3): 765. doi: 10.3390/cancers15030765.
8. Yang Y.M., Hong P., Xu W. W., He Q. Y., Li B. Advances in targeted therapy for esophageal cancer. Signal Transduc Target Ther. 2020; 5(1). doi: 10.1038/s41392-020-00323-3.
9. Bollschweiler E., Plum P., Mönig S.P., Hölscher A.H. Current and future treatment options for esophageal cancer in the elderly. Expert Opin Pharmacother. 2017; 18(10): 1001–10. doi: 10.1080/14656566.2017.1334764.
10. Abbas G., Krasna M. Overview of esophageal cancer. Ann Cardiothorac Surg. 2017; 6(2): 131–6. doi: 10.21037/acs.2017.03.03.
11. Borggreve A.S., Kingma B.F., Domrachev S.A., Koshkin M.A., Rurda J.P., van Hillegersberg R., Takeda F.R., Goense L. Surgical treatment of esophageal cancer in the era of multimodality management. Ann N Y Acad Sci. 2018; 1434(1): 192–209. doi: 10.1111/nyas.13677.
12. Ying J., Zhang M., Qiu X., Lu Y. The potential of herb medicines in the treatment of esophageal cancer. Biomed Pharmacother. 2018; 103: 381–90. doi: 10.1016/j.biopha.2018.04.088.
13. An J., An S., Choi M., Jung J.H., Kim B. Natural Products for Esophageal Cancer Therapy: From Traditional Medicine to Modern Drug Discovery. Int J Mol Sci. 2022; 23(21). doi: 10.3390/ijms232113558.
14. Noreen S., Noreen S., Ghuman S.A., Batool F., Bukhari S.N.A. The genus *Cuscuta* (Convolvulaceae): An updated review on indigenous uses, phytochemistry, and pharmacology. Iran J Basic Med Sci. 2019; 22(11): 1225–52. doi: 10.22038/ijbms.2019.35296.8407.
15. Ahmad A., Tandon S., Xuan T.D., Noreen Z. A Review on Phytoconstituents and Biological activities of *Cuscuta* species. Biomed Pharmacother. 2017; 92: 772–95. doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.124.
16. Pourhadi M., Niknam Z., Ghasemi R., Zomorrod M. S., Niazi V., Faizi M., Zali H., Mojab F. *Cuscuta epithymum* Murr. crude extract pre-conditioning inhibits cell apoptosis in glutamate-induced cytotoxic condition. 2022. doi: 10.21203/rs.3.rs-1950388/v1.
17. Abedini M. R., Paki S., Mohammadifard M., Foadoddini M., Vazifeshenas-Darimiyan K., Hosseini M. Evaluation of the *in vivo* and

vitro safety profile of *Cuscuta epithymum* ethanolic extract. *Avicenna J Phytomed.* 2021; 11(6): 645–56. doi: 10.22038/AJP.2021.18529.

18. Chabira A., Monadi T., Azadbakht M., Haerizadeh S.I. Ethnopharmacology of *Cuscuta epithymum*: A comprehensive review on ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and toxicity. *J Ethnopharmacol.* 2019; 231: 555–69. doi: 10.1016/j.jep.2018.10.016.

19. Mishra S., Alhodieb F.S., Barkat M.A., Hassan M.Z., Barkat H.A., Ali R., Alam P., Alam O. Antitumor and hepatoprotective effect of *Cuscuta reflexa* Roxb. in a murine model of colon cancer. *J Ethnopharmacol.* 2022; 282. doi: 10.1016/j.jep.2021.114597.

20. Katiyar N.S. A Study on Hepatoprotective and Anti-Inflammatory Activities of Stem Extracts of *Cuscuta Reflexa* (Roxb) in Rats. *Rajiv Gandhi University of Health Sciences.* India, 2010.

21. Sylvester P.W. Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability. *Methods Mol Biol.* 2011; 716: 157–68. doi: 10.1007/978-1-61779-012-6_9.

22. Nair A., Manohar S.M. A flow cytometric journey into cell cycle analysis. *Bioanalysis.* 2021; 13(21): 1627–44. doi: 10.4155/bio-2021-0071.

23. Rajagopal A., Rajakannu S. *Cassia auriculata* Linn. extracts induce apoptosis and cell cycle arrest of A549 lung cancer cell lines: An *in vitro* approach. *South African Journal of Botany.* 2022; 147: 275–85. doi: 10.1016/j.sajb.2022.01.020.

24. van Wyk A.S., Prinsloo G. Health, safety and quality concerns of plant-based traditional medicines and herbal remedies. *South African Journal of Botany.* 2020; 133: 54–62.

25. Welz A.N., Emberger-Klein A., Menrad K. Why people use herbal medicine: insights from a focus-group study in Germany. *BMC Complement Altern Med.* 2018; 18(1): 92. doi: 10.1186/s12906-018-2160-6.

26. Ghazanfari T., Naseri M., Shams J., Rahmati B. Cytotoxic effects of *Cuscuta* extract on human cancer cell lines. *Food Agric Immunol.* 2013; 24(1): 87–94. doi: 10.1080/09540105.2011.648608.

27. Jafarian A., Ghannadi A., Mohebi B. Cytotoxic effects of chloroform and hydroalcoholic extracts of aerial parts of *Cuscuta chinensis* and *Cuscuta epithymum* on Hela, HT29 and MDA-MB-468 tumor cells. *Res Pharm Sci.* 2014; 9(2): 115–22.

28. Moradzadeh M., Hosseini A., Rakhshandeh H., Aghaei A., Sadeghnia H.R. *Cuscuta campestris* induces apoptosis by increasing reactive oxygen species generation in human leukemic cells. *Avicenna J Phytomed.* 2018; 8(3): 237–45.

29. Firoozan J., Khodaie L., Mohammadi A., Fazljou S.M., Torbati M., Mohammadi Q., Mansoori B., Moghadam S.B., Baradaran B. Dichloromethane EXTRACT of *Cuscuta epithymum* inhibits triple-negative breast cancer development via inducing apoptosis and suppression of migration. *J Biochem Tech.* 2020; 11(1): 92–9.

30. Bhagat M., Arora J.S., Saxena A.K. *In vitro* and *in vivo* antiproliferative potential of *Cuscuta reflexa* Roxb. *J Pharm Res.* 2013; 6(7): 690–5. doi: 10.1016/j.jopr.2013.06.005.

31. Behbahani M. Evaluation of *in vitro* anticancer activity of *Ocimum basilicum*, *Alhagi maurorum*, *Calendula officinalis* and their parasite *Cuscuta campestris*. *PLoS One.* 2014; 9(12). doi: 10.1371/journal.pone.0116049.

Поступила/Received 16.02.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 31.07.2024

Принята к публикации/Accepted 09.08.2024

ABOUT THE AUTHORS

Mehdi Hashemi, MSc, Student of Biology Department, Science Faculty, University of Mohaghegh Ardabili (Ardabil, Iran). ORCID: 0009-0002-6311-0015.

Alireza Panahi, PhD, Assistant Professor of Molecular Genetics, Biology Department, Science Faculty, University of Mohaghegh Ardabili (Ardabil, Iran). Author ID (Scopus): 54891348500. ORCID: 0000-0002-2757-9547.

Rahim Nosrati, PhD, Assistant Professor of Pharmaceutical Biotechnology, Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences (Rasht, Iran). Author ID (Scopus): 55508072100. Researcher ID (WOS): GXZ-6616-2022. ORCID: 0000-0001-9734-6400.

Gholamreza Dadashi Oranj, MSc, Researcher of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz (Tabriz, Iran). ORCID: 0000-0003-3167-1731.

Reza Jafari-Shakib, MD, PhD, Associated Professor of Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences (Rasht, Iran). Author ID (Scopus): 16444864900. Researcher ID (WOS): J-5322-2017. ORCID: 0000-0002-5685-6866.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Mehdi Hashemi: methodology, original draft, and writing.

Alireza Panahi: supervision, review and editing.

Rahim Nosrati: funding acquisition, resources.

Gholamreza Dadashi Oranj: data analysis, writing original draft.

Reza Jafari-Shakib: data analysis, writing original draft.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This work has been funded by the University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (grant number: IR.UMA.REC.1401.076).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by the Institutional Ethical Committee and Research Advisory Committee of the University of Mohaghegh Ardabili (Ardabil, Iran) guidelines under registration number: IR.UMA.REC.1401.076 dated December 12, 2022.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Mehdi Hashemi, магистр кафедры биологии, факультета естественных наук, Университет Мохагех Ардебил (г. Ардебиль, Иран). ORCID: 0009-0002-6311-0015.

Alireza Panahi, PhD, доцент кафедры молекулярной генетики, кафедра биологии, факультет естественных наук, Университет Мохагег Ардебил (г. Ардебиль, Иран). Author ID (Scopus): 54891348500. ORCID: 0000-0002-2757-9547.

Rahim Nosrati, PhD, доцент кафедры фармацевтической биотехнологии, Центр клеточных и молекулярных исследований, Медицинская школа, Гиланский университет медицинских наук (г. Решт, Иран). Author ID (Scopus): 55508072100. Researcher ID (WOS): GXZ-6616-2022. ORCID: 0000-0001-9734-6400.

Gholamreza Dadashi Oranj, MSc, научный сотрудник по клеточной и молекулярной биологии, факультет естественных наук, Тебризский университет (г. Тебриз, Иран). ORCID: 0000-0003-3167-1731.

Reza Jafari-Shakib, PhD, доцент кафедры иммунологии, медицинский факультет, Гиланский университет медицинских наук (г. Решт, Иран). Author ID (Scopus): 16444864900. Researcher ID (WOS): J-5322-2017. ORCID: 0000-0002-5685-6866.

ВКЛАД АВТОРОВ

Mehdi Hashemi: методология, подготовка и написание статьи.

Alireza Panahi: рецензирование и редактирование

Rahim Nosrati: привлечение финансирования, ресурсы.

Gholamreza Dadashi Oranj: анализ данных, написание оригинального черновика статьи.

Reza Jafari-Shakib: анализ данных, написание оригинального черновика статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Исследование финансировалось Университетом Мохагег Ардебил, Ардебиль, Иран (номер гранта: IR.UMA.REC.1401.076).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено Институциональным этическим комитетом и Научно-консультативным комитетом Университета Мохагег Ардебил (г. Ардебиль, Иран), регистрационный номер: IR.UMA.REC.1401.076 от 12.12.2022 г.

Для цитирования: Григорьева Е.С., Таширева Л.А., Алифанов В.В., Завьялова М.В., Перельмутер В.М. Интегриновый профиль циркулирующих опухолевых клеток у больных раком молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 86–95. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-86-95

For citation: Grigoryeva E.S., Tashireva L.A., Alifanov V.V., Zavyalova M.V., Perelmuter V.M. Integrin profile of circulating tumour cells in breast cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 86–95. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-86-95

ИНТЕГРИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.С. Григорьева, Л.А. Таширева, В.В. Алифанов, М.В. Завьялова,
В.М. Перельмутер

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

Аннотация

Интегрины как молекулы адгезии играют ключевую роль во взаимодействии клеток с базальной мембраной и межклеточным матриксом. Многочисленные исследования сообщают о повышенной экспрессии интегринов на опухолевых клетках при различных типах рака. Так, интегрины $\beta 3$ и αV ассоциированы со стволовыми признаками опухолевых клеток, интегрин $\beta 4$ в составе гетеродимера $\alpha \beta 4$ обеспечивает якорь-независимое выживание злокачественных эпителиальных клеток молочной железы. Однако все описанные функции интегринов исследованы исключительно на клетках первичных опухолей, тогда как функциональное значение и характер экспрессии интегринов на циркулирующих опухолевых клетках (ЦОК) остаются неясными. **Цель исследования** – оценка экспрессии интегринов $\beta 3$, $\beta 4$ и $\alpha v \beta 5$ на ЦОК при раке молочной железы (РМЖ) и ее связи с проявлениями опухолевой болезни. **Материал и методы.** В исследование вошло 22 пациентки с инвазивной протоковой карциномой молочной железы T1–4N0–3M0 стадии. Венозную кровь брали у больных без неоадъювантной химиотерапии (НАХТ) (группа 1) и получивших НАХТ (группа 2) утром натощак в объеме 12 мл в вакуумные пробирки с ЭДТА. Экспрессию интегринов ЦОК с учетом признаков стволовости CD44/CD24, CD133 и ALDH1 и эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) (N-cadherin) оценивали методом проточной цитофлуориметрии. **Результаты.** Циркулирующие опухолевые клетки с фенотипами $\beta 3 + \beta 4 - \alpha v \beta 5 -$ и $\beta 3 - \beta 4 + \alpha v \beta 5 +$ в сочетании с признаками стволовости были ассоциированы с большим размером опухоли (T4). При этом экспрессия интегрин $\beta 3$ была связана с более неблагоприятными молекулярно-биологическим подтипами РМЖ. Проведение неоадъювантной химиотерапии не влияло на характер экспрессии интегринов $\beta 3$, $\beta 4$ и $\alpha v \beta 5$ в ЦОК. **Заключение.** Большинство ЦОК при РМЖ экспрессируют $\beta 3$, $\beta 4$ и $\alpha v \beta 5$, несмотря на отсутствие связи с базальной мембраной и межклеточным матриксом. Экспрессия изученных интегринов на ЦОК сопряжена с проявлениями опухолевой болезни, в связи с чем ее оценка может рассматриваться в качестве одной из задач исследования жидкостной биопсии.

Ключевые слова: рак молочной железы, циркулирующие опухолевые клетки, интегрины, неоадъювантная химиотерапия.

INTEGRIN PROFILE OF CIRCULATING TUMOUR CELLS IN BREAST CANCER PATIENTS

E.S. Grigoryeva, L.A. Tashireva, V.V. Alifanov, M.V. Zavyalova, V.M. Perelmuter

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences
5, Kooperativny St., Tomsk, 634009, Russia

Abstract

Background. Integrins, as adhesion molecules, play a key role in the interaction of cells with the basal membrane and intercellular matrix. Numerous studies demonstrate evidence of increased expression of integrins on tumor cells in different types of cancer. Thus, $\beta 3$ and αV integrins are associated with stem-like features of tumor cells, and $\beta 4$ integrin as $\alpha 6\beta 4$ heterodimer provides anchorage-independent survival of malignant mammary epithelial cells. However, all the described functions of integrins have been investigated exclusively on primary tumor cells. The functional significance and expression pattern of integrins on circulating tumor cells (CTCs) remains unclear. **The aim of the study** was to evaluate the $\beta 3$, $\beta 4$ and $\alpha v\beta 5$ integrin expression on CTCs and its association with molecular subtype, stage and lymph node metastasis in breast cancer patients. **Material and Methods.** The study included 22 patients with T1–4N0–3M0 invasive ductal breast carcinoma. Venous blood was taken from patients without neoadjuvant chemotherapy (group 1) and after neoadjuvant chemotherapy (group 2) in the volume of 12 ml into vacuum tubes with EDTA. The expression of CTC integrins including stemness features CD44/CD24, CD133 and ALDH1, and epithelial-mesenchymal transition (EMT) (N-cadherin) was evaluated by flow cytometry. **Results.** CTCs with $\beta 3+\beta 4-\alpha v\beta 5-$ and $\beta 3-\beta 4+\alpha v\beta 5+$ phenotypes and stemness properties were associated with larger tumor size (T4) in breast cancer patients. The $\beta 3$ integrin expression was associated with more aggressive molecular subtypes of breast cancer. Administration of neoadjuvant chemotherapy did not affect the expression pattern of $\beta 3$, $\beta 4$ and $\alpha v\beta 5$ integrins in CTCs. **Conclusion.** In breast cancer, most CTCs expressed $\beta 3$, $\beta 4$ and $\alpha v\beta 5$ integrins despite the lack of attachment to the basal membrane and intercellular matrix. The expression of the above integrins on CTCs was associated with breast cancer molecular subtype, stage and lymph node metastasis, and therefore its evaluation can be considered as one of the objectives of liquid biopsy study.

Key words: breast cancer, circulating tumor cells, integrins, neoadjuvant chemotherapy.

Актуальность

Интегрины представляют собой молекулы адгезии и являются гетеродимерными рецепторами для молекул базальной мембраны и межклеточного матрикса. Благодаря интегринам осуществляется взаимодействие между эпителием и межклеточным матриксом, которое необходимо для осуществления многообразных клеточных функций [1]. Из этого следует, что функции интегринов могут осуществляться благодаря взаимодействию с внешними сигналами – лигандами внеклеточного матрикса. Можно было бы ожидать, что экспрессия интегринов циркулирующими опухолевыми клетками (ЦОК), открепленными от матрикса, не имеет функционального значения для состояния самих ЦОК, однако это не так. Показано, что кроме внешней активации сигнальных путей через интегриновые рецепторы существуют внутренние пути активации. Например, имеются данные, что стволовость опухолевых клеток может инициироваться независимо от взаимодействия с матриксом. Причем эти независимые от адгезии функции интегринов запускают пути, отличные от типичного сигнального каскада [2]. Аберрантная экспрессия интегринов способствует возникновению, росту и метастазированию опухолей. Многочисленные данные показали, что экспрессия интегринов на опухолевых клетках повышается при многих типах рака [3]. Интегрин $\alpha v\beta 3$ признан маркером стволовых клеток во многих типах солидных опухолей [4]. Интегрин $\beta 4$ в составе гетеродимера $\alpha 6\beta 4$ является рецептором для ламинина и может опосредовать независимое от прикрепления выживание злокачественных эпителиальных клеток молочной железы [5]. Экспрессия интегрин αv связана с фенотипом

стволовости [2]. Описанные функции интегринов исследованы на клетках первичных опухолей. Исследований интегринового профиля ЦОК немного. В исследовании М. Sharifi et al. (2023) [6] у всех пациенток с наличием гематогенных метастазов при раке молочной железы (РМЖ) были выявлены ЦОК. При этом на значительной части ЦОК (61 %) обнаружена экспрессия $\beta 4$. Не было обнаружено какой-либо связи экспрессии этого интегрин с другими параметрами опухолевой болезни.

Целью исследования явилась оценка экспрессии интегринов $\beta 3$, $\beta 4$ и $\alpha v\beta 5$ на ЦОК при РМЖ и ее связи с проявлениями опухолевой болезни.

Материал и методы

В исследование включено 22 пациентки с инвазивной протоковой карциномой молочной железы T1–4N0–3M0, получавших лечение на базе клиники НИИ онкологии Томского НИМЦ в период с 2019 по 2022 г., у которых были обнаружены ЦОК. Венозную кровь брали у больных без неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) (группа 1) и после НАХТ (группа 2) утром натощак в объеме 12 мл в вакуумные пробирки с ЭДТА. Из всего объема крови готовили клеточный концентрат путем отстаивания при 37 °С в течение 90 мин под углом в 45° с последующим сбором белого кольца с клетками на границе осадка эритроцитов и отделившейся плазмы крови, а также всего надосадка, согласно методике Р.А. Поспеловой [7].

Цитофлуориметрический анализ проводили следующим образом. Для лизирования эритроцитов к образцам добавляли 500 мкл буфера OptiLyse C (Beckman Coulter, Франция) и отмывали в 2 мл раствора CellWASH (BD Biosciences, США) в течение

10 мин при 300 g с последующим удалением надосадка. После блокирования неспецифического связывания Fc-рецепторов раствором Human TruStain FcXTM Fc Receptor Blocking Solution (Biolegend, США) в клеточный концентрат добавляли по 5 мкл моноклональных антител BV570 anti-human CD45 (клон HI30, Sony Biotechnology, США), BV650 anti-human CD326 (EPCAM) (клон 9C4, Sony Biotechnology, США), BV510 anti-human CD44 (клон G44-26, BD Horizon, США), PerCP/Cy5.5 anti-human CD24 (клон ML5, Sony Biotechnology, США), PE/Cy7 anti-human N-Cadherin (клон 8C11, Sony Biotechnology, США), BV 421-anti- β 3 integrin (клон VI-PL2, BD Biosciences, США), Alexa Fluor 488-anti- β 4 integrin (клон 422325, R&D Systems, США), BV Alexa Fluor 750-anti- α v β 5 integrin (клон P5H9, R&D Systems, США) и инкубировали в темноте 20 мин при комнатной температуре. После инкубации, на этапе внутриклеточного окрашивания к каждому неокрашенному и окрашенному образцу добавляли 250 мкл раствора BD Cytotfix/Cytoperm (BD Biosciences, США) и инкубировали в темноте 20 мин при 4 °C, затем дважды отмывали в 1 мл буфера BD Perm/ Wash (BD Biosciences, США), центрифугируя при 300 g 6 мин. К пробам добавляли 50 мкл буфера BD Perm/Wash (BD Biosciences, США), в окрашенную пробу добавляли по 5 мкл антител BV650 anti-human CD326 (EPCAM) (клон 9C4, Sony Biotechnology, США) и инкубировали при 4 °C в течение 20 мин. Затем отмывали каждую пробу в 1 мл буфера CellWASH (BD Biosciences, США) центрифугированием при 300 g 6 мин. На заключительном этапе к осадку добавляли 500 мкл Cell Staining Buffer (Sony Biotechnology, США) и ресуспендировали образец. Анализ образцов проводили на проточном цитометре Novocyt 3000 (ACEA Biosciences, США) с помощью программного обеспечения NovoExpress 1.3.0 (ACEA Biosciences, США). Количество ЦОК рассчитывали на 1 мл периферической крови.

Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета программ STATISTICA 10.0. Проверка нормальности распределения показателей осуществлялась с помощью критерия Шапиро–Вилка. Учитывая ненормальное распределение изучаемых признаков, оценка достоверности различий медиан для сравнения независимых выборок проводилась с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Сравнение частоты выявления признаков выполнялось с использованием парного разностного теста. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Клинико-патологические параметры пациенток представлены в табл. 1. В CD45-EPCAM+ ЦОК определена коэкспрессия трех типов интегринов – β 3, β 4 и α v β 5, в каждой популяции оценены признаки стволовости по экспрессии CD44/CD24,

CD133 и ALDH1, а также проявления ЭМП по наличию экспрессии N-cadherin. Связь интегринового профиля с клинико-патологическими характеристиками оценивали в группе 1. Оценку влияния НАХТ проводили у больных с первично операбельным РМЖ в группах 1 и 2.

Все пациентки характеризовались наличием ЦОК с различными вариантами экспрессии трех типов исследуемых интегринов, при этом большая часть клеток экспрессировала один или более интегрин на своей поверхности (рис. 1). Наиболее редким вариантом была коэкспрессия интегринов β 3 и β 4 (β 3+ β 4+ α v β 5-). Наиболее частым был вариант коэкспрессии интегринов β 3 и α v β 5 (β 3+ β 4- α v β 5+) (табл. 2). Обнаружено, что 65,81 % ЦОК характеризовались экспрессией, как минимум, одного типа интегрин. При анализе доли клеток, экспрессирующих интегрины β 3, β 4 и α v β 5 без учета их коэкспрессии, оказалось, что большая часть ЦОК, экспрессировала интегрин β 3 и α v β 5 – 42,8 и 43,8 % клеток соответственно, в то время как интегрин β 4 экспрессировали только 12,6 % ЦОК.

В результате сравнения количества ЦОК с экспрессией интегринов β 3, β 4 и α v β 5 в зависимости от размера опухоли выявлено повышенное количество β 3+ β 4- α v β 5- и β 3- β 4+ α v β 5+ ЦОК у больных с большим размером опухоли (рис. 2). Так, у больных с T4 количество β 3+ β 4- α v β 5- и β 3- β 4+ α v β 5+ ЦОК составило 8,96 (0,00–17,92) и 18,30 (0,00–36,60) ЦОК/мл соответственно, тогда как у больных с T1 количество β 3+ β 4- α v β 5- и β 3- β 4+ α v β 5+ ЦОК составило 0,42 (0,00–2,75) и 0,00 (0,00–2,49) ЦОК/мл, а у больных с T2 – 0,83 (0,00–4,48) и 0,00 (0,00–0,83) ЦОК/мл соответственно.

Углубленный анализ фенотипических характеристик позволил установить наличие признаков стволовости и ЭМП у выявленных популяций клеток. Показано, что β 3- β 4+ α v β 5+ ЦОК обладали признаками стволовости по CD133 и ALDH1 и мезенхимного фенотипа ЭМП (N-cadherin+) (рис. 3). Количество β 3- β 4+ α v β 5+ ЦОК с фенотипом CD44-CD24+ CD133+ALDH1+N-cadherin+ тоже было

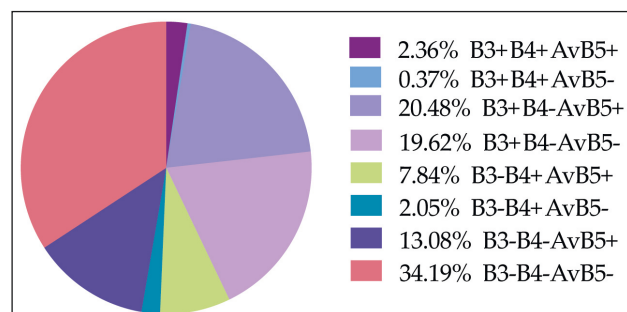


Рис. 1. Доли экспрессии интегринов β 3, β 4 и α v β 5 в ЦОК у больных раком молочной железы (Me, %).

Примечание: диаграмма выполнена авторами

Fig.1 Proportion of CTCs with β 3, β 4 and α v β 5 integrin expression in breast cancer patients (Me, %).

Note: created by the authors

Таблица 1/Table 1

Характеристика групп больных
Characteristics of the groups of patients

Параметр/Parameter		Частота/Frequency		p-value
		Группа 1 (без НАХТ)/ Group 1 (no NACT)	Группа 2 (с НАХТ)/ Group 1 (NACT)	
		Group 1 (no NACT)	Group 1 (NACT)	
Возраст/Age	<35	5,9 % (1/17)	0,00 % (0/5)	
	35–50	41,2 % (7/17)	60,0 % (3/5)	
	>50	52,9 % (9/17)	40,0 % (2/5)	
Размер опухоли/Size of tumor	T1	47,1 % (8/17)	0,0 % (0/5)	0,04
	T2	41,2 % (7/17)	100,0 % (5/5)	
	T4	11,8 % (2/17)	0,0 % (0/5)	
Вовлеченность лимфоузлов/ Lymph node involvement	N0	70,6 % (12/17)	60,0 % (3/5)	
	N1	29,4 % (5/17)	40,0 % (2/5)	
Молекулярно-биологический подтип/ Molecular subtype	Люминальный А/Luminal A	47,1 % (8/17)	40,0 % (2/5)	
	Люминальный Б (HER2-)/ Luminal B (HER2-)	17,6 % (3/17)	20,0 % (1/5)	
	Люминальный Б (HER2+)/ Luminal B (HER2+)	17,6 % (3/17)	0,0 % (0/5)	
	ТН/Triple negative	11,8 % (2/17)	40,0 % (2/5)	
Экспрессия ERα/ERα expression	HER2+	5,9 % (1/17)	0,0 % (0/5)	
	Да/Yes	82,4 % (14/17)	60,0 % (3/5)	
	Нет/No	16,7 % (3/17)	40,0 % (2/5)	
Экспрессия PR/PR expression	Да/Yes	64,7 % (11/17)	60,0 % (3/5)	
	Нет/No	35,3 % (6/17)	40,0 % (2/5)	
HER2+	Да/Yes	23,5 % (4/17)	0,0 % (0/5)	
	Нет/No	76,5 % (13/17)	100,0 % (5/5)	

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

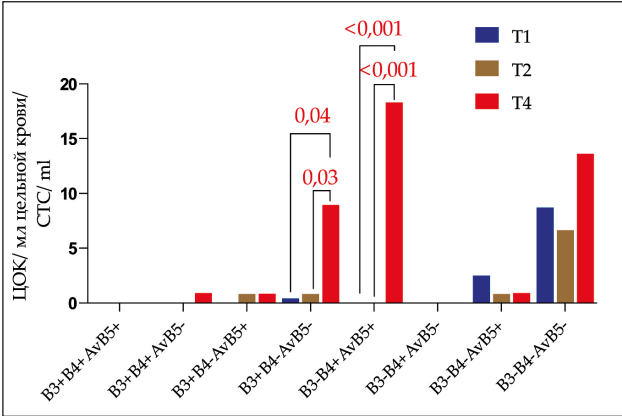


Рис. 2. Количество ЦОК с экспрессией интегринов β3, β4 и αvβ5 у больных с учетом размера первичной опухоли (критерий Т). Примечание: диаграмма выполнена авторами
Fig. 2. The number of CTCs with β3, β4 and αvβ5 integrin expression in breast cancer patients in relation to stage T. Note: created by the authors

выше у пациенток с Т4 по сравнению с Т1 и Т2 ($p<0,0001$ и $p<0,0001$ соответственно) и составляло 0,00 (0,00–18,30), 0,00 (0,00–0,00) и 0,00 (0,00–0,00) ЦОК/мл соответственно.

Другой субпопуляцией ЦОК, связанной с критерием Т, были клетки с интегриновым фенотипом β3+β4-αvβ5-. При Т4 такие ЦОК чаще демонстрировали стволовые свойства по маркерам CD44+CD24- и CD133, а также эпителиальный фенотип ЭМП (рис. 4).

При оценке количества ЦОК с экспрессией изучаемых интегринов с учетом лимфогенной распространенности обнаружено, что количество β3-β4-αvβ5+ ЦОК было ниже у больных с N1 по сравнению с N0 ($p=0,01$) (рис. 5). Количество β3-β4-αvβ5+ ЦОК при N0 и N1 составляло 3,74 (1,45–9,13) и 0,0 (0,0–0,92) ЦОК/мл соответственно. Детальный анализ фенотипических характеристик β3-β4-αvβ5+ ЦОК выявил, что обнаруженные различия были связаны с ЦОК без признаков стволовости по CD44/CD24, CD133 и ALDH1 ($p=0,04$, $p=0,03$, $p=0,03$ соответственно) (рис. 6).

Далее мы оценили различия в количестве ЦОК с учетом интегринового профиля у больных с различными молекулярно-биологическими подтипами РМЖ (табл. 3). Больные были разделены на 2 группы: первая – с люминальными (HER2-) подти-

Таблица 2/Table 2

Количество ЦОК с экспрессией интегринов $\beta 3$, $\beta 4$ и $\alpha \nu \beta 5$ у больных раком молочной железы
The number of CTCs with $\beta 3$, $\beta 4$ and $\alpha \nu \beta 5$ integrin expression in breast cancer patients

№	Фенотип/Phenotype	Me(Q1-Q3), ЦОК/мл/CTC/ml
1	$\beta 3+\beta 4+\alpha \nu \beta 5+$	0,00 (0,00–0,00)
2	$\beta 3+\beta 4+\alpha \nu \beta 5-$	0,00 (0,00–0,83)
3	$\beta 3+\beta 4-\alpha \nu \beta 5+$	0,00 (0,00–1,68)
4	$\beta 3+\beta 4-\alpha \nu \beta 5-$	0,83 (0,00–3,49)
5	$\beta 3-\beta 4+\alpha \nu \beta 5+$	0,00 (0,00–0,83)
6	$\beta 3-\beta 4+\alpha \nu \beta 5-$	0,00 (0,00–0,83)
7	$\beta 3-\beta 4-\alpha \nu \beta 5+$	1,66 (0,00–5,81)
8	$\beta 3-\beta 4-\alpha \nu \beta 5-$	8,30 (2,08–19,11)

Примечание: таблица составлена авторами.
Note: created by the authors.

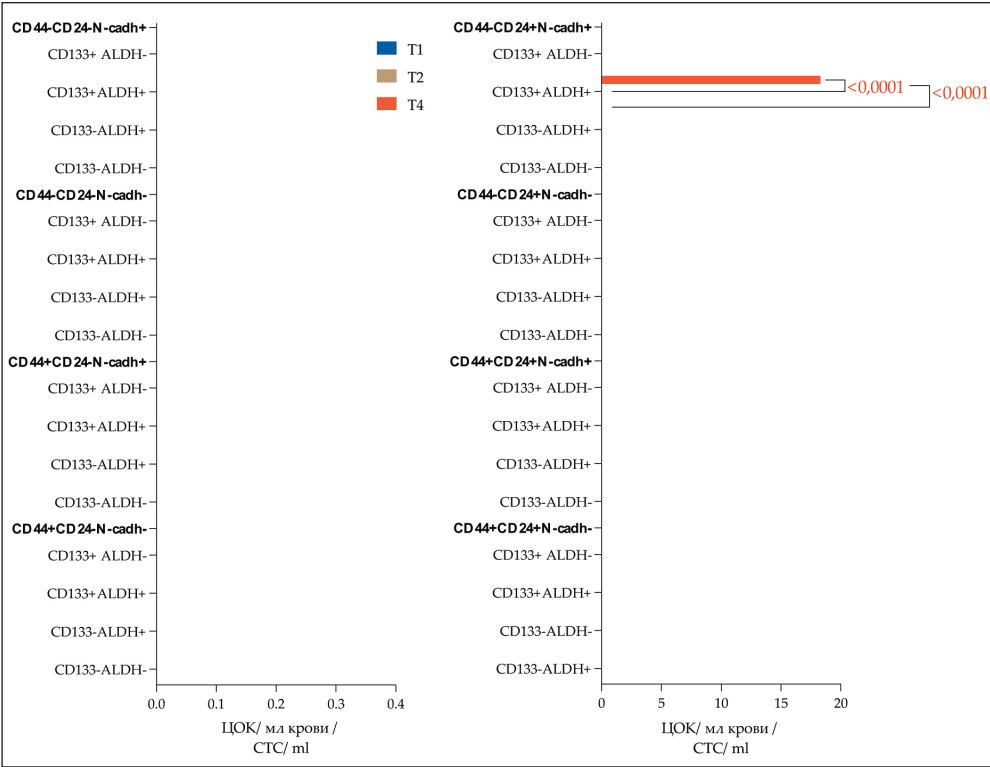


Рис. 3. Признаки стволовости и ЭМП в $\beta 3-\beta 4+\alpha \nu \beta 5+$ ЦОК в зависимости от критерия Т. Примечание: диаграммы выполнены авторами
Fig. 3. Features of stemness and EMT in $\beta 3-\beta 4+\alpha \nu \beta 5+$ CTCs in breast cancer patients in relation to stage T. Note: created by the authors

пами; вторая – с HER2+ подтипами (люминальный Б (HER2+), HER2+) и трижды негативным (ТН). Оказалось, что в группе больных с молекулярно-биологическими подтипами, характеризующимися неблагоприятным течением болезни, отмечалось более высокое количество ЦОК с экспрессией $\beta 3$, без учета сочетаний с другими исследуемыми интегринами. Более глубокий анализ признаков стволовости и ЭМП в ЦОК в этих сравниваемых группах значимых различий не выявил.
У пациенток с первично операбельным РМЖ было оценено влияние НАХТ на профиль интегринов ЦОК. Поскольку у всех больных группы 2 опухоль соответствовала стадии Т2, в анализ были включены пациентки из группы 1 только со стадией Т2. При оценке интегриновых профилей ЦОК у больных в группах до и после НАХТ

различий не обнаружено (табл. 4). Углубленный анализ фенотипических характеристик с учетом признаков стволовости и ЭМП каждой из популяции ЦОК также не выявил значимых различий. Таким образом, проведение НАХТ не влияло на характер экспрессии интегринов ЦОК у больных раком молочной железы.
Обсуждение
Полученные результаты свидетельствуют, что около 31 % ЦОК не экспрессируют изучаемые интегрины. Чаще других наблюдаются варианты коэкспрессии $\beta 3+\beta 4-\alpha \nu \beta 5+$ (20,5 %), $\beta 3+\beta 4-\alpha \nu \beta 5-$ (19,6 %) и $\beta 3-\beta 4-\alpha \nu \beta 5+$ (13,1 %). Если не учитывать коэкспрессию, то доля ЦОК, экспрессирующих $\beta 3$ и $\alpha \nu \beta 5$, наиболее высока и составляет 42,8 и 43,8 % соответственно. Существенно реже выявлялась

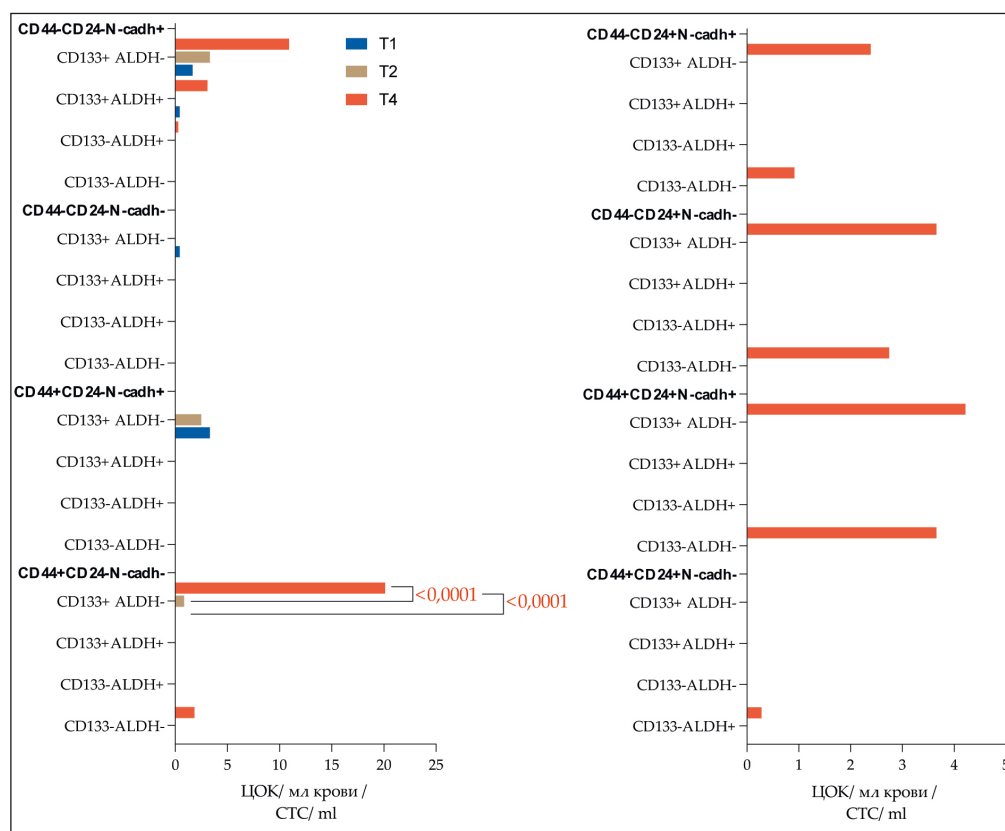


Рис. 4. Наличие признаков стволовости и ЭМП в $\beta 3+\beta 4-\alpha \nu \beta 5$ - ЦОК у пациентов в зависимости от критерия Т.

Примечание: диаграммы выполнены авторами
Fig. 4. Features of stemness and EMT in $\beta 3+\beta 4-\alpha \nu \beta 5$ - CTCs in breast cancer patients in relation to stage T. Note: created by the authors

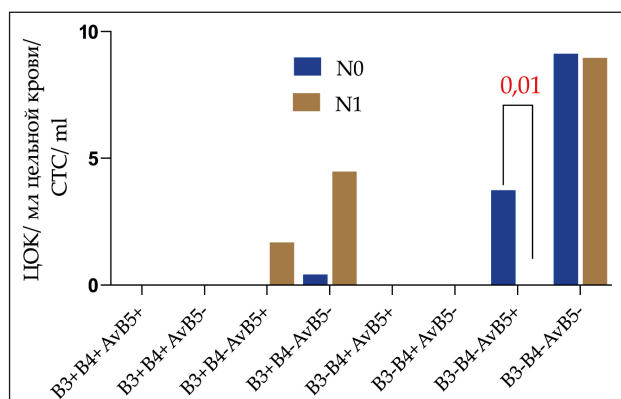


Рис. 5. Количество ЦОК с экспрессией интегринов $\beta 3$, $\beta 4$ и $\alpha \nu \beta 5$ у больных с учетом лимфогенного метастазирования.

Примечание: диаграмма выполнена авторами
Fig. 5. The number of CTCs with $\beta 3$, $\beta 4$ and $\alpha \nu \beta 5$ integrin expression in breast cancer patients in relation to lymph node metastasis. Note: created by the authors

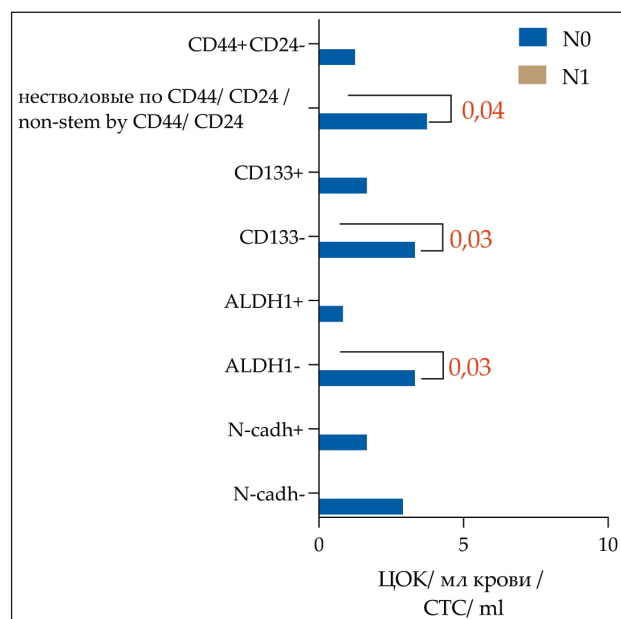


Рис. 6. Наличие признаков стволовости и ЭМП в $\beta 3-\beta 4-\alpha \nu \beta 5$ + ЦОК у пациентов в зависимости от лимфогенного метастазирования.

Примечание: диаграмма выполнена авторами
Fig. 6. Features of stemness and EMT in $\beta 3-\beta 4-\alpha \nu \beta 5$ + CTCs in breast cancer patients in relation to lymph node metastasis. Note: created by the authors

субъединица $\beta 4$ (12,4 %). Столь выраженное многообразие вариантов коэкспрессии исследуемых интегринов на ЦОК позволяет предполагать, что, достигнув отдаленных органов и тканей в качестве диссеминированных или покоящихся, такие клетки уже имеют рецепторный аппарат, который

способен обеспечивать адекватное для адаптации и пролиферации взаимодействие с межклеточным матриксом.

Фенотипические признаки ЦОК, включая экспрессию интегринов, формируются еще в первичной опухоли, благодаря чему ЦОК в значительной

Таблица 3/ Table 3

Количество ЦОК с учетом интегринавого профиля у больных с различными молекулярно-биологическими подтипами РМЖ

Number of CTCs with integrin expression in patients with different molecular subtypes of breast cancer

№	Фенотип/ Phenotype	Ме(Q1-Q3), ЦОК/мл/CTC/ml		p-value
		Люминальный А/Б/ Luminal A/B	HER2+, ТН	
		(а)	(б)	
1	β3+β4+αvβ5+	0,00 (0,00–0,00)	0,00 (0,00–0,28)	
2	β3+β4+αvβ5-	0,00 (0,00–0,28)	0,42 (0,00–4,69)	
3	β3+β4-αvβ5+	0,42 (0,00–1,88)	0,42 (0,00–3,13)	
4	β3+β4-αvβ5-	0,42 (0,00–1,74)	0,83 (0,00–8,22)	
5	β3-β4+αvβ5+	0,00 (0,00–1,45)	0,00 (0,00–9,77)	
6	β3-β4+αvβ5-	0,00 (0,00–0,83)	0,00 (0,00–2,08)	
7	β3-β4-αvβ5+	2,49 (0,62–5,40)	0,92 (0,00–7,89)	
8	β3-β4-αvβ5-	7,06 (2,63–18,68)	13,63 (6,23–22,00)	
9	β3+	0,83 (0,00–7,73)	4,98 (1,79–18,60)	p _{а-б} =0,04
10	β4+	0,83 (0,00–2,91)	2,08 (0,00–22,06)	
11	αvβ5+	4,15 (1,68–10,58)	7,89 (1,26–17,70)	

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

Таблица 4/ Table 4

Количество ЦОК с учетом интегринавого профиля у больных РМЖ без НАХТ (группа 1) и получивших НАХТ (группа 2)

Number of CTCs with integrin expression in breast cancer patients without NAC (group 1) and with NAC (group 2)

№	Фенотип/Phenotype	Ме (Q1-Q3), ЦОК/мл/ CTC/ml	
		Группа 1/Group 1	Группа 2/Group 2
		(а)	(б)
1	β3+β4+αvβ5+	0,00 (0,00–0,00)	0,00 (0,00–0,21)
2	β3+β4+αvβ5-	0,00 (0,00–0,83)	0,00 (0,00–1,94)
3	β3+β4-αvβ5+	0,42 (0,00–1,88)	0,00 (0,00–2,08)
4	β3+β4-αvβ5-	0,83 (0,00–1,74)	2,49 (1,25–30,47)
5	β3-β4+αvβ5+	0,00 (0,00–0,83)	0,00 (0,00–1,11)
6	β3-β4+αvβ5-	0,83 (0,00–1,74)	0,83 (0,28–1,23)
7	β3-β4-αvβ5+	0,83 (0,00–2,49)	0,00 (0,00–3,74)
8	β3-β4-αvβ5-	7,89 (2,63–20,13)	9,96 (0,42–28,29)

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

степени отражают биологические особенности опухоли и могут служить объектом для жидкостной биопсии. В нашем исследовании ЦОК с двумя фенотипами β3+β4-αvβ5 и β3-β4+αvβ5+ были ассоциированы с большим размером опухоли (Т4). По-видимому, такая ассоциация всех трех интегринов с Т4 обусловлена тем, что их экспрессия в ЦОК сочеталась с наличием признаков стволовости. ЦОК с интегриновым фенотипом β3+β4-αvβ5- экспрессировали маркеры стволовости CD44+CD24- и CD133, ЦОК с интегриновым фенотипом β3-β4+αvβ5+ имели другое сочетание маркеров стволовости, а именно CD133 и ALDH1. При этом β3-β4+αvβ5+ ЦОК характеризовались мезенхимным фенотипом ЭМП (N-cadherin+), а β3+β4-αvβ5- клетки не имели признаков ЭМП (N-cadherin-).

Еще одним свидетельством сопряженности экспрессии интегринов со злокачественным потенциалом опухолей было большее количество ЦОК с экспрессией интегрин β3 при трижды негативном, люминальном Б (HER2+) и HER2+ молекулярных подтипах РМЖ. Ассоциация исследуемых интегринов с продвинутой стадией и агрессивными молекулярными подтипами РМЖ объясняется известными функциональными ассоциациями. Известно, что интегрин β3 связывается с компонентами внеклеточного матрикса, формируя контакты фокальной адгезии между опухолевыми клетками и матриксом. Интегрин αvβ3 вовлечен в процессы пролиферации, инвазии, выживания опухолевых клеток в циркуляции [4]. Кроме того, по данным литературы, повышенная экспрессия интегрин αvβ3 обладает прогностиче-

ской значимостью в отношении метастазирования в кости [8].

Феномен связи экспрессии интегрина $\alpha v \beta 5$ с отсутствием лимфогенных метастазов может быть объяснен двумя гипотезами. Первая заключается в том, что ЦОК с экспрессией $\alpha v \beta 5$, сопряженные с отсутствием лимфогенных метастазов, не имели признаков стволовости по CD44/CD24, CD133 и ALDH, которая крайне важна для метастазирования. Другое объяснение состоит в том, что повышенная экспрессия интегрина αv , хотя и в составе гетеродимера $\alpha v \beta 3$, приводит к усилению в клетках трижды негативного рака эффектов TGF- β , что, в свою очередь, нарушает петлю обратной связи, которая ингибирует Zeb2, индуцируя при этом ЭМП и нарушая коллективную миграцию клеток [9]. Поскольку имеются исследования в пользу того, что именно коллективная инвазия, скорее, чем инвазия одиночными клетками опухоли, лежит в основе лимфогенного метастазирования [10], нарушение этого процесса и может быть причиной отсутствия лимфогенных метастазов при экспрессии на клетках опухоли интегрина $\alpha v \beta 5$.

Учитывая критическое значение отдельных интегринов для опухолевого прогрессирования,

исследование влияния НАХТ на изменение интегринового профиля является крайне важной задачей, в том числе и для клинической практики. Нами проведено изучение экспрессии интегринов $\beta 3$, $\beta 4$ и $\alpha v \beta 5$ в ЦОК с учетом признаков стволовости и ЭМП, так как известно, что проведение НАХТ может индуцировать появление стволовых свойств опухолевых клеток [11]. Однако сравнение интегриновых профилей ЦОК пациентов с НАХТ и без НАХТ значимых различий не выявило.

Заключение

Интегрины $\beta 3$, $\beta 4$ и $\alpha v \beta 5$ в различных сочетаниях экспрессируются при РМЖ на большинстве ЦОК. Различные варианты коэкспрессии изученных интегринов на ЦОК ассоциированы с молекулярным подтипом, стадией и лимфогенным метастазированием РМЖ. Наличие разных интегринов на ЦОК, с одной стороны, свидетельствует о том, что якорь-независимое существование опухолевых клеток не является препятствием для их экспрессии, с другой стороны, наличие интегринового интерфейса на ЦОК делает их готовыми к взаимодействию с межклеточным матриксом в местах развития метастазов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Su C.Y., Li J.Q., Zhang L.L., Wang H., Wang F.H., Tao Y.W., Wang Y.Q., Guo Q.R., Li J.J., Liu Y., Yan Y.Y., Zhang J.Y. The Biological Functions and Clinical Applications of Integrins in Cancers. *Front Pharmacol.* 2020; 11. doi: 10.3389/fphar.2020.579068.
2. Cooper J., Giancotti F.G. Integrin Signaling in Cancer: Mechanotransduction, Stemness, Epithelial Plasticity, and Therapeutic Resistance. *Cancer Cell.* 2019; 35(3): 347–67. doi: 10.1016/j.ccell.2019.01.007.
3. Liu F., Wu Q., Dong Z., Liu K. Integrins in cancer: Emerging mechanisms and therapeutic opportunities. *Pharmacol Ther.* 2023; 247. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108458.
4. Seguin L., Kato S., Franovic A., Camargo M.F., Lesperance J., Elliott K.C., Yebra M., Mielgo A., Lowy A.M., Husain H., Cascone T., Diao L., Wang J., Wistuba I.I., Heymach J.V., Lippman S.M., Desrosiers J.S., Anand S., Weis S.M., Cheres D.A. An integrin $\beta 3$ -KRAS-RalB complex drives tumour stemness and resistance to EGFR inhibition. *Nat Cell Biol.* 2014; 16(5): 457–68. doi: 10.1038/ncb2953.
5. Zahir N., Lakins J.N., Russell A., Ming W., Chatterjee C., Rozenberg G.I., Marinkovich M.P., Weaver V.M. Autocrine laminin-5 ligates $\alpha 6 \beta 4$ integrin and activates RAC and NF κ B to mediate anchorage-independent survival of mammary tumors. *J Cell Biol.* 2003; 163(6): 1397–407. doi: 10.1083/jcb.200302023.
6. Sharifi M., Zarrin B., Bahri Najafi M., Hakimian M.R., Hosseini N., Talebi K., Javanmard S.H. Integrin $\alpha 6 \beta 4$ on Circulating Tumor Cells of Metastatic Breast Cancer Patients. *Adv Biomed Res.* 2021; 10. doi: 10.4103/abr_76_21.
7. Пospelova P.A. Лейкоконцентрация в клинической практике: диагностическое значение. М., 1973. 88 с. [Pospelova R.A. Leukocentration in clinical practice: diagnostic value. M., 1973. 88 p. (in Russian)].
8. Kovacheva M., Zepp M., Berger S., Berger M.R. Conditional knock-down of integrin beta-3 reveals its involvement in osteolytic and soft tissue lesions of breast cancer skeletal metastasis. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2021; 147(2): 361–71. doi: 10.1007/s00432-020-03428-y.
9. Parvani J.G., Galliher-Beckley A.J., Schiemann B.J., Schiemann W.P. Targeted inactivation of $\beta 1$ integrin induces $\beta 3$ integrin switching, which drives breast cancer metastasis by TGF- β . *Mol Biol Cell.* 2013; 24(21): 3449–59. doi: 10.1091/mbc.E12-10-0776. Erratum in: *Mol Biol Cell.* 2014; 25(4): 548.
10. Giampieri S., Manning C., Hooper S., Jones L., Hill C.S., Sahai E. Localized and reversible TGF β signalling switches breast cancer cells from cohesive to single cell motility. *Nat Cell Biol.* 2009; 11(11): 1287–96. doi: 10.1038/ncb1973.
11. Liu L., Yang L., Yan W., Zhai J., Pizzo D.P., Chu P., Chin A.R., Shen M., Dong C., Ruan X., Ren X., Somlo G., Wang S.E. Chemotherapy Induces Breast Cancer Stemness in Association with Dysregulated Monocytosis. *Clin Cancer Res.* 2018; 24(10): 2370–82. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2545.

Поступила/Received 23.11.2023

Одобрена после рецензирования/Revised 18.03.2024

Принята к публикации/Accepted 16.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Григорьева Евгения Сергеевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной терапии рака, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: grigoryeva.es@gmail.com. SPIN-код: 7396-7570. Researcher ID (WOS): C-8571-2012. Author ID (Scopus): 21934560600. ORCID: 0000-0003-4737-8951.

Таширева Любовь Александровна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной терапии рака, 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.

Алифанов Владимир Валерьевич, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр

Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7943-5548. Researcher ID (WOS): AAW-8959-2021. Author ID (Scopus): 57225891731. ORCID: 0000-0003-2061-8417.

Завьялова Марина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, 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.

Перельмутер Владимир Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, 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

Григорьева Евгения Сергеевна: планирование концепции публикации, получение первичных данных, интерпретация результатов исследования, оформление и подготовка текста статьи.

Таширева Любовь Александровна: планирование концепции публикации, интерпретация результатов исследования.

Алифанов Владимир Валерьевич: получение первичных данных, интерпретация результатов исследования.

Завьялова Марина Викторовна: интерпретация результатов исследования.

Перельмутер Владимир Михайлович: проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение текста статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Исследование было поддержано Российским научным фондом (грант № 21-15-00140 «Прогнозирование локализации гематогенных метастазов при раке молочной железы»).

Конфликт интересов

Автор Перельмутер В.М. (доктор медицинских наук, профессор) является членом редколлегии «Сибирского онкологического журнала». Авторам неизвестно о каком-либо другом потенциальном конфликте интересов, связанном с этой статьей.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Научно-исследовательского института онкологии (Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5), протокол № 8 от 17.06.2016 г.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeniya S. Grigoryeva, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Cancer Therapy, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8571-2012. Author ID (Scopus): 21934560600. ORCID: 0000-0003-4737-8951.

Lyubov A. Tashireva, MD, DSc, Head of the Laboratory of Molecular Cancer Therapy, 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.

Vladimir V. Alifanov, MD, PhD, Junior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAW-8959-2021. Author ID (Scopus): 57225891731. ORCID: 0000-0003-2061-8417.

Marina V. Zavyalova, MD, Professor, 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.

Vladimir M. Perelmutter, 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 CONTRIBUTIONS

Evgeniya S. Grigoryeva: planning the concept of publication, obtaining primary data, interpretation of research results, design and preparation of the manuscript.

Lyubov A. Tashireva: planning the concept of publication, interpretation of research results.

Vladimir V. Alifanov: obtaining primary data, interpretation of research results.

Marina V. Zavyalova: interpretation of research results.

Vladimir M. Perelmutter: verification of critical intellectual content, final approval of the manuscript text.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

The study was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 21-15-00140).

Conflict of interests

Prof. Perelmutter V.M. is a member of the editorial board of Siberian Journal of Oncology. The authors are not aware of any other potential conflicts of interest related to this manuscript.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (5, Kooperativny St., Tomsk, 634009, Russia), protocol No. 8 dated June 17, 2016.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data in medical journal.

DOI: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-96-107
УДК: 618.11-006-089.87



Для цитирования: Лавринович О.Е., Татищева Ю.А., Берлев И.В., Яковлева М.Г., Карицкий А.П., Калугина А.С. ОТО-IVM – метод сохранения фертильности пациенткам с опухолевым поражением яичников. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 96–107. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-96-107

For citation: Lavrinovich O.E., Tatischeva Ju.A., Berlev I.V., Yakovleva M.G., Karitski A.P., Kalugina A.S. OTO-IVM is a method of fertility preservation for patients with ovarian tumors. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 96–107. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-96-107

ОТО-IVM – МЕТОД СОХРАНЕНИЯ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПАЦИЕНТКАМ С ОПУХОЛЕВЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЯИЧНИКОВ

О.Е. Лавринович¹, Ю.А. Татищева^{1,2}, И.В. Берлев^{1,3}, М.Г. Яковлева¹,
А.П. Карицкий¹, А.С. Калугина^{2,4}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России

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

²Клиника репродуктивной медицины «Скайферт»

Россия, 191186, г. Санкт-Петербург, Невский пр., 22–24

³ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»
Минздрава России

Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

⁴ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России

Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

Аннотация

Введение. Все большее число пациенток репродуктивного возраста сталкивается с онкологическим заболеванием и высоко заинтересованы в сохранении фертильности. Улучшаются показатели выживаемости онкологических пациентов. Совершенствуются методы репродуктивных технологий, позволяющие сохранить способность деторождения. Реабилитация с целью обеспечения удовлетворительного качества жизни приобретает новый смысл, а с развитием новых технологий изменяется и уровень возможной помощи. В настоящее время реабилитационные мероприятия для онкологических пациенток репродуктивного возраста, несомненно, должны включать все возможные меры по сохранению и восстановлению фертильности. **Цель исследования** – сохранение фертильности пациенток с опухолевым поражением яичников. **Материал и методы.** После овариоэктомии яичники транспортировали в лабораторию эмбриологии, где проводили извлечение ооцит-кумулюсных комплексов и их последующее дозревание методом ОТО-IVM (Ovarian tissue oocyte in vitro maturation). Полученные зрелые ооциты (метафаза II) криоконсервировали методом витрификации или, при наличии партнера, оплодотворяли методом ИКСИ (интрацитоплазматической инъекции сперматозоида), эмбрионы культивировали до стадии бластоцисты и также криоконсервировали методом витрификации. Криоконсервированные ооциты и эмбрионы могут быть использованы после излечения онкологического заболевания в программах вспомогательных репродуктивных технологий. **Результаты.** Всего было извлечено 218 ОКК, из них ооцитов с деградацией – 65 (29,8 %), ОКК, пригодных для дозревания – 153 (70,2 %). Через 36 или 48 ч у 13 пациенток дозрели 65 ооцитов, что составило 42,5 % от ооцитов без признаков деградации. У 11 пациенток, включенных в исследование, извлечение ОКК выполнено из пораженного опухолью яичника. Получено 149 ооцитов, из них 50 (33,6 %) – ооциты с признаками деградации. Остальные 99 (66,4 %) ОКК – удовлетворительного качества, после проведения дозревания метафазы II достигли 49 (49,5 %) ооцитов. В рамках данной работы у 13 из 15 пациенток криоконсервирован биологический материал: 5 эмбрионов и 60 ооцитов.

Ключевые слова: онкофертильность, сохранение фертильности, созревание ооцитов *in vitro*, ОТО-IVM, опухолевое поражение яичников, овариоэктомия.

OTO-IVM IS A METHOD OF FERTILITY PRESERVATION FOR PATIENTS WITH OVARIAN TUMORS

O.E. Lavrinovich¹, Yu.A. Tatischeva^{1,2}, I.V. Berlev^{1,3}, M.G. Yakovleva¹,
A.P. Karitski¹, A.S. Kalugina^{2,4}

¹N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia
68, Leningradskaya St., Saint Petersburg, Pesochny village, 197758, Russia

²Clinic of Reproductive Medicine "Skyfert"
22–24, Nevsky Ave., Saint Petersburg, 191186, Russia

³I.I. Mechnikov North-Western State Medical University of the Ministry of Health of Russia
41, Kirochnaya St., Saint Petersburg, 191015, Russia

⁴I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of the Ministry of Health of Russia
6–8, Lev Tolstoy St., Saint Petersburg, 197022, Russia

Abstract

Introduction. An increasing number of patients of reproductive age get cancer and are highly interested in preserving fertility. Survival rates for cancer patients are improving. Methods of reproductive technologies are being improved to preserve the ability to bear children. Rehabilitation aimed to ensure a satisfactory quality of life takes on a new meaning, and with the development of new technologies, the level of possible assistance also changes. Today, rehabilitation measures for cancer patients of reproductive age should undoubtedly include all possible ways to preserve and restore fertility. **Aim:** preservation of fertility in patients with ovarian tumors. **Material and Methods.** After ovariectomy, the ovaries were transported to the embryology laboratory, where oocyte-cumulus complexes were extracted and subsequently matured using the OTO-IVM (ovarian tissue oocyte in vitro maturation) method. The resulting mature oocytes (Metaphase II) were cryopreserved by vitrification or, if a partner was available, fertilized by ICSI (intracytoplasmic sperm injection), the embryos were cultured to the blastocyst stage and also cryopreserved by vitrification. Cryopreserved oocytes and embryos can be used by patients after cancer treatment in assisted reproductive technology programs. **Results.** A total of 218 OCCs were recovered, 29.8 % were degraded oocytes (n=65). The proportion of OCC suitable for ripening was 153 (70.2 %). After 36 or 48 hours, 65 oocytes matured in 13 patients, which amounted to 42.5 % of oocytes without signs of degradation. In 11 patients the OCC was removed from the tumor-affected ovary. 149 oocytes were obtained, of which 50 (33.6 %) were oocytes with signs of degradation. The remaining 99 (66.4 %) of OCCs had satisfactory quality; after maturation, the Metaphase II stage reached in 49 (49.5 %) of oocytes. As a result, biological material was cryopreserved in 13 of 15 patients: 5 embryos and 60 oocytes.

Key words: oncofertility, fertility preservation, *in vitro* oocyte maturation, OTO-IVM, ovarian tumor, oophorectomy.

Введение

Число онкологических больных репродуктивного возраста за последние десятилетия равномерно увеличивается по всем нозологиям. По оценкам National Institutes of Health, в 2023 г. 4,4 % впервые выявленных случаев злокачественных заболеваний пришлось на возраст от 15 до 39 лет [1]. Частота новых случаев рака у молодых людей растет в среднем на 0,3 % каждый год, но показатели выживаемости с 2008 г. ежегодно улучшаются на 1 % благодаря снижению общей смертности [2].

Достижения в области терапии злокачественных опухолей, особенно темпы внедрения в клиническую практику новых противоопухолевых препаратов, привели к значительному улучшению показателей выживаемости пациентов. Около 85,8 % подростков и молодых людей с диагнозом рак проживут более 5 лет после постановки первичного диагноза, при этом относительная выживаемость онкологических пациентов молодого возраста среди всех нозологических форм в целом составляет

81,1 %, для мужчин – 76,7 %, для женщин – 84,1 % [3, 4].

В 2006 г. Национальный институт рака (NCI) при поддержке Фонда LIVESTRONG организовал Группу по изучению научных исследований, посвященных раку молодых людей в возрасте от 15 до 39 лет, которых выделил в особую категорию онкологических больных из-за уникальных проблем, как группу высокого приоритета ввиду молодости и хороших шансов на выздоровление, а также проблем, с которыми они сталкиваются на протяжении болезни и дальнейшей жизни [5–7].

Уровень заболеваемости всеми видами рака у женщин на 38,3 % выше, чем у мужчин (52,32 vs 37,82 на 100 000), что является большой социальной проблемой, так как последние десятилетия отмечается тенденция к поздним беременностям и родам [8]. Более 75 % молодых женщин с онкологическим диагнозом, у которых еще не было родов, хотели бы иметь детей после лечения, а пациентки, которые уже рожали, хотят сделать это снова [9].

При этом агрессивность специального лечения (химиотерапия, лучевая терапия и хирургическая кастрация) приводит к повреждению гонад и к снижению показателей рождаемости на 30–50 % [10, 11]. Наличие проблем с фертильностью увеличивает вероятность возникновения депрессии, что серьезно влияет на физическое и эмоциональное благополучие больных, а также на общее качество жизни. Серьезность репродуктивных проблем прямо пропорционально связана с риском развития депрессии [7, 12–17].

Исходя из вышеизложенного, онкологические пациентки репродуктивного возраста с высоким риском потери фертильности должны иметь доступ к эффективным методам вспомогательных репродуктивных технологий, основанных на онкологической безопасности. В первую очередь при выявлении онкологического заболевания должна быть рассмотрена возможность выполнения органосохраняющего лечения. При определенных условиях это выполнимо при ранних стадиях эпителиального рака яичников, а также при пограничных и герминогенных опухолях яичников. Но даже в этих случаях шанс сохранить фертильность реализуется далеко не всегда. Разнообразие гистологических форм и клинических проявлений злокачественных новообразований яичников велико, поэтому возможность выполнения органосохраняющего лечения для больных репродуктивного возраста, заинтересованных в сохранении детородной функции, должна рассматриваться индивидуально [18–21].

Основным и наиболее результативным методом сохранения фертильности у женщин в репродуктивном возрасте является криоконсервация яйцеклеток и/или эмбрионов. Предпочтение отдается проведению стимуляции овуляции с целью получения зрелых яйцеклеток (на стадии метафазы II) и их криоконсервации методом витрификации или, при наличии партнера, оплодотворения и получения эмбрионов [22]. Также успешно используется метод криоконсервации кортикального слоя яичников с целью последующей ортотопической трансплантации ткани для восстановления фертильности, который представляется в настоящее время единственной стратегией сохранения фертильности для девочек препубертатного возраста и молодых женщин, которые не могут отложить начало лечения или не хотят вступать в протокол овариальной стимуляции. С 2019 г. метод не является экспериментальным [23].

Реже используется метод IVM (In vitro maturation), представляющий собой получение в ходе трансвагинальной пункции незрелых ооцитов и их последующее дозревание *in vitro*. Получив свое начало еще в 30–40-х годах прошлого столетия, когда впервые удалось из незрелого ооцита получить зрелый, способный к оплодотворению, в настоящее время эта методика используется как альтерна-

тивный вариант сохранения фертильности, когда проведение стимуляции овуляции невозможно или сопряжено с осложнениями, например с развитием синдрома гиперстимуляции яичников. Метод ценен, так как позволяет отказаться от стимуляции овуляции гонадотропинами, быстро реализуется, но имеет более низкие показатели получения зрелых ооцитов и их оплодотворения [24].

Все вышеперечисленные методы подразумевают возможность выполнения трансвагинальной пункции фолликулов и отсутствие опухолевого поражения яичников. Но при наличии противопоказаний для пункции фолликулов, которыми являются: десциминация опухоли по брюшной полости (канцероматоз), опухолевое поражение яичников, локализация опухоли в зоне пункции фолликулов, инфильтрация параметриев, крестцово-маточных связок, опухоль шейки матки, влагалища более 4 см и другие, до настоящего момента нет достаточно эффективного метода сохранения фертильности [25]. Единственно возможным методом сохранения фертильности в таких случаях может быть метод ОТО-IVM (Ovarian tissue oocyte in vitro maturation), в основе которого лежит получение незрелых ооцитов из ткани яичника, удаленного при хирургическом лечении, с их последующим дозреванием в условиях *in vitro* [26, 27].

Протоколы ОТО-IVM для лечения бесплодия и сохранения фертильности до настоящего времени не имеют стандартизации, отличаются применением или отказом от праймирования (использование препаратов ФСГ и ХГЧ перед пункцией), способом пунктирования фолликулов, условиями транспортировки ткани из операционной в лабораторию и другими параметрами. При этом метод имеет высокий потенциал к применению, как единственно возможный для получения и криоконсервации биологического материала у онкологических пациенток, когда использование других методов невозможно [28].

Большинство научных публикаций посвящено реализации метода ОТО-IVM из неизменной ткани яичника. Созревание *in vitro* (IVM) яйцеклеток, полученных *ex vivo* из ткани яичника (ОТО-IVM), проводится одновременно с криоконсервацией ткани яичника (ОТС) и обсуждается как дополнительный источник зрелых яйцеклеток с целью повышения шансов на рождение ребенка.

В 2020 г. опубликованы результаты ретроспективного когортного исследования, в котором пациенткам с целью сохранения фертильности была выполнена односторонняя овариотомия для криоконсервации кортекса. При этом дополнительным методом сохранения фертильности послужил метод ОТО-IVM из резецированной ткани яичника. У 64 пациенток проведена витрификация яйцеклеток ($6,7 \pm 6,3$ яйцеклетки на пациентку). У 13 пациенток проведено оплодотворение дозревших до стадии метафазы II яйцеклеток мето-

дом ИКСИ (Интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ICSI – Intra Cytoplasmic Sperm Injection)), при этом у каждой пациентки получено и витрифицировано $2,0 \pm 2,0$ эмбриона. Для 2 пациенток расконсервированы ооциты с процентом успешной разморозки 86 и 60 % соответственно, а коэффициент живорождения на одну пациентку после ОТО-IVM, ИКСИ и переноса эмбрионов составил 43 % [29].

А. Kedem et al. [30] опубликовали результаты сохранения фертильности у 119 онкологических больных различных нозологических форм в период с 2007 по 2015 г. Авторы представили сравнительные результаты оценки эффективности 2 способов забора ооцитов перед началом онкологического лечения: сбор ооцитов (OPU) с предварительным введением препаратов ФСГ в течение 3 дней, с последующей трансвагинальной аспирацией под ультразвуковым контролем перед лапароскопическим забором ткани яичника и сбор ооцитов из ткани яичника (ОТО), извлеченных во время подготовка корковой ткани яичника к замораживанию. Проведено сравнение эффективности получения ооцитов при трансвагинальной пункции, которая составила 100 %, по сравнению с забором на лабораторном этапе при подготовке ткани к криоконсервации, где ооциты получены в 50 % случаев. Эмбрионы, полученные путем ОТО-IVM, успешно расконсервированы в 100 %. Несмотря на значительно более низкую эффективность метода ОТО-IVM, авторы подчеркивают его ценность, так как он не требует введения гормональных препаратов, синхронизации действий специалистов различных профилей и может быть реализован как дополнительный метод, повышающий эффективность программ сохранения фертильности онкологических больных [30]. Ученые из Южной Кореи в 2016 г. опубликовали результаты исследования, посвященного сохранению фертильности пациенток с гинекологическими злокачественными опухолями. При этом во время операции незрелые ооциты извлекались из макроскопически не измененной ткани яичника (*ex vivo*) с целью культивирования для созревания в течение 48 ч. Эффективность созревания ооцитов составила 67,9 %, что значительно ниже, чем при трансвагинальной пункции [31]. Потенциальное применение созревания яйцеклеток *in vitro* (IVM) в качестве альтернативы экстракорпоральному оплодотворению (ЭКО) яйцеклетками, созревшими *in vivo*, вызывает все больший интерес. Однако отчет о клинических случаях и небольших когортных исследованиях демонстрирует относительно низкую частоту оплодотворения ооцитов при ОТО-IVM – 35,2 %, по сравнению с ооцитами, созревающими *in vivo* и получаемыми при обычной стимуляции яичников, которая составляет до 65 %. Ретроспективный обзор эффективности ОТО-IVM свидетельствует о 5 живорождениях в результате переносов эмбрионов. В 2 случаях это были злокачественные

опухоли яичников [32]. Сохранение фертильности при раке яичников является самой сложной проблемой, когда нужно соблюсти баланс между порой отчаянным желанием пациентки иметь детей и соблюдением онкологической безопасности. В настоящее время метод ОТО-IVM, несмотря на экспериментальность и неотработанный алгоритм реализации, является бесценным, позволяющим дать надежду на рождение ребенка женщинам репродуктивного возраста с поражением яичников первичной опухолью (злокачественные эпителиальные, неэпителиальные, пограничные опухоли яичников) или метастатическим поражением яичников при раке молочной железы, толстой кишки, аденокарциноме шейки матки, лейкозе, нейробластоме и др. [33, 34]. Одним из крайне важных аспектов успешного сохранения яйцеклеток для их созревания, последующего успешного оплодотворения и развития эмбриона являются условия транспортировки яичника от операционной до лаборатории, где яйцеклетки будут извлечены. Множество исследований подтверждают повреждающее влияние низких температур на веретено деления ооцита. Показано, что охлаждение до 0°C на 10 мин полностью и необратимо разрушает веретено деления ооцита [35].

Еще в 2014 г. были представлены данные о первой успешной беременности и родах пациентки 21 года со злокачественной опухолью яичника (микропапиллярная серозная карцинома яичника высокой степени дифференцировки) из яйцеклетки, полученной из пораженного опухолью яичника, созревшей и оплодотворенной *in vitro* [36]. М. Bourg et al. [37] провели ретроспективное исследование в период с мая 2017 г. по ноябрь 2021 г. с применением метода ОТО-IVM для сохранения фертильности. В исследование включено 20 пациенток, из них 15 – с онкологическими диагнозами. Авторы обнаружили, что при органическом поражении яичника опухолью число извлеченных яйцеклеток составило $4,1 \pm 6,3$ vs $17,4 \pm 12,0$ при отсутствии такового ($p=0,003$), количество витрифицированных зрелых ооцитов составило $1,1 \pm 2,2$ vs $5,8 \pm 5,3$ соответственно ($p=0,03$).

Цель исследования – сохранение фертильности пациенток с опухолевым поражением яичников.

Материал и методы

В период с 2021 по 2024 г. в когортное одноцентровое описательное исследование включено 15 пациенток в возрасте 16–38 лет (средний возраст – 28,9 года), получивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им Н.Н. Петрова» Минздрава РФ по поводу опухолевого поражения репродуктивных органов. Тактика лечения обсуждалась на онкологическом консилиуме, где принималось решение о необходимом объеме хирургического лечения в соответствии с клинической ситуацией (таблица): 10 пациенток были со злокачественными опухолями яичников,

Основные характеристики включенных в исследование пациенток и результаты реализации метода ОТО-IVM
Characteristics of the patients included in the study and the results of implementing of OTO-IVM method

№	Возраст/ Age	Диагноз МКБ/ Diagnosis of ICD	Гистологическое исследование (TNM)/ Histological conclusion	Объем хирургического лечения/ Extent of surgery	Извлечено ооцитов/ Oocytes retrieved	Ооцитов без признаков дегенерации/ Oocytes without signs of degradation	Дозрело ооцитов (Метафаза II)/ Mature oocytes (Metaphase II)	Успешно оплодотворены/ Successfully fertilized	Криоконсервировано ооцитов/ эмбрионов/ Cryopreserved oocytes/embryos
1	38	C56	Пограничные эндометриодные опухоли обоих яичников/ Borderline endometrioid tumors of both ovaries (p)T1c2N0M0	Аднексэктомия с обеих сторон, сохранение матки (органосохраняющее) с хирургическим стадированием/ Bilateral salpingo-oophorectomy, uterine preservation with surgical staging	0	–	0	–	0/0
2	37	C53	Аденокарцинома Grade II шейки матки кишечного типа/ Cervical adenocarcinoma Grade II, intestinal type (pT1b1N0M0)	Радикальный хирургический объем/ Radical surgical treatment	40	34	6	–	6/0
3	21	C18.4	Перстневидно-клеточный рак поперечной ободочной кишки/ Cricoid-cell carcinoma of the transverse colon (p)T4aN1bM1 (mts в яичники)/ (p)T4aN1bM1 (mts to ovaries)	Радикальный хирургический объем/ Radical surgical treatment	11	7	3	–	3/0
4	27	C56	Эндометриодная карцинома яичника low grade/ Ovarian low-grade endometrioid carcinoma (p)T1c2N0M0	Сохранение матки, удаление яичников, хирургическое стадирование/ Uterine preservation, salpingo-oophorectomy, surgical staging	20	13	5	4	0/1 (BL2BB)
5	27	C56	Серозная карцинома яичника low grade/ Ovarian serous low-grade carcinoma (p)T3bN0M0	Сохранение матки, удаление яичников, хирургическое стадирование/ Uterine preservation, salpingo-oophorectomy, surgical staging	4	4	1	–	1/0
6	20	C56	Герминогенная опухоль яичника – 100 % опухоль желточного мешка/ Germ cell tumor of the ovary – 100 % yolk sac tumor (p)T3cN0M0	Сохранение матки, удаление яичников, хирургическое стадирование/ Uterine preservation, salpingo-oophorectomy, surgical staging	11	8	3	–	3/0
7	16	C56	Герминогенная опухоль яичника – 100 % опухоль желточного мешка/ Germ cell tumor of the ovary – 100 % yolk sac tumor (p)T1c2N0M0	Сальпингоовариоэктомия слева, резекция правого яичника, сохранение матки; хирургическое стадирование/ Salpingo-oophorectomy on the left, resection of the right ovary, uterine preservation, surgical staging	32	18	10	–	10/0
8	37	C56	Серозная карцинома яичника high grade/ Ovarian serous high-grade carcinoma (p)T1c1N1M0 BRCA1(+)	Радикальный хирургический объем/ Radical surgical treatment	6	3	0	–	0/0

Окончание таблицы /End of Table

9	24	C56	Пограничная серозная опухоль с фокусами микропапиллярного строения/ Micropapillary borderline serous ovarian tumor (p)T1bN0M0	Двусторонняя резекция яичников, хирургическое стадирование/ Bilateral salpingo-oophorectomy with surgical staging	16	10	5	—	5/0
10	33	C56	Эндометриоидная аденокарцинома яичника low-grade/ Ovarian low-grade endometrioid carcinoma (p)T1c3N0M0	Правосторонняя аднексэктомия; хирургическое стадирование/ Right salpingo-oophorectomy with surgical staging	12	7	5	—	5/0
11	34	C53	HPV-ассоциированная инвазивная аденокарцинома шейки матки/ HPV-associated cervical adenocarcinoma (p)T1b2N0M0	Радикальный хирургический объем/ Radical surgical treatment	8	6	5	—	5/0
12	25	C56	Эндометриоидная аденокарцинома яичника low-grade/ Ovarian low-grade endometrioid carcinoma (p)T1c3N0M0	Аднексэктомия справа, цистэктомия слева; хирургическое стадирование/ Oophorectomy on the right, resection of the left ovary, surgical staging	15	13	5	—	5/0
13	30	C56	Пограничная серозная опухоль яичника/ Borderline serous ovarian tumor (p)T2bN0M0	Сохранение матки, удаление яичников; хирургическое стадирование/ Uterine preservation, salpingo-oophorectomy, surgical staging	22	16	12	8	0/3 (BL4AA, BL4BC, BL4BB)
14	32	C54	Низкодифференцированная эндометриоидная аденокарцинома матки/ Endometrioid high-grade carcinoma of the uterus (p) T1aN0M0G3	Экстирпация матки с правыми придатками и левой маточной трубой; лимфаденэктомия/ Hysterectomy, right salpingo-oophorectomy, lymphadenectomy	14	10	3	2	0/1 (BL2BB)
15	33	C53	HPV-ассоциированная аденокарцинома шейки матки/ HPV-associated cervical adenocarcinoma (p)T1b1N1M0	Радикальный хирургический объем/ Radical surgical treatment	7	4	2	—	2/0

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

из них у 5 удалены яичники с двух сторон, четырем выполнялось хирургическое лечение с высоким риском критического снижения овариального резерва; 3 пациентки со злокачественной опухолью шейки матки, которым выполнена радикальная операция с удалением яичников из-за риска метастатического поражения; 1 пациентка с умереннодифференцированной эндометриоидной аденокарциномой эндометрия, когда сохранение матки невозможно, но был сохранен один яичник с целью профилактики преждевременной менопаузы; 1 пациентка с метастазом в яичники рака поперечно-ободочной кишки, которая была высоко заинтересована в попытке сохранения биологического материала.

Во всех клинических случаях было принято решение об удалении или резекции яичников, что приводило либо к кастрации, либо к значимому снижению овариального резерва. Лечащим врачом пациентки направлялись на консультацию к онко-репродуктологу, где обсуждалась индивидуальная тактика сохранения фертильности и принималось решение о реализации метода. В большинстве случаев метод ОТО-IVM был единственно доступным

методом получения биологического материала или дополнительным методом сохранения фертильности, обеспечивающим криоконсервацию ооцитов или эмбрионов.

Яичники получали при овариоэктомии во время хирургического лечения в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова». Извлеченный яичник помещали в стерильный контейнер со средой, содержащей HEPES буфер и нагретой до 37 °C (Flashing Medium, Origio). Контейнер размещали в транспортном боксе, поддерживающем температуру 37 °C. Транспортировка осуществлялась в максимально короткие сроки и занимала от 45 до 75 мин. Получение ооцитов и их дальнейшее культивирование проводилось в эмбриологической лаборатории клиники репродукции «Скайферт».

При выделении ооцит-кумулусных комплексов все манипуляции проводили в среде, содержащей HEPES и нагретой до 37 °C (Flashing Medium, Origio) в ламинарном шкафу на нагреваемой поверхности. Яичник перемещали в чашку Петри диаметром 100 мм, осматривали на наличие антральных фолликулов (рис. 1)

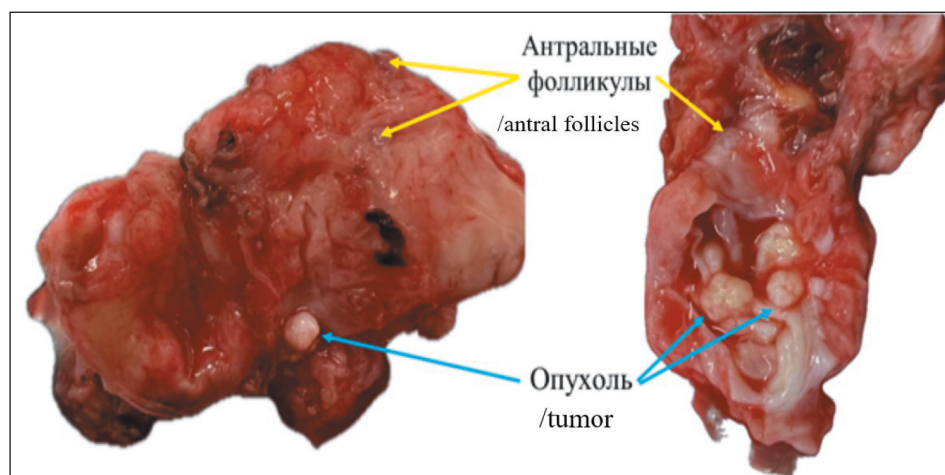


Рис. 1. Яичник, пораженный серозной пограничной опухолью, с выходом на поверхность капсулы. Примечания: желтыми стрелками отмечены антральные фолликулы, синими стрелками – опухоль; фотография с подписями выполнена авторами

Fig. 1. Ovarian serous borderline tumor with access to the surface of the capsule

Notes: yellow arrows indicate antral follicles, blue arrows indicate tumor; created by the authors

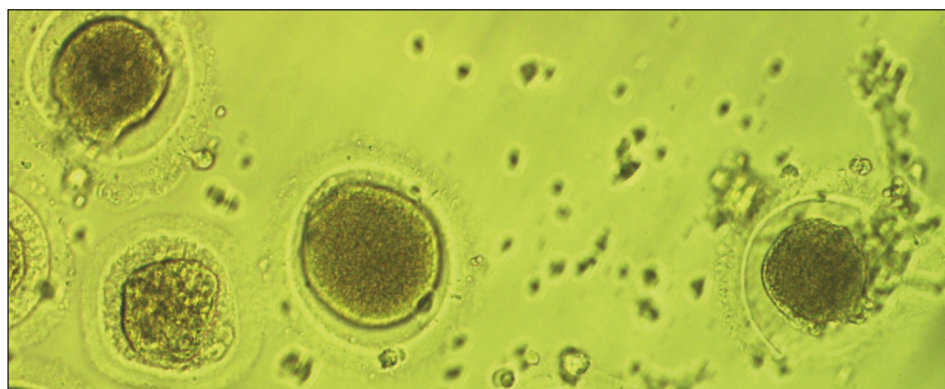


Рис. 2. Микрофото. Ооциты в процессе деградации (инвертированный микроскоп, $\times 200$). Примечание: микрофото выполнено авторами

Fig. 2. Microphoto. Oocytes in the process of degradation (inverted microscope at $\times 200$ magnification). Note: created by the authors

Наличие фолликулов в пораженном опухоли яичнике определяется степенью распространения опухоли в структурах яичника. Все видимые фолликулы пунктировали иглой 19G с помощью шприца объемом 2 мл. Полученную фолликулярную жидкость выпускали в чашку Петри диаметром 35 мм со средой Flashing Medium, Origio, нагретой до 37°C . Чашку с фолликулярной жидкостью просматривали под бинокулярной лупой, обнаруженные ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК) извлекали капилляром (диаметр 300 мкм), переносили в подготовленную заранее чашку со средой для культивирования под маслом (GTL, Mineral oil, Vitrolife), чашку помещали в трехгазовый планшетный инкубатор (PLANER, Origio). После аспирации всех видимых фолликулов яичник разрезали на две половины, каждую из них переносили в отдельную чашку со средой. Далее проводили продольные надрезы стерильным лезвием, ткань промывали последовательно в нескольких чашках со средой, после чего каждую чашку просматривали на наличие ОКК, при обнаружении их извлекали, как описано выше. По завершении ткань яичника помещали в стерильный контейнер с раствором формалина и возвращали в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова для гистологического исследования.

Собранные ооцит-кумулюсные комплексы оценивали под инвертированным микроскопом при $\times 200$. Фиксировали общее количество и число деградированных ооцитов (если таковые

присутствовали) в протоколе культивирования. К деградированным относили ооциты в процессе атрезии, с фрагментированной цитоплазмой, а также пустые зоны пеллюцида без цитоплазмы. Такие ооциты не использовали для дальнейшего культивирования (рис. 2)

Остальные ОКК переносили в среду IVM (In Vitro Maturation Media Kit, Sage), предварительно инкубированную под маслом при 37°C в течение 4–8 ч в трехгазовом инкубаторе (PLANER, Origio). Для культивирования использовали 4-луночные планшеты (Nunc). В среду предварительно добавляли гормоны – ФСГ 0,75 МЕ/мл и ЛГ 0,75 МЕ/мл в соответствии с прилагаемым к набору сред протоколом. ОКК разделяли на 4 лунки планшета, не более 10 в одной лунке. Культивирование проводили также в трехгазовом инкубаторе (PLANER, Origio). Осмотр ОКК проводили через 30 ч культивирования под инвертированным микроскопом при $\times 200$. При обнаружении ооцитов на стадии метафазы II (наличие полярного тельца) ооциты извлекали из лунки капилляром (диаметр 175–200 мкм), переносили в подготовленную заранее чашку со средой для культивирования под маслом (GTL, Mineral oil, Vitrolife), где пипетировали капилляром 150 мкм для удаления остатков кумулюсных клеток с ооцита. Зрелые ооциты использовали в программах сохранения фертильности (пункт 4). Остальные ОКК продолжали инкубировать еще 18 ч (общее время инкубации 48 ч). По истечении этого

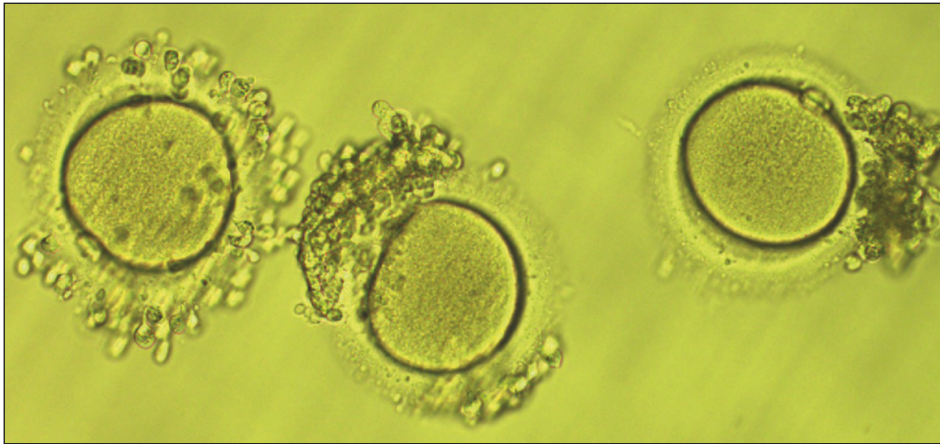


Рис. 3. Микрофото. Ооциты метафаза II, с остатками экспандированного кумулюса (после дозревания), пригодные для криоконсервации или оплодотворения (инвертированный микроскоп, $\times 200$).

Примечание: микрофото выполнено авторами

Fig. 3. Microphoto. Metaphase II oocytes, with remnants of expanded cumulus (after maturation), suitable for cryopreservation or fertilization (inverted microscope at $\times 200$ magnification). Note: created by the authors

времени все ОКК переносили в чашку со средой для культивирования под маслом (GTL, Mineral oil, Vitrolife), где пипетировали капилляром 150 мкм для удаления остатков кумулюсных клеток. Ооциты оценивали под инвертированным микроскопом при 200-кратном увеличении, фиксировали стадию развития ооцита в протоколе культивирования: M2 (метафаза II, зрелый ооцит), M1 (метафаза I), GV (зародышевый пузырек) или деградация.

В зависимости от семейного статуса и желания пациенток ооциты (рис. 3) либо криоконсервировали методом витрификации (набор для витрификации ооцитов и эмбрионов Kitazato), либо оплодотворяли спермой партнера (донора спермы) методом ИКСИ независимо от параметров спермограммы, поскольку ооциты после дозревания не имеют достаточно кумулюсных клеток, необходимых для связывания сперматозоидов. Эмбрионы культивировали в одношаговой среде (GTL, Vitrolife) в планшетном трехгазовом инкубаторе (PLANER, Origio) до стадии бластоцисты (5 или 6 дня развития), а затем криоконсервировали методом витрификации (набор для витрификации ооцитов и эмбрионов Kitazato).

При статистической обработке материала использовались методы описательной статистики. Качественные данные указывались при помощи абсолютных и относительных (доля от общего числа объектов в %) значений. В связи с небольшим размером выборки и отсутствием задачи оценки статистического вывода методы аналитической статистики не применялись (95 % доверительный интервал, разница пропорций, оценка гипотез и т.д.).

Результаты

В результате реализации метода ОТО-IVM у 13 из 15 пациенток был криоконсервирован биологический материал: 5 эмбрионов и 45 ооцитов. Всего было извлечено 218 ОКК, из них ооцитов с деградацией – 65 (29,8 %), ОКК, пригодных для дозревания, – 153 (70,2 %). Через 36 или 48 ч у 13 пациенток дозрели 65 ооцитов, что составило 42,5 % от ооцитов без признаков деградации.

У 11 пациенток, включенных в исследование, извлечение ОКК было выполнено из пораженного опухоли яичника. Получено 149 ооцитов, из них ооцитов с признаками деградации – 50 (33,6 %). Остальные 99 (66,4 %) ОКК были удовлетворительного качества, после проведения дозревания стадии метафазы II достигли 49 (49,5 %) ооцитов.

Оплодотворены спермой половых партнеров 20 ооцитов трех пациенток. Было получено 14 зигот, частота оплодотворения составила 70 %. После культивации получено и криоконсервировано 5 эмбрионов хорошего качества, что составило 35,7 % от общего количества зигот.

На рис. 4 представлены яичники пациентки 24 лет с диагнозом: Пограничные серозные опухоли яичников с фокусами микропапиллярного строения IB стадии (pT1bN0M0) с двусторонним поражением пограничной опухолью, подлежащие ОТО-IVM. Выполнено хирургическое вмешательство в объеме: лапаротомия, двусторонняя резекция яичников, резекция большого сальника, мультифокальная биопсия брюшины. В результате ОТО-IVM извлечено 16 ооцитов, 10 ооцитов без признаков деградации, 5 криоконсервировано.

У двух пациенток, 34 и 33 лет, с HPV-ассоциированной инвазивной аденокарциномой шейки матки перед госпитализацией для радикальной операции была проведена стимуляция овуляции и криоконсервировано 12 и 9 зрелых ооцитов. Из-за достоверно не известных рисков транзитной гиперэстрогении в обоих случаях на протяжении всего курса введения гонадотропинов назначался с профилактической целью прием ингибитора ароматазы (Летрозол, в суточной дозировке 5 мг). Ввиду высокой заинтересованности пациенток в сохранении фертильности, с целью повышения шансов на репродуктивную реализацию выполнен интраоперационный забор удаленных яичников для ОТО-IVM. Из яичников удалось извлечь 8 и 7 (n=15) ооцитов соответственно, из которых 5 были деградированными, а 10 подлежали дозреванию, криоконсервировать удалось 5 и 2 ооцита соответственно. Пациентки были проинформированы

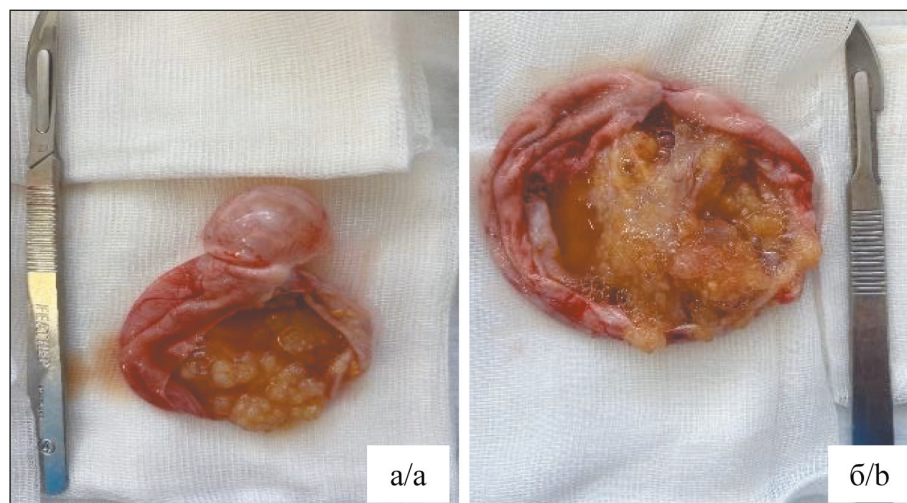


Рис. 4. Удаленные яичники, пораженные пограничной опухолью: а – образование правого яичника, размерами 61×51×90 мм; б – образование левого яичника, размерами 100×77×96 мм. Примечание: фотографии выполнены авторами
Fig.4. Borderline ovarian tumor (original drawing): a – the right ovary 61×51×90 mm; b – the left ovary 100×77×96 mm. Note: created by the authors

и понимали, что репродуктивная реализация возможна только после достижения стойкой ремиссии с помощью услуг сурrogатного материнства.

Из 15 онкологических больных в 9 (60 %) клинических случаях успешно реализовано применение ОТО-IVM как единственно возможного метода сохранения фертильности; в 4 (26,7 %) случаях, когда выполнялись различные варианты органосохраняющего хирургического лечения с сохранением части или целого яичника, метод ОТО-IVM использовался как дополнительный метод сохранения фертильности, с целью криоконсервации репродуктивных клеток, как подстраховка в случае критического послеоперационного снижения овариального резерва или интраоперационной смены плана хирургического вмешательства на радикальный объем; в 2 случаях метод дополнил криоконсервацию ооцитов, полученных в результате стимуляции овуляции, тем самым повысив шансы на получение хорошего эмбриона и достижение беременности.

В исследование были включены 3 пациентки старшего репродуктивного возраста ввиду их крайней заинтересованности в попытке получить биологический материал, которые расценивали этот метод как единственную доступную возможность сохранения фертильности. У 2 из них не удалось получить материал, пригодный для криоконсервации: в одном случае, у пациентки 38 лет, причиной неудачи послужило интраоперационное коагуляционное повреждение ткани при удалении части яичника, фолликулы в представленной ткани отсутствовали; во втором случае, у пациентки 37 лет с наличием BRCA1-мутации, извлечено 6 ооцитов, 3 были подвергнуты дозреванию, но пригодных для криоконсервации ооцитов не получено. Для одной из пациенток неудача реализации метода определила принятие факта необходимости использования донорских ооцитов, в результате чего родился здоровый мальчик. Одна пациентка с распространенным раком поперечно-ободочной кишки погибла из-за прогрессирования основного заболевания.

Обсуждение

При наличии опухолевого поражения яичника ОТО-IVM может являться единственным доступным методом для сохранения фертильности, поскольку стимуляция яичников, трансвагинальная пункция фолликулов или аутоотрансплантация ткани криоконсервированного ранее яичника противопоказаны из-за риска контаминации опухолевыми клетками. Метод ОТО-IVM следует включать в стратегию неотложной репродуктивной помощи у женщин при наличии противопоказаний к стимуляции яичников.

Обсуждение ценности ОТО-IVM как альтернативного метода сохранения фертильности осуществлялось на заседании конференции Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE – European Society of Human Reproduction and Embryology) в 2021 г., где возраст и показатели овариального резерва могут являться предикторами эффективности, аналогично другим вариантам сохранения фертильности. Предложены критерии отбора пациенток: возраст ≤ 38 лет и уровень антимюллерова гормона $\geq 0,5$ нг/мл [38]. Из 3 пациенток старшего репродуктивного возраста, включенных в исследование, у двух материал для криоконсервации не получен. Но это был единственно доступный метод сохранения фертильности, в реализации которого они были заинтересованы.

В нашем исследовании процент извлечения ооцитов, пригодных для дозревания, – 70,2 % в общей группе, куда включены 4 случая ОТО-IVM при не поврежденных опухолью яичниках и 11 случаев при поврежденных опухолью яичниках. В группе пациенток с пораженным опухолью яичником количество извлеченных недеградированных ооцитов составило 66,4 %, при этом процент дозревания ооцитов был несколько выше, чем в общей группе, – 49,2 vs 42,5 %. По всей видимости, наличие опухоли несколько снижает количество удовлетворительного качества ооцитов и процент деградированных половых клеток в данном случае.

выше (33,6 vs 29,8 %), но не оказывает влияния на способность к созреванию и оплодотворению. Несомненно, для более весомых заключений требуется набор большего количества пациентов в исследование.

В литературе представлены противоречивые результаты исследований, посвященных влиянию температурного режима и времени транспортировки ткани яичника на показатели успешности, обсуждается совершенствование методов извлечения и созревания ооцитов. Во многом результативность криоконсервации биологического материала определяется уровнем квалификации лабораторного персонала, являясь достаточно трудоемким, требует хорошего оснащения и высокого качества профессионального взаимодействия репродуктивных и онкологических клиник.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Nierengarten M.B. Annual report to the nation on the status of cancer. *Cancer*. 2023; 129(1): 8. doi: 10.1002/cncr.34586.
2. Burgers V.W.G., van der Graaf W.T.A., van der Meer D.J., McCabe M.G., Rijnveld A.W., van den Bent M.J., Husson O. Adolescents and Young Adults Living With an Uncertain or Poor Cancer Prognosis: The "New" Lost Tribe. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021; 19(3): 240–6. doi: 10.6004/jncn.2020.7696.
3. Close A.G., Dreyzin A., Miller K.D., Seynnaeve B.K.N., Rapkin L.B. Adolescent and young adult oncology—past, present, and future. *CA Cancer J Clin*. 2019; 69(6): 485–96. doi: 10.3322/caac.21585.
4. Smith A.W., Seibel N.L., Lewis D.R., Albritton K.H., Blair D.F., Blanke C.D., Bleyer W.A., Freyer D.R., Geiger A.M., Hayes-Lattin B., Tricoli J.V., Wagner L.L., Zebrack B.J. Next steps for adolescent and young adult oncology workshop: An update on progress and recommendations for the future. *Cancer*. 2016; 122(7): 988–99. doi: 10.1002/cncr.29870.
5. Beckjord E.B., Reynolds K.A., van Londen G.J., Burns R., Singh R., Arvey S.R., Nutt S.A., Rechis R. Population-level trends in posttreatment cancer survivors' concerns and associated receipt of care: results from the 2006 and 2010 LIVESTRONG surveys. *J Psychosoc Oncol*. 2014; 32(2): 125–51. doi: 10.1080/07347332.2013.874004.
6. van der Meer D.J., Karim-Kos H.E., van der Mark M., Aben K.K.H., Bijlsma R.M., Rijnveld A.W., van der Graaf W.T.A., Husson O. Incidence, Survival, and Mortality Trends of Cancers Diagnosed in Adolescents and Young Adults (15–39 Years): A Population-Based Study in The Netherlands 1990–2016. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(11). doi: 10.3390/cancers12113421.
7. Janssen S.H.M., van der Graaf W.T.A., van der Meer D.J., Manten-Horst E., Husson O. Adolescent and Young Adult (AYA) Cancer Survivorship Practices: An Overview. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(19). doi: 10.3390/cancers13194847.
8. You L., Lv Z., Li C., Ye W., Zhou Y., Jin J., Han Q. Worldwide cancer statistics of adolescents and young adults in 2019: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. *ESMO Open*. 2021; 6(5). doi: 10.1016/j.esmoop.2021.100255.
9. Geue K., Richter D., Schmidt R., Sender A., Siedentopf F., Brähler E., Stöbel-Richter Y. The desire for children and fertility issues among young German cancer survivors. *J Adolesc Health*. 2014; 54(5): 527–35. doi: 10.1016/j.jadohealth.2013.10.005.
10. Jayasinghe Y.L., Wallace W.H.B., Anderson R.A. Ovarian function, fertility and reproductive lifespan in cancer patients. *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2018; 13(3): 125–36. doi: 10.1080/17446651.2018.1455498.
11. Xie J., Sun Q., Duan Y., Cheng Q., Luo X., Zhou Y., Liu X., Xiao P., Cheng A.S.K. Reproductive concerns among adolescent and young adult cancer survivors: A scoping review of current research situations. *Cancer Med*. 2022; 11(18): 3508–17. doi: 10.1002/cam4.4708.
12. Gorman J.R., Su H.I., Roberts S.C., Dominick S.A., Malcarne V.L. Experiencing reproductive concerns as a female cancer survivor is associated with depression. *Cancer*. 2015; 121(6): 935–42. doi: 10.1002/cncr.29133.
13. Dong Y., Yue Z., Zhuang H., Zhang C., Fang Y., Jiang G. The experiences of reproductive concerns in cancer survivors: A systematic review and meta-synthesis of qualitative studies. *Cancer Med*. 2023; 12(24): 22224–51. doi: 10.1002/cam4.6531.
14. Carr A.L., Roberts S., Bonnell L.N., Kolva E. Existential distress and meaning making among female breast cancer patients with cancer-related fertility concerns. *Palliative and Supportive Care*. 2023; 21(2): 196–204. doi: 10.1017/S1478951522001675.

Заключение

Получение биологического материала методом забора яйцеклеток из удаленной ткани яичников является ценным методом сохранения фертильности, так как может быть единственным доступным методом сохранения фертильности при поражении опухолью обоих яичников, при наличии противопоказаний для трансвагинальной пункции фолликулов, и может служить дополнительным методом криоконсервации биологического материала, повышающим шансы на репродуктивную реализацию. Поскольку ОТО-IVM является эффективным методом сохранения фертильности у пациенток со злокачественными опухолевыми поражениями яичников, когда никакой другой метод не применим, разработка оптимального алгоритма его реализации является одним из актуальных вопросов онкофертильности.

15. Benedict C., Thom B., Friedman D.N., Diotallevi D., Pottenger E.M., Raghunathan N.J., Kelvin J.F. Young adult female cancer survivors' unmet information needs and reproductive concerns contribute to decisional conflict regarding posttreatment fertility preservation. *Cancer*. 2016; 122(13): 2101–9. doi: 10.1002/cncr.29917.
16. Bártolo A., Neves M., Carvalho B., Reis S., Valério E., Santos I.M., Monteiro S. Fertility under uncertainty: exploring differences in fertility-related concerns and psychosocial aspects between breast cancer survivors and non-cancer infertile women. *Breast Cancer*. 2020; 27(6): 1177–86. doi: 10.1007/s12282-020-01124-w.
17. Kim S., Kim S.W., Han S.J., Lee S., Park H.T., Song J.Y., Kim T. Molecular Mechanism and Prevention Strategy of Chemotherapy- and Radiotherapy-Induced Ovarian Damage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(14). doi: 10.3390/ijms22147484.
18. Canlorbe G., Chabbert-Buffet N., Uzan C. Fertility-Sparing Surgery for Ovarian Cancer. *J Clin Med*. 2021; 10(18). doi: 10.3390/jcm10184235.
19. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) Ovarian Cancer Including Fallopian Tube Cancer and Primary Peritoneal Cancer Version 2.2019 NCCN Guidelines for Patients. National Comprehensive Cancer Network; Washington, DC, USA: 2019.
20. Ray-Coquard I., Morice P., Lorusso D., Prat J., Oaknin A., Pautier P., Colombo N.; ESMO Guidelines Committee. Non-epithelial ovarian cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2018; 29(s4): 1–18. doi: 10.1093/annonc/mdy001.
21. Bourdel N., Huchon C., Abdel Wahab C., Azaïs H., Bendifallah S., Bolze P.A., Brun J.L., Canlorbe G., Chauvet P., Chereau E., Courbiere B., De La Motte Rouge T., Devouassoux-Shisheboran M., Eymerit-Morin C., Fauvel R., Gauray E., Gauthier T., Grynberg M., Koskas M., Larouze E., Lecoindre L., Levêque J., Marguerite F., D'argent Mathieu E., Nyangoh-Timoh K., Ouldamer L., Raad J., Raimond E., Ramanah R., Rolland L., Rousset P., Rousset-Jablonski C., Thomassin-Naggara I., Uzan C., Zilliox M., Daraï E. Borderline ovarian tumors: French guidelines from the CNGOF. Part 2. Surgical management, follow-up, hormone replacement therapy, fertility management and preservation. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2021; 50(1). doi: 10.1016/j.jogoh.2020.101966.
22. Lambertini M., Peccatori F.A., Demeestere I., Amant F., Wyns C., Stukenborg J.B., Paluch-Shimon S., Halaska M.J., Uzan C., Meissner J., von Wolff M., Anderson R.A., Jordan K.; ESMO Guidelines Committee. Fertility preservation and post-treatment pregnancies in post-pubertal cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*. 2020; 31(12): 1664–78. doi: 10.1016/j.annonc.2020.09.006.
23. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2019; 112(6): 1022–33. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.09.013.
24. Martinez F.; International Society for Fertility Preservation–ESHRE–ASRM Expert Working Group. Update on fertility preservation from the Barcelona International Society for Fertility Preservation–ESHRE–ASRM 2015 expert meeting: indications, results and future perspectives. *Fertil Steril*. 2017; 108(3): 407–15. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.05.024.
25. Зиновьева О.В., Лавринович О.Е., Карицкий А.П., Котиев Х.Б. Правовые аспекты сохранения фертильности онкологических больных. *СПб.*, 2022. 56 с. [Zinov'yeva O.V., Lavrinovich O.E., Karitsky A.P.,

Kotiv Kh.B. Legal aspects of preserving the fertility of cancer patients. St. Petersburg, 2022. 56 p. (in Russian)].

26. Di Tucci C., Galati G., Mattei G., Chinè A., Fracassi A., Muzii L. Fertility after Cancer: Risks and Successes. *Cancers* (Basel). 2022; 14(10): 2500. doi: 10.3390/cancers14102500.

27. ESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation; Anderson R.A., Amant F., Braat D., D'Angelo A., Chuva de Sousa Lopes S.M., Demeestere I., Dwek S., Frith L., Lambertini M., Maslin C., Moura-Ramos M., Nogueira D., Rodriguez-Wallberg K., Vermeulen N. ESHRE guideline: female fertility preservation. *Hum Reprod Open*. 2020. doi: 10.1093/hropen/hoaa052.

28. Walls M.L., Douglas K., Ryan J.P., Tan J., Hart R. In-vitro maturation and cryopreservation of oocytes at the time of oophorectomy. *Gynecol Oncol Rep*. 2015; 13: 79–81. doi: 10.1016/j.gore.2015.07.007.

29. Segers I., Bardhi E., Mateizel I., Van Moer E., Schots R., Verheyen G., Tournaye H., De Vos M. Live births following fertility preservation using in-vitro maturation of ovarian tissue oocytes. *Hum Reprod*. 2020; 35(9): 2026–36. doi: 10.1093/humrep/deaa175.

30. Kedem A., Yerushalmi G.M., Brengauz M., Raanani H., Orvieto R., Hourvitz A., Meirav D. Outcome of immature oocytes collection of 119 cancer patients during ovarian tissue harvesting for fertility preservation. *J Assist Reprod Genet*. 2018; 35(5): 851–6. doi: 10.1007/s10815-018-1153-1.

31. Park C.W., Lee S.H., Yang K.M., Lee I.H., Lim K.T., Lee K.H., Kim T.J. Cryopreservation of in vitro matured oocytes after ex vivo oocyte retrieval from gynecologic cancer patients undergoing radical surgery. *Clin Exp Reprod Med*. 2016; 43(2): 119–25. doi: 10.5653/cerm.2016.43.2.119.

32. De Roo C., Tillemann K. In Vitro Maturation of Oocytes Retrieved from Ovarian Tissue: Outcomes from Current Approaches and Future Perspectives. *J Clin Med*. 2021; 10(20). doi: 10.3390/jcm10204680.

33. von Wolff M., Sanger N., Liebenthron J. Is Ovarian Tissue Cryopreservation and Transplantation Still Experimental? It Is a Matter of Female Age and Type of Cancer. *J Clin Oncol*. 2018; 36(33). doi: 10.1200/JCO.18.00425.

34. Буняева Е.С., Кириллова А.О., Назаренко Т.А., Джанашивили Л.Г., Гаджимогомедова К.К., Хабас Г.Н., Бирюкова А.М., Гависова А.А. Показатели и эффективность технологии получения незрелых ооцит-кумулюсных комплексов из ткани яичника с последующим их дозреванием *in vitro*. *Акушерство и гинекология*. 2022; (6): 75–82. [Bunyaeva E.S., Kirillova A.O., Nazarenko T.A., Dzhanaashvili L.G., Gadzhimagomedova K.K., Khabas G.N., Biryukova A.M., Gavisova A.A. Indications and effectiveness of technique for immature oocyte-cumulus complexes retrieval from ovarian tissue followed by their in vitro maturation. *Obstetrics and Gynecology*. 2022; (6): 75–82. (in Russian)]. doi: 10.18565/aig.2022.6.75-82.

35. Zenzes M.T., Bielecki R., Casper R.F., Leibo S.P. Effects of chilling to 0 degrees C on the morphology of meiotic spindles in human metaphase II oocytes. *Fertil Steril*. 2001; 75(4): 769–77. doi: 10.1016/s0015-0282(00)01800-8.

36. Wang W.H., Meng L., Hackett R.J., Odenbourg R., Keefe D.L. Limited recovery of meiotic spindles in living human oocytes after cooling-rewarming observed using polarized light microscopy. *Hum Reprod*. 2001; 16(11): 2374–8. doi: 10.1093/humrep/16.11.2374.

37. Prasath E.B., Chan M.L., Wong W.H., Lim C.J., Tharmalingam M.D., Hendricks M., Loh S.F., Chia Y.N. First pregnancy and live birth resulting from cryopreserved embryos obtained from in vitro matured oocytes after oophorectomy in an ovarian cancer patient. *Hum Reprod*. 2014; 29(2): 276–8. doi: 10.1093/humrep/det420.

38. Bourg M., Moreau J., Carles M., Cadoret F., Lesourd F., Tournier A., Léandri R.D., Gatimel N. Is in vitro maturation of oocytes retrieved ex vivo from ovarian tissue an effective fertility preservation technique in the presence of organic ovarian cysts? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2023; 281: 87–91. doi: 10.1016/j.ejogrb.2022.12.025.

39. Massarotti C., Kohlhepp F., Liperis G., Ammar O.F., Mincheva M.N., Ali Z.E., Amorim C.A., Anderson R., Fraire-Zamora J.J. #ESHREjc report: Is OTO-IVM the future fertility preservation alternative for urgent cancer patients? *Hum Reprod*. 2021; 36(9): 2631–3. doi: 10.1093/humrep/deab180.

Поступила/Received 23.04.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 02.07.2024

Принята к публикации/Accepted 16.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Лавринович Ольга Евгеньевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7239-5933. ORCID: 0000-0002-1886-3993.

Татищева Юлия Александровна, кандидат биологических наук, эмбриолог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; заведующая эмбриологической лабораторией, Клиника репродуктивной медицины «Скайферт» (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0009-0000-9472-5704.

Берлев Игорь Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6937-2740.

Яковлева Мария Георгиевна, кандидат медицинских наук, сотрудник отделения онкогинекологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 8140-6345. ORCID: 0000-0002-1593-6771.

Карицкий Андрей Петрович, кандидат медицинских наук, заместитель директора по лечебной работе, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0009-0002-0216-2727.

Калугина Алла Станиславовна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры акушерства, гинекологии и неонатологии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; генеральный директор, Клиника репродуктивной медицины «Скайферт» (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 3214-1641. ORCID: 0000-0002-4796-7812.

ВКЛАД АВТОРОВ

Лавринович Ольга Евгеньевна: разработка концепции научной работы, написание текста статьи, обзор публикаций по теме, получение данных для анализа, анализ полученных данных.

Татищева Юлия Александровна: написание текста статьи, обзор публикаций по теме, получение данных для анализа, анализ полученных данных.

Берлев Игорь Викторович: разработка концепции научной работы, получение данных для анализа.

Яковлева Мария Георгиевна: получение данных для анализа, обзор публикаций по теме.

Карицкий Андрей Петрович: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных.

Калугина Алла Станиславовна: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Петрова (Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68), протокол № 07 от 28.03.2024 г.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных и фотоматериалов в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Olga E. Lavrinovich, MD, PhD, Researcher, Department of Gynecological Oncology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-1886-3993.

Yulia A. Tatischeva, PhD, Embryologist, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia; Head of the Embryology Laboratory, Clinic of Reproductive Medicine "Skyfert" (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0009-0000-9472-5704.

Igor V. Berlev, MD, Professor, Head of the Department of Oncogynecology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia; Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6937-2740.

Maria G. Yakovleva, MD, PhD, Researcher, Department of Gynecological Oncology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-1593-6771.

Andrey P. Karitski, MD, PhD, Deputy Director, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0009-0002-0216-2727.

Alla S. Kalugina, MD, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Neonatology, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of the Ministry of Health of Russia; General Director, Clinic of Reproductive Medicine "Skyfert" (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-4796-7812.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Olga E. Lavrinovich: study conception, writing of the manuscript, review of publications on the topic, data collection, data analysis.

Yulia A. Tatischeva: writing of the manuscript, review of publications on the topic, data collection and analysis.

Igor V. Berlev: study conception, data collection.

Maria G. Yakovleva: data collection and analysis, review of publications on the topic.

Andrey P. Karitski: study design, review of publications, data analysis.

Alla S. Kalugina: study design, review of publications, data analysis.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (68, Leningradskaya St., Saint Petersburg, Pesochny village, 197758, Russia), protocol No. 07 dated March 28, 2024.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data and photographs in medical journal.

Для цитирования: Тонеев Е.А., Кешян Э.А., Нуретдинов Д.И., Мартынов А.А., Жинов А.В., Шагдалеев Р.Ф. Панкреатическая фистула после гастрэктомии. Ретроспективный одноцентровый анализ. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 108–116. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-108-116

For citation: Toneev E.A., Keshyan E.A., Nuretdinov D.I., Martynov A.A., Zhinov A.V., Shagdaleev R.F. Pancreatic fistula after gastrectomy. Retrospective single-center analysis. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 108–116. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-108-116

ПАНКРЕАТИЧЕСКАЯ ФИСТУЛА ПОСЛЕ ГАСТРЭКТОМИИ. РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ ОДНОЦЕНТРОВЫЙ АНАЛИЗ

Е.А. Тонеев^{1,2}, Э.А. Кешян^{3,4}, Д.И. Нуретдинов², А.А. Мартынов¹,
А.В. Жинов¹, Р.Ф. Шагдалеев²

¹ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер»

Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. 12 Сентября, 90

²ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»

Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, 42

³ГБУЗ «Городская клиническая больница № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ»

Россия, 111539, г. Москва, ул. Вешняковская, 23

⁴ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

Аннотация

Цель исследования – определить частоту и факторы риска развития послеоперационной панкреатической фистулы после гастрэктомии. **Материал и методы.** С 01.01.2018 по 31.10.2023 в региональном онкологическом диспансере прооперировано 198 больных раком желудка I–III стадии, которым были выполнены оперативные вмешательства в объеме гастрэктомии с лимфодиссекцией D2. Проведена оценка характеристик пациентов по единому разработанному протоколу. Определены значимые факторы, влияющие на развитие послеоперационных панкреатических фистул (ПОПФ). **Результаты.** Частота ПОПФ составила 18,7 % (37/198). Выявлено, что не все панкреатические фистулы сопровождались явлениями острого панкреатита. В группе из 37 пациентов с ПОПФ сопутствующий острый панкреатит зарегистрирован у 5, из них легкий острый панкреатит – у 2, среднетяжелый – у 3 больных, тяжелых острых панкреатитов не наблюдалось. Значимым индикатором возникновения ПОПФ является нейтрофильно-лимфоцитарный индекс ($p=0,033$), при отсутствии других инфекционных явлений. Кроме того, установлены следующие значимые факторы: лимфаденопатия регионарных лимфатических узлов ($p=0,037$), распространенность опухолевого процесса (критерий T) ($p=0,002$), спленэктомия ($p<0,001$), резекция поджелудочной железы ($p<0,001$). **Выводы.** Частота послеоперационных панкреатических фистул после гастрэктомии составила 18,7 %. Значимыми факторами развития ПОПФ являются: резекция поджелудочной железы, спленэктомия, статус лимфатических узлов, размер и глубина инвазии опухолевого процесса. Дополнительным индикатором развития ПОПФ является повышение нейтрофильно-лимфоцитарного индекса на 1-е сут после операции.

Ключевые слова: рак желудка, гастрэктомия, панкреатическая фистула.

PANCREATIC FISTULA AFTER GASTRECTOMY. RETROSPECTIVE SINGLE-CENTER ANALYSIS

E.A. Toneev^{1,2}, E.A. Keshyan^{3,4}, D.I. Nuretdinov², A.A. Martynov¹, A.V. Zhinov¹,
R.F. Shagdaleev²

¹Regional Clinical Oncological Dispensary

90, 12 September St., Ulyanovsk, 4320171, Russia

²Ulyanovsk State University

42, Lev Tolstoy St., Ulyanovsk, 4320172, Russia

³O.M. Filatov City Clinical Hospital No. 15 of the Moscow Department of Health

23, Veshnyakovskaya St., Moscow, 111539, Russia

⁴N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of Russia

1, Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russia

Abstract

Objective: to determine the frequency and risk factors for postoperative pancreatic fistula (POPF) after gastrectomy. **Material and Methods.** From January 1, 2018 to October 31, 2023, 198 patients with stage I–III gastric cancer underwent gastrectomy with D2 lymphadenectomy at a Regional Oncological Dispensary. The characteristics of the studied patients were assessed according to a unified protocol. Statistically significant factors influencing the development of POPF were identified. **Results.** The incidence of POPF was 18.7 % (37/198). It was found that not all pancreatic fistulas were accompanied by acute pancreatitis. Among the patients with POPF, 5 had associated acute pancreatitis: 2 with mild, and 3 with moderate severity; no severe acute pancreatitis was observed. The statistically significant indicator for the occurrence of POPF was the neutrophil-lymphocyte index ($p=0.033$), in the absence of other infectious phenomena. In addition, the following significant factors were identified: lymphadenopathy of regional lymph nodes ($p=0.037$), tumor stage (T criterion) ($p=0.002$), splenectomy ($p<0.001$), and resection of the pancreas ($p<0.001$). **Conclusion.** The frequency of postoperative pancreatic fistulas after gastrectomy was 18.7 %. Statistically significant factors for the development of POPF include resection of the pancreas, splenectomy, lymph node status, tumor size, and depth of invasion. An additional indicator for the development of POPF is an increase in the neutrophil-lymphocyte index 1 day after surgery.

Key words: gastric cancer, gastrectomy, pancreatic fistula.

Введение

Рак желудка (РЖ) занимает 5-е место в структуре онкологических заболеваний. В РФ в 2020 г. было зарегистрировано 28 955 случаев рака желудка, из этого числа на III–IV стадию приходится 62 %, из первично выявленных больных около 44,5 % погибает в течение одного года после постановки диагноза [1].

Радикальная операция занимает ключевую позицию в комбинированном лечении РЖ, позволяющем достигать удовлетворительных онкологических результатов [2]. Гастрэктомия (ГЭ) является одной из частых операций при этом заболевании. При данном объеме оперативного вмешательства сохраняется высокий риск развития тяжелых послеоперационных хирургических осложнений, из них наиболее частыми являются кровотечения, несостоятельности анастомозов, фистулы поджелудочной железы и внутрибрюшные абсцессы [3]. Фистула поджелудочной железы после гастрэктомии способствует ухудшению хирургических результатов лечения, так как приводит к развитию интраперитонеальной инфекции, формированию внутрибрюшных абсцессов, что, в свою очередь, запускает каскад дополнительных патологических процессов (сердечно-сосудистых,

инфекционных) и требует длительного и дорогостоящего лечения [4].

Целью исследования явилась оценка частоты и причин возникновения панкреатической фистулы у больных раком желудка после гастрэктомии со стандартной лимфодиссекцией D2.

Материал и методы

В исследование включено 198 больных раком желудка, которым была выполнена гастрэктомия с лимфодиссекцией D2 в период с 01.01.18 по 31.10.23 в хирургическом торакальном и абдоминальном отделении ГУЗ «Областной онкологический диспансер», г. Ульяновск. Для стадирования рака желудка использовали классификацию по системе TNM 8-го пересмотра, утвержденную Международным союзом по борьбе с раком (UICC).

Критерии включения в исследование: рак желудка I–IIIА стадии; возраст больных – 18–80 лет; лапаротомный операционный доступ. Критерии исключения: неполные клинические данные для анализа; лапароскопическая гастрэктомия; острая кардио-респираторная патология в раннем послеоперационном периоде; наличие послеоперационных инфекционных процессов, не связанных

с поджелудочной железой. Для диагностики и классификации панкреатических фистул регистрировались клинически значимые изменения и краткосрочные результаты. Подтверждением наличия панкреатической фистулы было увеличение концентрации амилазы в отделяемом из дренажей, 3-кратно превышающей нормальный уровень амилазы в крови. Распределение больных в зависимости от выраженности панкреатических фистул проводилось на основе классификации послеоперационных свищей поджелудочной железы Международной исследовательской группы по хирургии поджелудочной железы 2016 г. (International Study Group for Pancreatic Surgery the revised, 2016) (табл. 1). Ретроспективный анализ проводили согласно разработанному протоколу, данные заносились в базу для последующего статистического анализа.

Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ) и тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс (ТЛИ) определялись как отношение абсолютного числа нейтрофилов к абсолютному количеству лимфоцитов и абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному количеству лимфоцитов соответственно, данный анализ выполнялся на 1-е сут после операции.

Статистический анализ выполнен с использованием программы StatTech v. 4.0 (разработчик –

ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро–Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерий Колмогорова–Смирнова (при числе исследуемых более 50). В случае описания количественных показателей, имеющих нормальное распределение, полученные данные объединялись в вариационные ряды, в которых проводился расчет средних арифметических величин (М) и стандартных отклонений (SD), границ 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных рассчитывался t-критерий Стьюдента. Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий Манна–Уитни. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Таблица 1/Table 1

Классификация панкреатических фистул
Classification of pancreatic fistulas

Явления/Phenomena	BL	Grade B	Grade C
Повышение активности амилазы в 3 раза от верхнего предела в сыворотке крови/ 3-fold increase in serum amylase activity compared to the upper limit of the normal range	+	+	+
Сохраняющееся перипанкреатическое дренирование >3 нед/ Persistent peripancreatic drainage >3 weeks	–	+	+
Клинически значимые изменения в лечении ПФ/ Clinically significant changes in the treatment of PF	–	+	+
Специфические чрескожные или эндоскопические вмешательства при ПФ для сбора мазков/ Specific percutaneous or endoscopic interventions for PF for sample collection	–	+	+
Ангиографические процедуры при кровотечении, связанном с ПФ/ Angiographic procedures for bleeding associated with PF	–	+	+
Признаки инфекций/Signs of infections	–	Без органной недостаточности/ Without organ failure	Без органной недостаточности/ Without organ failure
Повторные операции/Reoperations	–	–	+
Органная недостаточность/Organ failure	–	–	+
Смерть/Death	–	–	+

Примечания: ПФ – панкреатические фистулы; BL – biliary leak (утечка желчи); таблица составлена авторами.

Notes: PF – pancreatic fistulas; BL – biliary leak; created by the authors.

Результаты

Из включенных в исследование больных, перенесших ГЭ со стандартной лимфодиссекцией D2, в 37 (18,7 %) случаях возникли панкреатические фистулы (табл. 2). При анализе данных осложнений установлено, что не все послеоперационные панкреатические фистулы (ПОПФ) сопровождались явлениями острого панкреатита. Средний возраст, пол, клиническая стадия и избыточная масса тела не были значимыми предикторами развития ПОПФ после гастрэктомии. Коморбидность была равнозначна в группах больных с осложненным и неосложненным течением послеоперационного периода (табл. 3). При дальнейшем анализе послеоперационных результатов выявлено значимое влияние следующих факторов на развитие панкреатических фистул после гастрэктомии (табл. 4): наличие метастатического поражения перигастральных лимфатических узлов, установленного как по данным дооперационного клинико-инструментального обследования ($p=0,023$), так и по результатам планового морфологического исследования операционного материала ($p=0,037$).

В группе из 37 пациентов с ПОПФ сопутствующий острый послеоперационный панкреатит был зарегистрирован у 5 больных, из них легкой степени – в 2, среднетяжелой – в 3 наблюдениях, случаев острого послеоперационного панкреатита тяжелой степени не наблюдалось.

В исследовании проведен анализ уровней НЛИ и ТЛИ на 1-е сут послеоперационного периода в зависимости от наличия или отсутствия панкреатической фистулы (табл. 5). Пациенты с внепанкреатическими воспалительными явлениями в данный поданализ не включались. Выявлено, что увеличение уровня НЛИ значимо связано с развитием ПОПФ ($p=0,033$), но повышение уровня ТЛИ не продемонстрировало значимой зависимости от наличия или отсутствия панкреатической фистулы ($p=0,291$).

Обсуждение

Несмотря на достижения в мультидисциплинарном лечении рака желудка, радикальное хирургическое вмешательство остается стандартом лечения. Ввиду агрессивного хирургического вмешательства в зоне малого сальника при выполнении перигастральной лимфодиссекции частота осложнений со стороны поджелудочной железы остается на достаточно высоком уровне. По данным литературы, панкреатическая фистула после гастрэктомии возникает у 18,7 % пациентов, из них у 24,3 % наблюдается среднетяжелая панкреатическая фистула, требующая более длительного стационарного лечения ($p=0,004$), что увеличивает нагрузку на стационар и приводит к удорожанию госпитализации [4]. Также развитие ПОПФ значимо влияет на частоту выполнения релапаротомии по поводу аррозивных кровотечений, несостоятельности

пищеводно-желудочного анастомоза. Ряд исследований показывает, что частота ПОПФ составляет от 2 до 12,6 % [5, 6]. Кроме того, важность ПОПФ заключается в том, что в ранее проведенных исследованиях показано, что развитие панкреатической фистулы увеличивает 90-дневную послеоперационную летальность, приводит к отсрочке начала адъювантной химиотерапии, негативно влияет на показатели общей 5-летней выживаемости. В нашем исследовании возникновение ПОПФ, независимо от ее степени, значимо увеличивало сроки госпитализации ($p=0,004$).

В многочисленных исследованиях проведен анализ факторов риска развития ПОПФ после гастрэктомии. В метаанализе A.A.S. Al-Magedi et al. [7] оценивалось влияние видов хирургического доступа (лапароскопия или лапаротомия) на развитие ПОПФ. Авторы установили, что частота развития послеоперационных панкреатических фистул не зависит от данного фактора. Во многих исследованиях в качестве значимых интраоперационных факторов риска возникновения ПОПФ после гастрэктомии рассматриваются спленэктомия и дистальная резекция поджелудочной железы [8, 9]. По нашим данным также установлено, что спленэктомия и резекция поджелудочной железы значимо влияют на развитие ПОПФ ($p<0,001$).

Некоторыми авторами с высоким риском образования ПОПФ связывались такие показатели, как площадь висцерального жира и индекс массы тела (ИМТ) [10, 11]. Однако в других исследованиях эта корреляция не нашла подтверждения [12]. В нашей выборке ИМТ также значимо не влиял на развитие ПОПФ ($p=0,267$).

По мнению S. Kamiya et al. [13], гемотрансфузия и объем интраоперационной кровопотери значимо влияют на риск развития ПОПФ – $p=0,004$ и $p=0,005$ соответственно. Результаты, полученные в нашем исследовании, аналогичны, хотя влияние объема кровопотери на развитие послеоперационной панкреатической фистулы является дискуссионным.

По данным проведенного нами анализа установлено, что локализация опухоли и критерий Т являются значимыми факторами риска развития ПОПФ. По данным литературы, одна из причин этого явления при раке тела желудка связана с близким расположением опухолевого процесса к поджелудочной железе, поэтому во время хирургических манипуляций происходит ее травматизация [14].

Некоторые исследования показали, что количество удаленных лимфатических узлов не влияет на формирование ПОПФ [15]. Однако в крупном исследовании H. Miyai et al. [16] объем лимфодиссекции и количество удаленных лимфатических узлов идентифицированы как независимые факторы риска ПОПФ после гастрэктомии. По нашим данным, количество удаленных лимфатических узлов не влияло на развитие ПОПФ ($p=0,344$), од-

Таблица 2/Table 2

Характеристики пациентов с панкреатической фистулой после гастрэктомии
Characteristics of patients with pancreatic fistula after gastrectomy

Показатели/Indicators		Классификация фистул/Classification of fistulas			p
		Без ПОПФ/No POPF	В	BL	
Пол/Gender	Жен/Female	55 (34,2 %)	6 (66,7 %)	12 (42,9 %)	0,112
	Муж/ Male	106 (65,8 %)	3 (33,3 %)	16 (57,1 %)	
Возраст, Ме [IQR]/Age, Me [IQR]		66 [61; 70]	68 [57; 70]	62 [59; 67]	0,338
ИМТ, М (SD)/BMI, М (SD)		27 (5)	26 (3)	25 (5)	0,267
Ожирение/ Obesity	Нет/No	124 (77,0 %)	8 (88,9 %)	23 (82,1 %)	0,609
	Да/Yes	37 (23,0 %)	1 (11,1 %)	5 (17,9 %)	
cT	cT1	10 (6,2 %)	0 (0,0 %)	3 (10,7 %)	0,222
	cT2	22 (13,7 %)	0 (0,0 %)	3 (10,7 %)	
	cT3	107 (66,5 %)	5 (55,6 %)	17 (60,7 %)	
	cT4	22 (13,7 %)	4 (44,4 %)	5 (17,9 %)	
cN	cN0	79 (49,1 %)	2 (22,2 %)	9 (32,1 %)	0,023*
	cN1	52 (32,3 %)	3 (33,3 %)	13 (46,4 %)	
	cN2	18 (11,2 %)	4 (44,4 %)	6 (21,4 %)	
	cN3	12 (7,5 %)	—	0 (0,0 %)	
Стадия/ Stage	I	19 (11,8 %)	—	4 (14,3 %)	0,442
	II	1 (0,6 %)	—	—	
	IIA	8 (5,0 %)	—	1 (3,6 %)	
	IIB	59 (36,6 %)	2 (22,2 %)	5 (17,9 %)	
	III	74 (46,0 %)	7 (77,8 %)	18 (64,3 %)	
pT	0	8 (5,0 %)	—	—	0,002* p _{попф-В} <0,001
	1a	10 (6,2 %)	—	3 (10,7 %)	
	1b	12 (7,5 %)	—	3 (10,7 %)	
	1a	1 (0,6 %)	—	—	
	2	22 (13,7 %)	—	5 (17,9 %)	
	3	88 (54,7 %)	3 (33,3 %)	11 (39,3 %)	
	4a	10 (6,2 %)	1 (11,1 %)	4 (14,3 %)	
	4b	10 (6,2 %)	5 (55,6 %)	2 (7,1 %)	
pN	0	84 (52,2 %)	3 (33,3 %)	15 (53,6 %)	0,037*
	1	29 (18,0 %)	—	3 (10,7 %)	
	2	27 (16,8 %)	2 (22,2 %)	7 (25,0 %)	
	3a	17 (10,6 %)	4 (44,4 %)	1 (3,6 %)	
	3b	4 (2,5 %)	—	2 (7,1 %)	
Химиотерапия до операции/ Chemotherapy before surgery	Нет/No	89 (55,3 %)	8 (88,9 %)	14 (50,0 %)	0,111
	Да/Yes	72 (44,7 %)	1 (11,1 %)	14 (50,0 %)	
Локализация опухоли/ Localization of tumor	Тело/Body	71 (44,1 %)	8 (88,9 %)	20 (71,4 %)	
	Дистальный отдел/ Distal part	6 (3,7 %)	—	2 (7,1 %)	
Спленэктомия/ Splenectomy	Нет/No	133 (82,6 %)	3 (33,3 %)	15 (53,6 %)	<0,001*
	Да/Yes	28 (17,4 %)	6 (66,7 %)	13 (46,4 %)	p _{0-В} <0,001 p _{0-BL} =0,001
Резекция под- желудочной железы/ Pancreatic resection	Нет/No	141 (87,6 %)	2 (22,2 %)	20 (71,4 %)	<0,001*
	Да/Yes	20 (12,4 %)	7 (77,8 %)	8 (28,6 %)	p _{0-В} <0,001 p _{0-BL} =0,026 p _{В-BL} =0,018

Примечания: * – значимые различия; BL – biliary leak (утечка желчи); таблица составлена авторами.

Notes: * – statistically significantly difference; POPF – postoperative pancreatic fistula, BL – biliary leak, BMI – body mass index; created by the authors.

Таблица 3/Table 3

Сопутствующая патология у пациентов
Associated pathology in patients

Критерий/Criterion		Классификация фистул/Classification of fistulas			p
		Без ПОПФ/No POPF	B	BL	
Хроническая болезнь почек/ Chronic kidney disease	Нет/No	115 (71,4 %)	8 (88,9 %)	23 (82,1 %)	0,282
	Да/Yes	46 (28,6 %)	1 (11,1 %)	5 (17,9 %)	
Ишемическая болезнь сердца/ Coronary heart disease	Нет/No	105 (65,2 %)	8 (88,9 %)	23 (82,1 %)	0,083
	Да/Yes	56 (34,8 %)	1 (11,1 %)	5 (17,9 %)	
Гипертоническая болезнь/ Arterial hypertension	Нет/No	73 (45,3 %)	2 (22,2 %)	11 (39,3 %)	0,034* p _{0-B} =0,018
	ГБ1/АН1	8 (5,0 %)	3 (33,3 %)	2 (7,1 %)	
	ГБ2/АН2	41 (25,5 %)	3 (33,3 %)	10 (35,7 %)	
	ГБ3/АН3	39 (24,2 %)	1 (11,1 %)	5 (17,9 %)	
Сахарный диабет/ Diabetes mellitus	Нет/No	135 (83,9 %)	9 (100,0 %)	25 (89,3 %)	0,336
	Да/Yes	26 (16,1 %)	0 (0,0 %)	3 (10,7 %)	
Хроническая сердечная недостаточность/ Chronic heart failure	0	90 (55,9 %)	7 (77,8 %)	20 (71,4 %)	0,059
	1	27 (16,8 %)	1 (11,1 %)	7 (25,0 %)	
	2a	44 (27,3 %)	1 (11,1 %)	1 (3,6 %)	

Примечания: * – значимые различия; BL – biliary leak (утечка желчи); таблица составлена авторами.

Notes: * – statistically significantly difference; BL – biliary leak; created by the authors.

Таблица 4/Table 4

Периоперационные характеристики пациентов
Perioperative characteristics of patients

Показатели/Indicators	Классификация фистул/ Classification of fistulas			p
	Без ПОПФ/ No POPF	BL	B	
Время операции, мин, Ме [IQR]/Operation time, min, Me [IQR]	180 [160; 210]	190 [169; 210]	210 [180; 260]	0,308
Кровопотеря, мл, Ме [IQR]/Blood loss, ml, Me [IQR]	350 [250; 500]	450 [300; 700]	500 [500; 700]	0,005* p _{B-0} =0,020
Койко-дни, Ме [IQR]/Hospital days, Me [IQR]	16 [14; 18]	17 [14,75; 21,50]	23 [17; 26]	0,004* p _{B-0} =0,011
Количество лимфоузлов, Ме [IQR]/ Number of lymph nodes, Me [IQR]	13 [10; 19]	15 [12; 20]	18 [13; 21]	0,344
Амилаза по дренажу, Ме [IQR]/ Amylase in drainage, Me [IQR]	97 [61; 173]	956 [393; 1659]	14155 [12416; 17332]	<0,001* p _{B-0} <0,001 p _{B-0} <0,001 p _{BL-B} =0,040

Примечания: * – значимые различия; BL – biliary leak (утечка желчи); таблица составлена авторами.

Notes: * – statistically significantly difference; BL – biliary leak; created by the authors.

Таблица 5/Table 5

Показатели НЛИ и ТЛИ в зависимости от наличия ПОПФ
Indicators of NLR and TLR Depending on the Presence of POPF

Показатели/ Indicators	Панкреатическая фистула/ Pancreatic Fistula		p
	Нет/No	Да/Yes	
НЛИ 1-е сут, Ме [IQR]/NLR 1 day, Me [IQR]	5 [3; 7]	6 [3; 17]	0,033*
ТЛИ 1-е сут, Ме [IQR]/PLR 1 day, Me [IQR]	148,5 [106,8; 207,7]	170,0 [112,4; 268,9]	0,291

Примечания: * – значимые различия; таблица составлена авторами.

Notes: * – statistically significantly difference; NLR – Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, PLR – Platelet-to-Lymphocyte Ratio; created by the authors.

нако критерий N прямо коррелировал с развитием данного осложнения ($p=0,037$).

Значение уровня НЛИ как предиктора развития ПОПФ исследовано J. Garnier et al. [17], которые показали, что НЛИ является значимым фактором исключения развития данной патологии, пороговым значением является уровень НЛИ, равный 8,5. Ввиду редкой частоты ПОПФ и малой выборки пациентов мы не стали в своем исследовании оценивать пороговое значение НЛИ, однако этот фактор следует учитывать при прогнозировании развития ПОПФ, при отсутствии других инфекционных явлений.

В настоящее время стандарта лечения ПОПФ не существует, в нашем учреждении проводилось

консервативное лечение данного осложнения. Во всех анализируемых случаях не потребовалось повторных хирургических вмешательств, летальных исходов, связанных с ПОПФ, не наблюдалось.

Заключение

Частота послеоперационных панкреатических фистул после гастрэктомии составила 18,7 %. Значимыми факторами развития ПОПФ являются резекция поджелудочной железы, спленэктомия, статус лимфатических узлов, размер и глубина инвазии опухолевого процесса. Дополнительным индикатором развития ПОПФ является повышение нейтрофильно-лимфоцитарного индекса на 1-е сутки после операции.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году*. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2021. 239 с. [Cancer care for the population of Russia in 2020. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2021. 239 p. (in Russian)].
2. Sexton R.E., Al Hallak M.N., Diab M., Azmi A.S. Gastric cancer: a comprehensive review of current and future treatment strategies. *Cancer Metastasis Rev.* 2020; 39(4): 1179–203. doi: 10.1007/s10555-020-09925-3.
3. Katai H., Ishikawa T., Akazawa K., Isobe Y., Miyashiro I., Oda I., Tsujitani S., Ono H., Tanabe S., Fukagawa T., Nunobe S., Kakeji Y., Nashimoto A.; Registration Committee of the Japanese Gastric Cancer Association. Five-year survival analysis of surgically resected gastric cancer cases in Japan: a retrospective analysis of more than 100,000 patients from the nationwide registry of the Japanese Gastric Cancer Association (2001–2007). *Gastric Cancer*. 2018; 21(1): 144–54. doi: 10.1007/s10120-017-0716-7.
4. Bassi C., Marchegiani G., Dervenis C., Sarr M., Abu Hilal M., Adham M., Allen P., Andersson R., Asbun H.J., Besselink M.G., Conlon K., Del Chiaro M., Falconi M., Fernandez-Cruz L., Fernandez-Del Castillo C., Fingerhut A., Friess H., Gouma D.J., Hackert T., Izbicki J., Lillemoe K.D., Neoptolemos J.P., Olah A., Schulick R., Shrikhande S.V., Takada T., Takaori K., Traverso W., Vollmer C.M., Wolfgang C.L., Yeo C.J., Salvia R., Buchler M.; International Study Group on Pancreatic Surgery (ISGPS). The 2016 update of the International Study Group (ISGPS) definition and grading of postoperative pancreatic fistula: 11 Years After. *Surgery*. 2017; 161(3): 584–91. doi: 10.1016/j.surg.2016.11.014. Erratum in: *Surgery*. 2024. doi: 10.1016/j.surg.2024.05.043.
5. Sano T., Sasako M., Mizusawa J., Yamamoto S., Katai H., Yoshikawa T., Nashimoto A., Ito S., Kaji M., Imamura H., Fukushima N., Fujitani K.; Stomach Cancer Study Group of the Japan Clinical Oncology Group. Randomized Controlled Trial to Evaluate Splenectomy in Total Gastrectomy for Proximal Gastric Carcinoma. *Ann Surg.* 2017; 265(2): 277–83. doi: 10.1097/SLA.0000000000001814.
6. Martiniuc A., Dumitrascu T., Ionescu M., Tudor S., Lacatus M., Herlea V., Vasilescu C. Pancreatic Fistula after D1+/D2 Radical Gastrectomy according to the Updated International Study Group of Pancreatic Surgery Criteria: Risk Factors and Clinical Consequences. Experience of Surgeons with High Caseloads in a Single Surgical Center in Eastern Europe. *J Gastric Cancer*. 2021; 21(1): 16–29. doi: 10.5230/jgc.2021.21.e3.
7. Al-Magedi A.A.S., Wu R., Tao Q. Comparison of postoperative pancreatic fistula between open and laparoscopic surgery in patients with gastric cancer: A meta-analysis. *Ann Med Surg (Lond)*. 2022; 76. doi: 10.1016/j.amsu.2022.103558.
8. Kobayashi D., Iwata N., Tanaka C., Kanda M., Yamada S., Nakayama G., Fujii T., Koike M., Fujiwara M., Kadera Y. Factors related to occurrence and aggravation of pancreatic fistula after radical gastrectomy for gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2015; 112(4): 381–6. doi: 10.1002/jso.24001.
9. Yu H.W., Jung D.H., Son S.Y., Lee C.M., Lee J.H., Ahn S.H., Park D.J., Kim H.H. Risk factors of postoperative pancreatic fistula in curative gastric cancer surgery. *J Gastric Cancer*. 2013; 13(3): 179–84. doi: 10.5230/jgc.2013.13.3.179.
10. Sato Y., Inokuchi M., Otsuki S., Fujimori Y., Kojima K. Risk Factor of Pancreatic Fistula after Radical Gastrectomy from the Viewpoint of Fatty Pancreas. *Dig Surg*. 2017; 34(6): 455–61. doi: 10.1159/000455332.
11. Tsujinaka T., Sasako M., Yamamoto S., Sano T., Kurokawa Y., Nashimoto A., Kurita A., Katai H., Shimizu T., Furukawa H., Inoue S., Hiratsuka M., Kinoshita T., Arai K., Yamamura Y.; Gastric Cancer Surgery Study Group of Japan Clinical Oncology Group. Influence of overweight on surgical complications for gastric cancer: results from a randomized control trial comparing D2 and extended para-aortic D3 lymphadenectomy (JCOG9501). *Ann Surg Oncol*. 2007; 14(2): 355–61. doi: 10.1245/s10434-006-9209-3.
12. Kumagai K., Hiki N., Nunobe S., Kamiya S., Tsujiura M., Ida S., Ohashi M., Yamaguchi T., Sano T. Impact of anatomical position of the pancreas on postoperative complications and drain amylase concentrations after laparoscopic distal gastrectomy for gastric cancer. *Surg Endosc*. 2018; 32(9): 3846–54. doi: 10.1007/s00464-018-6114-3.
13. Kamiya S., Hiki N., Kumagai K., Honda M., Nunobe S., Ohashi M., Sano T., Yamaguchi T. Two-point measurement of amylase in drainage fluid predicts severe postoperative pancreatic fistula after gastric cancer surgery. *Gastric Cancer*. 2018; 21(5): 871–8. doi: 10.1007/s10120-018-0805-2.
14. Yamada S., Yagi S., Sato K., Shin'e M., Sakamoto A., Utsunomiya D., Okikawa S., Aibara N., Watanabe M., Obatake M., Ono R., Fujii M., Otani H., Kawasaki H. Serum C-reactive protein level on first postoperative day can predict occurrence of postoperative pancreatic fistula after laparoscopic gastrectomy. *J Med Invest*. 2019; 66(3.4): 285–8. doi: 10.2152/jmi.66.285.
15. Tanioka T., Kojima K., Saito T., Kanemoto E., Okuno K., Gokita K., Kobayashi K., Nakagawa M., Inokuchi M. Intraoperative Body Fluid Amylase as a Novel Indicator of Postgastrectomy Pancreatic Fistula. *World J Surg*. 2019; 43(8): 2061–8. doi: 10.1007/s00268-019-04961-9.
16. Miyai H., Hara M., Hayakawa T., Takeyama H. Establishment of a simple predictive scoring system for pancreatic fistula after laparoscopy-assisted gastrectomy. *Dig Endosc*. 2013; 25(6): 585–92. doi: 10.1111/den.12042.
17. Garnier J., Alfano M.S., Robin F., Ewald J., Al Farai A., Palen A., Sebai A., Mokart D., Delpero J.R., Sulpice L., Zemmour C., Turrini O. Establishment and external validation of neutrophil-to-lymphocyte ratio in excluding postoperative pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy. *BJS Open*. 2023; 7(1). doi: 10.1093/bjsopen/zrac124.

Поступила/Received 10.03.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 30.07.2024

Принята к публикации/Accepted 14.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тонеев Евгений Александрович, кандидат медицинских наук, торакальный хирург хирургического отделения торакальной онкологии, ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер»; доцент кафедры факультетской хирургии, медицинский факультет им. Т.З. Биктимирова, Институт медицины, экологии и физической культуры, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 2236-3277. ORCID: 0000-0001-8590-2350.

Кешян Эрик Ашотович, кандидат медицинских наук, врач хирургического отделения, ГБУЗ «Городская клиническая больница

ца № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ»; ассистент кафедры госпитальной хирургии № 1, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-5557-1925.

Нуретдинов Данир Ильдарович, студент 5-го курса медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, Институт медицины, экологии и физической культуры, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). ORCID: 0009-0005-5858-6571.

Мартынов Александр Александрович, торакальный хирург, заведующий хирургическим торакальным отделением, ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 6726-7147. ORCID: 0000-0003-4662-9886.

Жинов Анатолий Васильевич, кандидат медицинских наук, хирург, заведующий хирургическим отделением абдоминальной онкологии, ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» (г. Ульяновск, Россия). ORCID: 0009-0009-1738-100X.

Шагдалеев Роман Фатыхович, ординатор кафедры госпитальной хирургии, анестезиологии, реаниматологии, урологии, травматологии и ортопедии, факультет стоматологии, фармации и последипломного медицинского образования, Институт медицины, экологии и физической культуры, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). ORCID: 0009-0004-0218-666X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Тонеев Евгений Александрович: концепция и дизайн исследования, написание текста.

Кешян Эрик Ашотович: анализ полученных данных, внесение окончательной правки.

Нуретдинов Данир Ильдарович: сбор и обработка материалов, обзор литературы.

Мартынов Александр Александрович: анализ полученных данных, написание текста.

Жинов Анатолий Васильевич: сбор материала, написание текста.

Шагдалеев Роман Фатыхович: сбор материала, написание текста.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Ульяновского областного клинического онкологического диспансера (Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. 12 Сентября, 90), протокол № 218 от 15.12.2017 г.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeny A. Toneev, MD, PhD, Thoracic Surgeon, Department of Thoracic Oncology, Regional Clinical Oncological Dispensary; Associate Professor, Faculty Surgery Department, T.Z. Biktimirov Medical Faculty, Institute of Medicine, Ecology, and Physical Education, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0000-0001-8590-2350.

Eric A. Keshyan, MD, PhD, Surgical Department, O.M. Filatov City Clinical Hospital No. 15 of the Moscow Department of Health; Assistant, Department of Hospital Surgery No. 1, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5557-1925.

Danir I. Nuretdinov, 5th-year student, T.Z. Biktimirov Medical Faculty, Institute of Medicine, Ecology and Physical Culture, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0009-0005-5858-6571.

Alexander A. Martynov, MD, Thoracic Surgeon, Head of Surgical Thoracic Department, Regional Clinical Oncological Dispensary (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0000-0003-4662-9886.

Anatoliy V. Zhinov, MD, PhD, Surgeon, Head of Surgical Department No. 1, Regional Clinical Oncological Dispensary (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0009-0009-1738-100X.

Roman F. Shagdaleev, MD, Resident, Department of Hospital Surgery, Anesthesiology, Intensive Care, Urology, Traumatology, and Orthopedics, Faculty of Dentistry, Pharmacy, and Postgraduate Medical Education, Institute of Medicine, Ecology, and Physical Education, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0009-0004-0218-666X.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Evgeny A. Toneev: concept and design of the study, writing of the manuscript.

Eric A. Keshyan: data analysis, final editing.

Danir I. Nuretdinov: data collection and analysis, literature review.

Alexander A. Martynov: data analysis, writing of the manuscript.

Anatoliy V. Zhinov: data collection, writing the manuscript.

Roman F. Shagdaleev: data collection, writing the manuscript.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of Regional Clinical Oncological Dispensary (90, 12 September St., Ulyanovsk, 4320171, Russia), protocol No. 218 dated December 15, 2017.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data in medical journal.

Для цитирования: Patil K., Kaggare Puttaraju M., Solayappan E. Оценка биопсихосоциальной модели контроля над болью у пациентов после лечения рака полости рта. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 117–124. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-117-124

For citation: Patil K., Kaggare Puttaraju M., Solayappan E. Evaluation of biopsychosocial model for pain management in post-oral cancer therapy patients. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 117–124. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-117-124

EVALUATION OF BIOPSYCHOSOCIAL MODEL FOR PAIN MANAGEMENT IN POST-ORAL CANCER THERAPY PATIENTS

K. Patil, M. Kaggare Puttaraju, E. Solayappan

JSS Dental College and Hospital, JSS Academy of Higher Education and Research
Mysore, 570 015, India

Abstract

Background. Approximately 50 % of cancer patients have pain in their daily lives, which is multifaceted sensation goes beyond basic biochemical signal of pain. Oral mucositis is one of the negative consequences with intense pain, discomfort, challenges in speaking and eating. These components collectively influence patient's total quality of life across mental, biological, social aspects. Biopsychosocial model (BPS) is an effective technique for understanding and addressing conceptualization and treatment of pain in cancer patients. **The aim of this study** is to assess efficacy of the BPS in managing post-cancer distress and potential to improve quality of life for individuals with cancer. **Material and Methods.** This study evaluated 30 cancer patients who completed radiotherapy and were referred from cancer hospital. The examination encompasses three distinct categories: biological, psychological, and social components. The biological aspect was documented based on mucosal lesions and VAS scores for individuals; followed by photo-biomodulation was given. Palliative care was provided in psychological aspect through implementation of exercise, meditation, music therapy. The social component encompasses community engagement, social activities, counseling services for family members. Patients were categorized into 3 groups – A, B, C. All three components were carefully evaluated and one-month follow-up was done. **Results.** The outcome derived from statistical analysis of the data collected from groups A, B, and C. When group A was compared to group B, there was 46 % increase in quality of life. When group C was compared to group A, 65 % of patients exhibited favorable quality of life. The average VAS score of patients decreased from 9.2 to 4.5 after Low-Level Laser Therapy (LLLT), demonstrating gradual decrease in discomfort. P value showed statistically significant (<0.05). **Conclusion.** Healthcare providers can enhance their treatment efficiency, addressing root cause of illness, and enhance overall well-being by incorporating BPS into their practice. Addressing the various elements of biological, psychological, and social factors would have beneficial effect on overall quality of life.

Key words: oral cancer, radiotherapy, photo biomodulation, biopsychosocial model, quality of life.

ОЦЕНКА БИОПСИХОСОЦИАЛЬНОЙ МОДЕЛИ КОНТРОЛЯ НАД БОЛЬЮ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПОЛОСТИ РТА

K. Patil, M. Kaggare Puttaraju, E. Solayappan

Стоматологический колледж и больница, JSS Академия высшего образования и исследований
Индия, 570 015, г. Майсур

Аннотация

Актуальность. Примерно 50 % онкологических больных испытывают боль, многозначную по субъективному восприятию, выраженность которой превышает базовый уровень. Мукозит полости рта является одним из негативных последствий лучевой терапии, сопровождающихся интенсивной болью, дискомфортом, трудностями в речи и приеме пищи. Эти компоненты в совокупности влияют на общее

качество жизни пациента в ментальных, биологических, социальных аспектах. Биопсихосоциальная модель (БПС) является эффективным методом решения проблемы боли у онкологических больных. **Цель исследования** – оценка эффективности БПС в лечении дистресса после проведенного специализированного лечения для улучшения качества жизни онкологических больных. **Материал и методы.** В исследование включено 30 больных, которым проводилась лучевая терапия по поводу злокачественных новообразований. Обследование охватывает три отдельные категории: биологическую, психологическую и социальную. Биологический аспект основывался на оценке поражения слизистой оболочки рта и интенсивности боли с помощью визуально-аналоговой шкалы (ВАШ) с последующей фотобиомодуляцией с применением низкоинтенсивной лазерной терапии (НИЛИ). Психологическая паллиативная помощь была оказана посредством внедрения упражнений, медитации и музыкальной терапии. Социальный компонент охватывал социальную реабилитацию и консультативную помощь для членов семьи пациента. Больные были разделены на 3 группы: А, В, С. В группах проводилось контрольное обследование и одномесячное динамическое наблюдение. **Результаты.** При сравнительном анализе данных, полученных в группах А и В, установлено, что качество жизни пациентов улучшилось на 46 %. При сравнении группы С с группой А у 65 % пациентов наблюдалось улучшение качества жизни. При применении НИЛИ средний балл ВАШ снизился с 9,2 до 4,5 ($p < 0,05$), что свидетельствует о постепенном снижении дискомфорта. **Заключение.** Медицинские работники могут повысить эффективность лечения, устраняя основную причину заболевания и улучшая общее состояние пациентов, включив ВАШ в свою практику. Воздействие на различные элементы биологических, психологических и социальных факторов оказывает благотворное влияние на общее качество жизни.

Ключевые слова: рак полости рта, радиотерапия, фотобиомодуляция, биопсихосоциальная модель, качество жизни.

Introduction

Globally, head and neck cancer (HNC) is the seventh most prevalent type of cancer, with around 660,000 new cases and 325,000 deaths occurring each year. The prevalence of HNC is projected to increase by up to 30 % annually by year 2030. This upward trajectory has been observed in both wealthy and developing nations. Considering the extensive variety of adverse effects that occur after therapeutic intervention, it is crucial to evaluate treatment results for patients with head and neck cancer (HNC) [1, 2].

Cancer treatments result in a range of adverse effects, with the most prevalent ones being cancer-related fatigue (CRF) and pain. CRF is described as a “distressing persistent subjective sense of physical, emotional, and/or cognitive tiredness or exhaustion related to cancer or cancer treatment that is not proportional to activity that disrupts normal daily functioning” with abnormal operation [3].

According to the biopsychosocial paradigm, pain and disability are complex and influenced by the interplay of biological, psychological, and social factors [4]. It is commonly acknowledged that chronic pain can lead to feelings of depression, anxiety, sleep disturbances, and difficult interpersonal situations. However, it is less frequently recognized that these factors might also make individuals more susceptible to develop chronic pain. Depression, anxiety, post-traumatic stress, inadequate coping skills, and exaggeration of negative outcomes are all psychological factors associated with the emergence of chronic pain. Sociocultural variables associated with chronic pain include low educational achievement, cultural deprivation, and little social support. Genetics, age, sex, sleep, hormones, and endogenous opiate systems are all biological factors that have a crucial impact [5, 6].

The aim of this study to evaluate the effectiveness of the biopsychosocial model in treating post-cancer fatigue and explore its potential for enhancing the quality of life for cancer patients.

Material and Methods

30 patients of 20 males and 10 females were referred from cancer hospital and those who met the selection criteria followed by the study was evaluated. This study was approved from our institutional ethics committee JSSDCH IEC 21/2022. Prior to evaluating each patient, written consent was obtained individually. Inclusion criteria: age 18 year and older; patient diagnosed with head and neck cancer; patients' diagnosis was confirmed with histopathological report; patients who have undergone radiotherapy; patients with oral mucositis post radiotherapy; conscious patient; patients with undisturbed orientation. Exclusion criteria: co-morbidities related to fatigue symptoms; patient under antidepressant and antiepileptics; bipolar disorder; stroke; pregnancy.

This evaluation research consists of three components: biological, psychological, and social. The biological aspect entailed the measurement of the VAS score, which spanned from 0 (indicating the absence of pain) to 10 (representing the most intense pain). The patients received Low Level Laser Therapy (photo biomodulation) at a wavelength of 660nm for 2–3 minutes every other day to treat mucosal changes including erosion, ulceration, sloughing, and depapillation of the tongue. Three contact mode sessions have been conducted, targeting a total of eight spots in the buccal mucosa and tongue, six points in the lip, and three points in the palate (Fig. 1).

The psychological aspect of the evaluation involved the use of WHO questionnaire assessment

criteria. These criteria encompassed various factors such as trait anxiety, state anxiety, depressive symptoms, distress, body image, social problems, physical problems, financial problems, sexual problems, sleep, and appetite. These factors were assessed prior to the administration of palliative care. Music therapy was employed as an intervention in either a passive or interactive manner, including the patient in the creation of live music. This can be implemented either

independently or as part of a multimodal program. The breathing exercise was also modified, which facilitated the regulation of the breathing cycle and ultimately enabled control over the pace and depth of breathing after meditation.

Within the social aspect, the patient engages in communication with their family members and attends regular counseling sessions. These sessions aim to provide encouragement and support, thereby reducing stress and fostering a state of mindfulness. This enables the patient to fully embrace the present moment with a sense of self-assurance, ultimately leading to an enhanced quality of life (Fig. 2). The patients were categorized into groups A, B, and C based on the three components of the BPS model (Table 1).

The statistical analysis was conducted using SPSS software version 22.0. Post-hoc and ANOVA tests were performed to compare the three groups (Groups A, B, and C) based on their Biological, Psychological, and Social components. Descriptive statistics was to evaluate mean and standard deviation. A P value less than 0.05 was deemed to be statistically significant.

Results

The table presents the data collected from three different groups (A, B, and C) over the course of three visits. Initially, Group A had 19 participants, which decreased to 15 participants during the second visit and further declined to 12 participants by the final visit. In contrast, Group B started with 8 participants, which dropped to 5 during the second visit, but slightly increased to 6 participants by the final visit. Meanwhile, Group C showed beginning with 3 participants at the initial visit, rising to 10 participants in the second visit, and reaching 12 participants in the final visit. Overall, all patients during the final visit, 12 from group A, 6 from group B, 12 from group C showing

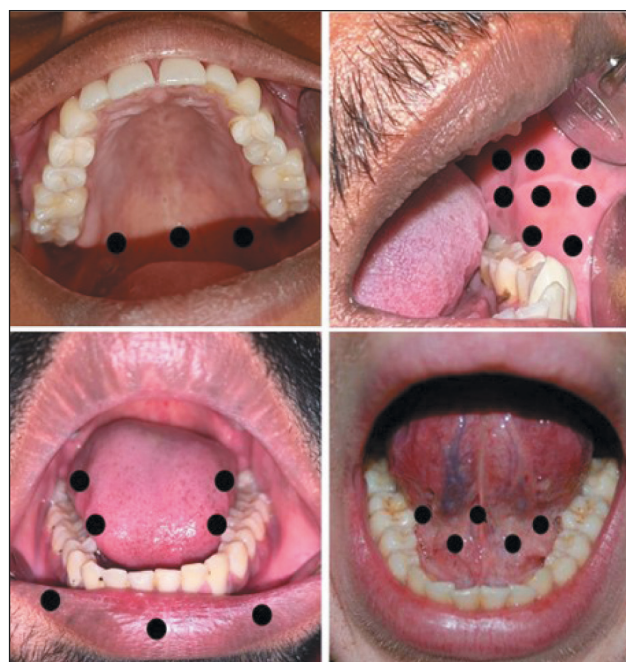


Fig. 1. Depicting intraoral reference points according to site.

Note: created by the authors

Рис. 1. Контрольные точки в полости рта, на которые проводились сеансы НИЛИ.

Примечание: фотографии выполнены авторами

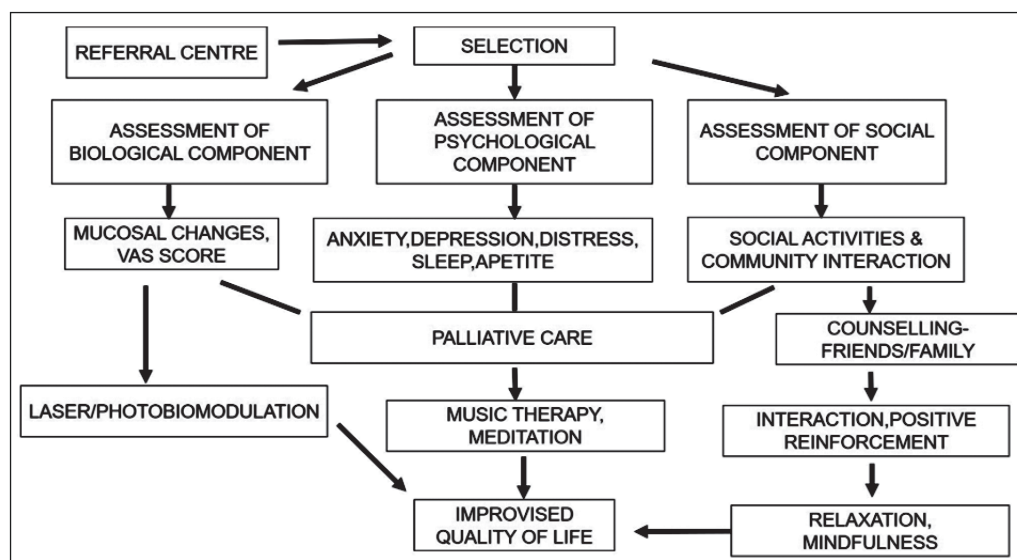


Fig. 2. Illustrating the process from patient selection to the management of biological, psychological, and social components.

Note: created by the authors

Рис. 2. Схема применения биопсихосоциальной модели контроля над болью. Примечание: рисунок выполнен авторами

Table 1/Таблица 1

Assessment criteria-grouping A, B, C)
Критерии оценки (группы A, B, C)

Grade/Группа	VAS/ ВАШ	Mucosal lesion/ Наличие и выраженность поражения слизистой оболочки полости рта	Psychosocial index/ Психосоциальный индекс
A	9–10	Present, restricted mouth opening/ Присутствует, ограниченное открывание рта	Difficulty in having food, bad social interaction/ Трудности с приемом пищи, плохое социальное взаимодействие
B	7–8	Present, no restricted mouth opening/ Присутствует, неограниченное открывание рта	No difficulty in having food, improvised social life/ Нет проблем с едой, и социальной жизнью
C	4–6	Healed, no restricted mouth opening/ Заживление, нет ограничений в открывании рта	No difficulty in having food, good social life/ Нет проблем с едой, хорошая социальная жизнь

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

Table 2/Таблица 2

Frequency distribution of number of patients between A, B and C group
Распределение пациентов между группами A, B и C

Groups/Группы	Initial visit/Первичный визит	Second visit/Второй визит	Final visit/Финальный визит
A	19	15	12
B	8	5	6
C	3	10	12
Total/Всего	30	30	30

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

Table 3/Таблица 3

Descriptive statistics showing mean value of each visit between A, B and C
Средний уровень баллов по шкале ВАШ на каждом визите в сравниваемых группах

Visits/ Контрольное обследование	VAS Scores/Баллы по шкале ВАШ		
	Mean/ Среднее значение	Standard Deviation/ Стандартное отклонение	Coefficient of variation/ Коэффициент вариации
First visit/Первый визит (n=30)	9.234	0.732	0.085
Second visit/Второй визит (n=30)	6.852	0.825	0.135
Final visit/Финальный визит (n=30)	4.167	0.633	0.152

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

Table 4/Таблица 4

ANOVA test among different groups
Тест ANOVA в сравниваемых группах

Cases/Случаи	Sum of squares/ Сумма квадратов	DF	Mean square/ Средний квадрат	F Value/ Значение F	p-value
VAS scores/ баллы по шкале ВАШ	201.589	2	100.754	353.832	<0.001
Residuals	16.511	58	0.285	—	—

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

Table 5/Таблица 5

Post hoc analysis showing difference from first visit to final visit among A, B and C group**Различия в показателях между визитами в группах А, В и С**

Visits/ Контрольное обследование	Mean difference/ Средняя разница	SE	T	p-value
First visit and second visit/Первый и второй визиты	1.456	0.135	10.152	<0.001
First visit and final visit/Первый и финальный визиты	3.533	0.135	26.374	
Second and final visit/Второй и финальный визиты	2.213	0.131	15.221	

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

full recovery from the disease. Despite the variations within each group, the total number of participants across all groups remained constant at 30 for each visit (Table 2).

The VAS score of patients with oral mucositis was assessed at three distinct time points: initial, second, and final visits. The VAS score is a pain intensity scale ranging from 0 (no pain) to 10 (most severe pain). The average Visual Analog Scale (VAS) score decreased from 9.234 during the initial visit to 4.167 at the final appointment, suggesting a decrease in pain experienced by the patients over time. The coefficient of variation exhibited an increase from 0.085 to 0.152 at the final visit, indicating a rise in relative variance (Table 3). The findings of one-way ANOVA test comparing the effects of three different therapies on the VAS score and mucosal lesions of the patients indicate that the F value for the VAS score is 353.832. The p-value for the VAS score was found to be less than 0.001, indicating statistical significance (Table 4).

A post hoc test was conducted to examine the average values of the variables at three different time points: the initial, second, and final visits. The mean difference represents the discrepancy in the averages of the two groups being compared. The P value indicates the presence of a statistically significant difference between the groups. Since all p-values are below 0.001, the findings indicate that there are statistically significant disparities among the three time periods. This implies that there was a significant variation in the variable between the initial and subsequent visits, as well as between the subsequent visits itself. The largest mean difference was observed between the first and final visits (3.533), followed by the second and final visits (2.213), and then the first and second visit (1.456) (Table 5).

Discussion

Advanced head and neck cancer (HNC) patients in the orofacial, oropharyngeal, and neck regions are significantly impacted by radiation therapy (RT). The psychological model is influenced by various factors like the type and stage of the tumor, the technique and intensity of the therapies, as well as the individual's inherent personal qualities. However, in most patients, complications are associated with significant illness and mortality, which puts additional strain on the

healthcare system and may potentially affect patient compliance with cancer treatment plans, leading to decreased self-assurance. The majority of patients may encounter diverse issues that augment their overall medical load and diminish their quality of life (QoL) [7, 8]. Cancer patients frequently experience psychological disorders alongside a high prevalence of pain, burning sensations, and challenges with food intake, all of which significantly impact treatment adherence and overall quality of life.

According to Lu et al. (2016) [9], around 30 to 50 % of cancer patients suffer from psychological problems such as post-traumatic stress disorder (PTSD) and post-traumatic stress syndrome (PTSS), which often go unnoticed.

From blood samples of cancer patients, two discernible biological features are inflammation and anemia. Both characteristics have been linked to cancer-related fatigue in individuals who have survived cancer, due to elevated levels of pro-inflammatory cytokines (such as TNF- and IL6) and a decrease in hemoglobin levels. Cancer-related fatigue patients have a higher susceptibility to sarcopenia, which is a notable decline in skeletal muscle mass that impacts muscular strength and endurance. Neuromuscular fatigability, which refers to the decrease in the ability of the neuromuscular system to generate force during exercise, is frequently observed in cancer patients with cancer-related fatigue (CRF). This phenomenon is likely caused by a specific central factor, as indicated by several studies [10–14].

Photo-biomodulation treatment (PBM), formerly referred to as low-level laser therapy, involves the utilization of lasers or non-coherent light sources such as LEDs to effectively enhance cellular metabolism. This therapy regimen utilizes a non-thermal technique, meaning that it does not involve the application of heat or mechanical force that might potentially damage cells. The power and energy levels employed in this treatment are intentionally kept below the threshold known to induce adverse heating effects or mechanical cellular damage. Research has demonstrated that PBM primarily works by speeding up the production of ATP and causing the immediate release of reactive oxygen species (ROS). Furthermore, PBM induces a redox response by swiftly and temporarily triggering the activation of reactive oxygen species (ROS).



Fig. 3. Expression and dynamics of post-radiation mucositis during treatment and application of the BPS model: 3A – first visit; 3B – after 2 days of first visit; 2C – after 2 days of second visit. Note: created by the authors

Рис. 3. Выраженность и динамика постлучевого мукозита в процессе лечения и применения модели БПС: 3А – первый визит; 3В – через 2 дня после первого визита; 2С – через 2 дня после второго визита. Примечание: фотографии выполнены авторами

Both infrared and red light are likely to enhance ATP production by activating cytochrome c oxidase (CcO), according to the most credible theory proposed by Moradi et al. in 2019 [15].

H. Arora et al. (2008) [16] utilized low-level He-Ne laser therapy to prevent oral mucositis (OM). Their study revealed that patients who underwent LLLT had a significantly reduced occurrence of OM compared to those who did not (p value of 0.019 after 6 weeks). In a study conducted by A. Simes et al. (2009), the researchers examined the impact of three distinct schedules (3 vs 1 sitting each week) and two different laser strengths. After three weekly sessions, they noticed a statistically insignificant improvement in pain reduction ($p=0.011$). V. Oberoi et al. [17] conducted a comprehensive review and meta-analysis of 18 studies to assess the effects of LLLT on oral mucositis. The research revealed that LLLT significantly reduces the occurrence of severe oral mucositis compared to not receiving LLLT ($p=0.001$). Similarly, this study demonstrates a statistically significant difference in the average values between the initial visit (9.234) and the final visit (4.167) (Fig. 3).

In the 1990s, a significant number of cancer patients in Australia, North America, and Europe, ranging from over 50 % in Australia to up to two-thirds in North America and Europe, reported using psychological therapies such as meditation, imaginative thinking, mindful living, and hypnotherapy. These therapies are considered popular “alternative therapies” for managing cancer symptoms [18–20]. The main goal of breathing-based relaxation techniques is to enhance mindfulness of the breathing cycle and ultimately achieve mastery over the pace and depth of breathing. Initially, patients in our study are introduced to basic practices that focus on developing awareness of their breathing. However, as the treatment progresses, they also learn to control their breathing. This improvement in breathing control has led to a significant improvement in the patient's quality of life, as observed from

their first appointment to their last visit. Patients are advised to concentrate on the rhythm, depth, and sound of their breathing, without trying to control or change it. This practice can help alleviate cancer-related fatigue and enhance their overall well-being. Patients can enhance their practice by acquiring the ability to modify the duration of breaths, the intervals between breaths, and employing other advanced techniques. Diaphragmatic breathing, characterized by slow and deep breaths through the nose, is employed in several breathing techniques [20–22]. This study involved training head and neck cancer patients to initiate swallowing during their relaxed breathing phase using meditation, and to maintain breathing after swallowing with the aid of visual reinforcement. Like the RCT study conducted by Martin et al. (2015) [23], the integration of a systematic approach and respiratory phase-related biofeedback can improve the coordination between respiration and swallowing. The optimal moment to swallow was determined to be during the period of silent respiration in the middle to late stage of exhalation.

The social approach prioritizes symptom management through engagement in regular social activities, rehabilitation, and fostering community support and interactions with colleagues and family members [24]. Hence, coping techniques can serve as a strong indicator of the mental welfare of those who have survived cancer, and it is an important area for caretakers to address and intervene, according to Simoes. Eight cancer survivors who were part of the quantitative study took part in semi-structured qualitative interviews to gain further insight into the factors that affect their psychological well-being. Psychosocial coping techniques can be classified into three primary categories: problem-focused coping, meaning-focused coping, and emotion-focused coping [25]. Specialized clinicians, who have been trained in these frameworks, act as exemplars for biopsychosocial well-being. They understand the significance of coping techniques and

their relationship to psychosocial outcomes in the context of illness. Our study involves educating family members about the profound psychological impacts and the crucial role of social awareness. This prepares them to explore coping strategies that contribute to the complete rehabilitation of the patient, ultimately enhancing the patient's overall quality.

Conclusion

This study highlights the significance of comprehending the complex interplay among biological, psychological, and social elements in the initiation and treatment of cancer patients. As far as we know, this is the initial study that links photo biomodulation with

psychosocial elements. It recognizes the interconnectedness of each component and the possible impact that each one can have on an individual's healing process. The biopsychosocial model's holistic approach is particularly effective in assessing and improving quality of life because it considers the interplay between these diverse factors. The findings of our investigation revealed a strong association between pain, melancholy, and anxiety, leading to remarkable outcomes. During the last visit, the patients' symptoms were greatly diminished. Therefore, this demonstrates that health encompasses not only the elimination of illness, but rather encompasses the comprehensive control of biological, physical, mental, and social well-being.

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. Johnson D.E., Burtneis B., Leemans C.R., Lui V.W.Y., Bauman J.E., Grandis J.R. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers.* 2020; 6(1): 92. doi: 10.1038/s41572-020-00224-3. Erratum in: *Nat Rev Dis Primers.* 2023; 9(1): 4. doi: 10.1038/s41572-023-00418-5.
3. Berger A.M., Mooney K., Alvarez-Perez A., Breitbart W.S., Carpenter K.M., Cella D., Cleeland C., Dotan E., Eisenberger M.A., Escalante C.P., Jacobsen P.B., Jankowski C., LeBlanc T., Ligibel J.A., Loggers E.T., Mandrell B., Murphy B.A., Palesh O., Pirl W.F., Plaxe S.C., Riba M.B., Rugo H.S., Salvador C., Wagner L.L., Wagner-Johnston N.D., Zachariah F.J., Bergman M.A., Smith C.; National comprehensive cancer network. Cancer-Related Fatigue, Version 2.2015. *J Natl Compr Canc Netw.* 2015; 13(8): 1012–39. doi: 10.6004/jncn.2015.0122.
4. Meints S.M., Edwards R.R. Evaluating psychosocial contributions to chronic pain outcomes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2018; 87(Pt B): 168–82. doi: 10.1016/j.pnpbp.2018.01.017.
5. Edwards R.R., Dworkin R.H., Sullivan M.D., Turk D.C., Wasan A.D. The Role of Psychosocial Processes in the Development and Maintenance of Chronic Pain. *J Pain.* 2016; 17(9 Suppl): 70–92. doi: 10.1016/j.jpain.2016.01.001.
6. Samoborec S., Ruseckaite R., Ayton D., Evans S. Biopsychosocial factors associated with non-recovery after a minor transport-related injury: A systematic review. *PLoS One.* 2018; 13(6). doi: 10.1371/journal.pone.0198352.
7. Epstein J.B., Thariat J., Bensadoun R.J., Barasch A., Murphy B.A., Kolnick L., Popplewell L., Maghami E. Oral complications of cancer and cancer therapy: from cancer treatment to survivorship. *CA Cancer J Clin.* 2012; 62(6): 400–22. doi: 10.3322/caac.21157.
8. Verdonck-de Leeuw I.M., Buffart L.M., Heymans M.W., Rietveld D.H., Doornaert P., de Bree R., Buter J., Aaronson N.K., Slotman B.J., Leemans C.R., Langendijk J.A. The course of health-related quality of life in head and neck cancer patients treated with chemoradiation: a prospective cohort study. *Radiother Oncol.* 2014; 110(3): 422–8. doi: 10.1016/j.radonc.2014.01.002.
9. Lu D., Andersson T.M., Fall K., Hultman C.M., Czene K., Valdimarsdóttir U., Fang F. Clinical Diagnosis of Mental Disorders Immediately Before and After Cancer Diagnosis: A Nationwide Matched Cohort Study in Sweden. *JAMA Oncol.* 2016; 2(9): 1188–96. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.0483. Erratum in: *JAMA Oncol.* 2016; 2(9): 1244. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.1942.
10. Kilgour R.D., Vigano A., Trutschnigg B., Hornby L., Lucar E., Bacon S.L., Morais J.A. Cancer-related fatigue: the impact of skeletal muscle mass and strength in patients with advanced cancer. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2010; 1(2): 177–85. doi: 10.1007/s13539-010-0016-0.
11. Yavuzsen T., Davis M.P., Ranganathan V.K., Walsh D., Siemionow V., Kirkova J., Khoshknabi D., Lagman R., LeGrand S., Yue G.H. Cancer-related fatigue: central or peripheral? *J Pain Symptom Manage.* 2009; 38(4): 587–96. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2008.12.003.
12. Kisiel-Sajewicz K., Siemionow V., Seyidova-Khoshknabi D., Da-vis M.P., Wyant A., Ranganathan V.K., Walsh D., Yan J.H., Hou J., Yue G.H. Myoelectrical manifestation of fatigue less prominent in patients with cancer related fatigue. *PLoS One.* 2013; 8(12). doi: 10.1371/journal.pone.0083636.
13. Grisold W., Grisold A., Löscher W.N. Neuromuscular complications in cancer. *J Neurol Sci.* 2016; 367: 184–202. doi: 10.1016/j.jns.2016.06.002.
14. Chartogne M., Rahmani A., Landry S., Bourgeois H., Peyrot N., Morel B. Neuromuscular, Psychological, and Sleep Predictors of Cancer-Related Fatigue in Cancer Patients. *Clin Breast Cancer.* 2021; 21(5): 425–32. doi: 10.1016/j.clbc.2020.12.002.
15. Moradi A., Kheirollahkhani Y., Fatahi P., Abdollahifar M.A., Amini A., Naserzadeh P., Ashtari K., Ghoreishi S.K., Chien S., Rezaei F., Fridoni M., Bagheri M., Taheri S., Bayat M. An improvement in acute wound healing in mice by the combined application of photobiomodulation and curcumin-loaded iron particles. *Lasers Med Sci.* 2019; 34(4): 779–91. doi: 10.1007/s10103-018-2664-9.
16. Arora H., Pai K.M., Maiya A., Vidyasagar M.S., Rajeev A. Efficacy of He-Ne Laser in the prevention and treatment of radiotherapy-induced oral mucositis in oral cancer patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105(2): 180–6. doi: 10.1016/j.tripleo.2007.07.043.
17. Oberoi S., Zamperlini-Netto G., Beyene J., Treister N.S., Sung L. Effect of prophylactic low level laser therapy on oral mucositis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014; 9(9). doi: 10.1371/journal.pone.0107418.
18. Montbriand M.J. Freedom of choice: an issue concerning alternate therapies chosen by patients with cancer. *Oncol Nurs Forum.* 1993; 20(8): 1195–201.
19. Warrick P.D., Irish J.C., Morningstar M., Gilbert R., Brown D., Gullane P. Use of alternative medicine among patients with head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1999; 125(5): 573–9. doi: 10.1001/archotol.125.5.573.
20. Lazaridou A., Edwards R.R. Relaxation Techniques and Biofeedback for Cancer Pain Management. In: Gulati, A., Puttanniah, V., Bruel, B., Rosenberg, W., Hung, J. (eds) *Essentials of Interventional Cancer Pain Management.* Springer, Cham. 2018; 463–72. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99684-4_50.
21. Jerath R., Edry J.W., Barnes V.A., Jerath V. Physiology of long pranayamic breathing: neural respiratory elements may provide a mechanism that explains how slow deep breathing shifts the autonomic nervous system. *Med Hypotheses.* 2006; 67(3): 566–71. doi: 10.1016/j.mehy.2006.02.042.
22. Unseld M., Zeilinger E.L., Fellingner M., Lubowitzki S., Krammer K., Nader I.W., Hafner M., Kitta A., Adamidis F., Masel E.K., Preusser M., Jäger U., Gaiger A. Prevalence of pain and its association with symptoms of post-traumatic stress disorder, depression, anxiety and distress in 846 cancer patients: A cross sectional study. *Psychooncology.* 2021; 30(4): 504–10. doi: 10.1002/pon.5595.
23. Martin-Harris B., McFarland D., Hill E.G., Strange C.B., Focht K.L., Wan Z., Blair J., McGrattan K. Respiratory-swallow training in patients with head and neck cancer. *Arch Phys Med Rehabil.* 2015; 96(5): 885–93. doi: 10.1016/j.apmr.2014.11.022.
24. Register-Mihalik J.K., DeFreese J.D., Callahan C.E., Carneiro K. Utilizing the Biopsychosocial Model in Concussion Treatment: Post-Traumatic Headache and beyond. *Curr Pain Headache Rep.* 2020; 24(8): 44. doi: 10.1007/s11916-020-00870-y.
25. Simões A., de Campos L., de Souza D.N., de Matos J.A., Freitas P.M., Nicolau J. Laser phototherapy as topical prophylaxis against radiation-induced xerostomia. *Photomed Laser Surg.* 2010; 28(3): 357–63. doi: 10.1089/pho.2009.2486.

Поступила/Received 24.04.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 29.07.2024

Принята к публикации/Accepted 08.08.2024

ABOUT THE AUTHORS

Karthikeya Patil, MDS, Professor and Head, Department of Oral Medicine and Radiology, JSS Dental College and Hospital, JSS Academy of Higher Education and Research (Mysore, India). ORCID: 0000-0002-7941-2467.

Mahesh Kaggare Puttaraju, MDS, Reader, Department of Oral Medicine and Radiology, JSS Dental College and Hospital, JSS Academy of Higher Education and Research (Mysore, India). E-mail: dr.kpmahesh@jssuni.edu.in. ORCID: 0000-0002-9714-3117.

Eswari Solayappan, BDS, Postgraduate, Department of Oral Medicine and Radiology, JSS Dental College and Hospital, JSS Academy of Higher Education and Research (Mysore, India). ORCID: 0009-0003-4780-6781.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Karthikeya Patil: study conception and design, writing of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Mahesh Kaggare Puttaraju: validation, data analysis, analysis of the results.

Eswari Solayappan: data collection, interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by JSS Dental college and Hospital Institutional Ethics Committee (Mysore, 570 015, India), protocol No. 21/2022 dated May 18, 2022.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data and photographs in medical journal.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Karthikeya Patil, профессор, заведующий кафедрой стоматологии и радиологии, Стоматологический колледж и больница, JSS Академия высшего образования и исследований (г. Майсур, Индия). ORCID: 0000-0002-7941-2467.

Mahesh Kaggare Puttaraju, доцент кафедры стоматологии и радиологии, Стоматологический колледж и больница, JSS Академия высшего образования и исследований (г. Майсур, Индия). E-mail: dr.kpmahesh@jssuni.edu.in. ORCID: 0000-0002-9714-3117.

Eswari Solayappan, аспирант кафедры стоматологии и радиологии, Стоматологический колледж и больница, JSS Академия высшего образования и исследований (г. Майсур, Индия). ORCID: 0009-0003-4780-6781.

ВКЛАД АВТОРОВ

Karthikeya Patil: концепция и дизайн исследования, написание статьи, критический пересмотр статьи на предмет важного интеллектуального содержания.

Mahesh Kaggare Puttaraju: валидация данных, анализ данных, анализ результатов.

Eswari Solayappan: сбор данных, интерпретация, критический пересмотр статьи на предмет важного интеллектуального содержания.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Стоматологического колледжа и больницы (Индия, 570 015, г. Майсур), протокол № 21/2022 от 18.05.2022 г.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных и фотоматериалов в медицинском журнале, включая его электронную версию.

DOI: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-125-140
УДК: 616-006-08:577.218



Для цитирования: Максимова В.П., Макусъ Ю.В., Попова В.Г., Усалка О.Г., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г., Кирсанов К.И. Подходы к противоопухолевой терапии на основе модуляции метилирования ДНК. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 125–140. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-125-140

For citation: Maksimova V.P., Makus J.V., Popova V.G., Usalka O.G., Belitsky G.A., Yakubovskaya M.G., Kirsanov K.I. Approaches to anticancer therapy based on modulation of DNA methylation. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 125–140. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-125-140

ПОДХОДЫ К ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ НА ОСНОВЕ МОДУЛЯЦИИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК

В.П. Максимова¹, Ю.В. Макусъ^{1,2}, В.Г. Попова^{1,3}, О.Г. Усалка^{1,4},
Г.А. Белицкий¹, М.Г. Якубовская^{1,3}, К.И. Кирсанов^{1,3}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24

²НИУ «Высшая школа экономики»

Россия, 101000, г. Москва, ул. Мясницкая, 20

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

⁴Университет Тафтса

США, 02155, г. Медфорд, Бостон авеню, 200

Аннотация

Актуальность. Метилирование ДНК – важнейший механизм эпигенетической регуляции транскрипции. Нарушения в механизме метилирования ДНК ассоциированы с различными злокачественными новообразованиями (ЗНО), такими как острый миелоидный лейкоз, рак молочной железы, рак предстательной железы и др. Влияние на функциональное состояние ферментов ДНК-метилтрансфераз (DNMTs) и белков семейства ТЕТ (TETs), регулирующих метилирование и деметилирование ДНК, является основой подхода эпигенетической противоопухолевой терапии. В обзоре рассматриваются проблемы и перспективы применения нуклеозидных и нуклеозидных ингибиторов DNMTs, а также ингибиторов TETs. Представлена оценка результатов клинических исследований эффективности ингибиторов DNMTs, применяемых индивидуально и в составе комбинированной химиотерапии, проведенных за последние 15 лет. **Материал и методы.** Поиск источников проводили в системах PubMed, ScienceDirect, Web of Science, eLibrary, CyberLeninka. В анализе использовано более 700 публикаций, в обзор включены преимущественно работы последних 10 лет. Ряд статей, опубликованных ранее 2015 г., использован для исторической справки. **Результаты.** Представлена информация о современных достижениях по разработке и изучению эпигенетически активных соединений, действие которых направлено на регуляцию метилирования ДНК. Представлены данные об эффектах *in vitro* и *in vivo* агентов, рассматриваемых для применения в терапии различных ЗНО. Кроме того, приведены данные клинических испытаний наиболее перспективных эпигенетических модуляторов.

Ключевые слова: противоопухолевая терапия, метилирование ДНК, ингибиторы DNMTs, ингибиторы TETs, клинические испытания.

APPROACHES TO ANTICANCER THERAPY BASED ON MODULATION OF DNA METHYLATION

V.P. Maksimova¹, J.V. Makus^{1,2}, V.G. Popova^{1,3}, O.G. Usalka^{1,4}, G.A. Belitsky¹, M.G. Yakubovskaya^{1,3}, K.I. Kirsanov^{1,3}

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia
23, Kashirskoye Shosse, Moscow, 115478, Russia

² National Research University Higher School of Economics
20, Myasnitskaya St., Moscow, 101000, Russia

³ RUDN University
6, Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia

⁴ Tufts University
200, Boston Ave., Medford, 02155, USA

Abstract

Background. DNA methylation is a crucial mechanism of epigenetic regulation of transcription. Disturbances in DNA methylation mechanism are associated with various malignancies such as acute myeloid leukaemia, breast cancer, prostate cancer, etc. Influencing the functional status of DNA methyltransferases (DNMTs) enzymes and TET family proteins (TETs), which regulate DNA methylation and demethylation, is the basis of epigenetic anticancer therapy approach. In this review, we have considered the challenges and prospects of nucleoside and non-nucleoside inhibitors of DNMTs as well as TETs inhibitors. The results of clinical trials on the efficacy of DNMTs inhibitors used individually and as part of combination chemotherapy conducted over the last 15 years are also evaluated. **Material and Methods.** Sources were searched in PubMed, ScienceDirect, Web of Science, eLibrary, CyberLeninka. More than 700 publications were used in the analysis, but the review included mainly works of the last 10 years. A number of articles published earlier than 2015 were used for historical reference. **Results.** The review provides information on current advances in the development and study of epigenetically active compounds whose action is aimed at the regulation of DNA methylation. Data on the *in vitro* and *in vivo* effects of agents considered for use in the therapy of various malignancies are presented. In addition, the data of clinical trials of the most promising epigenetic modulators are presented.

Key words: antitumour therapy, DNA methylation, DNMTs inhibitors, TETs inhibitors, clinical trials.

Введение

Общий вклад в развитие и прогрессирование ЗНО вносят генетические нарушения и дисрегуляция эпигенетических механизмов [1]. Важнейшим механизмом эпигенетической регуляции транскрипции является метилирование ДНК, основанное на добавлении метильного радикала (CH₃) к углероду в пятом положении цитозина (5mC) в CpG-динуклеотидах в присутствии S-аденозилметионина (SAM) [2]. Метилирование ДНК катализируется семейством ферментов DNMTs, включающим DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, DNMT3L и DNMT3C. Метилирование ДНК подразделяется на поддерживающее метилирование и метилирование *de novo*. За поддержание установившегося профиля метилирования при делении клетки отвечает метилтрансфераза DNMT1. Метилирование *de novo* заключается в метилировании прежде не метилированных последовательностей ДНК во время онтогенеза и осуществляется метилтрансферазами DNMT3A и DNMT3B в комплексе с субъединицей DNMT3L, которая повышает каталитическую активность метилтрансфераз, при этом не взаимодействуя с ДНК [3]. Механизмы деметилирования ДНК подразделяются на пассивный и активный. Пассивное

деметилирование ДНК происходит в результате дисфункции фермента DNMT1 или при нарушении паттерна метилирования материнской цепи. Активное деметилирование ДНК включает несколько ферментативных реакций, приводящих к удалению или модификации метильной группы. Ферменты семейства Ten-eleven translocation (TET) являются ключевыми участниками в активном деметилировании. Белки TET инициируют окисление 5-метилцитозина до 5-гидроксиметилцитозина (5hmC). Впоследствии TET-опосредованное окисление 5-гидроксиметилцитозина приводит к образованию 5-формилцитозина и 5-карбоксилцитозина [4].

Нарушения в метилировании ДНК приводят к изменению профиля экспрессии генов, хромосомной нестабильности и потере геномного импринтинга, что, в свою очередь, способствует приобретению опухолевыми клетками более агрессивного фенотипа [3]. Аберрантные процессы, связанные с активностью и экспрессией ферментов DNMTs и TETs, характерны для таких ЗНО, как острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), рак молочной железы (РМЖ), рак эндометрия, рак предстательной железы (РПЖ) и др. Обратимость эпигенетических модификаций и возможность воздействовать

на функционирование эпигенетических ферментов делают белки DNMTs и TETs перспективными мишенями для противоопухолевой терапии [5].

В представленном обзоре приведены данные о терапевтических подходах на основе модуляции метилирования ДНК, рассмотрены уже одобренные или перспективные ингибиторы ферментов DNMTs и TETs, описаны их противоопухолевые эффекты *in vitro* и *in vivo*, а также представлены результаты клинических испытаний.

Ингибиторы DNMTs

Ингибиторы DNMTs можно разделить на две группы: нуклеозидные и ненуклеозидные ингибиторы DNMTs.

Нуклеозидные ингибиторы DNMTs

Главной чертой нуклеозидных аналогов цитозина является наличие в их структуре пиримидинового кольца, что обуславливает способность этих молекул встраиваться во вновь синтезированную ДНК и РНК. Азацитидин и децитабин – первые нуклеозидные ингибиторы DNMTs, одобренные Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration USA, FDA) для терапии ЗНО. Структурное отличие азацитидина и децитабина от их природных аналогов, цитидина и 2'-дезоксцитидина, состоит в том, что углерод в

положении 5 пиримидинового кольца заменен на атом азота (рис. 1) [6].

Попадая в клетку, данные соединения подвергаются АТФ-зависимому фосфорилированию и переходят в фармакологически активную форму. На первой стадии азацитидин подвергается действию уридин-цитидинкиназы 2 (UCK2), а децитабин – дезоксицитидинкиназы (dCK), после чего оба агента последовательно фосфорилируются ферментами нуклеозидмонофосфаткиназой (NMPK) и нуклеозиддифосфаткиназой (NDPK), преобразуя азацитидин в 5-азацитидин-5'-трифосфат и децитабин – в 5-аза-2'-дезоксцитидин-1-5'-трифосфат (рис. 2) [7]. После второго этапа фосфорилирования 5-азацитидин дифосфат под действием рибонуклеотидной редуктазы (RNR) преобразуется в 5-аза-2-дезоксцитидин дифосфат.

Азацитидин, являясь рибонуклеозидом, включается в последовательность синтезируемой РНК и, в меньшей степени, в ДНК, тогда как децитабин, как аналог дезоксирибозы, включается только в растущие цепи ДНК. После включения в растущую цепь ДНК нуклеозид ковалентно связывается с DNMTs и нарушает сродство ферментов с ДНК, что приводит к деградации комплекса ДНК-DNMTs по убиквитин-зависимому пути и в конечном итоге вызывает гибель клетки [8]. В отсутствие ферментов DNMTs происходит снижение уровня метили-

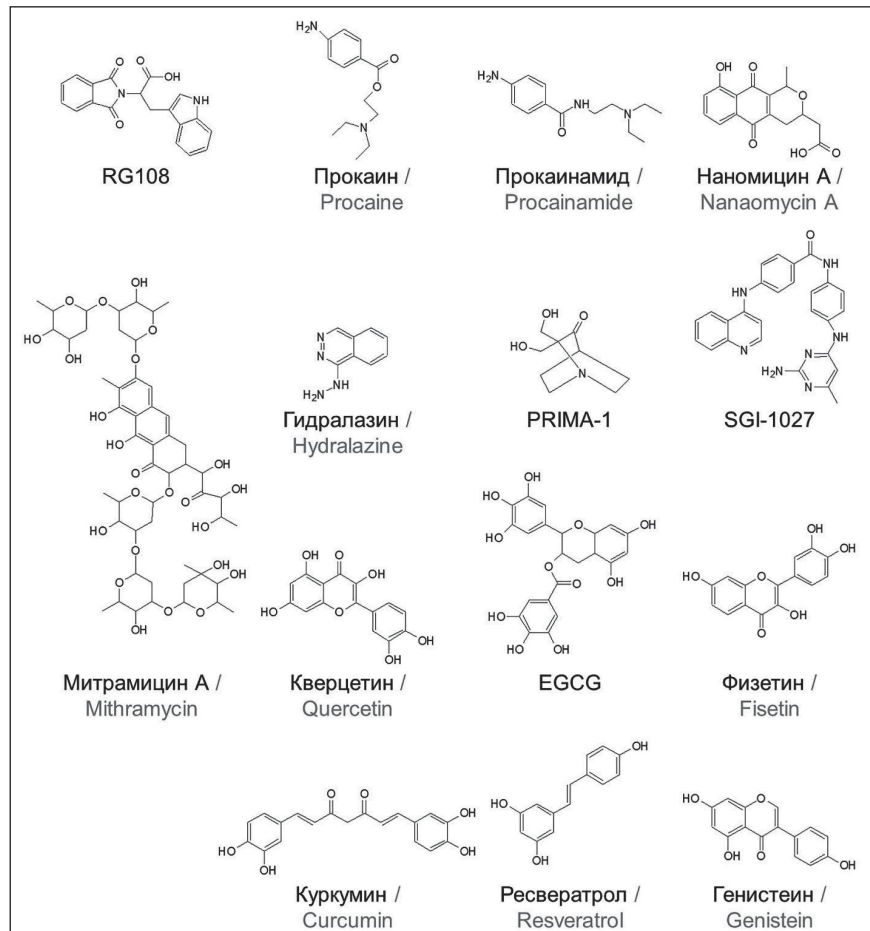


Рис. 1. Химические формулы соединений из группы нуклеозидных ингибиторов DNMT. Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 1. Chemical formulae of compounds from the group of nucleoside DNMT inhibitors. Note: created by the authors

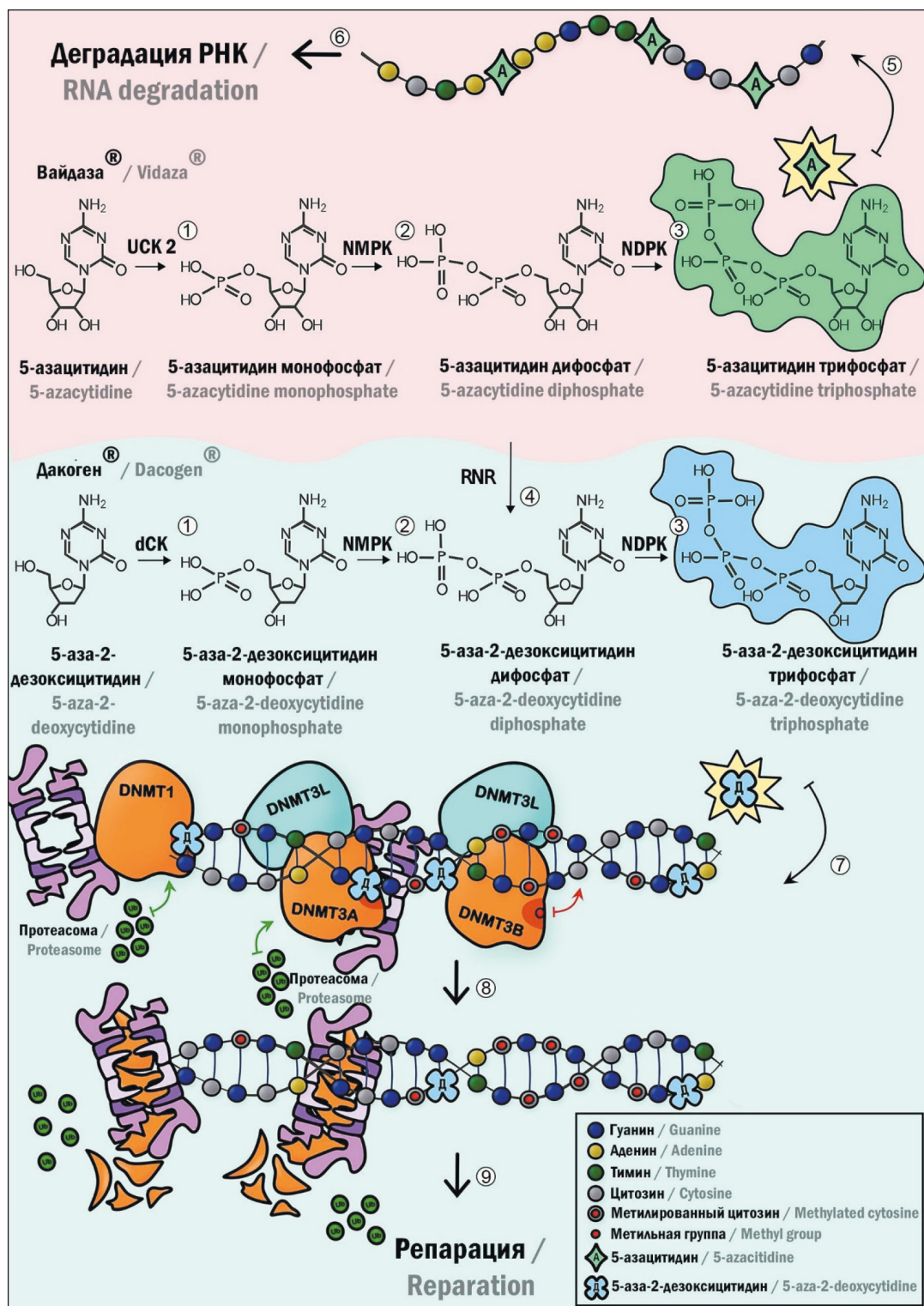


Рис. 2. Механизмы действия 5-азацитидина и децитабина в клетке:

фосфорилирование азацитидина и децитабина ферментами UCK2 и dCK соответственно (1); последовательное фосфорилирование азацитидина и децитабина ферментами NMPK и NDPK с образованием активной формы препарата (2), (3); образование дезоксирибонуклеозидной формы азацитидина под действием RNR (4); включение активной формы азацитидина в растущую цепь РНК (5); деградация РНК (6); включение активной формы децитабина в растущую цепь ДНК (7); деградация комплекса ДНК-DNMT по убиквитин-зависимому пути (8); репарация ДНК (9). Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 2. Mechanisms of action of 5-azacytidine and decitabine in the cell:

Phosphorylation of azacytidine and decitabine by UCK2 and dCK enzymes respectively (1); Sequential phosphorylation of azacytidine and decitabine by NMPK and NDPK enzymes to form the active form of the drug (2), (3); Formation of deoxyribonucleoside form of azacytidine under the action of RNR (4); Incorporation of the active form of azacytidine into the growing RNA strand (5); RNA degradation (6); Incorporation of the active form of decitabine into the growing DNA strand (7); Degradation of the DNA-DNMT complex via ubiquitin-dependent pathway (8); DNA repair. Note: created by the authors (9)

рования. В клетке азациитин и децитабин, являясь аналогами нуклеозидов, подвергаются действию фермента цитидин-дезаминазы, играющей важную роль в метаболизме и утилизации пиримидиновых соединений [9].

Так как первоначально цитотоксичность соединений в отношении опухолевых клеток объяснялась их способностью нарушать синтез ДНК и вызывать ее повреждение, в клинической практике препараты использовали в высоких дозах в качестве анти-метаболитов [10]. В 2004 г. азациитин (Vidaza®, Pharmion Corporation) одобрен для лечения пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) в качестве гипометилирующего агента [11]. Также азациитин включен Национальной комплексной онкологической сетью (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) и Национальным гематологическим обществом России в рекомендации для терапии ОМЛ [12, 13]. В 2020 г. пероральный азациитин (Onureg®, Celgene Pty Ltd) одобрен для поддерживающей терапии пациентов с ОМЛ в возрасте 55 лет и старше, находящихся в ремиссии [14]. В 2022 г. FDA одобрило применение азациитина в комбинации с ивониденибом (TIB-SOVO®, Servier Pharmaceuticals LLC) для ранее не леченных пациентов с ОМЛ с мутированным геном *IDH2* возрастной группы 75 лет и старше или пациентов с сопутствующими заболеваниями, препятствующими проведению интенсивной индукционной химиотерапии (NCT03173248) [15]. Также в 2022 г. азациитин (Vidaza®, Celgene Corp.) рекомендован FDA для ранее не леченных пациентов с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом (NCT02447666) [16]. В 2006 г. децитабин (Dacogen®, Eisai) одобрен FDA для лечения пациентов с МДС и, так же как и азациитин, вошел в рекомендации для лечения пациентов с ОМЛ [17]. В 2020 г. FDA одобрило пероральную комбинацию децитабина и цедазуридина (INQOVI®, Astex Pharmaceuticals) для взрослых пациентов с МДС [18]. В настоящее время в России доступно 7 препаратов, в состав которых входит 5-азациитин: 6 препаратов для подкожного введения (Вайдаза®, Азациитин-Ника®, Азациитин-Промомед®, Азациитин-ТЛ®, Джоцитадин®, Фармазацит®) и 1 препарат в таблетированной форме (Онурег®). Все препараты, за исключением Вайдаза®, применяются для лечения хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ) и МДС. Вайдаза® одобрена для терапии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), ОМЛ и МДС. На рынке представлено 3 препарата с децитабином в качестве активного вещества (Дакоген®, Децитабин Эльфа®, Децитана®), все они показаны при МДС.

В настоящее время проводится более 25 клинических испытаний азациитина и децитабина для терапии различных ЗНО. Основное направление клинических исследований азациитина и его комбинаций находится в области гематологических

онкозаболеваний. Большое внимание уделяется терапии гемобластозов у пациентов старше 60 лет, а также у пациентов с хроническими заболеваниями, не позволяющими принимать интенсивную химиотерапию. Также активно ведется разработка подходов к терапии солидных опухолей с использованием азациитина (NCT02260440, NCT00387465, NCT02009436, NCT00748553, NCT03572387). Показано, что использование комбинации азациитина совместно с венетоклаксом и трансплантацией стволовых клеток приводило к увеличению общей выживаемости пациентов с ОМЛ старше 60 лет [19]. У пациентов с МДС, ХММЛ и ОМЛ было продемонстрировано повышение эффективности терапии азациитином при совместном режиме с певонедистатом [20]. Для комбинации азациитина и эназидениба у пациентов с ОМЛ (с мутацией *IDH2*) было показано двукратное увеличение частоты общего ответа, а также частоты полной ремиссии [21]. Комбинация азациитина и сорафениба показала высокую эффективность у пожилых пациентов с ранее не леченным ОМЛ (с мутацией *FLT3*) [22]. Добавление децитабина к режиму химиотерапии, содержащему ритуксимаб, цисплатин, цитарабин и дексаметазон, продемонстрировало эффективность у пациентов с диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой после неэффективности терапии второй линии [23].

Применение азациитина и децитабина решено в невысоких дозах, позволяющих контролировать побочные эффекты, так как они обладают высоким профилем токсичности и могут приводить к миелосупрессии. Кроме того, данные соединения обладают невысокой стабильностью в водных растворах, а в условиях *in vivo* подвергаются метаболической деградации при действии цитидиндезаминазы [24]. В связи с этим ведутся активный поиск, разработка и исследование различных аналогов азациитина и децитабина.

Зебуларин (пиримидин-2-он β -D-рибофуранозид) представляет собой нуклеозидный аналог цитидина, у которого отсутствует аминогруппа в 4-м положении [25]. Помимо репрессии активности DNMTs, зебуларин ингибирует фермент цитидиндезаминазу, что позволяет ему избежать деградации *in vivo* [26]. Исследования *in vitro* показали, что зебуларин обладает цитотоксическим эффектом, сопряженным с ингибированием DNMT1, в отношении опухолевых клеток различных нозологий, таких как рак мочевого пузыря, рак толстой кишки и рак поджелудочной железы. При этом зебуларин практически не ингибирует рост нормальных фибробластов человека. Также на различных клеточных линиях было показано, что при действии зебуларина наблюдается повышение уровня экспрессии генов супрессоров опухолей *p21* и *p16* за счет снижения степени метилирования промоторов этих генов [27, 28]. На клетках MCF7 и MDA-MB-

231 *in vitro* было показано, что вызванное зебуларинном ингибирование белков DNMT1, DNMT3A и DNMT3B, а также белков MBD2 и MBD3 приводит к реактивации экспрессии гена *ESR1*, что может повысить чувствительность клеток к гормональной противоопухолевой терапии. Также зебуларин в комбинации с децитабином и вориноостатом проявляет синергическое противоопухолевое действие и реактивирует экспрессию эпигенетически репрессированных генов супрессоров опухолей в клетках РМЖ MCF7, MDA-MB-231 и клетках рака мочевого пузыря T24 [29]. Исследование *in vivo* на модели лейкоза мышей L1210 показало, что добавление зебуларина к терапии децитабином вызывает увеличение содержания децитабина в плазме крови и, как следствие, увеличение эффективности терапии [30]. Исследования фармакодинамики на мышах, собаках и обезьянах показали низкую биодоступность, быстрый период полувыведения вещества и обратимость ингибирования DNMTs зебуларинном. Опубликованные данные свидетельствуют об ограниченном потенциале зебуларина в клинических исследованиях [31].

FdCyd (5-Фтор-2'-дезоксцитидин) представляет собой аналог цитидина, у которого атом водорода в положении C5 замещен на атом фтора. После встраивания в ДНК FdCyd ковалентно связывается с DNMTs и оказывает ингибирующее действие на стадии β -элиминирования реакции переноса метильной группы из-за низкой реакционной способности, поскольку атом фтора является плохо уходящей группой. FdCyd стабилен в водных растворах, а также менее токсичен, чем 5-азацитидин и 5-аза-2'-дезоксцитидин. Однако в условиях *in vivo* он метаболизируется цитидиндезаминазой в фармакологически активные токсичные метаболиты 5-фтор-2'-дезоксидеуридин, 5-фторурацил и 5-фторуридин, что может быть препятствием для применения FdCyd исключительно в качестве деметилирующего агента [32]. Для повышения стабильности соединения *in vivo* было предложено использовать его в комбинации с ингибитором цитидиндезаминазы – тетрагидроуридином (THU). Результаты исследований свидетельствуют, что оба соединения стабильны в растворе [33], а присутствие THU увеличивает содержание FdCyd в 4 раза и биодоступность до 24 % [34]. В настоящее время проходит ряд клинических испытаний FdCyd в отношении солидных опухолей, таких как РМЖ, немелкоклеточный рак легкого и ЗНО головы или шеи [35].

CP-4200 (5-азацитидин-5'-элайдат) является производным 5-азацитидина и элайдиновой кислоты. Наличие эфирной группы обеспечивает поглощение соединения по пути, не зависящему от транспортных систем нуклеозидов [36]. M. Rius et al. [37] показано *in vitro*, что транспортные белки hCNT1, hCNT3 и hENT1 регулируют поглощение азацитидина, в то время как для CP-4200 наблюдается низкая

аффинность к данным белкам. Деметилирующие свойства CP-4200 сравнимы со свойствами азацитидина. CP-4200 ингибирует активность DNMT1, что сопровождается как глобальным деметилированием ДНК на уровне всего генома, так и деметилированием промоторов генов супрессоров опухолевого роста (например, *TIMP-3*, *DAPK-1*), что приводит к устойчивой активации их экспрессии [36]. В настоящее время продолжаются доклинические исследования агента.

NPEOC-DAC (2'-Дезокси-N4-(2-(4-нитрофенил)этоксикарбонил)-5-азацитидин) представляет собой 5-аза-2'-деоксцитидин с модификацией положения N4 азацитидинового кольца. В условиях *in vivo* при действии фермента карбоксилэстеразы 1 (CES1) происходит расщепление эфирной связи в молекуле NPEOC-DAC, что приводит к высвобождению децитабина. Однако исследования *in vitro* на клетках РМЖ MCF7, рака мочевого пузыря T24 и рака печени Hep G2 продемонстрировали, что NPEOC-DAC в 23 раза менее эффективен, чем децитабин [38]. Кроме того, к недостаткам данной молекулы относятся гепатотоксичность и возможность применения только при опухолях с высокой экспрессией карбоксилэстераз. Исследований противоопухолевой активности NPEOC-DAC *in vivo* в литературе не представлено.

Гвадеситабин (SGI-110) представляет собой молекулу 5-аза-2'-дезоксцитидина, модифицированную дезоксигуанозином, который обеспечивает устойчивость соединения к действию фермента цитидиндезаминазы. SGI-110 индуцировал гипометилирование промоторов генов семейства CTA в клеточных линиях лейкоза HL60 и KG1 [39]. В литературе представлены результаты клинических испытаний гвадеситабина (фазы II-III) в терапии как гематологических ЗНО (NCT02348489, NCT02907359, NCT02920008), так и солидных опухолей (ISRCTN 16332228, NCT01896856, NCT02901899, NCT01696032). Гвадеситабин обладает близкой с децитабином противоопухолевой эффективностью в отношении МДС, но менее эффективен при ОМЛ. При этом наблюдалась связь между терапевтическим ответом и степенью деметилирования ДНК пациентов [40]. Комбинация гвадеситабина с карбоплатином у пациенток с распространенным раком яичника показала двукратное увеличение бессобытийной выживаемости и частоту общего ответа по сравнению со стандартной терапией [41]. У пациенток с платино-резистентным раком яичника показатель клинической пользы комбинации гвадеситабина с пембролизумабом составил 31,4 % [42]. В отношении солидных опухолей добавление гвадеситабина к комбинации цисплатина с гемцитабином приводило к практически двукратному увеличению выживаемости без прогрессирования относительно контрольной группы [43].

Ненуклеозидные ингибиторы DNMTs

Отличительной особенностью ненуклеозидных соединений является способность взаимодействовать с каталитическим центром ферментов DNMTs [44]. Механизмы действия большинства соединений изучены недостаточно, однако общим для данных агентов является их способность снижать уровень метилирования генов супрессоров опухолей и реактивировать их транскрипцию (рис. 3).

RG108 (N-Фталил-L-триптофан) – производное триптофана, действие которого основано на инактивации фермента DNMT1 за счет взаимодействия с активным центром фермента. RG108 является первым таргетным ненуклеозидным ингибитором DNMTs [45]. На клеточной линии рака эндометрия Ishikawa *in vitro* показано, что RG108 ингибирует активность DNMT3B. При действии RG108 происходит деметилирование промотора гена *MLH1* [46]. В исследовании *in vivo* на ксенографтной модели рака пищевода Eca-109 продемонстрировано, что RG-108 способствует повышению чувствительности клеток рака пищевода к радиотерапии, которое сопровождается глобальным изменением экспрессии генов различных сигнальных путей [45]. Кроме того, на мезенхимальных стволовых клетках из костного мозга свиньи показано, что RG108 способен реактивировать экспрессию генов плюрипотентности *NANOG* и *POU5F1*. Клинические испытания RG108 пока не зарегистрированы.

Прокаин и прокаинамид представляют собой производные 4-аминобензойной кислоты, которые одобрены FDA для применения в качестве анестетика и антиаритмического препарата соответственно. Данные соединения ингибируют активность метилтрансферазы DNMT1 за счет снижения средства фермента как к ДНК, так и к S-аденозил-

1-метионину (AdoMet) [47, 48]. Исследования *in vitro* демонстрируют, что прокаин и прокаинамид вызывают снижение уровня метилирования ДНК [49], при этом отмечается способность прокаина оказывать деметилирующее действие за счет его непосредственного связывания с CpG-островками [48]. На клетках рака желудка SGC-7901 показано, что прокаин ингибирует активность ферментов DNMT3A и DNMT1, но не DNMT3B, не влияя на экспрессию белков DNMTs [50]. В клетках промиелоцитарного лейкоза NB4 под действием прокаина происходило снижение количества мРНК генов *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*. Показано, что прокаин и прокаинамид обладают противоопухолевой активностью *in vitro* в отношении клеток колоректального рака, РМЖ, рака желудка, рака легкого и промиелоцитарного лейкоза [49–51]. При этом происходит реактивация гена *RARβ2* в клетках РМЖ MCF7, гена *GSTP1* в клетках РПЖ PC3, генов *p16INK4a*, *HAI-2/PB*, *14-3-3-sigma* и гена *WIF-1* в клетках рака легких A549 [52]. Однако данные препараты имеют ряд недостатков. Прокаин быстро гидролизруется в плазме неспецифическими псевдохолинэстеразами. У пациентов с нарушением функций почек или хронической сердечной недостаточностью метаболиты прокаина быстро накапливаются в крови до токсичных концентраций. Прокаинамид, в свою очередь, при длительном приеме (более 6 мес) может привести к заболеванию красной системной волчанкой [53]. В настоящее время ведется активная разработка производных прокаина для эпигенетической противоопухолевой терапии [54].

Наномицин А и Митрамицин А – антибиотики, выделенные из актинобактерий рода *Streptomyces*. Наномицин А используется в качестве противо-

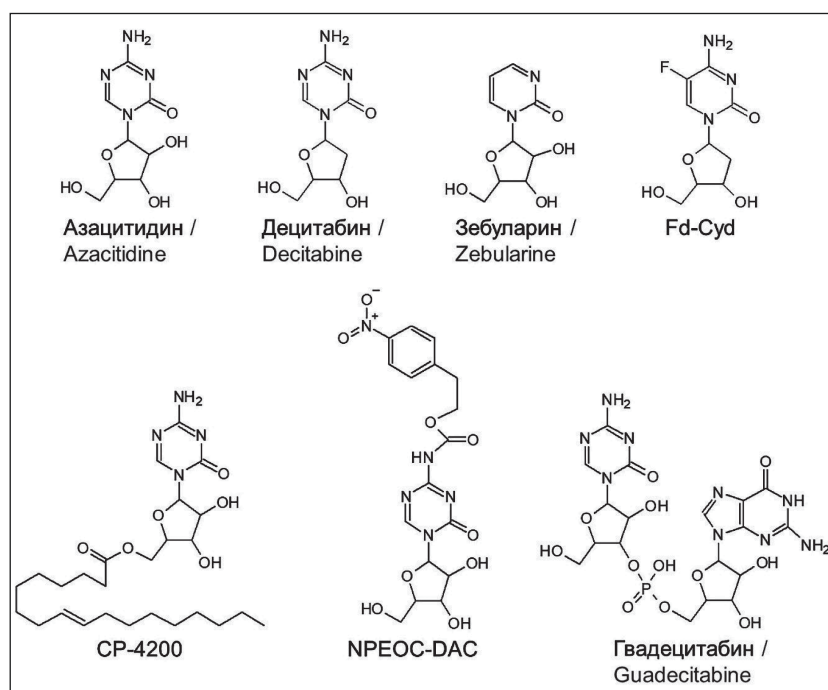


Рис. 3. Химические формулы соединений из группы ненуклеозидных ингибиторов DNMTs. Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 3. Chemical formulae of compounds from the group of non-nucleoside inhibitors of DNMTs. Note: created by the authors

грибкового препарата в ветеринарной практике, а митрамицин А является противоопухолевым антибиотиком, который ранее применяли для терапии нескольких типов ЗНО, включая ХМЛ, ОМЛ, рак яичка [55, 56]. Наномицин А селективно ингибирует DNMT3B путем взаимодействия с каталитическим центром фермента, что приводит к снижению уровня метилирования в клетках рака легких A549, колоректального рака HCT116 и лейкоза HL60. Также в клетках рака легких A549 наблюдалась реэкспрессия гена *RASSF1* [57]. В то же время наномицин вызывал активацию онкогенов *HMOX1*, *NQO1*, *AKR1C1*, *AKR1C2*, *GCLM* и *PPT2* в клетках нейробластомы BE(2)-с и CHP134 [58]. Митрамицин А связывается с CG-богатыми последовательностями, что приводит к стерическому ингибированию метилирования ДНК, а также к нарушению взаимодействия транскрипционных факторов с ДНК. С помощью молекулярного докинга также показана способность антибиотика взаимодействовать с каталитическим центром DNMTs. Исследования *in vitro* продемонстрировали, что под действием митрацимина А в клетках рака легких CL1-5 происходит реактивация эпигенетически репрессированных генов *SLIT2* и *TIMP-3* [59]. Из-за токсичности применение митрацимина ограничено, однако ведется активная разработка его производных.

Гидралазин (1(2H)-фалазинонгидразон) – вазодилатирующее гипотензивное средство, используемое для лечения артериальной гипертензии и сердечной недостаточности [60]. На клетках РПЖ Du-145 и PC3 было показано, что гидралазин снижает экспрессию генов *DNMT1*, *DNMT3A* и *DNMT3B*, а также уровень фермента DNMT1 [61]. Наиболее вероятным механизмом действия гидралазина является его прямое взаимодействие с ферментом DNMT1 [62]. Для гидралазина показан противоопухолевый эффект на различных клеточных моделях [61, 63]. Зарегистрировано несколько клинических исследований (фазы I–III) эффективности гидралазина в комбинации с ингибитором HDAC вальпроатом для терапии ХМЛ, кожной Т-клеточной лимфомы и солидных опухолей (NCT0096060, TPVGH 97-07-07). Комбинация показала негативные результаты для пациентов с солидными опухолями, при этом для пациентов с ХМЛ и кожной Т-клеточной лимфомой медиана выживаемости без прогрессирования заболевания составила более 36 и 18 мес соответственно [64, 65].

PRIMA-1 и его метилированная форма PRIMA-1^{Met} (APR246, эпренетапопт) – низкомолекулярные соединения, влияющие на конформацию мутантного белка p53, что приводит к восстановлению его способности активировать экспрессию респонсивных генов [66]. В 2014 г. показано, что PRIMA-1 индуцирует глобальное деметилирование ДНК и увеличивает степень гидроксиметилирования ДНК в клетках рака щитовидной железы с мутантным

p53. Наблюдаемые эффекты обусловлены снижением уровня мРНК генов *DNMT1*, *DNMT3A* и *DNMT3B* и повышением экспрессии генов *TET1* и *TET2* [67]. Кроме того, PRIMA-1 вызывает деметилирование гена *TP73* в клетках множественной миеломы [68]. При этом данных о деметилирующих способностях APR246 в литературе не представлено. Противоопухолевые свойства PRIMA-1 и APR246 были продемонстрированы *in vitro* и *in vivo* для таких ЗНО, как острый промиелоцитарный лейкоз, крупная В-клеточная лимфома, меланома, множественная миелома, РПЖ, РМЖ и др. [69–71]. Фаза II клинических исследований продемонстрировала синергетическое действие комбинации APR246 с 5-азациитидином при терапии пациентов с ОМЛ и МДС, частота общего ответа составила 71 и 73 % соответственно. В апреле 2019 г. FDA предоставило APR-246 статус Fast Track и Orphan Drug для лечения МДС у взрослых с мутацией *TP53* [72].

SGI-1027 (N-(4-(2-амино-6-метилпиримидин-4-иламино)фенил)-4-(хинолин-4-иламино)бензамид) является представителем нового класса низкомолекулярных ингибиторов ферментов DNMTs на основе липофилина [73]. Механизм действия агента заключается в конкуренции с донором метильной группы SAM за доступ к сайту связывания фермента. Было показано, что SGI-1027 способен ингибировать DNMT1 в клетках ХМЛ [74]. Несмотря на то, что SGI-1027 оказывает минимальный токсический эффект на опухолевые клетки, соединение может стать перспективным кандидатом для использования в комбинированной противоопухолевой терапии.

Кверцетин (3,3',4',5,7-пентагидроксифлаванон) – соединение растительного происхождения из класса флавоноидов, содержащееся в различных фруктах, овощах, зеленом чае и листьях лекарственных растений [75]. Данный флавоноид используется в качестве антиоксидантного и терапевтического агента в аллергологии, урологии и т.д. [76]. В исследовании *in vivo* с ксенографтами острого промиелоцитарного лейкоза HL-60 при действии кверцетина показано значительное снижение экспрессии белков DNMT1 и DNMT3A [77]. С помощью молекулярного докинга показано, что кверцетин способен связываться с активными центрами белков DNMTs и ингибировать их активность. Также продемонстрировано, что кверцетин конкурентно связывается с метилтрансферазами EZH2 и G9a в месте взаимодействия белков с DNMTs. На клетках рака шейки матки HeLa T1 показано дозозависимое снижение экспрессии генов *DNMTs* при действии кверцетина, также наблюдалось снижение уровня метилирования промоторов генов супрессоров опухолевого роста *APC*, *CDH1*, *CDH13*, *DAPK1*, *FHIT*, *GSTP1*, *MGMT*, *MLH1*, *PTEN*, *RARB*, *RASSF1*, *SOC51*, *TIMP3* и *VHL* [78], также в исследовании *in vitro* на клетках острого

промиелоцитарного лейкоза HL-60 человека кверцетин проявил деметилирующий эффект в промоторах генов *BCL2L1* и *DAPK1*. Планируется фаза II клинического испытания кверцетина в качестве препарата для лечения пациентов с плоскоклеточной карциномой (NCT03476330) и раком ротовой полости (NCT05456022).

EGCG ((-)-эпигаллагатахин-3-галлат) – катехин зеленого чая, обладающий многообразием свойств, в том числе противоопухолевыми и антиканцерогенными [79]. Противоопухолевый эффект соединения показан в исследованиях *in vitro* и *in vivo* на моделях РМЖ, рака пищевода, рака мочевого пузыря, немелкоклеточного рака легкого и лейкозов [80, 81]. На различных моделях *in vitro* показано, что при действии EGCG происходит значительное снижение экспрессии генов *DNMT1*, *DNMT3A* и *DNMT3B*, сопровождаемое активацией транскрипции генов супрессоров опухолей. В клетках РМЖ MDA-MB-231 и MCF7 наблюдалась реактивация экспрессии гена *SCUBE2* [82], в клетках рака шейки матки HeLa – генов *RARβ*, *CDH1* и *DAPK1* [83], в клетках меланомы A431 – генов *CDKN1A* и *CDKN2A* [84], в клетках ОМЛ U-937 – гена *SOCS1* [85], в клетках РМЖ MCF7 – гена *IFI16* [86]. На клетках рака пищевода KYSE 150 показано, что EGCG способен вызывать реактивацию генов *MGMT*, *MLH1*, *WIF-1*, *TERT* [87]. На клеточной линии плоскоклеточной карциномы полости рта CAL-27 в ходе анализа метилома выявлено, что EGCG вызывает дифференциальное метилирование более 700 генов, относящихся к таким процессам, как клеточный транспорт, клеточный цикл, окислительные процессы и апоптоз [88]. В исследовании *in vitro* на клетках РМЖ MCF7 продемонстрировано, что EGCG индуцирует экспрессию гена *IFI16*, который ассоциирован с интерфероновым сигналингом и запуском врожденного клеточного иммунитета в опухолевых клетках [86]. Клинических испытаний EGCG для терапии ЗНО не зарегистрировано, однако есть несколько исследований зеленого чая в качестве сопутствующей терапии при РМЖ и РПЖ. У пациентов с РПЖ показано, что EGCG снижает уровни фактора роста гепатоцитов (HGF) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [89].

Физетин (3,3',4',7-тетрагидроксифлавонон) – растительный флавоноид из группы полифенолов, содержится в овощах, фруктах и ягодах. Физетин обладает широким спектром действия, проявляя противоаллергическую, противоопухолевую и нейтропротекторную активность [90]. Показана способность физетина слабо ингибировать DNMT SssI в бактериях *E. coli* и DNMT1 в клетках РМЖ. В исследованиях *in vitro* на клетках рака поджелудочной железы PANC-1 и BxPC-3, а также *in vivo* с ксенографтами этих же клеточных линий продемонстрировано дозозависимое снижение жизнеспособности клеток при действии физети-

на. При этом обнаружено, что физетин вызывает активацию аутофагии в клетках рака поджелудочной железы [91]. Физетин способен связываться с β-тубулином и стабилизировать микротрубочки с большей эффективностью, чем паклитаксел, что было показано на клетках РПЖ PC-3 и Du-145. Кроме того, при действии физетина в клетках рака яичников NCI/ADR-RES происходит подавление экспрессии Р-гликопротеина, гиперэкспрессия которого ассоциирована с развитием множественной лекарственной устойчивости [92]. Данных о клинических испытаниях физетина в литературе не представлено.

Куркумин (диферулоилметан) – полифенольное соединение с противовоспалительным, антиоксидантным и противоопухолевым действиями. Молекулярная активность куркумина включает в себя ингибирование протеасом, ингибирование тирозинкиназ, а также инактивацию различных онкогенов [93]. Куркумин блокирует каталитический сайт C1226 фермента DNMT1, что обуславливает его гипометилирующее действие [94]. На клетках ОМЛ THP-1, Kasumi-1, MV4-11 и ML-1 показано, что куркумин вызывает ингибирование экспрессии DNMT1 как на уровне мРНК, так и на уровне белка. При этом агент не влиял на экспрессию DNMT1 в моноцитах периферической крови. При действии куркумина отмечено деметилирование промотора гена супрессора опухолей *CDKN2B*, обуславливающее его реэкспрессию [95]. В то же время на клетках множественной миеломы продемонстрирована способность куркумина репрессировать транскрипцию онкогена *MTOR* посредством гиперметилирования промотора. Подобный эффект объясняется гиперактивностью ферментов DNMT3A и DNMT3B, вызванной куркумином [96]. На модели РМЖ *in vitro* выявлено, что куркумин вызывает деметилирование промотора и реактивацию экспрессии гена *BRCAl* [97]. На клетках колоректального рака HCT116, HT29 и RKO показано, что куркумин деметирует ДНК более чем в тысяче CpG-локусов [98]. В недавнем исследовании на клетках колоректального рака HCT116 продемонстрировано, что куркумин в комбинации с 5-азациитидином могут быть эффективной альтернативой в терапии опухолей, резистентных к децитабину [99]. В настоящее время куркумин проходит клинические испытания для терапии РМЖ, колоректального рака, рака поджелудочной железы и РПЖ (NCT01490996). Добавление куркумина к режиму химиотерапии FOLFOX при метастатическом колоректальном раке привело к увеличению общей выживаемости более чем в 2 раза [100]. У больных РМЖ добавление куркумина к терапии паклитакселем способствовало повышению частоты общего ответа до 50,7 % vs 33 % в контрольной группе [101].

Ресвератрол (3,5,4'-тригидроксистильбен) – полифенол природного происхождения, фитоалексин,

содержится в корнях морозника белого *Veratrum grandiflorum* O. Loes, а также в кожуре фруктов, какао и орехах. Ресвератрол имеет широкий спектр биологических свойств, включая антигликирующее, антиоксидантное, противовоспалительное, нейропротекторное, противоопухолевое и антивозрастное действие [102]. С помощью молекулярного докинга и скрининга бесконтактного анализа производных ресвератрола получены данные о взаимодействии лигандов с каталитическими центрами белков DNMT3A и DNMT3B, но не DNMT1 [103]. В клетках РМЖ MCF7 ресвератрол вызывает значительное снижение активности DNMTs и уровней экспрессии, связывающих метил-СрG белков MeCP2 и MBD2, что коррелирует с понижением жизнеспособности клеток [104]. Результаты клинических испытаний ресвератрола свидетельствуют о его невысокой эффективности при терапии ЗНО.

Генистеин (4',5,7-тригидроксиизофлавоон) – фитонутриент из класса изофлавонов, является природным фитоэстрогеном, в большом количестве содержится в бобовых, семенах, фруктах и овощах. Генистеин обладает антиоксидантными, противовоспалительными и антибактериальными свойствами, в частности, его применяют для облегчения симптомов менопаузы, профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, остеопороза, а также для снижения заболеваемости некоторыми видами рака [105]. С помощью молекулярного докинга показана способность генистеина взаимодействовать с каталитическим центром ферментов DNMT1, DNMT3A и DNMT3B. На клетках HeLa и MCF7 генистеин вызывал времязависимое снижение экспрессии DNMT1, DNMT3A и DNMT3B как на уровне мРНК, так и на уровне белка [106]. Подавление экспрессии DNMT3A и DNMT3B было продемонстрировано и для комбинации генистеина с сульфорафаном и бутиратом натрия на клетках РМЖ MDA-MB-231 и MCF7 [107]. Также на клетках РМЖ MCF7 и MDA-MB-231 показано снижение глобального уровня метилирования ДНК, в том числе в промоторных областях таких генов супрессоров опухолевого роста, как *ATM*, *APC*, *PTEN*, *SERPINB5*, *BRCA1* [108, 109]. На клетках РПЖ Du-145 и LNCaP продемонстрировано, что комбинация генистеина и фитоэстрогена дайдзеина влияет на профиль метилирования 58 генов, включая *MAD1L1*, *TRAF7*, *KDM4B* и *hTERT*. На ксенографтах нейробластомы SK-N-SH показано, что при действии генистеина происходят реактивация транскрипции генов супрессоров опухолей *TP53* и *CHD5* и снижение экспрессии *DNMT3B* [110]. Фазы I–II клинических испытаний генистеина для терапии РПЖ, колоректального рака и др. показали, что он хорошо переносится и не приводит к увеличению числа побочных эффектов [111]. Однако до сих пор не было получено весомых доказательств эффективности генистеина в терапии ЗНО. В настоящее время генистеин исследуется

как часть диеты пациентов с раком поджелудочной железы и раком мочевого пузыря для снижения побочных эффектов химиотерапии (NCT02336087, NCT01489813).

Ингибиторы TET

Разработка ингибиторов метилцитозинных диоксигеназ TET началась в 2018 г. с молекул Bobcat212 и Bobcat339 [112]. В исследованиях *in vitro* продемонстрирована их способность ингибировать гидроксиметилирование ДНК, что опосредовано воздействием на белки TETs [112]. Однако в 2022 г. опубликовано опровержение механизма действия Bobcat339 в отношении TETs. Исследователями во главе с Н. Третьяковой с помощью анализа LC-ESI-MS показано, что Bobcat339 обладает минимальной ингибирующей активностью в отношении TET1 и TET2 человека. Основной причиной ложноположительного результата по ингибированию ферментов было наличие в растворе ионов меди (II), а не активное соединение [113]. В 2020 г. с помощью виртуального скрининга лигандов (Lvspipe) и библиотеки соединений Национального института рака (National Cancer Institute, NCI) выявлен первый ингибитор TET – низкомолекулярное соединение C35, которое специфически блокирует каталитическую активность метилцитозинных диоксигеназ. Молекулярное моделирование показало, что C35 может частично занимать сайт связывания ДНК с субстратом и блокировать каталитический центр TET2, отталкивая Fe (II), что в результате приводит к истощению метки 5-hmC [114]. TETi76 синтезирован на основе каркаса 2HG в α KG-связывающем сайте каталитического домена TET2. Показано, что 2-метил- и 4-гидроксипроизводное α KG в составе TETi76 имеют решающее значение для поддержания ингибирующей активности. В исследовании *in vitro* показано, что TETi76 индуцирует апоптотическую гибель клеток лейкоза время- и дозозависимым образом. Также *in vivo* продемонстрировано, что TETi76 значительно снижает рост опухолевых клеток ксенотрансплантатов ОМЛ человека с мутацией TET2 [115].

Заключение

Злокачественные новообразования характеризуются глобальной перестройкой эпигенетической системы регуляции транскрипции. Ключевым механизмом данной системы является метилирование ДНК. Нарушения в механизме метилирования ДНК приводят к изменению хроматинового ландшафта и, как следствие, изменению паттерна экспрессии генов, вовлеченных в ключевые процессы клеточной регуляции. Основными причинами aberrантного метилирования ДНК являются делеции, мутации или нарушение активности регуляторных ферментов DNMTs и TETs. Для некоторых нозологий DNMTs и TETs в приобретении опухолью

агрессивного фенотипа играют значительную роль, что может быть использовано в противоопухолевой терапии.

В настоящее время терапия ЗНО на основе модуляции метилирования ДНК включает в себя использование только двух нуклеозидных ингибиторов DNMTs – азацитидина и децитабина. Данные агенты эффективно применяются в терапии МДС и ОМЛ как в России, так и за рубежом. Однако при длительном приеме может развиваться резистентность к 5-азацитидину и децитабину, что осложняет дальнейшее лечение. Использование ингибиторов DNMTs из других химических классов, а также селективных ингибиторов TETs могло бы способствовать решению этой проблемы. Другой проблемой при использовании эпигенетических препаратов является их высокая токсичность. Несмотря на то, что деметилирующее действие агентов не вносит значимых изменений на уровне генома, а уровень метилирования ДНК восстанавливается до исходных значений уже через 14 дней после окончания приема препаратов, профиль токсичности азацитидина и децитабина соответствует другим аналогам нуклеозидов и алкилирующим агентам, взаимодействующим с ДНК. Это актуализирует поиск новых эффективных соединений-деметилаторов с меньшей токсичностью.

Ранее одной из главных проблем эпигенетической терапии была низкая эффективность эпигенетических модуляторов в отношении солидных опухолей. При индивидуальном действии ингибиторы DNMTs действительно проявляют ограничен-

ную эффективность в клинических исследованиях. Однако разнообразие молекулярных эффектов деметилирующих агентов позволяет использовать их в комбинации с уже применяемыми препаратами для повышения эффективности противоопухолевой терапии. Такой подход привел к значительному прогрессу в этом направлении. За последние 5 лет получен ряд положительных результатов клинических испытаний применения как нуклеозидных, так и ненуклеозидных ингибиторов DNMTs в комбинированной терапии. Из группы нуклеозидных ингибиторов DNMTs к наиболее перспективным агентам для комбинированной терапии можно отнести децитабин и гвадецитабин. Для этих препаратов по результатам клинических испытаний показаны следующие эффективные сочетания: децитабин и ритуксимаб для терапии диффузной В-крупноклеточной лимфомы; гвадецитабин и иринотекан для терапии колоректального рака; гвадецитабин и карбоплатин для терапии рака яичников. Из группы ненуклеозидных ингибиторов DNMTs наибольшую эффективность показал куркумин: в комбинации с линией FOLFOX для терапии колоректального рака и в комбинации с паклитакселом для терапии РМЖ. Повышение эффективности комбинированной терапии опухолей с aberrантным эпигенетическим профилем может быть достигнуто за счет разработки протоколов прецизионной медицины на основе высокотехнологичных методов анализа профиля мутаций и экспрессии ферментов DNMTs и TETs в сочетании с современными клиническими протоколами.

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. Cheng Y., He C., Wang M., Ma X., Mo F., Yang S., Han J., Wei X. Targeting epigenetic regulators for cancer therapy: mechanisms and advances in clinical trials. *Signal Transduct Target Ther.* 2019; 4: 62. doi: 10.1038/s41392-019-0095-0.
3. Максимова В.П., Усалька О.Г., Макусъ Ю.В., Попова В.Г., Трапезникова Е.С., Хайриева Г.И., Сагитова Г.Р., Жидкова Е.М., Прус А.Ю., Якубовская М.Г., Кирсанов К.И. Нарушение метилирования ДНК при злокачественных новообразованиях. *Успехи молекулярной онкологии.* 2022; 9(4): 24–40. [Maksimova V.P., Usalka O.G., Makus Yu.V., Popova V.G., Trapeznikova E.S., Khayrieva G.I., Sagitova G.R., Zhidkova E.M., Prus A.Yu., Yakubovskaya M.G., Kirsanov K.I. Aberrations of DNA methylation in cancer. *Advances in Molecular Oncology.* 2022; 9(4): 24–40. (in Russian)]. doi: 10.17650/2313-805X-2022-9-4-24-40.
4. Kohli R.M., Zhang Y. TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature.* 2013; 502(7472): 472–9. doi: 10.1038/nature12750.
5. Takeshima H., Niwa T., Yamashita S., Takamura-Enya T., Iida N., Wakabayashi M., Nanjo S., Abe M., Sugiyama T., Kim Y.J., Ushijima T. TET repression and increased DNMT activity synergistically induce aberrant DNA methylation. *J Clin Invest.* 2020; 130(10): 5370–9. doi: 10.1172/JCI124070.
6. Liu X.L., Liu H.Q., Li J., Mao C.Y., He J.T., Zhao X. Role of epigenetic in leukemia: From mechanism to therapy. *Chem Biol Interact.* 2020; 317. doi: 10.1016/j.cbi.2020.108963.
7. Stresemann C., Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int J Cancer.* 2008; 123(1): 8–13. doi: 10.1002/ijc.23607.
8. Yang X., Lay F., Han H., Jones P.A. Targeting DNA methylation for epigenetic therapy. *Trends Pharmacol Sci.* 2010; 31(11): 536–46. doi: 10.1016/j.tips.2010.08.001.
9. Gu X., Tohme R., Tomlinson B., Sakre N., Hasipek M., Durkin L., Schuerger C., Grabowski D., Zidan A.M., Radivoyevitch T., Hong C., Carraway H., Hamilton B., Sobecks R., Patel B., Jha B.K., Hsi E.D., Maciejewski J., Sauntharajah Y. Decitabine- and 5-azacytidine resistance emerges from adaptive responses of the pyrimidine metabolism network. *Leukemia.* 2021; 35(4): 1023–36. doi: 10.1038/s41375-020-1003-x.
10. Malik P., Cashen A.F. Decitabine in the treatment of acute myeloid leukemia in elderly patients. *Cancer Manag Res.* 2014; 6: 53–61. doi: 10.2147/CMAR.S40600.
11. Kaminskas E., Farrell A.T., Wang Y.C., Sridhara R., Pazdur R. FDA drug approval summary: azacitidine (5-azacytidine, Vidaza) for injectable suspension. *Oncologist.* 2005; 10(3): 176–82. doi: 10.1634/theoncologist.10-3-176.
12. Tallman M.S., Wang E.S., Altman J.K., Appelbaum F.R., Bhatt V.R., Bixby D., Coutre S.E., De Lima M., Fathi A.T., Fiorella M., Foran J.M., Hall A.C., Jacoby M., Lancet J., LeBlanc T.W., Mannis G., Marcucci G., Martin M.G., Mims A., O'Donnell M.R., Olin R., Peker D., Perl A., Pollyea D.A., Pratz K., Prebet T., Ravandi F., Shami P.J., Stone R.M., Strickland S.A., Wieduwilt M., Gregory K.M.; OCN; Hammond L., Ogbn N. Acute Myeloid Leukemia, Version 3.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2019; 17(6): 721–49. doi: 10.6004/jnccn.2019.0028.
13. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В., Грицаев С.В., Семочкин С.Б., Бондаренко С.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н., Кузьмина Л.А., Клясова Г.А., Гапонова Т.В., Баранова О.Ю., Лапин В.А., Константинова Т.С., Самойлова О.С., Капорская Т.С., Шатохин С.А. Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых лимфобластных лейкозов взрослых. Национальное гематологическое общество. 2014. 65 с.
14. Wei A.H., Döhner H., Pocock C., Montesinos P., Afanasyev B., Dombret H., Ravandi F., Sayar H., Jang J.H., Porkka K., Selleslag D., Sandhu I., Turgut M., Gai V., Ofra Y., Kizil Çakar M., Botelho de Sousa A., Rybka J., Frairia C., Borin L., Beltrami G., Čermák J., Ossenkoppele G.J., La Torre I., Skikne B., Kumar K., Dong Q., Beach C.L., Roboz G.J., for the QUAZAR AML-001 Trial Investigators†. Oral Azacitidine Maintenance Therapy for Acute Myeloid Leukemia in First Remission. *N Engl J Med.* 2020; 383(26): 2526–37. doi: 10.1056/NEJMoa2004444.

15. Montesinos P, Recher C, Vives S, Zarzycka E, Wang J, Bertani G, Heuser M, Calado R.T., Schuh A.C., Yeh S.P., Daigle S.R., Hui J., Pandya S.S., Gianolio D.A., de Botton S., Döhner H. Ivosidenib and Azacitidine in IDH1-Mutated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2022; 386(16): 1519–31. doi: 10.1056/NEJMoa2117344.
16. Niemeyer C.M., Flotho C., Lipka D.B., Stary J., Rössig C., Baruchel A., Klingebiel T., Micalizzi C., Michel G., Nysom K., Rives S., Schmugge Liner M., Zecca M., Schönung M., Baumann I., Nöllke P., Benettaib B., Biserna N., Poon J., Simcock M., Patturajan M., Menezes D., Gaudy A., van den Heuvel-Eibrink M.M., Locatelli F. Response to upfront azacitidine in juvenile myelomonocytic leukemia in the AZA-JMML-001 trial. *Blood Adv*. 2021; 5(14): 2901–8. doi: 10.1182/bloodadvances.2020004144.
17. Jabbour E., Issa J.P., Garcia-Manero G., Kantarjian H. Evolution of decitabine development: accomplishments, ongoing investigations, and future strategies. *Cancer*. 2008; 112(11): 2341–51. doi: 10.1002/cncr.23463.
18. Briski R., Garcia-Manero G., Kantarjian H., Ravandi F. The history of oral decitabine/cedazuridine and its potential role in acute myeloid leukemia. *Ther Adv Hematol*. 2023; 14. doi: 10.1177/20406207231205429.
19. Pollyea D.A., Winters A., McMahon C., Schwartz M., Jordan C.T., Rabinovitch R., Abbott D., Smith C.A., Gutman J.A. Venetoclax and azacitidine followed by allogeneic transplant results in excellent outcomes and may improve outcomes versus maintenance therapy among newly diagnosed AML patients older than 60. *Bone Marrow Transplant*. 2022; 57(2): 160–6. doi: 10.1038/s41409-021-01476-7.
20. Sekeres M.A., Watts J., Radinoff A., Sangerman M.A., Cerrano M., Lopez P.F., Zeidner J.F., Campelo M.D., Graux C., Liesveld J., Selleslag D., Tzvetkov N., Fram R.J., Zhao D., Bell J., Friedlander S., Faller D.V., Adès L. Randomized phase 2 trial of pevonedistat plus azacitidine versus azacitidine for higher-risk MDS/CMML or low-blast AML. *Leukemia*. 2021; 35(7): 2119–24. doi: 10.1038/s41375-021-01125-4. Erratum in: *Leukemia*. 2021; 35(12): 3637. doi: 10.1038/s41375-021-01473-1.
21. DiNardo C.D., Schuh A.C., Stein E.M., Montesinos P., Wei A.H., de Botton S., Zeidan A.M., Fathi A.T., Kantarjian H.M., Bennett J.M., Frattini M.G., Martin-Regueira P., Lersch F., Gong J., Hasan M., Vyas P., Döhner H. Enasidenib plus azacitidine versus azacitidine alone in patients with newly diagnosed, mutant-IDH2 acute myeloid leukaemia (AG221-AML-005): a single-arm, phase 1b and randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2021; 22(11): 1597–608. doi: 10.1016/S1470-2045(21)00494-0.
22. Ohanian M., Garcia-Manero G., Levis M., Jabbour E., Daver N., Borthakur G., Kadia T., Pierce S., Burger J., Richie M.A., Patel K., Andreeff M., Estrov Z., Cortes J., Kantarjian H., Ravandi F. Sorafenib Combined with 5-azacytidine in Older Patients with Untreated FLT3-ITD Mutated Acute Myeloid Leukemia. *Am J Hematol*. 2018; 93(9): 1136–41. doi: 10.1002/ajh.25198.
23. Hu J., Wang X., Chen F., Ding M., Dong M., Yang W., Yin M., Wu J., Zhang L., Fu X., Sun Z., Li L., Wang X., Li X., Guo S., Zhang D., Lu X., Leng Q., Zhang M., Zhu L., Zhang X., Chen Q. Combination of Decitabine and a Modified Regimen of Cisplatin, Cytarabine and Dexamethasone: A Potential Salvage Regimen for Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma After Second-Line Treatment Failure. *Front Oncol*. 2021; 11. doi: 10.3389/fonc.2021.687374.
24. Buocikova V., Tyciakova S., Pilalis E., Mastrolakou C., Urbanova M., Matuskova M., Demkova L., Medova V., Longhin E.M., Rundén-Pran E., Dusinska M., Rios-Mondragon I., Cimpan M.R., Gabelova A., Soltysova A., Smolkova B., Chatziioannou A. Decitabine-induced DNA methylation-mediated transcriptomic reprogramming in human breast cancer cell lines; the impact of DCK overexpression. *Front Pharmacol*. 2022; 13. doi: 10.3389/fphar.2022.991751.
25. Champion C., Guianvarc'h D., Sénamaud-Beaufort C., Jurkowska R.Z., Jeltsch A., Ponger L., Arimondo P.B., Guieysse-Peugeot A.L. Mechanistic insights on the inhibition of c5 DNA methyltransferases by zebularine. *PLoS One*. 2010; 5(8). doi: 10.1371/journal.pone.0012388.
26. Lu Y., Chan Y.T., Tan H.Y., Li S., Wang N., Feng Y. Epigenetic regulation in human cancer: the potential role of epi-drug in cancer therapy. *Mol Cancer*. 2020; 19(1): 79. doi: 10.1186/s12943-020-01197-3.
27. Cheng J.C., Yoo C.B., Weisenberger D.J., Chuang J., Wozniak C., Liang B., Marquez V.E., Greer S., Orntoft T.F., Thykjaer T., Jones P.A. Preferential response of cancer cells to zebularine. *Cancer Cell*. 2004; 6(2): 151–8. doi: 10.1016/j.ccr.2004.06.023.
28. Takemura Y., Satoh M., Hatanaka K., Kubota S. Zebularine exerts its antiproliferative activity through S phase delay and cell death in human malignant mesothelioma cells. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2018; 82(7): 1159–64. doi: 10.1080/09168451.2018.1459466.
29. Cheng J.C., Weisenberger D.J., Gonzales F.A., Liang G., Xu G.L., Hu Y.G., Marquez V.E., Jones P.A. Continuous zebularine treatment effectively sustains demethylation in human bladder cancer cells. *Mol Cell Biol*. 2004; 24(3): 1270–8. doi: 10.1128/MCB.24.3.1270-1278.2004.
30. Lemaire M., Momparler L.F., Raynal N.J., Bernstein M.L., Momparler R.L. Inhibition of cytidine deaminase by zebularine enhances the antineoplastic action of 5-aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2009; 63(3): 411–6. doi: 10.1007/s00280-008-0750-6.
31. Fulkerson C.M., Dhawan D., Jones D.R., Marquez V.E., Jones P.A., Wang Z., Wu Q., Klauing J.E., Fourez L.M., Bonney P.L., Knapp D.W. Pharmacokinetics and toxicity of the novel oral demethylating agent zebularine in laboratory and tumor bearing dogs. *Vet Comp Oncol*. 2017; 15(1): 226–36. doi: 10.1111/vco.12159.
32. Holleran J.L., Eiseman J.L., Parise R.A., Kummar S., Beumer J.H. LC-MS/MS assay for the quantitation of FdCyd and its metabolites FdUrd and FU in human plasma. *J Pharm Biomed Anal*. 2016; 129: 359–66. doi: 10.1016/j.jpba.2016.07.027.
33. Guo D., Myrdal P.B., Karlage K.L., O'Connell S.P., Wissinger T.J., Tabibi S.E., Yalkowsky S.H. Stability of 5-fluoro-2'-deoxycytidine and tetrahydrouridine in combination. *AAPS PharmSciTech*. 2010; 11(1): 247–52. doi: 10.1208/s12249-010-9383-2.
34. Holleran J.L., Beumer J.H., McCormick D.L., Johnson W.D., Newman E.M., Doroshov J.H., Kummar S., Covey J.M., Davis M., Eiseman J.L. Oral and intravenous pharmacokinetics of 5-fluoro-2'-deoxycytidine and THU in cynomolgus monkeys and humans. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015; 76(4): 803–11. doi: 10.1007/s00280-015-2857-x.
35. Coyne G.O., Wang L., Zlott J., Juwara L., Covey J.M., Beumer J.H., Cristea M.C., Newman E.M., Koehler S., Nieva J.J., Garcia A.A., Gandara D.R., Miller B., Khin S., Miller S.B., Steinberg S.M., Rubinstein L., Parchment R.E., Kinders R.J., Piekarczyk R.L., Kummar S., Chen A.P., Doroshov J.H. Intravenous 5-fluoro-2'-deoxycytidine administered with tetrahydrouridine increases the proportion of p16-expressing circulating tumor cells in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2020; 85(5): 979–93. doi: 10.1007/s00280-020-04073-5.
36. Brueckner B., Rius M., Markelova M.R., Fichtner I., Hals P.A., Sandvold M.L., Lyko F. Delivery of 5-azacytidine to human cancer cells by elaidic acid esterification increases therapeutic drug efficacy. *Mol Cancer Ther*. 2010; 9(5): 1256–64. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-1202.
37. Rius M., Stresemann C., Keller D., Brom M., Schirrmacher E., Keppler D., Lyko F. Human concentrative nucleoside transporter 1-mediated uptake of 5-azacytidine enhances DNA demethylation. *Mol Cancer Ther*. 2009; 8(1): 225–31. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0743.
38. Byun H.M., Choi S.H., Laird P.W., Trinh B., Siddiqui M.A., Marquez V.E., Yang A.S. 2'-Deoxy-N4-[2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyl]-5-azacytidine: a novel inhibitor of DNA methyltransferase that requires activation by human carboxylesterase 1. *Cancer Lett*. 2008; 266(2): 238–48. doi: 10.1016/j.canlet.2008.02.069.
39. Srivastava P., Paluch B.E., Matsuzaki J., James S.R., Collamat-Lai G., Karbach J., Nemeth M.J., Taverna P., Karpf A.R., Griffiths E.A. Immunomodulatory action of SGI-110, a hypomethylating agent, in acute myeloid leukemia cells and xenografts. *Leuk Res*. 2014; 38(11): 1332–41. doi: 10.1016/j.leukres.2014.09.001.
40. Garcia-Manero G., Roboz G., Walsh K., Kantarjian H., Ritchie E., Kropf P., O'Connell C., Tibes R., Lunin S., Rosenblatt T., Yee K., Stock W., Griffiths E., Mace J., Podoltsev N., Berdeja J., Jabbour E., Issa J.J., Hao Y., Keer H.N., Azab M., Savona M.R. Guadecitabine (SGI-110) in patients with intermediate or high-risk myelodysplastic syndromes: phase 2 results from a multicentre, open-label, randomised, phase 1/2 trial. *Lancet Haematol*. 2019; 6(6): 317–27. doi: 10.1016/S2352-3026(19)30029-8.
41. Oza A.M., Matulonis U.A., Secord A.A., Nemunaitis J., Roman L.D., Blagden S.P., Banerjee S., McGuire W.P., Ghamande S., Birrer M.J., Fleming G.F., Markham M.J., Hirte H.W., Provencher D.M., Basu B., Kristeleit R., Armstrong D.K., Schwartz B., Braly P., Hall G.D., Nephew K.P., Jueliger S., Oganessian A., Naim S., Hao Y., Keer H., Azab M., Matei D. A Randomized Phase II Trial of Epigenetic Priming with Guadecitabine and Carboplatin in Platinum-resistant, Recurrent Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res*. 2020; 26(5): 1009–16. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1638.
42. Chen S., Xie P., Cowan M., Huang H., Cardenas H., Keathley R., Tanner E.J., Fleming G.F., Moroney J.W., Pant A., Akasha A.M., Davuluri R.V., Kocherginsky M., Zhang B., Matei D. Epigenetic priming enhances antitumor immunity in platinum-resistant ovarian cancer. *J Clin Invest*. 2022; 132(14). doi: 10.1172/JCI158800.
43. Crabb S.J., Danson S., Catto J.W.F., Hussain S., Chan D., Dunkley D., Downs N., Marwood E., Day L., Saunders G., Light M., Whitehead A., Ellis D., Sarwar N., Enting D., Birtle A., Johnson B., Huddart R., Griffiths G. Phase I Trial of DNA Methyltransferase Inhibitor Guadecitabine Combined with Cisplatin and Gemcitabine for Solid Malignancies Including Urothelial Carcinoma (SPIRE). *Clin Cancer Res*. 2021; 27(7): 1882–92. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3946.
44. Brueckner B., Lyko F. DNA methyltransferase inhibitors: old and new drugs for an epigenetic cancer therapy. *Trends Pharmacol Sci*. 2004; 25(11): 551–4. doi: 10.1016/j.tips.2004.09.004.
45. Ou Y., Zhang Q., Tang Y., Lu Z., Lu X., Zhou X., Liu C. DNA methylation enzyme inhibitor RG108 suppresses the radioresistance of esophageal cancer. *Oncol Rep*. 2018; 39(3): 993–1002. doi: 10.3892/or.2018.6210.
46. Yang L., Hou J., Cui X.H., Suo L.N., Lv Y.W. RG108 induces the apoptosis of endometrial cancer Ishikawa cell lines by inhibiting the expres-

- sion of DNMT3B and demethylation of HMLH1. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017; 21(22): 5056–64. doi: 10.26355/eurrev_201711_13818.
47. Lee B.H., Yegnasubramanian S., Lin X., Nelson W.G. Procainamide is a specific inhibitor of DNA methyltransferase 1. *J Biol Chem.* 2005; 280(49): 40749–56. doi: 10.1074/jbc.M505593200.
48. Villar-Garea A., Fraga M.F., Espada J., Esteller M. Procaine is a DNA-demethylating agent with growth-inhibitory effects in human cancer cells. *Cancer Res.* 2003; 63(16): 4984–9.
49. Sabit H., Samy M.B., Said O.A., El-Zawahri M.M. Procaine Induces Epigenetic Changes in HCT116 Colon Cancer Cells. *Genet Res Int.* 2016. doi: 10.1155/2016/8348450.
50. Li Y.C., Wang Y., Li D.D., Zhang Y., Zhao T.C., Li C.F. Procaine is a specific DNA methylation inhibitor with anti-tumor effect for human gastric cancer. *J Cell Biochem.* 2018; 119(2): 2440–9. doi: 10.1002/jcb.26407.
51. Ma X.W., Li Y., Han X.C., Xin Q.Z. The effect of low dosage of procaine on lung cancer cell proliferation. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016; 20(22): 4791–5.
52. Gao Z., Xu Z., Hung M.S., Lin Y.C., Wang T., Gong M., Zhi X., Jablons D.M., You L. Procaine and procainamide inhibit the Wnt canonical pathway by promoter demethylation of WIF-1 in lung cancer cells. *Oncol Rep.* 2009; 22(6): 1479–84. doi: 10.3892/or.00000590.
53. Uetrecht J.P., Freeman R.W., Woosley R.L. The implications of procainamide metabolism to its induction of lupus. *Arthritis Rheum.* 1981; 24(8): 994–1003. doi: 10.1002/art.1780240803.
54. Paşa S., Erdogan O., Cevik O. Design, synthesis and investigation of procaine based new Pd complexes as DNA methyltransferase inhibitor on gastric cancer cells. *Inorg Chem Comm.* 2021; 132. doi: 10.1016/j.inoche.2021.108846.
55. Tanaka H., Marumo H., Nagai T., Okada M., Taniguchi K. Nanaomycins, new antibiotics produced by a strain of *Streptomyces*. III. A new component, nanaomycin C, and biological activities of nanaomycin derivatives. *J Antibiot (Tokyo).* 1975; 28(12): 925–30. doi: 10.7164/antibiotics.28.925.
56. Kormanec J., Novakova R., Solleiova D., Feckova L., Rezuchova B., Sevcikova B., Homerova D. The antitumor antibiotic mithramycin: new advanced approaches in modification and production. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020; 104(18): 7701–21. doi: 10.1007/s00253-020-10782-x.
57. Kuck D., Caulfield T., Lyko F., Medina-Franco J.L. Nanaomycin A selectively inhibits DNMT3B and reactivates silenced tumor suppressor genes in human cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2010; 9(11): 3015–23. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0609.
58. Liu P.Y., Sokolowski N., Guo S.T., Siddiqui F., Atmadibrata B., Telfer T.J., Sun Y., Zhang L., Yu D., McCarroll J., Liu B., Yang R.H., Guo X.Y., Tee A.E., Itoh K., Wang J., Kavallaris M., Haber M., Norris M.D., Cheung B.B., Byrne J.A., Ziegler D.S., Marshall G.M., Dinger M.E., Codd R., Zhang X.D., Liu T. The BET bromodomain inhibitor exerts the most potent synergistic anticancer effects with quinone-containing compounds and anti-microtubule drugs. *Oncotarget.* 2016; 7(48): 79217–32. doi: 10.18632/oncotarget.12640.
59. Lin R.K., Hsu C.H., Wang Y.C. Mithramycin A inhibits DNA methyltransferase and metastasis potential of lung cancer cells. *Anticancer Drugs.* 2007; 18(10): 1157–64. doi: 10.1097/CAD.0b013e3282a215e9.
60. Arce C., Segura-Pacheco B., Perez-Cardenas E., Taja-Chayeb L., Candelaria M., Dueñas-Gonzalez A. Hydralazine target: from blood vessels to the epigenome. *J Transl Med.* 2006; 4: 10. doi: 10.1186/1479-5876-4-10.
61. Graça I., Sousa E.J., Costa-Pinheiro P., Vieira F.Q., Torres-Ferreira J., Martins M.G., Henrique R., Jerônimo C. Anti-neoplastic properties of hydralazine in prostate cancer. *Oncotarget.* 2014; 5(15): 5950–64. doi: 10.18632/oncotarget.1909.
62. Singh N., Dueñas-González A., Lyko F., Medina-Franco J.L. Molecular modeling and molecular dynamics studies of hydralazine with human DNA methyltransferase 1. *ChemMedChem.* 2009; 4(5): 792–9. doi: 10.1002/cmdc.200900017.
63. Kumanishi S., Yamanegi K., Nishiura H., Fujihara Y., Kobayashi K., Nakasho K., Futani H., Yoshiya S. Epigenetic modulators hydralazine and sodium valproate act synergistically in VEGF-mediated anti-angiogenesis and VEGF interference in human osteosarcoma and vascular endothelial cells. *Int J Oncol.* 2019; 55(1): 167–78. doi: 10.3892/ijo.2019.4811.
64. Bauman J., Shaheen M., Verschraegen C.F., Belinsky S.A., Houman Fekrazad M., Lee F.C., Rabinowitz I., Ravindranathan M., Jones D.V. Jr. A Phase I Protocol of Hydralazine and Valproic Acid in Advanced, Previously Treated Solid Cancers. *Transl Oncol.* 2014; 7(3): 349–54. doi: 10.1016/j.tranon.2014.03.001.
65. Espinoza-Zamora J.R., Labardini-Méndez J., Sosa-Espinoza A., López-González C., Vieyra-García M., Candelaria M., Lozano-Zavaleta V., Toledano-Cuevas D.V., Zapata-Canto N., Cervera E., Dueñas-González A. Efficacy of hydralazine and valproate in cutaneous T-cell lymphoma, a phase II study. *Expert Opin Investig Drugs.* 2017; 26(4): 481–7. doi: 10.1080/13543784.2017.1291630. Erratum in: *Expert Opin Investig Drugs.* 2017; 26(4): 523. doi: 10.1080/13543784.2017.1306178.
66. Maiti A., Daver N.G. Eprenetapopt in the Post-Transplant Setting: Mechanisms and Future Directions. *J Clin Oncol.* 2022; 40(34): 3994–7. doi: 10.1200/JCO.22.01505.
67. Qiang W., Jin T., Yang Q., Liu W., Liu S., Ji M., He N., Chen C., Shi B., Hou P. PRIMA-1 selectively induces global DNA demethylation in p53 mutant-type thyroid cancer cells. *J Biomed Nanotechnol.* 2014; 10(7): 1249–58. doi: 10.1166/jbn.2014.1862.
68. Teoh P.J., Bi C., Sintosebastian C., Tay L.S., Fonseca R., Chng W.J. PRIMA-1 targets the vulnerability of multiple myeloma of deregulated protein homeostasis through the perturbation of ER stress via p73 demethylation. *Oncotarget.* 2016; 7(38): 61806–19. doi: 10.18632/oncotarget.11241.
69. Fujihara K.M., Zhang B.Z., Jackson T.D., Ogunkola M.O., Nijagal B., Milne J.V., Sallman D.A., Ang C.S., Nikolic I., Kearney C.J., Hogg S.J., Cabalag C.S., Sutton V.R., Watt S., Fujihara A.T., Trapani J.A., Simpson K.J., Stojanovski D., Leimkühler S., Haupt S., Phillips W.A., Clemons N.J. Eprenetapopt triggers ferroptosis, inhibits NFS1 cysteine desulfurase, and synergizes with serine and glycine dietary restriction. *Sci Adv.* 2022; 8(37). doi: 10.1126/sciadv.abm9427.
70. Amirtharaj F., Venkatesh G.H., Wojtas B., Nawafleh H.H., Mahmood A.S., Nizami Z.N., Khan M.S., Thierry J., Chouaib S. p53 reactivating small molecule PRIMA-1MET/APR-246 regulates genomic instability in MDA-MB-231 cells. *Oncol Rep.* 2022; 47(4): 85. doi: 10.3892/or.2022.8296.
71. Fransson Å., Glaessgen D., Alfredsson J., Wiman K.G., Bajalica-Lagercrantz S., Mohell N. Strong synergy with APR-246 and DNA-damaging drugs in primary cancer cells from patients with TP53 mutant High-Grade Serous ovarian cancer. *J Ovarian Res.* 2016; 9(1): 27. doi: 10.1186/s13048-016-0239-6.
72. Sallman D.A., Dezern A.E., Steensma D., Sweet K.L., Cluzeau T., Sekeres M., Garcia-Manero G., Roboz G.J., McLemore A.F., McGraw K.L., Puskas J., Zhang L., Bhagat C.K., Yao J., Ali N.A., Padron E., Tell R., Lancet J.E., Fenaux P., List A., Komrokji R.S. Phase 1b/2 Combination Study of APR-246 and Azacitidine (AZA) in Patients with TP53 mutant Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Acute Myeloid Leukemia (AML). *Blood Adv.* 2018; 132 (s1). doi: 10.1182/blood-2018-99-119990.
73. Sun N., Zhang J., Zhang C., Zhao B., Jiao A. DNMTs inhibitor SGI-1027 induces apoptosis in Huh7 human hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Lett.* 2018; 16(5): 5799–806. doi: 10.3892/ol.2018.9390.
74. Garcia-Dominguez P., Dell'aversana C., Alvarez R., Altucci L., de Lera A.R. Synthetic approaches to DNMT inhibitor SGI-1027 and effects on the U937 leukemia cell line. *Bioorg Med Chem Lett.* 2013; 23(6): 1631–5. doi: 10.1016/j.bmcl.2013.01.085.
75. Kelly G.S. Quercetin. Monograph. *Altern Med Rev.* 2011; 16(2): 172–94.
76. Билык О.В., Рыбальченко В.К., Романюк Б.П. Биофлавоноид кверцетин и перспективы его использования в медицине. Загальна патологія та патологічна фізіологія. 2007; 2(1): 4–9. [Bilyk O.V., Rybalchenko V.K., Romanyuk B.P. Bioflavonoid quercetin and the prospects for its use in medicine. General pathology and pathological physiology. 2007; 2(1): 4–9. (in Russian)].
77. Alvarez M.C., Maso V., Torello C.O., Ferro K.P., Saad S.T.O. The polyphenol quercetin induces cell death in leukemia by targeting epigenetic regulators of pro-apoptotic genes. *Clin Epigenetics.* 2018; 10(1): 139. doi: 10.1186/s13148-018-0563-3.
78. Kedhari Sundaram M., Hussain A., Haque S., Raina R., Afroze N. Quercetin modifies 5' CpG promoter methylation and reactivates various tumor suppressor genes by modulating epigenetic marks in human cervical cancer cells. *J Cell Biochem.* 2019; 120(10): 18357–69. doi: 10.1002/jcb.29147.
79. Almatroodi S.A., Almatroudi A., Khan A.A., Alhumaydhi F.A., Alsahli M.A., Rahmani A.H. Potential Therapeutic Targets of Epigallocatechin Gallate (EGCG), the Most Abundant Catechin in Green Tea, and Its Role in the Therapy of Various Types of Cancer. *Molecules.* 2020; 25(14): 3146. doi: 10.3390/molecules25143146.
80. Minelli C., Cianfruglia L., Laudadio E., Mobbili G., Galeazzi R., Armeni T. Effect of Epigallocatechin-3-Gallate on EGFR Signaling and Migration in Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(21). doi: 10.3390/ijms222111833.
81. Della Via F.I., Shiraishi R.N., Santos I., Ferro K.P., Salazar-Terreros M.J., Franchi Junior G.C., Rego E.M., Saad S.T.O., Torello C.O. (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis and differentiation in leukaemia by targeting reactive oxygen species and PIN1. *Sci Rep.* 2021; 11(1). doi: 10.1038/s41598-021-88478-z.
82. Sheng J., Shi W., Guo H., Long W., Wang Y., Qi J., Liu J., Xu Y. The Inhibitory Effect of (-)-Epigallocatechin-3-Gallate on Breast Cancer Progression via Reducing SCUBE2 Methylation and DNMT Activity. *Molecules.* 2019; 24(16). doi: 10.3390/molecules24162899.
83. Khan M.A., Hussain A., Sundaram M.K., Alalami U., Gunasekera D., Ramesh L., Hamza A., Quraishi U. (-)-Epigallocatechin-3-gallate reverses the expression of various tumor-suppressor genes by inhibiting DNA

methyltransferases and histone deacetylases in human cervical cancer cells. *Oncol Rep.* 2015; 33(4): 1976–84. doi: 10.3892/or.2015.3802.

84. Nandakumar V., Vaid M., Katiyar S.K. (-)-Epigallocatechin-3-gallate reactivates silenced tumor suppressor genes, Cip1/p21 and p16INK4a, by reducing DNA methylation and increasing histones acetylation in human skin cancer cells. *Carcinogenesis.* 2011; 32(4): 537–44. doi: 10.1093/carcin/bgq285.

85. Alizadeh M., Nafari A., Safarzadeh A., Veiskarami S., Almasian M., Asghar Kiani A. The Impact of EGCG and RG108 on SOCS1 Promoter DNA Methylation and Expression in U937 Leukemia Cells. *Rep Biochem Mol Biol.* 2021; 10(3): 455–61. doi: 10.52547/rbmb.10.3.455.

86. Khan M.I., Nur S.M., Abdulaal W.H. A study on DNA methylation modifying natural compounds identified EGCG for induction of IFI16 gene expression related to the innate immune response in cancer cells. *Oncol Lett.* 2022; 24(1): 218. doi: 10.3892/ol.2022.13339.

87. Fang M.Z., Wang Y., Ai N., Hou Z., Sun Y., Lu H., Welsh W., Yang C.S. Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. *Cancer Res.* 2003; 63(22): 7563–70.

88. Chen L.L., Han W.F., Geng Y., Su J.S. A genome-wide study of DNA methylation modified by epigallocatechin-3-gallate in the CAL-27 cell line. *Mol Med Rep.* 2015; 12(4): 5886–90. doi: 10.3892/mmr.2015.4118.

89. McLarty J., Bigelow R.L., Smith M., Elmajian D., Ankem M., Cardelli J.A. Tea polyphenols decrease serum levels of prostate-specific antigen, hepatocyte growth factor, and vascular endothelial growth factor in prostate cancer patients and inhibit production of hepatocyte growth factor and vascular endothelial growth factor in vitro. *Cancer Prev Res (Phila).* 2009; 2(7): 673–82. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-08-0167.

90. Jazvinčak Jembrek M., Oršolić N., Mandić L., Sadžak A., Šegota S. Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Effects of Flavonols: Targeting Nrf2, NF-κB and p53 Pathways in Neurodegeneration. *Antioxidants (Basel).* 2021; 10(10): doi: 10.3390/antiox10101628.

91. Jia S., Xu X., Zhou S., Chen Y., Ding G., Cao L. Fisetin induces autophagy in pancreatic cancer cells via endoplasmic reticulum stress- and mitochondrial stress-dependent pathways. *Cell Death Dis.* 2019; 10(2): doi: 10.1038/s41419-019-1366-y. Erratum in: *Cell Death Dis.* 2024; 15(1): doi: 10.1038/s41419-023-06399-3.

92. Mukhtar E., Adhami V.M., Sechi M., Mukhtar H. Dietary flavonoid fisetin binds to β-tubulin and disrupts microtubule dynamics in prostate cancer cells. *Cancer Lett.* 2015; 367(2): 173–83. doi: 10.1016/j.canlet.2015.07.030.

93. Hassan F.U., Rehman M.S., Khan M.S., Ali M.A., Javed A., Nawaz A., Yang C. Curcumin as an Alternative Epigenetic Modulator: Mechanism of Action and Potential Effects. *Front Genet.* 2019; 10: doi: 10.3389/fgene.2019.00514.

94. Кирсанов К.И., Власова О.А., Фетисов Т.И., Зенков Р.Г., Лесовая Е.А., Белицкий Г.А., Гурова К., Якубовская М.Г. Влияние ДНК-тропных антиканцерогенных соединений на механизмы регуляции экспрессии генов. *Успехи молекулярной онкологии.* 2018; 5(4): 41–63. [Kirsanov K.I., Vlasova O.A., Fetisov T.I., Zenkov R.G., Lesovaya E.A., Belitsky G.A., Gurova K., Yakubovskaya M.G. Influence of DNA-binding compounds with cancer preventive activity on the mechanisms of gene expression regulation. *Advances in Molecular Oncology.* 2018; 5(4): 41–63. (in Russian)]. doi: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-41-63.

95. Yu J., Peng Y., Wu L.C., Xie Z., Deng Y., Hughes T., He S., Mo X., Chiu M., Wang Q.E., He X., Liu S., Grever M.R., Chan K.K., Liu Z. Curcumin down-regulates DNA methyltransferase 1 and plays an anti-leukemic role in acute myeloid leukemia. *PLoS One.* 2013; 8(2): doi: 10.1371/journal.pone.0055934.

96. Chen J., Ying Y., Zhu H., Zhu T., Qu C., Jiang J., Fang B. Curcumin-induced promoter hypermethylation of the mammalian target of rapamycin gene in multiple myeloma cells. *Oncol Lett.* 2019; 17(1): 1108–14. doi: 10.3892/ol.2018.9662.

97. Al-Yousef N., Shinwari Z., Al-Shahrani B., Al-Showimi M., Al-Moghrabi N. Curcumin induces re-expression of BRCA1 and suppression of γ synuclein by modulating DNA promoter methylation in breast cancer cell lines. *Oncol Rep.* 2020; 43(3): 827–38. doi: 10.3892/or.2020.7473.

98. Link A., Balaguer F., Shen Y., Lozano J.J., Leung H.C., Boland C.R., Goel A. Curcumin modulates DNA methylation in colorectal cancer cells. *PLoS One.* 2013; 8(2): doi: 10.1371/journal.pone.0057709.

99. Hosokawa M., Seiki R., Iwakawa S., Ogawara K.I. Combination of azacytidine and curcumin is a potential alternative in decitabine-resistant colorectal cancer cells with attenuated deoxycytidine kinase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021; 578: 157–62. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.09.041.

100. Howells L.M., Iwuji C.O.O., Irving G.R.B., Barber S., Walter H., Sidat Z., Griffin-Teall N., Singh R., Foreman N., Patel S.R., Morgan B.,

Steward W.P., Gescher A., Thomas A.L., Brown K. Curcumin Combined with FOLFOX Chemotherapy Is Safe and Tolerable in Patients with Metastatic Colorectal Cancer in a Randomized Phase IIa Trial. *J Nutr.* 2019; 149(7): 1133–9. doi: 10.1093/jn/nxz029.

101. Saghatelian T., Tananyan A., Janoyan N., Tadevosyan A., Petrosyan H., Hovhannisyan A., Hayrapetyan L., Arustamyan M., Arnhold J., Rotmann A.R., Hovhannisyan A., Panossian A. Efficacy and safety of curcumin in combination with paclitaxel in patients with advanced, metastatic breast cancer: A comparative, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytomedicine.* 2020; 70: doi: 10.1016/j.phymed.2020.153218.

102. Rauf A., Imran M., Suleria H.A.R., Ahmad B., Peters D.G., Mubarak M.S. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. *Food Funct.* 2017; 8(12): 4284–305. doi: 10.1039/c7fo01300k.

103. Aldawsari F.S., Aguayo-Ortiz R., Kapilashrami K., Yoo J., Luo M., Medina-Franco J.L., Velázquez-Martínez C.A. Resveratrol-salicylate derivatives as selective DNMT3 inhibitors and anticancer agents. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2016; 31(5): 695–703. doi: 10.3109/14756366.2015.1058256.

104. Izquierdo-Torres E., Hernández-Oliveras A., Meneses-Morales I., Rodríguez G., Fuentes-García G., Zarain-Herzberg A. Resveratrol up-regulates ATP2A3 gene expression in breast cancer cell lines through epigenetic mechanisms. *Int J Biochem Cell Biol.* 2019; 113: 37–47. doi: 10.1016/j.biocel.2019.05.020.

105. Sharifi-Rad J., Quispe C., Imran M., Rauf A., Nadeem M., Gondal T.A., Ahmad B., Atif M., Mubarak M.S., Sytar O., Zhilina O.M., Garsiya E.R., Smeriglio A., Trombetta D., Pons D.G., Martorell M., Cardoso S.M., Razis A.F.A., Sumusi U., Kamal R.M., Rotariu L.S., Butnariu M., Docea A.O., Calina D. Genistein: An Integrative Overview of Its Mode of Action, Pharmacological Properties, and Health Benefits. *Oxid Med Cell Longev.* 2021. doi: 10.1155/2021/3268136.

106. Sundaram M.K., Ansari M.Z., Al Mutery A., Ashraf M., Nasab R., Rai S., Rais N., Hussain A. Genistein Induces Alterations of Epigenetic Modulatory Signatures in Human Cervical Cancer Cells. *Anticancer Agents Med Chem.* 2018; 18(3): 412–21. doi: 10.2174/1871520617666170918142114.

107. Sharma M., Tollefsbol T.O. Combinatorial epigenetic mechanisms of sulforaphane, genistein and sodium butyrate in breast cancer inhibition. *Exp Cell Res.* 2022; 416(1). doi: 10.1016/j.yexcr.2022.113160.

108. Xie Q., Bai Q., Zou L.Y., Zhang Q.Y., Zhou Y., Chang H., Yi L., Zhu J.D., Mi M.T. Genistein inhibits DNA methylation and increases expression of tumor suppressor genes in human breast cancer cells. *Genes Chromosomes Cancer.* 2014; 53(5): 422–31. doi: 10.1002/gcc.22154.

109. Romagnolo D.F., Donovan M.G., Papoutsis A.J., Doetschman T.C., Selmin O.I. Genistein Prevents BRCA1 CpG Methylation and Proliferation in Human Breast Cancer Cells with Activated Aromatic Hydrocarbon Receptor. *Curr Dev Nutr.* 2017; 1(6): doi: 10.3945/cdn.117.000562.

110. Li H., Xu W., Huang Y., Huang X., Xu L., Lv Z. Genistein demethylates the promoter of CHD5 and inhibits neuroblastoma growth in vivo. *Int J Mol Med.* 2012; 30(5): 1081–6. doi: 10.3892/ijmm.2012.1118.

111. Pintova S., Dharmapari S., Moshier E., Zubizarreta N., Ang C., Holcombe R.F. Genistein combined with FOLFOX or FOLFOX-Bevacizumab for the treatment of metastatic colorectal cancer: phase I/II pilot study. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2019; 84(3): 591–8. doi: 10.1007/s00280-019-03886-3.

112. Chua G.N.L., Wassarman K.L., Sun H., Alp J.A., Jarczyk E.I., Kuzio N.J., Bennett M.J., Malachowsky B.G., Kruse M., Kennedy A.J. Cytosine-Based TET Enzyme Inhibitors. *ACS Med Chem Lett.* 2019; 10(2): 180–5. doi: 10.1021/acsmchemlett.8b00474.

113. Weirath N.A., Hurben A.K., Chao C., Pujari S.S., Cheng T., Liu S., Tretyakova N.Y. Small Molecule Inhibitors of TET Dioxygenases: Bobcat339 Activity Is Mediated by Contaminating Copper(II). *ACS Med Chem Lett.* 2022; 13(5): 792–8. doi: 10.1021/acsmchemlett.1c00677.

114. Singh A.K., Zhao B., Liu X., Wang X., Li H., Qin H., Wu X., Ma Yu., Horne D., Yu X. Selective targeting of TET catalytic domain promotes somatic cell reprogramming. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020; 117(7): 3621–6. doi: 10.1073/pnas.1910702117.

115. Guan Y., Tiwari A.D., Phillips J.G., Hasipek M., Grabowski D.R., Pagliuca S., Gopal P., Kerr C.M., Adema V., Radivoyevitch T., Parker Y., Lindner D.J., Meggendorfer M., Abazeed M., Sekeres M.A., Mian O.Y., Haferlach T., Maciejewski J.P., Jha B.K. A Therapeutic Strategy for Preferential Targeting of TET2 Mutant and TET-dioxygenase Deficient Cells in Myeloid Neoplasms. *Blood Cancer Discov.* 2021; 2(2): 146–61. doi: 10.1158/2643-3230.BCD-20-0173.

Поступила/Received 13.04.2024
Одобрена после рецензирования/Revised 22.07.2024
Принята к публикации/Accepted 16.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Максимова Варвара Павловна, младший научный сотрудник лаборатории канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5090-7297. Researcher ID (WOS): S-7580-2019. Author ID (Scopus): 57195322203. ORCID: 0000-0003-0896-2952.

Макусь Юлия Валерьевна, практикант лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; студентка 1-го курса магистратуры факультета анализа данных в биологии и медицине, НИУ «Высшая школа экономики» (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AAK-2145-2020. Author ID (Scopus): 57218900186. ORCID: 0000-0001-6820-4198.

Попова Валерия Геннадьевна, лаборант-исследователь лаборатории канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4668-4583. Researcher ID (WOS): AAL-7244-2021. Author ID (Scopus): 57226857087. ORCID: 0000-0002-7301-605X.

Усалка Ольга Геннадьевна, практикант лаборатории канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; практикант факультета биологии, Университет Тафтса (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AAK-2008-2020. Author ID (Scopus): 57218894338. ORCID: 0000-0001-9525-0771.

Белицкий Геннадий Альтерович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный консультант лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4037-0033. Researcher ID (WOS): L-3062-2015. ORCID: 0000-0002-3167-7204.

Якубовская Марианна Геннадьевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом химического канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6858-3880. Researcher ID (WOS): R-6984-2016. Author ID (Scopus): 57217461641. ORCID: 0000-0002-9710-8178.

Кирсанов Кирилл Игоревич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; ассистент кафедры общей врачебной практики, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (г. Москва, Россия). E-mail: Kkirsanov85@yandex.ru. SPIN-код: 7329-7263. Researcher ID (WOS): L-3062-2015. Author ID (Scopus): 36461343900. ORCID: 0000-0002-8599-6833.

ВКЛАД АВТОРОВ

Максимова Варвара Павловна: определение структуры обзора, проведение системного анализа, обобщение данных и подготовка текста обзора.

Макусь Юлия Валерьевна: обзор литературы по теме статьи, работа над иллюстрациями, подготовка текста обзора.

Попова Валерия Геннадьевна: обзор литературы по теме статьи, работа над иллюстрациями, подготовка текста обзора.

Усалка Ольга Геннадьевна: обзор литературы по теме статьи, подготовка раздела «Ингибиторы TETs».

Белицкий Геннадий Альтерович: проведение системного анализа и обобщение данных.

Якубовская Марианна Геннадьевна: проведение системного анализа и обобщение данных.

Кирсанов Кирилл Игоревич: определение структуры обзора, проведение системного анализа и обобщение данных.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-75-10163).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

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

Yulia V. Makus, Trainee of the Laboratory of Mechanisms of Chemical Carcinogenesis, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia; 1st year Master's student of the Faculty of Data Analysis in Biology and Medicine, National Research University Higher School of Economics (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAK-2145-2020. Author ID (Scopus): 57218900186. ORCID: 0000-0001-6820-4198.

Valeria G. Popova, Research Laboratory Assistant, Carcinogenic Substances Laboratory, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia; RUDN University (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAL-7244-2021. Author ID (Scopus): 57226857087. ORCID: 0000-0002-7301-605X.

Olga G. Usalka, Trainee of the Laboratory of Carcinogenic Substances, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia; Trainee at the Faculty of Biology, Tufts University (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAK-2008-2020. Author ID (Scopus): 57218894338. ORCID: 0000-0001-9525-0771.

Gennady A. Belitsky, MD, Professor, Chief Scientific Advisor, Laboratory of Mechanisms of Chemical Carcinogenesis, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): L-3062-2015. ORCID: 0000-0002-3167-7204.

Marianna G. Yakubovskaya, MD, DSc, Head of the Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia; RUDN University (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): R-6984-2016. Author ID (Scopus): 57217461641. ORCID: 0000-0002-9710-8178.

Kirill I. Kirsanov, DSc, Head of the Carcinogenic Substances Laboratory, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia; Assistant, Department of General Medical Practice, RUDN University (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): L-3062-2015. Author ID (Scopus): 36461343900. ORCID: 0000-0002-8599-6833.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Varvara P. Maksimova: determining the structure of the review, conducting system analysis, summarizing data and preparing the text of the review.

Yulia V. Makus: literature review, preparation of figures, preparation of the review text.

Valeria G. Popova: literature review, preparation of figures, preparation of the review text.

Olga G. Usalka: literature review, preparation of the section “TETs inhibitors”.

Gennady A. Belitsky: conducting system analysis and summarizing data.

Marianna G. Yakubovskaya: conducting system analysis and summarizing data.

Kirill I. Kirsanov: determining the structure of the review, conducting system analysis and summarizing data.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This work was financially supported by the Russian Science Foundation (project No. 21-75-10163).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Романко Ю.С., Решетов И.В. Экспериментальная и клиническая комбинированная фотодинамическая терапия опухолевых и предопухолевых заболеваний с использованием различных видов излучений. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 141–151. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-141-151

For citation: Romanko Yu.S., Reshetov I.V. Experimental and clinical combined photodynamic therapy for malignant and premalignant lesions using various types of radiation. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 141–151. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-141-151

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ КОМБИНИРОВАННАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕВЫХ И ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ИЗЛУЧЕНИЙ

Ю.С. Романко^{1,2}, И.В. Решетов^{1,2,3}

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России

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

²Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России

Россия, 125371, г. Москва, Волоколамское шоссе, 91

³ЧОУВО «Московский университет им. С.Ю. Витте»

Россия, 115432, г. Москва, 2-й Кожуховский пр-д, 12/1

Аннотация

Цель исследования – представить различные типы излучения, которые могут увеличить эффективность комбинированной фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении опухолевых и предопухолевых заболеваний. **Материал и методы.** По данной проблеме проведен поиск и анализ баз данных Web of Science, Scopus, MedLine, Library, РИНЦ, в основном за последние 10 лет. Мы нашли 230 источников, посвященных изучению данной темы, из которых 64 включили в обзор. **Результаты.** Фотодинамическая терапия представляет собой новую технологию лечения рака, которая становится все более распространенной в последние годы. В ряде случаев она нередко является альтернативным методом лечения онкологических заболеваний, когда есть высокий риск развития побочных эффектов и осложнений при проведении традиционных методов лечения, таких как хирургическое вмешательство, лучевая терапия и химиотерапия. Для успешной и эффективной реализации ФДТ необходимы фотосенсибилизатор (ФС), световая энергия и кислород, результатом комбинации которых является образование активных форм кислорода (АФК), которые уничтожают раковые клетки. В обзоре рассматриваются основные принципы, механизмы и важные компоненты ФДТ в самостоятельном и комбинированном вариантах. Несмотря на то, что ФДТ является эффективным и неинвазивным методом лечения рака, у неё есть некоторые ограничения, такие как незначительная глубина проникновения света в биологические ткани, малоэффективные ФС и гипоксия опухоли. В нашем исследовании рассматриваются новые стратегии, которые используют другие источники энергии, такие как инфракрасные и рентгеновские лучи, ультразвук, а также электрическое и магнитное поля, для усиления эффекта ФДТ и преодоления её ограничений. Большие надежды также связаны с применением комбинации ФДТ и нейтрон-захватной терапии (НЗТ). В настоящее время разработаны производные хлорина, связанные с носителями бора, которые могут использоваться как для флуоресцентной диагностики и ФДТ, так и для НЗТ. Синтезированные соединения обладают высокой селективностью накопления в опухоли. В настоящее время получены обнадеживающие доклинические результаты, демонстрирующие высокую эффективность комбинированного использования НЗТ и ФДТ. **Заключение.** Комбинирование с различными источниками энергии является ключевым фактором для дальнейшего развития ФДТ. Исследования, направленные на преодоление ограничений ФДТ, будут способствовать раскрытию полного потенциала этой технологии в клинической практике.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, комбинированное лечение, нейтрон-захватная терапия, инфракрасное излучение, рентгеновское излучение, излучение Вавилова–Черенкова, ультразвуковое излучение, электромагнитное излучение, опухолевые заболевания, предопухолевые заболевания.

EXPERIMENTAL AND CLINICAL COMBINED PHOTODYNAMIC THERAPY FOR MALIGNANT AND PREMALIGNANT LESIONS USING VARIOUS TYPES OF RADIATION

Yu.S. Romanko^{1,2}, I.V. Reshetov^{1,2,3}

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia
8/2, Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia

²Academy of Postgraduate Education, FSCC of FMBA of Russia
91, Volokolamskoe shosse, Moscow, 125371, Russia

³S.Y. Witte Moscow University
12/1, 2nd Kozhukhovskiy Drive, Moscow, 115432, Russia

Abstract

The aim of the study was to present various types of radiation that can increase the effectiveness of combined photodynamic therapy (PDT) for malignant and premalignant lesions. **Material and Methods.** The Web of Science, Scopus, MedLine, Library, and RSCI databases were used for finding publications on this topic, mainly over the last 10 years. Of 230 sources, 64 were included in the review. **Results.** Photodynamic therapy is a new cancer treatment technology that has become increasingly popular in recent years. It is often an alternative method of treating cancer when there is a high risk of side effects and complications during traditional treatments such as surgery, radiation therapy and chemotherapy. PDT requires a photosensitizer, light energy, and oxygen to create reactive oxygen species that destroy cancer cells. This review examines the basic principles and mechanisms of PDT used alone and in combination with other traditional therapies. Despite the fact that PDT is an effective and non-invasive cancer treatment, it has some limitations, such as low light penetration depth, ineffective photosensitizers and tumor hypoxia. Our study examines new strategies that use other energy sources, such as infrared- and X-rays, ultrasound, as well as electric and magnetic fields, to enhance the PDT effect and overcome its limitations. Great hopes are also associated with the use of a combination of PDT and neutron capture therapy (NCT). Currently, chlorin derivatives associated with boron carriers have been developed. They can be used for both fluorescence diagnostics and PDT, as well as for NCT. The synthesized compounds have a high selectivity of accumulation in the tumor. To date, encouraging preclinical results of high efficiency of combined use of NCT and PDT have already been obtained. **Conclusion.** Combination with various energy sources is a key factor for further development of PDT. Future research aimed at overcoming the limitations of PDT will contribute to unlocking the full potential of this technology in clinical practice.

Key words: photodynamic therapy, photosensitizer; combined treatment; neutron capture therapy, infrared radiation, X-ray radiation, Vavilov–Cherenkov radiation, ultrasonic radiation, electromagnetic radiation, tumor diseases, precancerous diseases.

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой метод лечения предопухолевых заболеваний и злокачественных новообразований, который использует три основных фактора для селективного разрушения ткани-мишени: фотосенсибилизатор (ФС), свет с определенной длиной волны и кислород. Ни один из этих факторов сам по себе не является токсичным, но их комбинация вызывает фотохимическую реакцию, которая приводит к образованию активных форм кислорода (АФК). Эти АФК повреждают опухолевые клетки и приводят к разрушению ткани-мишени [1]. Сеанс ФДТ включает в себя два этапа: введение ФС (внутривенное или локальное) и последующее облучение светом с определенной длиной волны в месте патологически измененных тканей. Между введением ФС и облучением необходим интервал времени, чтобы ФС селективно накопился в опухоли. По истечении соответствующего времени (от нескольких минут

до нескольких дней) опухоль облучается дистанционно или интерстициально (внутриканально) красным или ближним инфракрасным светом [2].

Фотодинамическая терапия начинается с поглощения света ФС в ткани-мишени, что запускает цепную реакцию фотохимических процессов, приводящих к образованию АФК. ФС в своем основном состоянии (синглетное состояние, ¹ФС) имеет устойчивую электронную конфигурацию с двумя электронами с противоположными спинами. Поглощение фотона света определенной длины волны приводит к переходу ФС в короткоживущее (несколько наносекунд) возбужденное синглетное состояние (¹ФС*). Это состояние нестабильно и быстро теряет избыток энергии путем излучения света (флуоресценции) или выделения тепла (внутреннего преобразования). Однако синглетное состояние может перейти в более стабильное и долговечное (от 10⁻⁶ до 10⁻³ с) триплетное возбужденное состояние (³ФС*) через процесс межси-

стемного взаимодействия. Триплетное состояние может вернуться в основное состояние путем излучения света (фосфоресценции) или претерпеть два типа реакций. Длительного времени нахождения в триплетном состоянии достаточно для передачи его энергии непосредственно молекулярному кислороду (O_2). Этот процесс приводит к образованию синглетного кислорода (1O_2) и основного состояния ФС, который называется реакцией II типа. Также может произойти реакция типа I, если возбужденный ФС взаимодействует с клеточным субстратом, таким как клеточная мембрана или молекула, и подвергается переносу электронов, образуя АФК. Этот процесс может включать в себя приобретение или отдачу электрона, что приводит к образованию катионных или анионных радикалов соответственно. Эти радикалы вступают в реакцию с O_2 , образуя АФК, такие как супероксидный анионный радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал ($HO\cdot$) и перекись водорода (H_2O_2). Продукты, образующиеся в результате реакций I и II типов, приводят к разрушению опухоли с помощью трех взаимосвязанных механизмов: прямого цитотоксического воздействия на опухолевые клетки (апоптоз, некроз, аутофагия, некроптоз, митотическая катастрофа, пироптоз и партанатоз), непрямого повреждения связанной с опухолью сосудистой сети и индукции воспалительной реакции, которая может активировать иммунный ответ против опухолевых клеток. Обе реакции могут происходить одновременно, но их соотношение зависит от типа используемого ФС, концентрации субстрата и O_2 , а также сродства ФС к субстрату. Кроме того, в литературе описывается реакция III типа при ФДТ. В отличие от реакции II типа, этот путь работает независимо от O_2 , позволяя ФС напрямую взаимодействовать со специфическими биомолекулами-мишенями. Этот механизм дает отличительное преимущество, полностью обходя трудности, связанные с достижением необходимой концентрации O_2 , которые часто встречаются при традиционной ФДТ [3].

Из-за высокой реактивности и короткого периода полураспада АФК ФДТ непосредственно воздействует только на клетки, расположенные близко к зоне выработки АФК (зона локализации ФС). Степень повреждения и цитотоксичности, возникающих в результате ФДТ, зависит от типа и дозы ФС [4], его внутри- и внеклеточной локализации, дозы света и скорости светового потока, доступности O_2 и интервала между приемом ФС и воздействием света [5].

Основные компоненты ФДТ

Свет является важной составляющей ФДТ. Клиническая эффективность ФДТ зависит от точности доставки света к ткани-мишени и его дозы, которая определяется скоростью и интенсивностью светового потока, временем воздействия и режимом доставки (однократная или фракционированная).

Высокие дозы света за короткий промежуток времени, то есть высокие скорости светового потока, не являются оптимальными для ФДТ, так как они приводят к быстрому истощению O_2 в тканях, что ограничивает выработку АФК и, следовательно, уменьшает эффективность лечения. Низкие скорости светового потока, напротив, способствуют избирательному апоптозу опухолевых клеток, что более предпочтительно, чем воспаление и отек, которые могут возникнуть при неконтролируемом разрыве клеточного содержимого во время некроза. Обычно для сеансов ФДТ используются полупроводниковые лазеры, неоновые-гелиевые лазеры, светоизлучающие диоды и т.д. [6]. Кроме того, дневной свет также может использоваться в качестве источника света для ФДТ [7].

Молекулярный O_2 является основным фактором, вызывающим цитотоксичность при ФДТ. Поэтому для эффективного проведения ФДТ необходимо обеспечить достаточную оксигенацию тканей. Концентрация кислорода может сильно отличаться в различных опухолях и даже в разных частях одной опухоли, в зависимости от плотности сосудистой сети. В случае более глубоких солидных опухолей, которые часто имеют нехватку кислорода в своем микроокружении, это может стать ограничивающим фактором. Как уже упоминалось, скорость светового потока при ФДТ связана с истощением кислорода в результате генерации цитотоксического 1O_2 . Истощение O_2 происходит, когда скорость его потребления в результате фотодинамической реакции превышает скорость его диффузии в облучаемой области. Поддержание постоянной скорости светового потока (и общей дозы света) во время ФДТ позволяет избежать превышения скорости потребления O_2 над скоростью его диффузии в ткани-мишени. Этот баланс также может быть достигнут с помощью фракционирования света [8].

Другим важным компонентом ФДТ являются ФС, которые определяются как вещества, способные поглощать свет с определенной длиной волны и запускать фотохимические и фотофизические реакции [9]. Большинство ФС, используемых в ФДТ, представляют собой порфирины [10], хлорины [11], бактериохлорины, бактериохлорофиллы и их производные [12], которые имеют общую структуру тетрапиррольного макроцикла, аналогичную циклу протопорфирина, содержащегося в гемоглобине. Первыми соединениями, показавшими потенциал в лечении рака с помощью ФДТ, были производные гематопорфирина (HpD), очищенная версия которых (фотофрин и другие) является представителями первого поколения ФС. Однако ФС первого поколения имели ряд ограничений, связанных с их сложной молекулярной структурой, проблемами с синтезом, низкими квантовыми выходами, гидрофобной природой и невысокой селективностью, что значительно снижало их

способность проникать в ткани [3]. Второе поколение ФС (фотодитазин и другие) характеризуется более высокими степенями чистоты веществ и образованием $^1\text{O}_2$, а также лучшим проникновением света в глубоко расположенные ткани благодаря их максимальному поглощению в диапазоне длин волн 650–800 нм. Третье поколение ФС представляет собой молекулы с улучшенной доставкой в опухоль благодаря соединению с нацеливающими молекулами (конъюгатами антител) или инкапсуляции в носители, включая липосомы, липидные и полимерные наночастицы и дендримеры. Эти носители способны усилить проникновение в кожу, растворимость и стабильность ФС [13].

Экспериментальные исследования показали, что различные методы ФДТ, применяемые для необратимого повреждения клеток и сосудов, вызывают различные изменения в метаболизме. Это может быть связано с разной степенью гипоксии, вызванной использованием различных ФС [14].

В последние годы все большее внимание уделяется использованию метиленового синего (МС) в ФДТ, направленное воздействие которого на митохондрии может привести к апоптозу опухолевых клеток [15]. Результаты систематического анализа 10 исследований показали эффективность ФДТ с использованием МС (в дозировке от 0,04 до 24,12 мг/кг) при лечении различных видов рака и меланомы [16].

Показана эффективность ФДТ и флуоресцентной диагностики (ФД) с подъязычным введением 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) при лечении больных с различными предраковыми заболеваниями полости рта и гортани [17], а также результативность самой ФД [18, 19]. Продemonстрирована эффективность ФД для оптимизации ФДТ [20], повышения эффективности комбинированного лечения рака желудка, толстой и прямой кишки, для улучшения результатов билиарной хирургии, холангиографии, идентификации перитонеального карциноматоза и метастазов печени [21]. Использование коллоидного раствора наночастиц, включая индоцианин зеленый (ICG NPs), повышало эффективность ФД для определения границ роста опухолей и путей их распространения [22]. Показано, что перспективный наноматериал – золотой нанокластер, покрытый дигидролипоевой кислотой (AuNC@DHLLA), сочетает в себе преимущества большой глубины проникновения в ткани, эффективной генерации АФК, фотохимического механизма I типа и низкой токсичности *in vivo* [23].

На данный момент имеется много данных, подтверждающих эффективность ФДТ [2], особенно в экспериментальных исследованиях [24, 25]. Метод ФДТ показал высокую эффективность при лечении предопухолевых заболеваний и различных видов опухолей, таких как актинический кератоз, базальноклеточный рак кожи, болезнь

Боуэна, грибковидный микоз, рак шейки матки, рак слизистой оболочки полости рта, рак молочной железы, экстрамаммарный рак Педжета, рак легких, холангиоцеллюлярный рак, меланома глаза и др. [26–42].

Перспективы комбинированного применения ФДТ и других видов излучения в экспериментальной и клинической онкологии

Комбинация ФДТ с другими методами лечения, такими как химиотерапия, лучевая терапия, иммунотерапия и фитотерапия, может быть эффективным подходом при лечении различных злокачественных опухолей, в отношении которых ранее не было достигнуто удовлетворительных результатов [43]. При одновременном использовании ФДТ и озонированного физиологического раствора у животных в эксперименте отмечено восстановление баланса про- и антиоксидантов [44].

Большие надежды связаны с применением комбинации ФДТ и нейтрон-захватной терапии (НЗТ). В настоящее время наиболее распространенными источниками бора для НЗТ являются кластеры бора в форме икосаэдров, которые присоединены к различным молекулам, таким как пептиды, белки, порфирины, дендримеры, полимеры и наночастицы, или включены в липосомы. Эти кластеры бора и/или носители помечены контрастными веществами, которые позволяют использовать методы визуализации, такие как ПЭТ, ОФЭКТ и ФД, для количественного определения местонахождения бора в опухоли и использования их в качестве тераностических агентов [45]. В настоящее время разработаны производные хлорина, связанные с препаратом для НЗТ меркаптододекаборатом натрия (BSH), которые предназначены для использования при ФД, ФДТ и НЗТ. Результаты исследований показали, что производные хлорина, конъюгированные с BSH, могут быть хорошими кандидатами как для ФДТ, так и для НЗТ [46]. Получены доклинические результаты высокой эффективности комбинированной НЗТ с ФДТ [47].

Для преодоления ограничений ФДТ и усиления ее терапевтического эффекта в настоящее время предложены и новейшие инновационные стратегии, которые используют невидимое излучение электромагнитного спектра (инфракрасные и рентгеновские лучи), ультразвук, электрическое и магнитное поля.

Инфракрасное излучение

Эффективным методом возбуждения ФС для ФДТ в более глубоких тканях является использование ближнего инфракрасного излучения (от 700 до 1100 нм). Такая ФДТ позволяет, к тому же, снизить фототоксичность для нормальных тканей. Комбинированное применение ФДТ и фотобиомодуляционной терапии (ФБМТ) способствует

и более эффективному восстановлению тканей после химиолучевой или лучевой терапии [48]. Исследования эффективности ФБМТ показывают, что повышенная перекисная окись липидов и истощение антиоксидантной системы являются основными механизмами стрессовой реакции на различные физиологические факторы. В этом процессе клеточные мембраны становятся целью для стрессовых факторов, фармакологических веществ и физических агентов. ФБМТ может регулировать образование свободных радикалов и оказывать мембранотропные эффекты при ФДТ опухолей [49].

Ученые из Университета Сан-Паулу (Бразилия) провели эксперимент, в котором изучали эффект сочетанного применения ФДТ и ФБМТ на клеточные линии рака SCC-25 и SCC-4. Показано, что сочетание этих методов приводит к улучшению результатов ФДТ за счет увеличения клеточной токсичности. ФБМТ усиливает действие ФДТ на клетки SCC-25 путем увеличения поглощения ФС и выработки АФК. Однако в клетках SCC-4 такого эффекта не наблюдалось, по сравнению с группой, получавшей только ФДТ. Авторы также отметили, что эти эффекты зависят от интервала между ФБМТ, накоплением ФС и проведением ФДТ. Исследователи пришли к выводу, что сочетание ФБМТ и ФДТ требует дальнейшего изучения [50].

Коллеги из Йоханнесбургского университета (ЮАР) в экспериментальной работе по изучению эффективности комбинированного применения ФБМТ и ФДТ с использованием фталоцианин-тетрасульфоновой кислоты цинка ($ZnPcS_4$) на резистентных клетках рака молочной железы MCF-7 исследовали молекулярные изменения, связанные с гибелью клеток. Показано, что при использовании родамина (Rh123) – флуоресцентного красителя, который избирательно накапливается в митохондриях и применяется для контроля целостности мембран клеток после ФДТ, – при комбинированном применении ФБМТ и ФДТ регистрировалось значительное нарушение работы митохондрий. Результаты исследования продемонстрировали, что ФБМТ может улучшить противоопухолевое действие ФДТ, индуцируя аутофагию в резистентных клетках рака молочной железы MCF-7. ФБМТ также активирует образование и обнаружение маркеров аутофагосом, и сочетание ее с ФДТ может помочь вызвать большее фотоповреждение и повысить эффективность лечения [51].

Рентгеновское излучение

При ФДТ используется видимый свет, что ограничивает лечение относительно поверхностными локализованными опухолями. Поэтому способность высокоэнергетического излучения активировать ФС в рамках сеансов радиодинамической терапии (РДТ) является предметом активного

исследования, поскольку рентгеновские и гамма-фотоны могут проникать глубоко в ткани [52].

В последние годы учеными из США, Японии и Италии предпринимаются успешные попытки апробации метода РДТ в экспериментальных исследованиях. Авторы сообщают, что комбинированное применение ФДТ и РДТ приводит к уменьшению числа жизнеспособных опухолевых клеток и замедлению роста различных видов опухолей по сравнению с использованием только лучевой терапии. Р. Hambach et al. [53] провели интересное исследование, посвященное изучению эффективности комбинированного применения ФДТ и рентгенотерапии для лечения глиобластомы. До сих пор глиобластомы не поддаются лечению стандартными методами, при этой патологии очень низкая средняя выживаемость – около 15 мес. Использование нового поколения ФС при проведении ФДТ может предложить новую стратегию для лечения глиобластомы. Исследователи изучили действие ФДТ с использованием тетрагидропорфирина-тетратозилата (THPTS) в сочетании с рентгеновским облучением на клетки глиобластомы *in vitro* и *in vivo*. Три клеточные линии глиобластомы человека (U-87 МГ, A-172, DBTRG-05 МГ) инкубированы с THPTS за 3–24 ч до облучения. Изучены локализация THPTS, его влияние на метаболическую активность, пролиферацию, механизмы клеточной гибели и долгосрочную выживаемость. THPTS был обнаружен в митохондриях, а не в ядре. ФДТ с использованием THPTS значительно снижала пролиферацию, метаболическую активность и клоногенную выживаемость, а также индуцировала клеточную гибель. Комбинированное применение ФДТ с использованием THPTS в сочетании с рентгенотерапией показало большую эффективность при воздействии на глиобластому *in vitro* и *in vivo* [53].

В исследованиях в этом направлении Д.А. Церковский и соавт. [54] изучили, как комбинация контактной лучевой терапии (КЛТ) и ФС хлоринового ряда, применяемого при ФДТ, влияет на противоопухолевую эффективность терапии у лабораторных животных с перевивными опухолями. В эксперименте использовано 50 белых беспородных крыс с массой тела 250 ± 50 г. Опухолевыми моделями были лимфосаркома Плисса и альвеолярный рак печени PC1, перевитые подкожно. Фотосенсибилизатор хлоринового ряда фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Беларусь) вводили внутривенно капельно в дозе 2,5 мг/кг массы тела. Сеанс КЛТ проводили через 2,5–4 ч после введения ФС с использованием аппарата «microSelectron HDR V3 Digital» («Nucletron», Нидерланды) с источником излучения ^{192}Ir в равных очаговых дозах (РОД) 5 и 10 Гр. Все животные были разделены на 5 групп по 5 особей в каждой: интактный контроль, КЛТ РОД 5 Гр, КЛТ РОД 10 Гр, ФС + КЛТ РОД 5 Гр, ФС + КЛТ РОД 10 Гр. Результаты показали, что

введение ФС хлоринового ряда перед сеансом КЛТ повышает противоопухолевую эффективность лучевой терапии у животных с различными типами опухолей. Это подтверждает перспективность дальнейших исследований радиосенсибилизирующих свойств ФС [54].

В США (2020) и Германии (2022) начаты клинические испытания I/II фазы по изучению безопасности и эффективности РДТ с применением 5-АЛК у пациентов с различными стадиями злокачественных опухолей головы и шеи, грудной и брюшной полостей, малого таза и рецидивными формами глиобластомы [55]. Недавние достижения в разработке рентгеновских сцинтилляторов и ФС на основе наночастиц, таких как наночастицы SiO_2 , Au, Fe, позволили гибридизировать эти фрагменты в отдельные нанокompозитные частицы. Эти наноплатформы при облучении диагностическими дозами и энергиями рентгеновских лучей вырабатывают большое количество АФК и впервые позволяют проводить неинвазивную ФДТ опухолей глубоких тканей [56].

Для генерации света и активации ФДТ в глубоких тканях также было предложено использовать излучение Вавилова–Черенкова, которое возникает, когда заряженные частицы движутся быстрее скорости света в данной среде. Данное излучение медицинских радиоизотопов и пучков радиотерапии может активировать ФС с образованием АФК при соединении радионуклида и ФС в наночастицах или при совместной локализации радионуклидов и ФС в раковых клетках. Излучение имеет преимущества, такие как подавление внешних источников облучения, минимизация воздействия на нормальные ткани и высокоселективное нацеливание на множественные метастазы. Основной проблемой применения излучения Вавилова–Черенкова (ИВЧ) является его низкая интенсивность. Исследование методом Монте-Карло показало, что скорости потока данного типа излучения недостаточны для достижения эффективной фототоксичности. Внешнее облучение также может стимулировать ФДТ с использованием ИВЧ. Этот подход интересен тем, что, в отличие от радиоизотопов, ИВЧ, индуцированное внешним пучком, может обеспечить более высокий поток фотонов и большую эффективность ФДТ [7].

Анализ результатов экспериментального исследования совместного применения РДТ и ФДТ у крыс с перевивными подкожно опухольями модели лимфосаркомы Плисса показал выраженную тенденцию к более высокому противоопухолевому эффекту такой комбинированной терапии, по сравнению с РДТ и ФДТ в монорежимах [57]. Появились и каталитические наносистемы с уникальными структурами и функциями, усиливающие рентгеновскую ФДТ посредством иммунного ответа [58].

Ультразвуковое излучение

Ультразвук имеет частоты звука, превышающие диапазон человеческого слуха (>20 кГц). В отличие от видимого света, ультразвук является механической волной, которая может проникать глубоко в опухоль-мишень. Сонодинамическая терапия (СДТ) основана на синергетическом эффекте ультразвука и химического соединения, известного как соносенсибилизатор (СС). Ультразвук может быть точно сфокусирован на определенных участках опухоли и эффективно активировать цитотоксичность СС, вызывая разрушение опухолевых клеток с минимальным повреждением окружающих нормальных тканей [59]. Механизмы действия СДТ зависят от биологических моделей, типа СС и параметров ультразвукового воздействия, таких как частота и интенсивность. Однако универсальный механизм действия СДТ определить трудно. В настоящее время возможные теории включают образование АФК, эффект кавитации и термическое повреждение. Результаты последних исследований свидетельствуют о тенденции к повышению эффективности СДТ опухолей экспериментальных животных [60].

Глиобластома, как уже отмечалось выше, является трудноизлечимым заболеванием, для лечения которого предпринимались различные попытки, но без особого эффекта. Целью исследования J. Park et al. [61] была оценка эффективности ФДТ и СДТ, которые в настоящее время используются для лечения опухолей головного мозга, а также соно-фотодинамической терапии (СФДТ), которая представляет собой комбинацию этих двух методов. Четырем группам крыс Sprague–Dawley вводили клетки глиомы C6 в кортикальную область и лечили с помощью ФДТ, СДТ и СФДТ. Ежедневно проводилась магнитно-резонансная томография, а за день до процедуры и через 1 нед после нее – ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ. Акустическая мощность, используемая при обработке ультразвуком, составляла $5,5 \text{ Вт/см}^2$ с использованием датчика частотой $0,5 \text{ МГц}$. Плотность мощности лазерного излучения с длиной волны 633 нм составляла 100 Дж/см^2 . Маркеры окислительного стресса и апоптоза были оценены через 3 дня после лечения с помощью иммуногистохимического исследования. Были использованы антитела 4-Гидроксиноненал (4-HNE), 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) и каспаза-3 (Cas-3). При МРТ-визуализации через 12 дней после лечения в группе ФДТ наблюдалось уменьшение объема опухоли ($p < 0,05$). В группе СДТ наблюдалось незначительное увеличение объема по сравнению с группой, в которой применялась ФДТ. В группе СФДТ наблюдались высокие показатели экспрессии факторов, связанных с АФК, таких как 8-OHdG ($p < 0,001$) и каспаза-3 ($p < 0,001$). Результаты исследования продемонстрировали, что свет в сочетании с СС может подавлять рост глиобластомы. Хотя при проведении МРТ не было

выявлено комбинированного эффекта СФДТ, при иммуногистохимическом исследовании наблюдался высокий уровень окислительного стресса. Тем не менее, как подчеркивают авторы, необходимы дальнейшие исследования для изучения параметров безопасности применения ультразвука при лечении глиобластомы [61].

J.X. Zhu et al. [62] также продемонстрировали, что СФДТ оказывает более выраженный противоопухолевый эффект, чем СДТ или ФДТ в самостоятельных вариантах. Авторы стремились изучить использование поли (L-лактид-когликолидного)-микропузырьков (МП), опосредованных куркумином (КУР) (КУР-МП), в клетках рака печени HepG2. МП гексафторида серы (МПс), инкапсулированные в монослой липидов, обычно используются в клинике для исследования поражений печени. КУР-МП представляли собой круглые сферы с гладкой поверхностью и средним размером 3,7 мкм. При проведении исследования были определены цитотоксичность и внутриклеточное накопление КУР. При сравнении СДТ с использованием КУР (КУР-СДТ) и ФДТ с использованием КУР (КУР-ФДТ) определили, что жизнеспособность клеток HepG2 снижалась, а скорость апоптоза повышалась при проведении СФДТ с использованием КУР (КУР-СФДТ). КУР-СФДТ обладала самой высокой эффективностью воздействия. При проведении КУР-СФДТ электронная микроскопия выявила пироптоз и апоптоз. Механизм этих форм гибели клеток, как полагают авторы, был связан с потерей мембранного потенциала митохондрий и увеличением выработки внутриклеточных АФК. Эти данные свидетельствуют о том, что КУР-СФДТ может быть перспективным методом лечения рака печени [62].

Электрическое и магнитное поля

Высокоэнергетическое электрическое поле воздействует на клеточную мембрану, создавая неселективные отверстия (обратимая электропорация), что позволяет неселективно переносить ФС через мембрану внутрь клетки, или разрушая ее (необратимая электропорация). Электрические импульсы, применяемые в сочетании с ФДТ, повышают ее эффективность. Основным преимуществом ФДТ с использованием электропорации является большая точность воздействия, так как скорость переноса ФС высока только в области, где применяется электрическое поле.

Меланома считается наиболее агрессивной злокачественной опухолью кожи, которая до сих пор не имеет эффективного лечения. Поэтому альтернативные методы лечения этой патологии очень востребованы. ФДТ меланомы с электропорацией (ЭП-ФДТ) представляется перспективным подходом. Новые разработки в области ЭП-ФДТ направлены на повышение селективности и биосовместимости с опухолями ФС второго поколения, в том числе и хлорина е6 (Ce6). J. Kulbacka и et al. под-

твердили улучшенный фотодинамический эффект Ce6 на клетки меланомы кожи (Me45) и контрольные клетки (CHO-K1). В своём исследовании они применили 1 или 5 импульсов длительностью 10 мс и оценили эффект ЭП-ФДТ с помощью различных тестов, таких как фотоокисление с помощью поглотителя синглетного кислорода (ABMDMA), измерение окислительно-восстановительного потенциала, кинетические измерения с помощью флуоресцентной микроскопии, изучение поглощения ФС, уровня перекисного окисления липидов и структуры актиновых волокон. Результаты исследования показали эффективную доставку Ce6 в клетки Me45 и хорошую фотодинамическую эффективность, повышенную за счет электропорации злокачественных клеток [63].

Магнитное поле также имеет преимущества по своему воздействию и безопасности для организма, что делает его перспективным для совместного применения с ФДТ. Одной из основных проблем ФДТ является ненаправленное накопление ФС в опухолевых клетках, что приводит к токсическому воздействию на нормальные клетки вокруг опухоли. Биосовместимые суперпарамагнитные наноматериалы усиливают направленное накопление ФС в опухоли под воздействием внешнего магнитного поля. Преимущество ФДТ, использующей магнитное поле, заключается в быстрой концентрации магнитного наноматериала и его доставке в целевую среду, при этом требуется меньшая доза излучения для достижения желаемого эффекта. Наиболее распространенными наноматериалами для ФДТ с магнитным полем являются функционализированные суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (SPIONPs), такие как Fe_3O_4 . Эти наноматериалы обладают преимуществами, такими как высокая биосовместимость, функциональная поверхность, низкая токсичность и эффективный суперпарамагнетизм.

O.J. Fakayode et al. [64] провели оценку усиления магнитным полем эффективности ФДТ с использованием нового нанопрепарата при воздействии на клетки рака молочной железы MCF-7. Нанопрепарат демонстрировал превосходное синее и красное излучение при ультрафиолетовом (380 нм) и видимом (430 нм) облучении и хорошо усваивался клетками без какой-либо существенной темновой цитотоксичности через 24 ч после инкубации. Однако после воздействия на клетки света в течение примерно 15 мин наблюдалась высокая скорость гибели клеток, находящаяся в прямой зависимости от дозы препарата. Кроме того, клетки, подвергшиеся воздействию внешнего магнитного поля, проявляли более высокую фототоксичность, чем клетки, не подвергшиеся воздействию. Результаты исследования свидетельствуют о перспективности применения лекарственной формы нанопорфиринов при комбинированной ФДТ с использованием магнитного поля [64].

Закключение

В работе представлены различные виды излучения, которые в сочетании с ФДТ могут повысить эффективность ее применения в лечении опухолевых и предопухолевых заболеваний, преодолев имеющиеся на данный момент некоторые ограничения этой технологии, такие как незначительная глубина проникновения света в биологические

ткани, нецелевые ФС и гипоксия опухолевой ткани. Комбинирование с различными источниками энергии является ключевым фактором для дальнейшего развития ФДТ. Будущие исследования, направленные на преодоление ограничений ФДТ, будут способствовать раскрытию полного потенциала этой технологии в клинике.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Hamblin M.R., Abrahamse H. Factors Affecting Photodynamic Therapy and Anti-Tumor Immune Response. *Anticancer Agents Med Chem.* 2021; 21(2): 123–36. doi: 10.2174/1871520620666200318101037.
2. Hamblin M.R. Photodynamic Therapy for Cancer: What's Past is Prologue. *Photochem Photobiol.* 2020; 96(3): 506–16. doi: 10.1111/php.13190.
3. Alvarez N., Sevilla A. Current Advances in Photodynamic Therapy (PDT) and the Future Potential of PDT-Combinatorial Cancer Therapies. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(2): 1023. doi: 10.3390/ijms25021023.
4. Fontana L.C., Pinto J.G., Magalhães J.A., Tada D.B., de Almeida R.M.S., Pacheco-Soares C., Ferreira-Strixino J. Comparison of the Photodynamic Effect of Two Chlorins, Photodithazine and Fotoenticine, in Gliosarcoma Cells. *Photochem.* 2022; 2(1): 165–80. doi: 10.3390/photochem2010013.
5. Varzandeh M., Sabouri L., Mansouri V., Gharibshahian M., Behshitzadeh N., Hamblin M.R., Rezaei N. Application of nano-radiosensitizers in combination cancer therapy. *Bioeng Transl Med.* 2023; 8(3): e10498. doi: 10.1002/btm2.10498.
6. Черемисина О.В., Вусик М.В., Солдатов А.Н., Рейнер И.В. Современные возможности эндоскопических лазерных технологий в клинической онкологии. *Сибирский онкологический журнал*, 2007; 4: 5–11. [Cheremisina O.V., Vusik M.V., Soldatov A.N., Reiner I.B. Endoscopic laser technologies in clinical oncology. *Siberian Journal of Oncology.* 2007; (4): 5–11. (in Russian)].
7. Huang F., Fu Q., Tang L., Zhao M., Huang M., Zhou X. Trends in photodynamic therapy for dermatology in recent 20 years: A scientometric review based on CiteSpace. *J Cosmet Dermatol.* 2024; 23(2): 391–402. doi: 10.1111/jocd.16033.
8. Rodrigues J.A., Correia J.H. Enhanced Photodynamic Therapy: A Review of Combined Energy Sources. *Cells.* 2022; 11(24): 3995. doi: 10.3390/cells11243995.
9. George B.P., Abrahamse H. Light-Activated Phytochemicals in Photodynamic Therapy for Cancer: A Mini Review. *Photobiomol Photomed Laser Surg.* 2022; 40(11): 734–41. doi: 10.1089/photob.2022.0094.
10. Решетов И.В., Коренев С.В., Романко Ю.С. Формы гибели клеток и мишени при фотодинамической терапии. *Сибирский онкологический журнал*. 2022; 21(5): 149–54. [Reshetov I.V., Korenev S.V., Romanko Yu.S. Forms of cell death and targets at photodynamic therapy. *Siberian Journal of Oncology.* 2022; 21(5): 149–54. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-5-149-154.
11. Linares I.A.P., Martinelli L.P., Moritz M.N.O., Selistre-de-Araujo H.S., de Oliveira K.T., Perussi J.R. Cytotoxicity of structurally-modified chlorins aimed for photodynamic therapy applications. *J Photochem Photobiol A: Chemistry.* 2022; 425: 113647. doi: 10.1016/j.jphotochem.2021.113647.
12. Mironov A.F., Grin M.A., Pantushenko I.V., Ostroverkhov P.V., Ivanenkov Y.A., Filkov G.I., Plotnikova E.A., Karmakova T.A., Starovoi-tova A.V., Burmistrova N.V., Yuzhakov V.V., Romanko Y.S., Abakumov M.A., Ignatova A.A., Feofanov A.V., Kaplan M.A., Yakubovskaya R.I., Tsigankov A.A., Majouga A.G. Synthesis and Investigation of Photophysical and Biological Properties of Novel S-Containing Bacteriopurpurinimides. *J Med Chem.* 2017; 60(24): 10220–30. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b00577.
13. Dragicevic N., Predic-Atkinson J., Nikolic B., Pajovic S.B., Ivkovic S., Adzic M. Nanocarriers in topical photodynamic therapy. *Expert Opin Drug Deliv.* 2024; 1–29. doi: 10.1080/17425247.2024.2318460.
14. Shirmanova M.V., Lukina M.M., Sirotkina M.A., Shimolina L.E., Dudenkova V.V., Ignatova N.I., Tobita S., Shcheslavskiy V.I., Zagaynova E.V. Effects of Photodynamic Therapy on Tumor Metabolism and Oxygenation Revealed by Fluorescence and Phosphorescence Lifetime Imaging. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(3): 1703. doi: 10.3390/ijms25031703.
15. Логинова А.Г., Никитенко И.С., Тихоновский Г.В., Скобел-цин А.С., Войтова А.В., Лощенко В.В. Разработка метода оценки глубины проникновения этосом с метиленовым синим в кожу при аппликационном применении и фотодинамическом воздействии. *Biomedical Photonics.* 2022; 11(4): 11–8. [Loginova A.G., Nikitenko I.S., Tikhonovskiy G.V., Skobeltsin A.S., Voitova A.V., Loschenov V.B. Development of a method for assessing the depth of penetration of ethosomes

with methylene blue into the skin during application and photodynamic exposure. *Biomed Photon.* 2022; 11(4): 11–8. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-4-11-18.

16. Taldaev A., Terekhov R., Nikitin I., Melnik E., Kuzina V., Klochko M., Reshetov I., Shiryayev A., Loschenov V. and Ramenskaya G. Methylene blue in anticancer photodynamic therapy: systematic review of preclinical studies. *Front Pharmacol.* 2023; 14: 1264961. doi: 10.3389/fphar.2023.1264961.
17. Решетов И.В., Романко Ю.С. Фундаментальные и прикладные исследования Института кластерной онкологии имени Л.Л. Левшина по разработке методов лечения заболеваний головы и шеи. *Head and neck. Голова и шея. Российский журнал.* 2023; 11(2): 81–91. [Reshetov I.V., Romanko Yu.S. Fundamental and applied research of the Institute of Cluster Oncology named after L.L. Levshin on the development of methods for the treatment of diseases of the head and neck. *Head and neck. Russian Journal.* 2023; 11(2): 81–91. (in Russian)]. doi: 10.25792/HN.2023.11.2.81-91.
18. Зикирходжаев А.Д., Старкова М.В., Тимошкин В.О. Индоцианин зеленый в диагностике и реконструктивной хирургии при раке молочной железы. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* 2023; 9(2): 20–4. [Zikiryakhodzhaev A.D., Starkov M.V., Timoshkin V.O. Indocyanine green in diagnostics and reconstructive surgery for breast cancer. *Pirogov Russian Journal of Surgery.* 2023; 9(2): 20–4. (in Russian)]. doi: 10.17116/hirurgia202309220.
19. Филоненко Е.В., Каприн А.Д. Современные технологии диагностики в онкодерматологии. *Biomedical Photonics.* 2023; 12(4): 4–14. https://doi.org/10.24931/2413-9432-2023-12-4-4-14. [Filonenko E.V., Kaprin A.D. Modern diagnostic technologies in oncodermatology. *Biomed Photon.* 2023; 12(4): 4–14. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-4-4-14.
20. Филоненко Е.В., Иванова-Радкевич В.И. Флуоресцентная диагностика при немеланоцитарных опухолях кожи. *Biomedical Photonics.* 2022; 11(4): 32–40. [Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Fluorescent diagnostics of non-melanoma skin cancer. *Biomed Photon.* 2022; 11(4): 32–40. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-4-32-40.
21. Дубровин В.Ю., Тымчук С.С., Давлетшина В.В., Павлов Р.В., Каченко В.А. Современные возможности ICG-флуоресцентной визуализации в абдоминальной онкохирургии. *Сибирский онкологический журнал.* 2023; 22(2): 143–59. [Dubrovina V.Yu., Tymchuk S.S., Davletshina V.V., Pavlov R.V., Kashchenko V.A. The role of ICG-fluorescence imaging in abdominal surgical oncology. *Siberian Journal of Oncology.* 2023; 22(2): 143–59. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-2-143-159.
22. Фаррахова Д.С., Романишкин И.Д., Яковлев Д.В., Маклыгина Ю.С., Олейников В.А., Федотов П.В., Кравчик М.В., Бездетная Л., Лощенко В.В. Взаимосвязь спектроскопических и структурных свойств j-агрегатов индоцианина зеленого. *Biomedical Photonics.* 2022; 11(3): 4–16. [Farrakhova D.S., Romanishkin I.D., Yakovlev D.V., Maklygina Yu.S., Oleinikov V.A., Fedotov P.V., Kravchik M.V., Bezdetnaya L., Loschenov V.B. Correlation of spectroscopic and structural properties of indocyanine green j-aggregates. *Biomed Photon.* 2022; 11(3): 4–16. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-3-4-16.
23. Han R., Zhao M., Wang Z., Liu H., Zhu S., Huang L., Wang Y., Wang L., Hong Y., Sha Y., Jiang Y. Super-efficient in Vivo Two-Photon Photodynamic Therapy with a Gold Nanocluster as a Type I Photosensitizer. *ACS Nano.* 2020; 14(8): 9532–44. doi: 10.1021/acsnano.9b05169.
24. Романко Ю.С., Цыб А.Ф., Каплан М.А., Попучиев В.В. Влияние фотодинамической терапии с фотодитазином на морфофункциональные характеристики саркомы М-1. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2004; 138(12): 658–64. [Romanko Yu.S., Tsyb A.F., Kaplan M.A., Popuchiev V.V. Effect of photodynamic therapy with photodithazine on morphofunctional parameters of M-1 sarcoma. *Bull Exp Biol Med.* 2004; 138(6): 584–9. (in Russian)].
25. Романко Ю.С., Цыб А.Ф., Каплан М.А., Попучиев В.В. Зависимость противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии от плотности световой энергии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2005; 139(4): 456–61. [Romanko Yu.S., Tsyb A.F., Kaplan M.A., Popuchiev V.V. Relationship between antitumor efficiency of

photodynamic therapy with photoditastine and photoenergy density. Bull Exp Biol Med. 2005; 139(4): 460–4. (in Russian)].

26. Филоненко Е.В., Иванова-Радкевич В.И. Фотодинамическая терапия больных псориазом. Biomedical Photonics. 2023; 12(1): 28–36. [Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy of psoriasis. Biomed Photon. 2023; 12(1): 28–36. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-1-28-36.6.

27. Филоненко Е.В., Иванова-Радкевич В.И. Фотодинамическая терапия при акне. Biomedical Photonics. 2023; 12(2): 48–53. [Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy of acne. Biomed Photon. 2023; 12(2): 48–53. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-2-48-56.

28. Решетов И.В., Фатянова А.С., Бабаева Ю.В., Гафаров М.М., Огданская К.В., Сухова Т.Е., Корнев С.В., Денисенко М.В., Романко Ю.С. Современные аспекты фотодинамической терапии актинического кератоза. Biomedical Photonics. 2019; 8(2): 25–30. [Reshetov I.V., Fatyanova A.S., Babaeva Yu.V., Gafarov M.M., Ogdanskaya K.V., Suхова Т.Е., Korenev S.V., Denisenko M.V., Romanko Yu.S. Modern aspects of photodynamic therapy of actinic keratoses. Biomed Photon. 2019; 8(2): 25–30. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2019-8-2-25-30.

29. Филоненко Е.В., Окушко С.С. Актинический кератоз (обзор литературы). Biomedical Photonics. 2022; 11(1): 37–48. [Filonenko E.V., Okushko S.S. Actinic keratosis (review of literature). Biomed Photon. 2022; 11(1): 37–48. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-1-37-48.

30. Решетов И.В., Корнев С.В., Романко Ю.С. Современные аспекты фотодинамической терапии при базальноклеточном раке кожи. Biomedical Photonics. 2022; 11(3): 35–9. [Reshetov I.V., Korenev S.V., Romanko Yu.S. Modern aspects of photodynamic therapy of basal cell skin cancer. Biomed Photon. 2022; 11(3): 35–9. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-3-35-39.

31. Романко Ю.С., Каплан М.А., Иванов С.А., Галкин В.Н., Молочкова Ю.В., Кунцевич Ж.С., Третьякова Е.И., Сухова Т.Е., Молочков В.А., Молочков А.В. Эффективность фотодинамической терапии базальноклеточной карциномы с использованием фотосенсибилизаторов различных классов. Вопросы онкологии. 2016; 62(3): 447–50. [Romanko Y.S., Kaplan M.A., Ivanov S.A., Galkin V.N., Molochkova Y.V., Kuntsevich Z.S., Tretiakova E.I., Sukhova T.E., Molochkov V.A., Molochkov A.V. Efficacy of photodynamic therapy for basal cell carcinoma using photosensitizers of different classes. Problems in Oncology. 2016; 62(3): 447–50. (in Russian)].

32. Филоненко Е.В., Иванова-Радкевич В.И. Фотодинамическая терапия пациентов с болезнью Боуэна. Biomedical Photonics. 2023; 12(4): 22–9. [Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy of Bowen's disease. Biomed Photon. 2023; 12(4): 22–9. (in Russian)]. doi: 10.17116/onkolog201870515.

33. Филоненко Е.В., Иванова-Радкевич В.И. Фотодинамическая терапия в лечении больных грибовидным микозом. Biomedical Photonics. 2022; 11(1): 27–36. [Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy in the treatment of patients with mycosis fungoides. Biomed Photon. 2022; 11(1): 27–36. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-1-27-36.

34. Гильядова А.В., Романко Ю.С., Ищенко А.А., Самойлова С.В., Ширяев А.А., Алексеева П.М., Эфендиев К.Т., Решетов И.В. Фотодинамическая терапия предраковых заболеваний и рака шейки матки (обзор литературы). Biomedical Photonics. 2021; 10(4): 59–67. [Gilyadova A.V., Romanko Yu.S., Ishchenko A.A., Samoilova S.V., Shiryayev A.A., Alekseeva P.M., Efendiev K.T., Reshetov I.V. Photodynamic therapy for precancer diseases and cervical cancer (review of literature). Biomed Photon. 2021; 10(4): 59–67. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-4-59-67.

35. Панферова О.И., Николенко В.Н., Кочурова Е.В., Кудасова Е.О. Этиология, патогенез, основные принципы лечения плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. Head and neck. Голова и шея. Российский журнал. 2022; 10(2): 69–77. [Panferova O.I., Nikolenko V.N., Kochurova E.V., Kudasova E.O. Etiology, pathogenesis, basic principles of treatment of squamous cell carcinoma of the oral mucosa. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10(2): 69–77. (in Russian)]. doi: 10.25792/HN.2022.10.2.69-77.

36. Кит О.И., Енгибарян М.А., Комарова Е.Ю., Комарова Е.Ф., Маслов А.А., Димитриади С.Н. Первый опыт применения интраоперационной фотодинамической терапии первичного местнораспространенного рака слизистой оболочки полости рта. Head and neck. Голова и шея. Российский журнал. 2023; 11(4): 33–8. [Kit O.I., Engibaryan M.A., Komarova E.Yu., Komarova E.F., Maslov A.A., Dimitriadi S.N. First experience of using intraoperative photodynamic therapy for primary locally advanced cancer of the oral mucosa. Head and neck. Russian Journal. 2023; 11(4): 33–8. (in Russian)]. doi: 10.25792/HN.2023.11.4.33-38.

37. Каприн А.Д., Рассказова Е.А., Филоненко Е.В., Сарибекян Э.К., Зикиряходжаев А.Д., Чиссов В.И. Интраоперационная фотодинамическая

терапия больной раком молочной железы IIIC стадии (8-летний период безрецидивного наблюдения). Biomedical Photonics. 2017; 6(2): 34–7. [Kaprin A.D., Rasskazova E.A., Filonenko E.V., Saribekyan E.K., Zikiryakhodzhayev A.D., Chissov V.I. Intraoperative photodynamic therapy in patient with stage IIIC breast cancer (8 years without recurrence). Biomed Photon. 2017; 6(2): 34–7. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2017-6-2-34-37.

38. Филоненко Е.В., Иванова-Радкевич В.И. Фотодинамическая терапия в лечении экстрамаммарного рака Педжета. Biomedical Photonics. 2022; 11(3): 24–34. [Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy in the treatment of extramammary Paget's disease. Biomed Photon. 2022; 11(3): 24–34. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-3-24-34.

39. Емельянова О.О., Зикиряходжаев А.Д., Сарибекян Э.К., Филоненко Е.В. Современный консенсус относительно диагностики и лечения экстрамаммарного рака Педжета. Вестник дерматологии и венерологии. 2023; 99(3): 23–32. [Emelyanova O.O., Zikiryakhodzhayev A.D., Saribekyan E.K., Filonenko E.V. The current consensus for the diagnostic and treatment of extramammary Paget's disease. Herald of Dermatology and Venerology. 2023; 99(3): 23–32. (in Russian)]. doi: 10.25208/vdv1400.

40. Sun W., Zhang Q., Wang X., Jin Z., Cheng Y., Wang G. Clinical practice of photodynamic therapy for non-small cell lung cancer in different scenarios: who is the better candidate? Respiration. 2024. doi: 10.1159/000535270.

41. Li Y., Li Y., Song Y., Liu S. Advances in research and application of photodynamic therapy in cholangiocarcinoma (Review). Oncol Rep. 2024; 51(3): 53. doi: 10.3892/or.2024.8712.

42. Жилыева Е.П., Демешко П.Д., Науменко Л.В., Красный С.А., Церковский Д.А., Жерко И.Ю. Фотодинамическая терапия первичных и рецидивных слабопигментных форм меланомы сосудистой оболочки глаза. Biomedical Photonics. 2022; 11(3): 17–23. [Zhylyayeva K.P., Demeshko P.D., Navumenka L.V., Krasny S.A., Tzerkovsky D.A., Zherko I.Yu. Photodynamic therapy of primary and recurrent forms of weakly pigment choroidal melanoma. Biomed Photon. 2022; 11(3): 17–23. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-3-17-23.

43. Kubrak T.P., Kolodziej P., Sawicki J., Mazur A., Kozirowska K., Aebischer D. Some Natural Photosensitizers and Their Medicinal Properties for Use in Photodynamic Therapy. Molecules. 2022; 27(4): 1192. doi: 10.3390/molecules27041192.

44. Щербатюк Т.Г., Жукова (Плеханова) Е.С., Никитина Ю.В., Ганеев А.Б. Окислительная модификация белков в тканях крыс при опухолевом росте в условиях озono-фотодинамического воздействия. Биофизика. 2020; 65(2): 367–75. [Shcherbatyuk T.G., Zhukova (Plekhanova) E.S., Nikitina J.V., Gapeyev A.B. Oxidative Modification of Proteins in the Tissues of Rats with Growing Tumors under the Ozone-Photodynamic Treatment. Biophysics. 2020; 65(2): 367–75. (in Russian)]. doi: 10.1134/S0006350920020219.

45. Beck-Sickinge A.G., Becker D.P., Chepurna O., Das B., Flieger S., Hey-Hawkins E., Hosmane N., Jalisatgi S.S., Nakamura H., Patil R., Vicente M.D.G.H., Viñas C. New Boron Delivery Agents. Cancer Biother Radiopharm. 2023; 38(3): 160–72. doi: 10.1089/cbr.2022.0060.

46. Asano R., Nagami A., Fukumoto Y., Miura K., Yazawa F., Ito H., Sakata I., Tai A. Synthesis and biological evaluation of new BSH-conjugated thiolin derivatives as agents for both photodynamic therapy and boron neutron capture therapy of cancer. J Photochem Photobiol B. 2014; 140: 140–9. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2014.07.008.

47. Talko V.V., Lavrenchuk G.Y., Pochapinskyi O.D., Atamanuk N.P., Chernyshov A.V. Efficiency of photon capture beam technology and photodynamic impact on malignant and normal human cells in vitro. Probl Radiac Med Radiobiol. 2022; 27: 234–48. doi: 10.33145/2304-8336-2022-27-234-248.

48. Кастыро И.В., Решетов И.В., Корнев С.В., Фатянова А.С., Бабаева Ю.В., Романко Ю.С. Фотобиомодуляция орального мукозита при химиолучевой терапии рака головы и шеи. Head and neck. Голова и шея. Российский журнал. 2023; 11(2): 65–74. [Kastyro I.V., Reshetov I.V., Korenev S.V., Fatyanova A.S., Babaeva Yu.V., Romanko Yu.S. Photobiomodulation of oral mucositis in chemoradiotherapy for head and neck cancer. Head and neck. Russian Journal. 2023; 11(2): 65–74. (in Russian)]. doi: 10.25792/HN.2023.11.2.65-74.

49. Shurygina I.P., Zilov V.G., Smekalkina L.V., Naprienko M.B., Safonov M.I., Akulov S.N. Effect of Infrared Low-Intensity Laser Irradiation on Lipid Peroxidation under Conditions of Experimental Circulatory Hypoxia of Visual Analyzer. Bull Exp Biol Med. 2020; 168(5): 602–4. doi: 10.1007/s10517-020-04760-6.

50. de Faria C.M.G., Costa C.S., Bagnato V.S. Photobiomodulation effects on photodynamic therapy in HNSCC cell lines. J Photochem Photobiol B. 2021; 217: 112170. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2021.112170.

51. Anigo E.C., George B.P., Abrahamse H. Photobiomodulation Improves Anti-Tumor Efficacy of Photodynamic Therapy against Resistant MCF-7 Cancer Cells. Biomedicines. 2023; 11(6): 1547. doi: 10.3390/biomedicines11061547.

52. Panetta J.V., Cvetkovic D., Chen X., Chen L., Ma C.C. Radiodynamic therapy using 15-MV radiation combined with 5-aminolevulinic acid and carbamide peroxide for prostate cancer in vivo. *Phys Med Biol.* 2020; 65(16): 165008. doi: 10.1088/1361-6560/ab9776.

53. Hamsch P., Istomin Y.P., Tzerkovsky D.A., Patties I., Neuhaus J., Kortmann R.D., Schastak S., Glasow A. Efficient cell death induction in human glioblastoma cells by photodynamic treatment with Tetrahydroporphyrin-Tetratosylat (THPTS) and ionizing irradiation. *Oncotarget.* 2017; 8(42): 72411–23. doi: 10.18632/oncotarget.20403.

54. Церковский Д.А., Протопович Е.Л., Козловский Д.И., Суслова В.А. Противоопухолевая эффективность контактной лучевой терапии в комбинации с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте. *Biomedical Photonics.* 2021; 10(2): 25–33. [Tzerkovsky D.A., Protopovich Ya.L., Kozlovsky D.I., Suslova V.A. Antitumor efficiency of contact radiotherapy in combination with a chlorine-based photosensitizer in experiment. *Biomed Photon.* 2021; 10(2): 25–33. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-2-25-33.

55. Церковский Д.А., Мазуренко А.Н., Козловский Д.И., Адаменко Н.Д., Боричевский Ф.Ф. Комбинированная фотодинамическая и радиодинамическая терапии с хлориновым фотосенсибилизатором при фракционированном лучевом воздействии на перевивные опухоли in vivo. *Российский биотерапевтический журнал.* 2023; 22(3): 75–86. [Tzerkovsky D.A., Mazurenko A.N., Kozlovsky D.I., Adamenko N.D., Borichevsky F.F. Combined photodynamic and radiodynamic therapy with a chlorine photosensitizer under fractionated radiation exposure to transplanted tumors in an in vivo experiment. *Russian Journal of Biotherapy.* 2023; 22(3): 75–86. (in Russian)]. doi: 10.17650/1726-9784-2023-22-3-75-86.

56. Souris J.S., Leoni L., Zhang H.J., Pan A., Tanios E., Tsai H.M., Balyasnikova I.V., Bissonnette M., Chen C.T. X-ray Activated Nanoplateforms for Deep Tissue Photodynamic Therapy. *Nanomaterials (Basel).* 2023; 13(4): 673. doi: 10.3390/nano13040673.

57. Церковский Д.А., Козловский Д.И., Мазуренко А.Н., Адаменко Н.Д., Боричевский Ф.Ф. Экспериментальные исследования in vivo противоопухолевой эффективности фотодинамической и радиодинамической терапии, а также их сочетания. *Biomedical Photonics.* 2023; 12(2): 24–33. [Tzerkovsky D.A., Kozlovsky D.A., Mazurenko A.N., Adamenko N.D., Borichevsky F.F. Experimental in vivo studies

of the antitumor efficacy of photodynamic and radiodynamic therapy and their combinations. *Biomed Photon.* 2023; 12(2): 24–33. (in Russian)]. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-2-24-33.

58. Zhang G., Guo M., Ma H., Wang J., Zhang X.D. Catalytic nanotechnology of X-ray photodynamics for cancer treatments. *Biomater Sci.* 2023; 11(4): 1153–81. doi: 10.1039/d2bm01698b.

59. Marcus S.L., de Souza M.P. Theranostic Uses of the Heme Pathway in Neuro-Oncology: Protoporphyrin IX (PpIX) and Its Journey from Photodynamic Therapy (PDT) through Photodynamic Diagnosis (PDD) to Sonodynamic Therapy (SDT). *Cancers (Basel).* 2024; 16(4): 740. doi: 10.3390/cancers16040740.

60. Протопович Е.Л., Церковский Д.А. Противоопухолевая эффективность сонодинамической терапии с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте. *Российский биотерапевтический журнал.* 2022; 21(1): 68–75. [Protopovich E.L., Tzerkovsky D.A. Antitumor efficiency of sonodynamic therapy in combination with chlorine-based photosensitizer in experiments. *Russian Journal of Biotherapy.* 2022; 21(1): 68–75. (in Russian)]. doi: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-68-75.

61. Park J., Kong C., Shin J., Park J.Y., Na Y.C., Han S.H., Chang J.W., Song S.H., Chang W.S. Combined Effects of Focused Ultrasound and Photodynamic Treatment for Malignant Brain Tumors Using C6 Glioma Rat Model. *Yonsei Med J.* 2023; 64(4): 233–42. doi: 10.3349/ymj.2022.0422.

62. Zhu J.X., Zhu W.T., Hu J.H., Yang W., Liu P., Liu Q.H., Bai Y.X., Xie R. Curcumin-Loaded Poly(L-lactide-co-glycolide) Microbubble-Mediated Sono-photodynamic Therapy in Liver Cancer Cells. *Ultrasound Med Biol.* 2020; 46(8): 2030–43. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.03.030.

63. Kulbacka J., Chodaczek G., Rossowska J., Szweczyk A., Saczko J., Bazylińska U. Investigating the photodynamic efficacy of chlorin e6 by millisecond pulses in metastatic melanoma cells. *Bioelectrochemistry.* 2021; 138: 107728. doi: 10.1016/j.bioelechem.2020.107728.

64. Fakayode O.J., Kruger C.A., Songca S.P., Abrahamse H., Oluwafemi O.S. Photodynamic Therapy Evaluation of Methoxypolyethyleneglycol-Thiol-SPIONs-Gold-Meso-Tetrakis(4-Hydroxyphenyl)Porphyrin Conjugate against Breast Cancer Cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2018; 92: 737–44. doi: 10.1016/j.msec.2018.07.026.

Поступила/Received 11.04.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 05.08.2024

Принята к публикации/Accepted 12.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Романко Юрий Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России; профессор кафедры, Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7703-4911. Researcher ID (WOS): L-5965-2014. Author ID (Scopus): 7801463724. ORCID: 0000-0001-8797-5932.

Решетов Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор института, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России; заведующий кафедрой, Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России; научный руководитель факультета, ЧОУВО «Московский университет им. С.Ю. Витте» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3845-6604. Author ID (Scopus): 6701353127. ORCID: 0000-0002-0909-6278.

ВКЛАД АВТОРОВ

Романко Юрий Сергеевич: разработка концепции научной работы, сбор и обработка данных, написание статьи.

Решетов Игорь Владимирович: разработка концепции и анализ научной работы, критический пересмотр, внесение ценного интеллектуального содержания.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Автор Решетов И.В. (доктор медицинских наук, профессор, академик РАН) является членом редколлегии «Сибирского онкологического журнала». Авторам неизвестно о каком-либо другом потенциальном конфликте интересов, связанном с этой статьей.

ABOUT THE AUTHORS

Yuri S. Romanko, MD, DSc, Professor of the Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia; Professor of the Department, Academy of Postgraduate Education, FSCC of FMBA of Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): L-5965-2014. Author ID (Scopus): 7801463724. ORCID: 0000-0001-8797-5932.

Igor V. Reshetov, MD, Professor, Full Member of RAS, Director of the Institute, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia; Head of the Department, Academy of Postgraduate Education, FSCC of FMBA of Russia; Scientific Director of the faculty, S.Y. Witte Moscow University (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6701353127. ORCID: 0000-0002-0909-6278.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Yuri S. Romanko: study conception, data collection and analysis, writing of the manuscript.

Igor V. Reshetov: study conception, supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

Prof. Reshetov I.V. is a member of the editorial board of Siberian Journal of Oncology. The authors are not aware of any other potential conflicts of interest related to this manuscript.

Для цитирования: Полатова Д.Ш., Мадаминов А.Ю., Савкин А.В., Ибрагимова Д.А. Генная инженерия в онкологии, основанная на технологии CRISPR-Cas9. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 152–161. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-152-161

For citation: Polatova D.Sh., Madaminov A.Yu., Savkin A.V., Ibragimova D.A. Genetic engineering in oncology based on CRISPR-Cas9 technology. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 152–161. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-152-161

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ В ОНКОЛОГИИ, ОСНОВАННАЯ НА ТЕХНОЛОГИИ CRISPR-CAS9

Д.Ш. Полатова^{1,2}, А.Ю. Мадаминов², А.В. Савкин², Д.А. Ибрагимова²

¹Республиканский центр детской онкологии, гематологии и клинической иммунологии

Узбекистан, 100115, г. Ташкент, ул. Арнасай, 28

²Ташкентский государственный стоматологический институт

Узбекистан, 100047, г. Ташкент, ул. Махтумкули, 103

Аннотация

Цель исследования – анализ современных научных данных, посвященных молекулярным механизмам системы CRISPR-Cas9 в редактировании генов, преимуществам и недостаткам в исследованиях рака и разработке новых методов лечения. **Материал и методы.** Комплексный электронный поиск соответствующих публикаций проведен в научных базах данных PubMed/MEDLINE, ScienceDirect, Wiley и Google Scholar за период с 2014 по 2024 г. Поиск был адаптирован к конкретным требованиям каждой базы данных на основе следующих ключевых слов: CRISPR-Cas9, sgPHK, редактирование генома, иммунотерапия рака, CAR-T. В результате поиска было найдено 487 публикаций по интересующей теме, из которых 54 были использованы для написания литературного обзора. Кроме того, в статье дискретно подчеркиваются важность и проблемы CRISPR-Cas9 при производстве генно-инженерных Т-клеток для их потенциального использования при лечении определенных типов рака. **Результаты.** CAR-T (Т-клетка с химерным антигенным рецептором)-терапия широко используется в качестве одного из основных компонентов иммунотерапии при лечении лейкемии, лимфомы и некоторых солидных опухолей. Разработка запрограммированных направляющих PHK (sgPHK) и новых модификаций белка Cas9 позволила сделать технологию гибкой и универсальной. CRISPR-Cas9 часто используется для модификации Т- и НК-клеток с помощью конструкции антигенных рецепторов для улучшения их сенсорных цепей сложной функциональности, способных распознавать и уничтожать опухолевые клетки. При этом доставка готового рибонуклеопротеинового (Cas9+sgPHK) комплекса в клетку позволяет избежать конститутивных процессов транскрипции и трансляции, что обеспечивает максимально быстрое редактирование генов. **Заключение.** В обзоре рассмотрены научные данные, подчеркивающие многообещающее влияние технологий CRISPR на исследования и лечение рака. CRISPR-Cas9 считается уникальной и эффективной технологией в области генной и биомолекулярной инженерии.

Ключевые слова: CRISPR-Cas9, sgPHK, ДНК, редактирование генома, рак, CAR-T.

GENETIC ENGINEERING IN ONCOLOGY BASED ON CRISPR-CAS9 TECHNOLOGY

D.Sh. Polatova^{1,2}, A.Yu. Madaminov², A.V. Savkin², D.A. Ibragimova²

¹Republican Center for Pediatric Oncology, Hematology and Clinical Immunology

28, Arnasay St., Tashkent, 100115, Uzbekistan

²Tashkent State Dental Institute

103, Makhtumkuli St., Tashkent, 100047, Uzbekistan

Abstract

Purpose of the study: analysis of modern scientific data on the molecular mechanisms of the CRISPR-Cas9 system in gene editing, advantages and disadvantages in cancer research and the development of new

treatment methods. **Material and Methods.** A comprehensive electronic search of relevant published studies was conducted in the scientific databases PubMed/MEDLINE, ScienceDirect, Wiley and Google Scholar published between 2014 and 2024. The search was tailored to the specific requirements of each database based on the following keywords: CRISPR-Cas9, sgRNA, genome editing, cancer immunotherapy, CAR-T. The search yielded 487 studies on the topic of interest, of which 54 were used to write the literature review. Additionally, the article discretely highlights the importance and challenges of CRISPR-Cas9 in the production of genetically engineered T cells for potential use in treating certain types of cancer. **Results.** Accordingly, CAR-T (chimeric antigen receptor T-cell) therapy is widely used as one of the main components of immunotherapy in the treatment of leukemia, lymphoma and some solid tumors. The development of programmed single guide RNAs (sgRNAs) and new modifications of the Cas9 protein has made the technology flexible and universal. CRISPR-Cas9 is often used to modify T and NK cells by designing antigen receptors to improve their sensory circuits with complex functionality capable of recognizing and killing tumor cells. At the same time, delivery of the finished ribonucleoprotein (Cas9+sgRNA) complex into the cell avoids the constitutive processes of transcription and translation, which ensures the fastest possible gene editing. **Conclusion.** In this review, we reviewed the scientific evidence highlighting the promising impact of CRISPR technologies in cancer research and treatment. CRISPR-Cas9 is considered a unique and effective technology in the field of genetic and biomolecular engineering.

Key words: CRISPR-Cas9, sgRNA, DNA, genome editing, cancer, CAR-T.

Введение

По оценкам ВОЗ, в 2050 г. ожидается увеличение количества впервые выявленных злокачественных новообразований (ЗНО) на 77 % по сравнению с 2022 г. [1]. Борьба со злокачественными опухолями является глобальной проблемой, которая требует новых стратегий лечения. Э. Шарпантье и Дж. Даудна удостоены Нобелевской премии по химии 2020 г. за разработку метода редактирования генома с помощью системы CRISPR-Cas9 [2]. Перед многими учеными встали вопросы о том, как изменит эта система геном человека, который сформировался в результате эволюции. Однако авторы открытия считают целесообразным редактирование генома соматических клеток по мере необходимости в конкретных исследованиях, а не половых клеток. Хотя спорадическое распространение системы CRISPR-Cas в микробиотах предполагает, что она подвергалась горизонтальному переносу генов в процессе филогенеза [3].

Система CRISPR (кластеризованные регулярно расположенные короткие палиндромные повторы, Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) сформировалась в результате эволюционного развития прокариот (бактерии и археи) и представляет собой механизм защиты от чужеродной ДНК вирусов и плазмид, генерирующихся за счет активации определенных родов РНК. Функциональная ассоциация белка 9 (Cas9, CRISPR-associated protein 9), члена семейства белков с рестриктазной активностью, с CRISPR приводит к двухцепочечным разрывам ДНК на уровне специфических нуклеотидных последовательностей (т.н. протоспейсеры). Следовательно, высокопроизводительные генетические маневры CRISPR-Cas9 в редактировании ДНК сгенерировали мощный импульс исследованиям и разработкам биологических методов лечения рака [4]. Трансляция технологий генной инженерии в медицинскую онкологию и успехи в генетических манипуляциях с использо-

ванием системы CRISPR-Cas9 в эукариотических клетках привели к созданию эффективных иммунно- и таргетных препаратов при раке, рефрактерном к стандартным методам лечения. В настоящее время эта система эффективно используется в иммунотерапии рака, включая модификацию адаптивных Т-клеток и естественных киллеров против опухолевых клеток, выработку антител, стимуляцию секреции цитокинов и ингибирование активности иммунных контрольных точек. Например, сегодня CAR-T (chimeric antigen receptor T cells, Т-клетки с химерным антигенным рецептором)-терапия широко используется в качестве одного из основных компонентов иммунотерапии при лечении лейкемии, лимфомы и некоторых солидных опухолей [5]. CRISPR-Cas9 превзошел другие системы редактирования генома по следующим параметрам: CRISPR-Cas9 распознает комплементарный сайт ДНК посредством взаимодействия РНК-ДНК; легко проектируется; приводит к более высокой специфичности и эффективности; обеспечивает простой способ манипулирования несколькими ДНК-мишенями одновременно (высокоэффективное мультиплексирование); является экономичной технологией [6]. Исследования, направленные на дальнейшее изучение потенциала системы CRISPR-Cas9, предоставили ученым понимание микроокружения ЗНО и возможность создания модифицированных клеток, которые считаются важными движущими силами иммунотерапии. Хотя система CRISPR-Cas9 является новой технологией, в настоящее время она становится общепринятым лабораторным методом редактирования генов. Однако трансляция технологии CRISPR-Cas9 в клиническую практику сталкивается с некоторыми серьезными проблемами, которые мешают ей быть успешным терапевтическим подходом. Эти препятствия включают, но не ограничиваются, следующие проблемы: нецелевые изменения, недостаточная специфичность, ненадежная до-

ставка, неожиданные делеции и сложные геномные перестройки в отредактированных клетках, генотоксичность, иммуногенность белка Cas9 и CRISPR-Cas9 могут проявлять свою способность редактирования генома только при наличии нуклеотидной последовательности PAM (protospacer adjacent motif, смежный мотив протоспейсера) (5'-NGG-3') [7].

В данном обзоре обсуждаются применение и проблемы технологии CRISPR-Cas9 в исследованиях и лечении рака, достижения и перспективы продвижения новых инженированных клеточных и субклеточных терапевтических средств за пределами иммуноонкологии. Анализируются современные молекулярные механизмы стратегии CRISPR-Cas9 в редактировании генов, преимущества и недостатки в исследованиях рака и разработке новых методов лечения. Кроме того, мы фокусируемся на важности и проблемах CRISPR-Cas9 в производстве генетически модифицированных Т-клеток для потенциального использования при лечении определенных типов рака. Комплексный электронный поиск соответствующих публикаций был проведен в научных базах данных PubMed/MEDLINE, ScienceDirect, Wiley и Google Scholar за период с 2014 по 2024 г. Поиск адаптирован к конкретным требованиям каждой базы данных на основе следующих ключевых слов: CRISPR-Cas9, sgPHK, ДНК, редактирование генома, рак, CAR-T.

Конструирование системы CRISPR-Cas9

Способность ДНК восстанавливаться после двухцепочечных разрывов позволяет генетически манипулировать системой CRISPR-Cas9. CRISPR-Cas9 представляет собой адаптивный модуль редактирования генов, имеющий преимущества перед другими технологиями, такими как интерференция РНК (RNAi), эффекторные нуклеазы, подобные активаторам транскрипции (TALENs), и нуклеазы цинковых пальцев (ZFNs) [8]. На самом деле, CRISPR-Cas9 появляется в природе как жизненно важная иммунная система прокариот, приспособленная расщеплять чужеродную или вторгающуюся ДНК вируса [9]. Прокариоты справедливо интегрируют в свой геном определенные сегменты вирусного генома (протоспейсеры), внедрившиеся в цитозоль, в качестве молекулярной памяти, что позволяет сформировать быструю защитную реакцию при последующем заражении этим вирусом. Интегрированная вирусная последовательность (спейсер) затем транскрибируется с образованием CRISPR РНК (crPHK) и мобилизуется в качестве комплементарного зонда для обнаружения последовательности PAM во вторгающейся ДНК, которая, в свою очередь, определяет специфический сайт расщепления для эндонуклеазы Cas9 [10]. Таким образом, система CRISPR-Cas9, ориентированная на молекулярную защиту прокариот, широко используется в геномной инженерии,

которая в последнее время быстро интегрируется с медицинской онкологией [11, 12].

Однако исследователи разработали направляющую РНК (guide [g] РНК) в качестве искусственной замены эндогенного комплекса crPHK для распознавания целевого нуклеотида с последующей активностью нуклеазы Cas9. Кроме того, у CRISPR преобладает потенциал для мультиплексирования нескольких генов-мишеней, программирования gPHK и простоты доставки *in vivo* с низкой цитотоксичностью [13]. CRISPR-Cas9 можно рассматривать как РНК-управляемую эндонуклеазу (RGEN, RNA-guided endonuclease), которая включает в себя распознавание специфических коротких последовательностей-мишеней (~20 п.н.). PAM, нуклеотидная последовательность из 2–6 пар оснований, очень важно, чтобы gPHK узнала свои целевые нуклеотиды, за которыми следует рекрутирование белка Cas9. При этом gPHK направляет завербованный Cas9 через его специфические последовательности, связанные с трансктивирующей crRNA (tracrPHK). Путем формирования гибрида crPHK и tracrPHK (также называемой последовательностью одиночной направляющей РНК, sgPHK [single guide]) система CRISPR-Cas может направлять фермент Cas9 на гибридизацию с определенными последовательностями ДНК и вводить двухцепочечные разрывы с помощью спейсера (рис. 1). Связывание эндогенных crPHK и tracrPHK посредством линкерных последовательностей (Linkerloop) обеспечивает образование единой искусственной олигонуклеотидной структуры, выполняющей роль направляющей РНК [14].

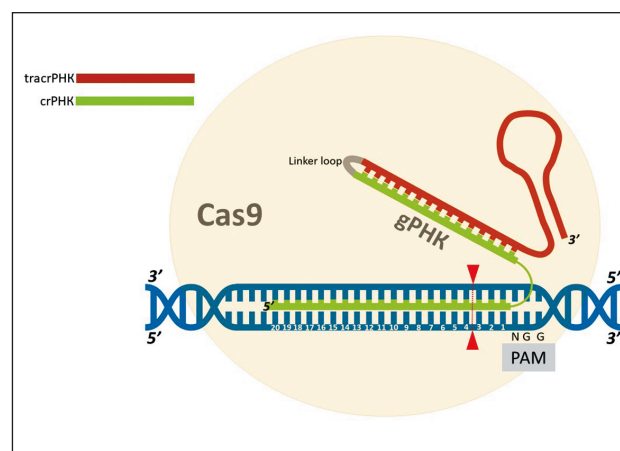


Рис. 1. Управляемый рибонуклеопротеиновый комплекс для распознавания и разрыва целевой последовательности ДНК (gPHK, однокомпонентная запрограммированная направляющая РНК; crRNA, CRISPR РНК; tracrRNA, трансктивирующая crPHK; PAM, смежный мотив протоспейсера; Linker loop, линкерная петля). Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 1. A regulated ribonucleoprotein complex for recognizing and breaking the target DNA sequence (gRNA, single-component programmed guide RNA; crRNA, CRISPR RNA; tracrRNA, transactivating crRNA; PAM, protospacer adjacent motif).

Note: created by the authors

При взаимодействии sgРНК с ДНК-мишенью белок Cas9 (эндонуклеаза рестрикции) генерирует двухцепочечный разрыв из трех нуклеотидов выше последовательности PAM (рис. 1). PAM представляет собой последовательность 5'-NGG-3', где «N» – это любое азотистое основание, за которым следуют два азотистых основания гуанина («G»). Направляющие РНК могут транспортировать Cas9 на многие комплементарные сайты в геноме, но никакое редактирование не сможет произойти, если Cas9 не распознает сайт PAM. В идеале репарация ДНК в клетке может происходить посредством нехомологичного соединения концов (NHEJ)-опосредованного пути ДНК или посредством репарации ДНК, направленной по гомологии (HDR) [15]. Прямое соединение двух одноцепочечных концов в механизме репарации NHEJ приводит к небольшим случайным мутациям вставки или делеции (indels), которые в конечном итоге способствуют молчанию соответствующего гена (knock-out). HDR использует комплементарные последовательности ДНК в гомологичной матрице для генерации репарации ДНК, с помощью которой конкретный ген может быть создан (knock-in) путем транспозиции конструированных одноцепочечных фрагментов ДНК [16]. Поскольку нацеливание системы CRISPR основано на формировании комплекса белок/рибонуклеотид, ее можно использовать для любых геномных целей путем создания различных структурных вариаций gРНК [11]. Прямая доставка РНК, кодирующей белок Cas, и специфической gРНК в клетку еще больше повышает эффективность системы CRISPR при редактировании конкретных генов, тем самым преодолевая препятствия и трудности, связанные с априорными методами, основанными на системе репарации гомологичной рекомбинации [17].

CRISPR-Cas9 в исследовании и лечении рака

Раковые клетки в основном характеризуются различными мутациями ДНК, которые провоцируют нестабильность генома и нарушение регуляции механизмов клеточного деления. В настоящее время наиболее известными мутационными изменениями являются инактивация гена *TP53* и активация гена *RAS* вследствие миссенс-мутаций. Более 50 % всех первичных ЗНО человека связаны с мутациями гена *TP53* [18] и примерно до 30 % – с мутациями гена *RAS* (особенно *KRAS*) [19]. За исключением недавно одобренного таргетного препарата Соторасиба, нацеленного на *KRAS* (G12C) [20], продукты этих мутантных генов остаются наиболее трудными и безуспешными мишенями в точечной терапии рака. В этом контексте технология CRISPR-Cas9 использовалась для изучения известных генов, вызывающих рак, таких как *TP53* и *KRAS*, и для выявления новых ответственных генов. Использование CRISPR для инактивации онкогена

KRAS на мышинной модели рака легких оказалось весьма эффективным [21]. Обладая этими знаниями, исследователи могут разрабатывать таргетные методы лечения мутантных генов и предотвращать прогрессирование рака. CRISPR-Cas9 предоставляет беспрецедентные возможности для имитации структурно aberrантных хромосом, наблюдаемых при раке у генетически модифицированных мышей, которые ранее было трудно моделировать. Этот подход, основанный на CRISPR-индуцированных двухцепочечных разрывах ДНК и последующей репарации эндогенными системами NHEJ/HDR, позволяет относительно просто вставлять или удалять фрагменты ДНК разных размеров не только в геноме мыши, но и в геноме человека [15, 22]. Кроме того, система CRISPR-Cas9 также используется для индукции и изучения мутаций белков, которые вызывают устойчивость к лекарствам и снижают их фармакологическую активность. Стратегия Drug Target SeqR, разработанная для поиска физиологических мишеней для лекарств, включает в себя сочетание высокопроизводительного секвенирования и редактирования генома с помощью CRISPR-Cas9 [23, 24].

В настоящее время для редактирования соответствующих генов-мишеней используется единственная направляющая РНК (sgRNA), состоящая из 17–20 нуклеотидов, которая образуется путем лигирования crРНК (нацеливающая последовательность) и tracrРНК (рекрутирующая нуклеаза Cas9). Нуклеаза Cas9 расщепляет примерно на уровне третьего азотистого основания выше PAM, что требует комплементарного нековалентного связывания sgРНК с 20 нуклеотидами, расположенными выше последовательности PAM (5'-NGG-3') на 3'-конце целевой ДНК [12] (рис. 1). Таким образом, последовательность PAM абсолютно необходима для расщепления фосфодиэфирной связи ферментом Cas9, но не может быть включена в последовательность sgРНК.

Скрининг объединенной библиотеки с использованием CRISPR – мощный инструмент для обнаружения новых зависимостей рака на основе модели потери функции (loss-of-function model). Плазмиды в этих библиотеках CRISPR нацелены на тысячи конкретных генов, и их влияние на определенный фенотип можно впоследствии изучить в различных условиях. Первым шагом является лент- или ретровирусная доставка sgRNA в клетки с последующим отбором к определенным условиям роста для отбора интересующего фенотипа. После этого этапа ДНК выделяют из клеток и подвергают секвенированию. Затем эти данные сопоставляются с библиотекой gRNA, специфичной для гена, и далее анализируются *in silico* с помощью вычислительных подходов. Затем фенотипы клеток и соответствующие гены-мишени сравнивают с фенотипом известных контролей в библиотеке, чтобы идентифицировать изменения, вызванные

нацеливанием на представляющий интерес ген. Эти объединенные подходы к скринингу CRISPR способны выявлять новые зависимости в онкогенезе путем проверки большого количества потенциальных генов и путей, ведущих к разработке новых методов лечения [25].

В полном смысле основными компонентами стратегий лечения рака на основе CRISPR являются следующие: инактивация онкогенов (например, генов *EGFR* и *KRAS* при раке легких) [26], перепрограммирование иммунных клеток против антигенов раковых клеток (Т-клетки при гематологических и солидных опухолях) [27], коррекция генов-супрессоров (*BRCA1* при раке яичников) [28] и доставка терапевтических агентов к опухолевым клеткам (бактерии с отредактированным геномом против клеток рака поджелудочной железы, стимуляция экспрессии микроРНК в клетках рака печени) [28, 29]. Из этих стратегий наиболее распространенным и эффективно используемым в клинической практике является редактирование геномов иммунных клеток, в частности Т-лимфоцитов, с целью модулирования цитотоксического ответа на опухолеспецифические антигены [30].

CRISPR-Cas9 часто используется для модификации аутологичных Т- и НК-клеток с помощью антигенных конструкций и химерных антигенных рецепторов, а также для улучшения их сенсорных цепей с помощью сложной функциональности, способных распознавать и уничтожать опухолевые клетки [5]. При этом Т-лимфоциты периферической крови используются для создания генетически модифицированных CAR-T клеток, экспрессирующих трансгенные Т-клеточные рецепторы (TCR) и химерные антигенные рецепторы (CAR) [31]. CAR-T-клетка как «живое лекарство» исследуется уже более двух десятилетий. Хотя результаты исследований подтверждают терапевтическую эффективность CAR-T против некоторых солидных опухолей, на данный момент ни один CAR-T не был одобрен FDA для лечения солидных опухолей. Одним из основных препятствий на пути успешного использования стратегии CAR-T в лечении солидных опухолей являются сложный клеточный состав опухолевого микроокружения и диверсификация репертуара опухолеспецифических антигенов [32].

В настоящее время проводится несколько клинических испытаний с использованием технологии CRISPR-Cas9 на CAR-T-клетках. Например, NCT04037566 является первым исследованием на людях, оценивающим CD19 CAR-T-клетки с отредактированным эндогенным HPK1 у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной (P/P) лейкоемией или лимфомой [33]. NCT04637763 – это клиническое исследование I фазы, посвященное изучению влияния и безопасности аллогенных CD19 CAR-T-клеток, отредактированных с помощью CRISPR [33], у пациентов с P/P В-клеточной не-

ходжкинской лимфомой. Наконец, NCT03545815 – клиническое исследование I фазы с использованием CRISPR-Cas9 для нокаута PD-1 и TCR в CAR-T-клетках и направления их на лечение пациентов с мезотелин-позитивными множественными солидными опухолями [34].

Доставка CRISPR-Cas9 в клетку

Доставка модели CRISPR-Cas9 *in vivo* сталкивается с различными проблемами, включая низкую эффективность разрушения, инсерционный мутагенез, нецелевые эффекты, токсичность и иммуногенность. Максимизация специфичности и эффективности CRISPR-Cas9 можно будет обеспечить за счет разработки более надежных средств доставки, улучшения конструкции sgРНК и создания новой нуклеазы Cas9 [35]. Редактирование CAR-T-клеток с CRISPR-Cas9 может преодолеть многие проблемы, такие как использование только аутологичных Т-клеток, аллогенные реакции, тоническая сигнализация (конститутивная передача сигналов) и истощение Т-клеток, низкая производительность в микроокружении солидных опухолей и токсичность. Трансфекция CRISPR-Cas9 для редактирования интересующего генома определяется тремя отдельными стратегиями. Первый подход заключается в использовании плазмидной ДНК, кодирующей белок Cas9 и sgРНК из одного и того же вектора. Второй подход характеризуется доставкой в клетку смеси мРНК Cas9 и sgРНК. Последняя, третья, стратегия – трансфекция готового к использованию рибонуклеопротеинового комплекса, состоящего из молекул белка Cas9 и sgРНК, которая отличается высокой селективностью по сравнению с двумя вышеперечисленными системами [36]. Хотя первая стратегия доставки, система CRISPR-Cas9 на основе плазмид, является простым и прямым подходом, она имеет тенденцию вызывать нецелевые мутации [37]. При попадании плазмиды в нужное ядро она подвергается процессам транскрипции и трансляции для экспрессии кодируемых белков. Эти процессы требуют больше времени для эффективного нацеливания на интересующий ген. Что еще более важно, было обнаружено, что этот формат доставки приводит к необратимому нецелевому сайту расщепления [38]. Еще одним недостатком векторов на основе плазмид является их ограниченный размер, что создает препятствия для переноса крупных генов. Кроме того, распознавание трансфицированной плазмидной ДНК как чужеродного генетического материала циклической GMP-AMP-синтазой, являющейся цитозольным сенсором, приводит к развитию иммунного ответа хозяина [39]. Во второй стратегии прямая доставка комплекса мРНК Cas9 и sgРНК в клетки-мишени обеспечивает образование комплекса Cas9/sgРНК за сравнительно короткое время, минуя ядро, за счет трансляции мРНК в цитоплазме. Хотя доставка на основе

мРНК характеризуется низкой частотой нецелевых эффектов по сравнению со стратегиями доставки плазмидной ДНК, мРНК может легко разрушаться во время приготовления или доставки [40]. Введение в клетку готового рибонуклеопротеинового комплекса исключает необходимость транскрипции и трансляции, обеспечивая относительно быстрое редактирование генов по сравнению с двумя предыдущими подходами [41]. Следовательно, этот тип редактирования происходит очень быстро, и вставка может произойти в течение 3–24 ч, а деградация белка Cas9 в клетках – примерно в течение 24 ч [42]. Существует несколько нановекторов для трансфекции *in vitro* молекулярных модулей CRISPR-Cas в клетки, которые представляют собой нитевидные наночастицы ДНК, реплицированные по принципу «катящегося кольца», катионные липидные наночастицы, наночастицы на основе золота и каркасы цеолитовых имидазолов [43]. Однако лентивирусные и аденовирусные векторы часто используются для доставки компонентов CRISPR-Cas для генетической модификации Т-клеток (таблица). Эти доставки, по-видимому, неэффективны из-за низкой эффективности разрушения генов, слабой сайт-специфичной вставки и случайного нарушения нежелательных генов [44].

CRISPR-Cas-9 при редактировании генома CAR-T

В настоящее время универсальные, аллогенные или готовые Т-клетки, полученные от доноров, подвергаются генетическим манипуляциям и могут использоваться для разных пациентов. Аллогенные Т-клетки, экспрессирующие $\alpha\beta$ TCR, могут распознавать и разрушать клетки ткани реципиента, содержащие репертуар генетически несходных антигенов человеческого лейкоцитарного антигена класса I (HLA-I), что приводит к событию «трансплантат против хозяина» [45]. Бета-2-микроглобулин ($\beta 2M$) является основной субъединицей HLA-I и играет ключевую роль в распознавании чужеродного HLA-I на мембране аллогенных Т-клеток TCR-рецепторами иммунными клетками реципиента [46]. Следовательно, выключение (knock-out) генов TCR и HLA (или $\beta 2M$) как двух важнейших рецепторов Т-клеток с помощью CRISPR-Cas9 может привести к развиту готовых CAR-T-клеток, свободных от реакции «трансплантат против хозяина». Однако существуют разногласия по поводу преимуществ удаления TCR. В недавнем исследовании сравнивались терапевтические результаты применения CD19 CAR-T-клеток с удаленным рецептором

Таблица/Table

Особенности стратегии доставки системы CRISPR-Cas9
Features of the CRISPR-Cas9 system delivery strategy

Способ/Method	Доставка/Delivery	Преимущества/Advantages	Недостатки/Disadvantages
ДНК-Cas9 и sgRNA/ DNA-Cas9 and sgRNA	Электропорация/ Electroporation Микроинъекция/ Microinjection Наночастицы AAV/ AAV nanoparticles Лентивирус/Lentivirus	Простой/Simple Удобный/Comfortable Стабильный/Stable Избегание мультитрансфекции/ Avoidance of multitransfection	Сложность с переносом плазмиды в ядро/ Difficulty with plasmid transfer into the nucleus Эффект замедления при редактировании генов/ Slowdown effect of gene editing Нежелательные случайные интеграции в геном хозяина/ Undesirable random integration into the host genome
мРНК-Cas9 и sgRNA/ mRNA-Cas9 and sgRNA	Электропорация/ Electroporation Наночастицы/ Nanoparticles	Низкая цитотоксичность/ Low cytotoxicity Переходное выражение/ Transitional expression Быстрый эффект/ Quick effect	Мультитрансфекция/ Multitransfection Высокая разлагаемость мРНК/ High mRNA degradability
Cas9 и sgRNA/ Cas9 and sgRNA	Электропорация/ Electroporation Наночастицы/ Nanoparticles	Быстрый эффект/ Quick effect Высокая эффективность/ High efficiency Избегание нежелательных интеграций/ Avoiding unwanted integrations Низкая антигенность/ Low antigenicity Избегание мультитрансфекции/ Avoiding multitransfection	Менее стабильный/ Less stable

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors

TCR β и CD19 CAR-T-клеток с интактным рецептором TCR β [47]. В то время как выключение гена TCR в CAR-T-клетках сильно подавляет аллореактивность, TCR-экспрессирующие CAR-T-клетки демонстрируют высокую персистенцию и значительно усиливают контроль над лейкемией *in vivo*. Эти данные позволяют предположить, что, несмотря на преимущества выключения TCR в предотвращении нежелательных иммунологических реакций и в развитии готовых Т-клеток, высокоселективных к опухолевому антигену CD19, присутствие эндогенных TCR может быть лучше для длительного выживания Т-клеток.

Экспрессия PD-1 (Programmed cell death 1) клетками CAR-T имеет подавляющий эффект, так как нарушение функции PD-1 может усилить противоопухолевый ответ Т-клеток [48]. Электропорация Cas9 и sgRNA, направленная на экзон 1 гена белка PD-1 (*PDCDI*, Programmed cell death protein 1) в Т-клетках человека с последующей доставкой лентивирусного вектора, содержащего трансген CD19 CAR, обеспечивает высокую эффективность и минимальную токсичность CAR-T-терапии. Это открытие подчеркивает негативную роль оси PD-1/PD-L1 в формировании цитотоксического эффекта CAR-T-клеток против раковых клеток, экспрессирующих опухолеассоциированный антиген [49]. Модифицированные Т-клетки с нокаутом гена PD-1 продемонстрировали высокую персистенцию, минимизацию аллогенной токсичности и признаков активации HLA-1, кроме того,

выживаемость трансгенных мышей увеличилась [50]. Результаты исследования показали, что использование плазмидной ДНК является более удобным подходом по сравнению с методами доставки РНК, белков и вирусов из-за ее низкой стоимости и простоты приготовления [51]. В недавнем исследовании система CRISPR-Cas9 использовалась для редактирования локусов PD-1, β 2M и TRAC (альфа-константа Т-клеточного рецептора) в геноме CAR-T-клеток, нацеленных на EGFRvIII (III вариант рецептора эпидермального фактора роста). В результате создана новая модификация CAR-T EGFRvIII, устойчивая к супрессии PD-1, что привело к значительному увеличению выживаемости на мышиных моделях глиобластомы человека [52]. Однако критические биологические процессы, происходящие в микроокружении солидных опухолей (гипоксия, кислая среда, дефицит питательных веществ, некоординированное содержание медиаторов воспаления, иммунотолерантность), резко снижают эффективность CAR-T-терапии в реальных условиях [53]. Группа исследователей отредактировала (knock-out) ген эндогенного рецептора II трансформирующего фактора роста-бета (*TGFBR2*) в Т-клетках с помощью технологии CRISPR-Cas9, чтобы преодолеть негативное влияние TGF- β (основной регулятор микроокружении опухоли) на CAR-T-терапию. Также было показано, что выключение гена *TGFBR2* позволит модифицированным Т-клеткам выживать, эффективно размножаться и проявлять более высокую противоопухолевую ак-

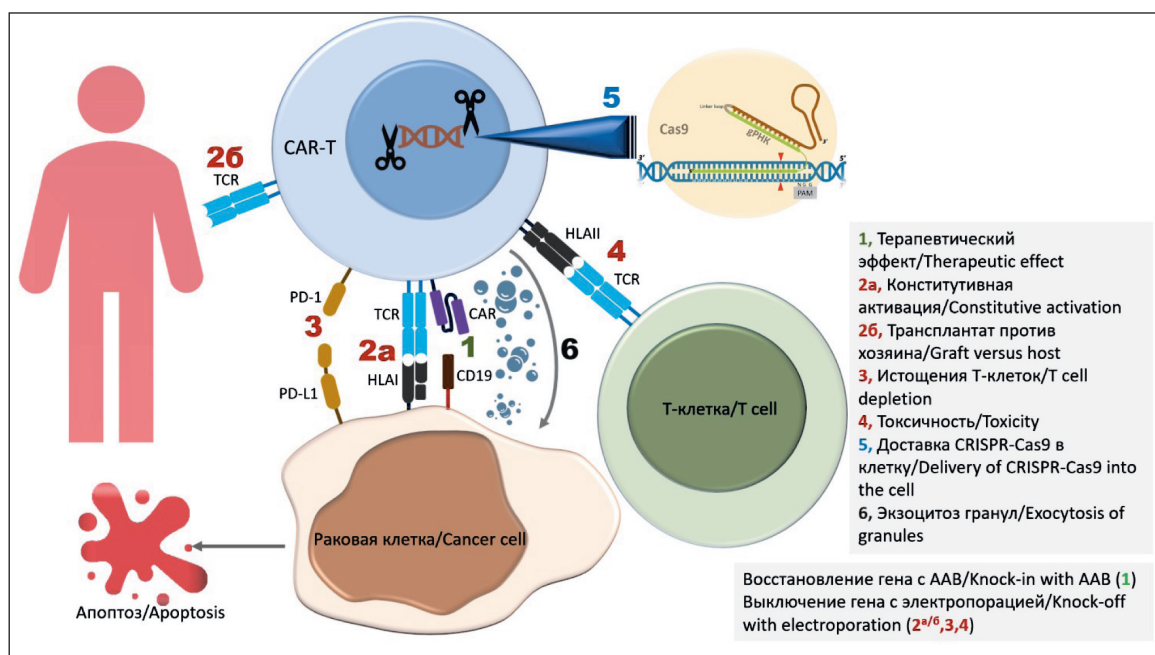


Рис. 2. Пути доставки и механизмы действия CRISPR-Cas9 для редактирования генома CAR-T-клеток: CAR – химерный антигенный рецептор; CAR-T, Т-клетка с CAR; TCR, Т-клеточный рецептор; HLA, человеческий лейкоцитарный антиген; CD19 (кластер дифференцировки 19), антиген В-клетки; PD-1, запрограммированная гибель клетки 1; PD-L1, 1 лиганд PD; AAV – аденоассоциированный вирус. Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 2. Delivery routes and mechanisms of action of CRISPR-Cas9 for genome editing of CAR T cells. CAR, chimeric antigen receptor; CAR-T, CAR T cell; TCR, T cell receptor; HLA, human leukocyte antigen; CD19 (cluster of differentiation 19), B cell antigen; PD-1, programmed cell death 1; PD-L1, PD ligand 1; AAV, adeno-associated virus. Note: created by the authors

тивность [54]. Обнадёживает, что подавление других иммунных контрольных точек, таких как PD-1, одновременно с TGF- β 1 может привести к лучшему результату при лечении CAR-T-клетками.

Таким образом, использование технологии CRISPR-Cas9 для выявления и устранения негативно регулируемых генов в CAR-T-клетках, безусловно, улучшит лечение за счет повышения их специфической активности в отношении раковых клеток (рис. 2). Доклинические исследования CAR-T-клеток, отредактированных с помощью CRISPR, продемонстрировали многообещающие результаты, которые скоро откроют новые горизонты в иммунотерапии рака. Тем не менее еще есть возможности для дальнейшей работы над новыми соответствующими генами, которые оказывают негативное влияние на терапию CAR-T-клетками.

Заключение

Прокариотический адаптивный иммунный механизм используется для введения двухцепочечных разрывов в интересующем генетическом месте с использованием sgRNA. Редактирование генома с этической точки зрения является сложным вопро-

сом и вызывает множество дискуссий. Но система CRISPR-Cas9 может открыть новые возможности в исследованиях и эффективном лечении рака. При создании новых молекулярных инструментов системы CRISPR-Cas необходимо сохранить такие качества, как высокая специфичность и направленность, отсутствие генотоксичности и иммуногенности, легкость трансфекции и высокая эффективность. Иммунный ответ против Cas9 снижает эффективность процесса редактирования и может привести к побочным эффектам. Однако обычный белок Cas9 распознает только несколько последовательностей PAM, что ограничивает широкое применение системы CRISPR. Секвенирование генома человека привело к созданию интеллектуальной версии белка xCas9, которая может распознавать больше последовательностей PAM, что позволяет системе CRISPR-Cas9 работать в более широком диапазоне. В обзоре мы рассмотрели многообещающие исследования новых технологий в лечении рака. Ожидается, что использование CRISPR-Cas9 для редактирования генома и эпигенома приведет к разработке новых, более эффективных методов лечения злокачественных новообразований.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Global cancer burden growing, amidst mounting need for services.* Saudi Med J. 2024; 45(3): 326–7.
2. *Westermann L., Neubauer B., Köttgen M. Nobel Prize 2020 in Chemistry honors CRISPR: a tool for rewriting the code of life.* Pflugers Arch. 2021; 473(1): 1–2. doi: 10.1007/s00424-020-02497-9.
3. *Alseth E.O., Pursey E., Luján A.M., McLeod I., Rollie C., Westra E.R. Bacterial biodiversity drives the evolution of CRISPR-based phage resistance.* Nature. 2019; 574(7779): 549–52. doi:10.1038/s41586-019-1662-9.
4. *Afolabi L.O., Afolabi M.O., Sani M.M., Okunowo W.O., Yan D., Chen L., Zhang Y., Wan X. Exploiting the CRISPR-Cas9 gene-editing system for human cancers and immunotherapy.* Clin Transl Immunology. 2021; 10(6). doi: 10.1002/cti2.1286.
5. *Sadeqi Nezhad M., Yazdanifar M., Abdollahpour-Alitappeh M., Sattari A., Seifalian A., Bagheri N. Strengthening the CAR-T cell therapeutic application using CRISPR/Cas9 technology.* Biotechnol Bioeng. 2021; 118(10): 3691–705. doi: 10.1002/bit.27882.
6. *Xu Y., Li Z. CRISPR-Cas systems: Overview, innovations and applications in human disease research and gene therapy.* Comput Struct Biotechnol J. 2020; 18: 2401–15. doi: 10.1016/j.csbj.2020.08.031.
7. *Zhang D., Hussain A., Manghwar H., Xie K., Xie S., Zhao S., Larkin R.M., Qing P., Jin S., Ding F. Genome editing with the CRISPR-Cas system: an art, ethics and global regulatory perspective.* Plant Biotechnol J. 2020; 18(8): 1651–69. doi: 10.1111/pbi.13383.
8. *Naeem M., Majeed S., Hoque M.Z., Ahmad I. Latest Developed Strategies to Minimize the Off-Target Effects in CRISPR-Cas-Mediated Genome Editing.* Cells. 2020; 9(7): 1608. doi: 10.3390/cells9071608.
9. *Manghwar H., Li B., Ding X., Hussain A., Lindsey K., Zhang X., Jin S. CRISPR/Cas Systems in Genome Editing: Methodologies and Tools for sgRNA Design, Off-Target Evaluation, and Strategies to Mitigate Off-Target Effects.* Adv Sci (Weinh). 2020; 7(6). doi: 10.1002/advs.201902312.
10. *Javed M.R., Sadaf M., Ahmed T., Jamil A., Nawaz M., Abbas H., Ijaz A. CRISPR-Cas System: History and Prospects as a Genome Editing Tool in Microorganisms.* Curr Microbiol. 2018; 75(12): 1675–83. doi: 10.1007/s00284-018-1547-4.
11. *Batool A., Malik F., Andrabi K.I. Expansion of the CRISPR/Cas Genome-Sculpting Toolbox: Innovations, Applications and Challenges.* Mol Diagn Ther. 2021; 25(1): 41–57. doi: 10.1007/s40291-020-00500-8.
12. *Singh V., Gohil N., Ramirez García R., Braddick D., Fofé C.K. Recent Advances in CRISPR-Cas9 Genome Editing Technology for Biological and Biomedical Investigations.* J Cell Biochem. 2018; 119(1): 81–94. doi: 10.1002/jcb.26165.
13. *Cao J., Wu L., Zhang S.M., Lu M., Cheung W.K., Cai W., Gale M., Xu Q., Yan Q. An easy and efficient inducible CRISPR/Cas9 platform with improved specificity for multiple gene targeting.* Nucleic Acids Res. 2016; 44(19). doi: 10.1093/nar/gkw660.
14. *Morshedszadeh F., Ghanei M., Lotfi M., Ghasemi M., Ahmadi M., Najari-Hanjani P., Sharif S., Mozaffari-Jovin S., Peymani M., Abbaszadegan M.R. An Update on the Application of CRISPR Technology in Clinical Practice.* Mol Biotechnol. 2024; 66(2): 179–97. doi: 10.1007/s12033-023-00724-z.
15. *Ray U., Raghavan S.C. Modulation of DNA double-strand break repair as a strategy to improve precise genome editing.* Oncogene. 2020; 39(41): 6393–405. doi: 10.1038/s41388-020-01445-2.
16. *Miyaoka Y., Berman J.R., Cooper S.B., Mayerl S.J., Chan A.H., Zhang B., Karlin-Neumann G.A., Conklin B.R. Systematic quantification of HDR and NHEJ reveals effects of locus, nuclease, and cell type on genome-editing.* Sci Rep. 2016; 6. doi: 10.1038/srep23549.
17. *Gruzdev A., Scott G.J., Hagler T.B., Ray M.K. CRISPR/Cas9-Assisted Genome Editing in Murine Embryonic Stem Cells.* Methods Mol Biol. 2019; 1960: 1–21. doi: 10.1007/978-1-4939-9167-9_1.
18. *Chen X., Zhang T., Su W., Dou Z., Zhao D., Jin X., Lei H., Wang J., Xie X., Cheng B., Li Q., Zhang H., Di C. Mutant p53 in cancer: from molecular mechanism to therapeutic modulation.* Cell Death Dis. 2022; 13(11): 974. doi: 10.1038/s41419-022-05408-1.
19. *Prior I.A., Hood F.E., Hartley J.L. The Frequency of Ras Mutations in Cancer.* Cancer Res. 2020; 80(14): 2969–74. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-3682.
20. *Nakajima E.C., Drezner N., Li X., Mishra-Kalyani P.S., Liu Y., Zhao H., Bi Y., Liu J., Rahman A., Wearne E., Ojofeitimi I., Hotaki L.T., Spillman D., Pazdur R., Beaver J.A., Singh H. FDA Approval Summary: Sotorasib for KRAS G12C-Mutated Metastatic NSCLC.* Clin Cancer Res. 2022; 28(8): 1482–6. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-21-3074.
21. *Lakshmanan V.K., Jindal S., Packirisamy G., Ojha S., Lian S., Kaushik A., Alzarooni A.I.M.A., Metwally Y.A.F., Thyagarajan S.P., Do Jung Y., Chouaib S. Nanomedicine-based cancer immunotherapy: recent trends and future perspectives.* Cancer Gene Ther. 2021; 28(9): 911–23. doi: 10.1038/s41417-021-00299-4.
22. *Behan F.M., Iorio F., Picco G., Gonçalves E., Beaver C.M., Migliardi G., Santos R., Rao Y., Sassi F., Pinnelli M., Ansari R., Harper S., Jackson D.A., McRae R., Pooley R., Wilkinson P., van der Meer D., Dow D., Buser-Doepner C., Bertotti A., Trusolino L., Stronach E.A., Saez-Rodriguez J., Yusa K., Garnett M.J. Prioritization of cancer therapeutic targets using CRISPR-Cas9 screens.* Nature. 2019; 568(7753): 511–6. doi: 10.1038/s41586-019-1103-9.

23. Kasap C., Elemento O., Kapoor T.M. DrugTargetSeqR: a genomics- and CRISPR-Cas9-based method to analyze drug targets. *Nat Chem Biol.* 2014; 10(8): 626–8. doi: 10.1038/nchembio.1551.
24. Neggers J.E., Vercruyse T., Jacquemyn M., Vanstreels E., Baloglu E., Shacham S., Crochtere M., Landesman Y., Daelemans D. Identifying drug-target selectivity of small-molecule CRM1/XPO1 inhibitors by CRISPR/Cas9 genome editing. *Chem Biol.* 2015; 22(1): 107–16. doi: 10.1016/j.chembiol.2014.11.015.
25. Yang X., Zhang B. A review on CRISPR/Cas: a versatile tool for cancer screening, diagnosis, and clinic treatment. *Funct Integr Genomics.* 2023; 23(2): 182. doi: 10.1007/s10142-023-01117-w.
26. Gong X., Du J., Peng R.W., Chen C., Yang Z. CRISPRing KRAS: A Winding Road with a Bright Future in Basic and Translational Cancer Research. *Cancers (Basel).* 2024; 16(2): 460. doi: 10.3390/cancers16020460.
27. Huang D., Miller M., Ashok B., Jain S., Peppas N.A. CRISPR/Cas systems to overcome challenges in developing the next generation of T cells for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020; 158: 17–35. doi: 10.1016/j.addr.2020.07.015.
28. Stefanoudakis D., Kathuria-Prakash N., Sun A.W., Abel M., Drolen C.E., Ashbaugh C., Zhang S., Hui G., Tabatabaei Y.A., Zekser Y., Lopez L.P., Pantuck A., Drakaki A. The Potential Revolution of Cancer Treatment with CRISPR Technology. *Cancers (Basel).* 2023; 15(6): 1813. doi: 10.3390/cancers15061813.
29. Yang H., Bailey P., Pilarsky C. CRISPR Cas9 in Pancreatic Cancer Research. *Front Cell Dev Biol.* 2019; 7: 239. doi: 10.3389/fcell.2019.00239.
30. Atsavapranee E.S., Billingsley M.M., Mitchell M.J. Delivery technologies for T cell gene editing: Applications in cancer immunotherapy. *EBioMedicine.* 2021; 67. doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103354.
31. Met Ö., Jensen K.M., Chamberlain C.A., Donia M., Svane I.M. Principles of adoptive T cell therapy in cancer. *Semin Immunopathol.* 2019; 41(1): 49–58. doi: 10.1007/s00281-018-0703-z.
32. Long K.B., Young R.M., Boesteanu A.C., Davis M.M., Melenhorst J.J., Lacey S.F., DeGaramo D.A., Levine B.L., Fraietta J.A. CAR T Cell Therapy of Non-hematopoietic Malignancies: Detours on the Road to Clinical Success. *Front Immunol.* 2018; 9. doi: 10.3389/fimmu.2018.02740.
33. Ottaviano G., Georgiadis C., Gkazi S.A., Syed F., Zhan H., Etuk A., Preece R., Chu J., Kubat A., Adams S., Veys P., Vora A., Rao K., Qasim W.; TT52 CRISPR-CAR group. Phase 1 clinical trial of CRISPR-engineered CAR19 universal T cells for treatment of children with refractory B cell leukemia. *Sci Transl Med.* 2022; 14(668). doi: 10.1126/scitranslmed.abq3010.
34. Wang Z., Li N., Feng K., Chen M., Zhang Y., Liu Y., Yang Q., Nie J., Tang N., Zhang X., Cheng C., Shen L., He J., Ye X., Cao W., Wang H., Han W. Phase I study of CAR-T cells with PD-1 and TCR disruption in mesothelin-positive solid tumors. *Cell Mol Immunol.* 2021; 18(9): 2188–98. doi: 10.1038/s41423-021-00749-x.
35. Hu J.H., Miller S.M., Geurts M.H., Tang W., Chen L., Sun N., Zeina C.M., Gao X., Rees H.A., Lin Z., Liu D.R. Evolved Cas9 variants with broad PAM compatibility and high DNA specificity. *Nature.* 2018; 556: 57–63. <https://doi.org/10.1038/nature26155>.
36. Luther D.C., Lee Y.W., Nagaraj H., Scaletti F., Rotello V.M. Delivery approaches for CRISPR/Cas9 therapeutics in vivo: advances and challenges. *Expert Opin Drug Deliv.* 2018; 15(9): 905–13. doi: 10.1080/17425247.2018.1517746.
37. Kornete M., Marone R., Jeker L.T. Highly Efficient and Versatile Plasmid-Based Gene Editing in Primary T Cells. *J Immunol.* 2018; 200(7): 2489–2501. doi: 10.4049/jimmunol.1701121.
38. Fujihara Y., Ikawa M. CRISPR/Cas9-based genome editing in mice by single plasmid injection. *Methods Enzymol.* 2014; 546: 319–36. doi: 10.1016/B978-0-12-801185-0.00015-5.
39. Xu X., Wan T., Xin H., Li D., Pan H., Wu J., Ping Y. Delivery of CRISPR/Cas9 for therapeutic genome editing. *J Gene Med.* 2019; 21(7). doi: 10.1002/jgm.3107.
40. Givens B.E., Naguib Y.W., Geary S.M., Devor E.J., Salem A.K. Nanoparticle-Based Delivery of CRISPR/Cas9 Genome-Editing Therapeutics. *AAPS J.* 2018; 20(6): 108. doi: 10.1208/s12248-018-0267-9.
41. Seki A., Rutz S. Optimized RNP transfection for highly efficient CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in primary T cells. *J Exp Med.* 2018; 215(3): 985–97. doi: 10.1084/jem.20171626.
42. Kim S., Koo T., Jee H.G., Cho H.Y., Lee G., Lim D.G., Shin H.S., Kim J.S. CRISPR RNAs trigger innate immune responses in human cells. *Genome Res.* 2018; 28(3): 367–73. doi: 10.1101/gr.231936.117.
43. Wei T., Cheng Q., Min Y.L., Olson E.N., Siegwart D.J. Systemic nanoparticle delivery of CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins for effective tissue specific genome editing. *Nat Commun.* 2020; 11(1): 3232. doi: 10.1038/s41467-020-17029-3.
44. Lino C.A., Harper J.C., Carney J.P., Timlin J.A. Delivering CRISPR: a review of the challenges and approaches. *Drug Deliv.* 2018; 25(1): 1234–57. doi: 10.1080/10717544.2018.1474964.
45. Townsend M.H., Bennion K., Robison R.A., O'Neill K.L. Paving the way towards universal treatment with allogenic T cells. *Immunol Res.* 2020; 68(1): 63–70. doi: 10.1007/s12026-020-09119-7.
46. Salas-Mckee J., Kong W., Gladney W.L., Jadowsky J.K., Plesa G., Davis M.M., Fraietta J.A. CRISPR/Cas9-based genome editing in the era of CAR T cell immunotherapy. *Hum Vaccin Immunother.* 2019; 15(5): 1126–32. doi: 10.1080/21645515.2019.1571893.
47. Stenger D., Stief T.A., Kaeuferle T., Willier S., Rataj F., Schober K., Vick B., Lotfi R., Wagner B., Grünwald T.G.P., Kobold S., Busch D.H., Jeremias I., Blaesche F., Feuchtinger T. Endogenous TCR promotes in vivo persistence of CD19-CAR-T cells compared to a CRISPR/Cas9-mediated TCR knockout CAR. *Blood.* 2020; 136(12): 1407–18. doi: 10.1182/blood.2020005185.
48. Seliger B. Basis of PD1/PD-L1 Therapies. *J Clin Med.* 2019; 8(12): 2168. doi: 10.3390/jcm8122168.
49. Rupp L.J., Schumann K., Roybal K.T., Gate R.E., Ye C.J., Lim W.A., Marson A. CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances anti-tumor efficacy of human chimeric antigen receptor T cells. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 737. doi: 10.1038/s41598-017-00462-8.
50. Nakazawa T., Natsume A., Nishimura F., Morimoto T., Matsuda R., Nakamura M., Yamada S., Nakagawa I., Motoyama Y., Park Y.S., Tsujimura T., Wakabayashi T., Nakase H. Effect of CRISPR/Cas9-Mediated PD-1-Disrupted Primary Human Third-Generation CAR-T Cells Targeting EGFRvIII on In Vitro Human Glioblastoma Cell Growth. *Cells.* 2020; 9(4): 998. doi: 10.3390/cells9040998.
51. Hu W., Zi Z., Jin Y., Li G., Shao K., Cai Q., Ma X., Wei F. CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances human mesothelin-targeted CAR T cell effector functions. *Cancer Immunol Immunother.* 2019; 68(3): 365–77. doi: 10.1007/s00262-018-2281-2.
52. Choi B.D., Yu X., Castano A.P., Darr H., Henderson D.B., Bouffard A.A., Larson R.C., Scarfö I., Bailey S.R., Gerhard G.M., Frigault M.J., Leick M.B., Schmidts A., Sagert J.G., Curry W.T., Carter B.S., Maus M.V. CRISPR-Cas9 disruption of PD-1 enhances activity of universal EGFRvIII CAR T cells in a preclinical model of human glioblastoma. *J Immunother Cancer.* 2019; 7(1): 304. doi: 10.1186/s40425-019-0806-7.
53. Yazdanifar M., Zhou R., Mukherjee P. Emerging immunotherapeutics in adenocarcinomas: A focus on CAR-T cells. *Curr Trends Immunol.* 2016; 17: 95–115.
54. Tang N., Cheng C., Zhang X., Qiao M., Li N., Mu W., Wei X.F., Han W., Wang H. TGF- β inhibition via CRISPR promotes the long-term efficacy of CAR T cells against solid tumors. *JCI Insight.* 2020; 5(4). doi: 10.1172/jci.insight.133977.

Поступила/Received 01.03.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 14.06.2024

Принята к публикации/Accepted 03.07.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Полатова Джамила Шагайратовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии и медицинской радиологии, Ташкентский государственный стоматологический институт; директор, Республиканский центр детской онкологии, гематологии и клинической иммунологии (г. Ташкент, Узбекистан). Author ID (Scopus): 57499570400. ORCID: 0000-0001-8128-2553.

Мадаминов Ахмад Юлдашевич, ассистент кафедры онкологии и медицинской радиологии, Ташкентский государственный стоматологический институт (г. Ташкент, Узбекистан). Author ID (Scopus): 57232171600. ORCID: 0000-0003-0064-3746.

Савкин Александр Владимирович, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры онкологии и медицинской радиологии, Ташкентский государственный стоматологический институт (г. Ташкент, Узбекистан). Author ID (Scopus): 57313093300. ORCID: 0000-0002-3416-5837.

Ибрагимова Дилором Абдулазизовна, ассистент кафедры онкологии и медицинской радиологии, Ташкентский государственный стоматологический институт (г. Ташкент, Узбекистан). Author ID (Scopus): 58642429400. ORCID: 0009-0000-4488-7270.

ВКЛАД АВТОРОВ

Полатова Джамила Шагайратовна: общее руководство проектом, разработка концепции и дизайна научной работы, редактирование и написание текста статьи, критический пересмотр с внесением ценного смыслового содержания, утверждение окончательного варианта статьи.

Мадаминов Ахмад Юлдашевич: общее руководство проектом, разработка концепции и дизайна научной работы, редактирование и написание текста статьи, критический пересмотр с внесением ценного смыслового содержания, утверждение окончательного варианта статьи.

Савкин Александр Владимирович: поиск необходимых данных в соответствии с конкретными требованиями, анализ полученных данных, проведение сравнительного анализа между полученными данными, написание чернового варианта статьи.

Ибрагимова Дилором Абдулазизовна: поиск необходимых данных в соответствии с конкретными требованиями, анализ полученных данных, проведение сравнительного анализа между полученными данными, написание чернового варианта статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Djamila Sh. Polatova, MD, DSc, Professor, Department of Oncology and Medical Radiology, Tashkent State Dental Institute; Director, Republican Center for Pediatric Oncology, Hematology and Clinical Immunology (Uzbekistan, Tashkent). Author ID (Scopus): 57499570400. ORCID: 0000-0001-8128-2553.

Akhmad Yu. Madaminov, MD, Assistant, Department of Oncology and Medical Radiology, Tashkent State Dental Institute (Uzbekistan, Tashkent). E-mail: akhmad.madaminov@inbox.ru. Author ID (Scopus): 57232171600. ORCID: 0000-0003-0064-3746.

Alexander V. Savkin, MD, PhD, Assistant, Department of Oncology and Medical Radiology, Tashkent State Dental Institute (Uzbekistan, Tashkent). Author ID (Scopus): 57313093300. ORCID: 0000-0002-3416-5837.

Dilorom A. Ibragimova, MD, Assistant, Department of Oncology and Medical Radiology, Tashkent State Dental Institute (Uzbekistan, Tashkent). Author ID (Scopus): 58642429400. ORCID: 0009-0000-4488-7270.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Djamila Sh. Polatova: general project management, study conception and design, editing and writing of the manuscript, critical revision with the introduction of valuable semantic content, approval of the final version of the manuscript.

Akhmad Yu. Madaminov: general project management, development of the concept and design of the study, editing and writing of the manuscript, critical revision with the introduction of valuable semantic content, approval of the final version of the manuscript.

Alexander V. Savkin: data collection and analysis, comparative analysis between data obtained, drafting of the manuscript.

Dilorom A. Ibragimova: data collection and analysis, comparative analysis between data obtained, drafting of the manuscript

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Авров К.О., Шатик С.В., Самойлович М.П. Способы уменьшения накопления радиоактивности в почках при таргетной терапии с использованием малых молекул, пептидов и фрагментов антител. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 162–171. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-162-171

For citation: Avrov K.O., Shatik S.V., Samoilovich M.P. Ways to reduce radioactivity accumulation in the kidney during targeted therapy using small molecules, peptides and antibody fragments. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 162–171. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-162-171

СПОСОБЫ УМЕНЬШЕНИЯ НАКОПЛЕНИЯ РАДИОАКТИВНОСТИ В ПОЧКАХ ПРИ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ, ПЕПТИДОВ И ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ

К.О. Авров, С.В. Шатик, М.П. Самойлович

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

Аннотация

Введение фармпрепаратов, содержащих радиоактивные изотопы и способных специфически связываться с определенными белками, является одним из подходов, применяемых при лечении или диагностике злокачественных опухолей. При этом важной задачей является решение проблемы накопления радиоактивности в почках после введения в организм радиокоњуговатов с молекулярной массой менее 70 КДа. **Цель исследования** – выявление наиболее эффективных подходов, способствующих уменьшению накопления радиоактивности в почках при использовании радиокоњуговатов в ходе диагностики и таргетной терапии опухолевых заболеваний. **Материал и методы.** Проведен поиск литературы по теме обзора в электронных базах данных PubMed, Scopus и Web of Science в период с 1987 по 2023 г., 82 статьи использовано при написании обзора. **Результаты.** Представлено описание подходов, используемых для улучшения биораспределения радиокоњуговатов, главным образом, в доклинических исследованиях, описаны достоинства и недостатки таких методик. **Заключение.** Уменьшение радиоактивности в почках при использовании радиокоњуговатов молекул с молекулярной массой менее 70 КДа является непростой, но решаемой задачей. Сделан вывод о высокой перспективности использования в подобных радиокоњугатах расщепляемых линкеров, поскольку такой подход не меняет фармакокинетику таких препаратов. Отмечено, что преимуществом введения сопутствующих веществ по сравнению с изменением строения радиокоњуговатов является меньшая зависимость от особенностей того или иного радиофармпрепарата (РФП). Также этот подход не требует предварительной работы по модификации радиокоњугата, однако имеет ограниченную эффективность.

Ключевые слова: радиофармпрепараты, накопление радиоактивности в почках, таргетная терапия, опухоли.

WAYS TO REDUCE RADIOACTIVITY ACCUMULATION IN THE KIDNEY DURING TARGETED THERAPY USING SMALL MOLECULES, PEPTIDES AND ANTIBODY FRAGMENTS

K.O. Avrov, S.V. Shatik, M.P. Samoilovich

A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies
of the Ministry of Health of Russia
70, Leningradskaya St., Saint Petersburg, Pesochny village, 197758, Russia

Abstract

Administration of pharmaceuticals containing radioactive isotopes and capable of specific binding to certain proteins is one of the approaches used in the treatment or diagnosis of malignant tumors. High renal accumulation of radioactive compounds after administration of radioconjugates with molecular mass less than 70 kDa is one of the challenges that need to be solved. **The purpose of the study** was to identify the most effective approaches to reduce the accumulation of radioactivity in the kidneys after administration of radioconjugates used for diagnostic imaging and targeted therapy for cancer. **Material and Methods.** We conducted a literature search on the topic of the review in the electronic databases PubMed, Scopus and Web of Science from 1987 to 2023, 82 articles were used for writing the review. **Results.** The review presents a description of approaches used to improve the biodistribution of radioconjugates, mainly in preclinical studies. The advantages and disadvantages of such techniques have been described. **Conclusion.** Reducing renal radioactivity using radioconjugates of molecules with molecular masses less than 70 kDa is a challenging but achievable task. It is concluded that the use of cleavable linkers in such radioconjugates is highly promising, since this approach does not change the pharmacokinetics of such drugs. It is noted that the advantage of introducing concomitant substances compared to changing the structure of radioconjugates is a lesser dependence on the characteristics of a particular radiopharmaceutical. This approach also does not require prior work to modify the radioconjugate, but has limited efficiency.

Key words: radiopharmaceuticals, accumulation of radioactivity in the kidneys, targeted therapy, tumors.

Введение

Введение фармпрепаратов, содержащих радиоактивные изотопы, является одним из подходов, применяемых при лечении или диагностике злокачественных опухолей. Использование для этих целей радиоконъюгатов, способных специфически связываться с определенными белками, экспрессируемыми клетками, представляется особенно перспективным, поскольку позволяет осуществлять адресную доставку радионуклидов к клеткам опухоли, что должно увеличить эффективность таких фармпрепаратов. Благодаря точности воздействия подобная терапия является альтернативой, позволяющей преодолеть ограничения традиционных методов лечения, таких как хирургическое вмешательство, химиотерапия и дистанционная лучевая терапия. В последние десятилетия широко изучаются эффекты меченных радионуклидами антител и их фрагментов как на животных, так и в клинических исследованиях.

Для создания радиоиммуноконъюгатов на основе целых моноклональных антител (МКАТ) обычно используются иммуноглобулины класса G (IgG), состоящие из четырех полипептидных цепей. Молекулярная масса молекул IgG составляет примерно 150 кДа, что приводит к более медленному их проникновению в различные органы и ткани относительно фрагментов антител и других белковых молекул с меньшей молекулярной массой, также обладающих специфической активностью [1–3]. При этом целые антитела демонстрируют более высокий уровень накопления в опухоли, но это достигается за счет более долгого циркулирования антител в крови и, соответственно, более длительного воздействия на ткань [3, 4]. Однако долгое циркулирование может приводить к неспецифическому насыщению различных тканей радиоиммуноконъюгатами и, как следствие, к высоким фоновым значениям при диагностике с

использованием позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) или однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ).

Кроме того, негативным свойством иммуноглобулинов, используемых для создания РФП, является наличие эффекторных функций, обусловленных присутствием Fc-фрагмента, способного связываться с Fc-рецепторами клеток иммунной системы. Это может приводить к уменьшению контрастности изображения, затрудняя диагностику [5, 6].

Как было отмечено, при изготовлении радиоконъюгатов, предназначенных для диагностики и терапии злокачественных новообразований, помимо целых антител используются и другие молекулы, селективно связывающиеся с соответствующими белками. Они могут быть фрагментами антител или иметь иную природу. К ним относятся F(ab')₂-фрагменты (молекулярный вес – 110 кДа), мини-тела (75 кДа), Fab-фрагменты (50–55 кДа), диатела (50 кДа), scFv (28 кДа), наноантитела (12–15 кДа), каркасные белки (3–20 кДа), короткие пептиды и различные непептидные лиганды. Эти молекулы лишены эффекторных функций, обусловленных наличием Fc фрагмента и присущих целым антителам. Важно, что селективные молекулы с молекулярной массой менее 70 кДа, включая фрагменты антител и каркасные белки, достаточно малы, чтобы проходить через почечные клубочки в первичную мочу в почечных канальцах. Фильтрация этих молекул приводит к более быстрому клиренсу и меньшему накоплению в печени. Однако почечный захват радиоактивно меченных фрагментов намного выше, чем у интактных антител, поскольку клетки почечных канальцев наряду с ионами и малыми молекулами реабсорбируют небольшие радиоактивные белки и пептиды. После эндоцитоза в проксимальных канальцах белки и пептиды катаболизируются до аминокислот в

лизосомах. Эти аминокислоты транспортируются или диффундируют из лизосом в цитоплазму и возвращаются в кровоток. При этом многие радиоактивно меченные катаболиты не могут проникать через лизосомальную мембрану. Задержка в лизосомах этих продуктов приводит к накоплению радиоактивности в почках [7, 8]. Таким образом, если крупные радиоиммуноконъюгаты, такие как меченные IgG, F(ab')₂-фрагменты и мини-тела, после введения надолго задерживаются в крови, то меньшие меченые молекулы (Fab-фрагменты, диатела, scFv, наноантитела, каркасные белки, пептиды и лиганды непептидной природы) значительно быстрее выводятся из кровотока, но при этом имеют очень высокий уровень накопления в почках. При введении в кровь мышей подобных радиоиммуноконъюгатов в почках может накапливаться до половины введенной радиоактивности. Радиоактивность в почках при этом на 1–2 порядка превышает радиоактивность в других органах и тканях. При таком биораспределении РФП нельзя исключать токсичное воздействие радиации на почки, особенно при использовании терапевтических радиоиммуноконъюгатов. Данное обстоятельство в значительной мере нивелирует сильные стороны радиоиммуноконъюгатов, образованных вышеупомянутыми молекулами, к которым относятся небольшие размеры, способствующие проникновению в клетки и ткани, быстрое удаление из крови, благодаря выведению через почки, отсутствие нежелательных эффекторных функций.

Число радиоиммуноконъюгатов на основе лигандов, особенно на основе антител или их фрагментов, имеющих официальное разрешение для использования при лечении пациентов, пока крайне ограничено. Так, Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (U.S. Food and Drug Administration) зарегистрировало несколько радиоиммуноконъюгатов малых селективных молекул с молекулярной массой менее 2 КДа с разными радионуклидами и только один радиоиммуноконъюгат моноклонального антитела против белка CD20, содержащий ⁹⁰Y. Этот препарат, зевалин, используется для лечения неходжкинской лимфомы. В Китае зарегистрирован фармпрепарат, состоящий из конъюгированного с ¹³¹I F(ab')₂ фрагмента антитела, специфичного к белку CD147 (метаксимаба HAb18G) и используемого для лечения гепатоцеллюлярной карциномы [1]. F(ab')₂-фрагмент получают удалением Fc участка моноклонального антитела. У нас нет информации об официальной регистрации для клинического применения радиофармпрепаратов на основе фрагментов антител или каркасных белков с молекулярной массой менее 70 кДа. Одной из причин того, что было зарегистрировано столь малое количество подобных препаратов, являются особенности биораспределения в организме как радиоактивно меченных целых антител, так и их фрагментов, а

также других молекул с относительно небольшой молекулярной массой. Очевидно, что одной из важнейших задач является решение проблемы высокой радиоактивности в почках после использования радиофармпрепаратов.

В настоящем обзоре описаны исследования, направленные на уменьшение накопления в почках радиоиммуноконъюгатов, имеющих молекулярную массу менее 70 КДа, после их введения в кровоток. Биораспределение радиоиммуноконъюгатов может быть улучшено введением в кровь вместе с радиоиммуноконъюгатами сопутствующих веществ, модификацией самих радиоиммуноконъюгатов, а также путем предварительного нацеливания немеченых селективных молекул (претаргетинга).

Введение сопутствующих веществ

Молекулы массой менее 70 кДа могут фильтроваться сквозь мембрану почечных клубочков, попадая в первичную мочу. Затем происходит реабсорбция этих молекул. Катионные белки и пептиды обычно более эффективно реабсорбируются в проксимальных канальцах, чем нейтральные и анионные. Считается, что это различие вызвано преимущественным связыванием катионных групп с анионными сайтами на мембране щеточной каймы клеток проксимальных канальцев. Присутствие во вводимых растворах основных аминокислот замедляет реабсорбцию таких белков и пептидов посредством конкурентного ингибирования [7, 8]. Использование аминокислот, таких как лизин и аргинин, несущих положительный заряд, для уменьшения задержки в почках радиоактивно меченных пептидов и фрагментов антител было подробно исследовано [7, 9].

В ряде работ, выполненных на мышах и крысах, показано, что введение лизина, аминокислоты с выраженными свойствами основания, способствует снижению накопления радиоактивности в почках при одновременном введении меченных радионуклидами Fab-фрагментов [9, 10]. Эффект сильно зависел от количества вводимого лизина. Так, при пятикратном перитонеальном введении лизина мышам из расчета 50 мкг на 1 г веса вместе с введением в кровь меченных ¹¹¹In Fab-фрагментов накопление радиоактивности в почках снижалось через 4 ч на 17,7 % по сравнению с контрольным экспериментом. При десятикратном увеличении дозы это снижение достигало 93,2 %. При этом задержка радиоактивности в крови и других органах практически не менялась независимо от дозы введенного лизина [9]. В настоящее время в клинической практике используется введение L-лизина и L-аргинина пациентам при радиотаргетной терапии с использованием радиоиммуноконъюгатов DOTA-TATE, содержащих агонист соматостатинового рецептора и используемых для диагностики или лечения нейроэндокринных опухолей [11]. Установлен аналогичный положительный эффект метформина

(описан как аналог аргинина, вводится пациентам при диабете) при введении мышам радиоактивно меченных пептидов [12].

Проводились многочисленные исследования уменьшения накопления радиоактивности в почках путем совместного введения с радиоконъюгатами раствора сукцинированного желатина, известного как гелофузин, который используется как заменитель плазмы крови. Введение лизина и гелофузина при одновременном введении с наноконъюгатами мечеными ^{99m}Tc , снижало накопление радиоактивности в почках мышей на 42 % [13]. При этом накопление радиоактивности в опухоли не снижалось. В ряде работ с использованием радиоактивно меченных пептидов также установлен [14–16] положительный эффект гелофузина на накопление радиоактивности в почках мышей и крыс. Уменьшение радиоактивности в почках находилось в прямой зависимости от введенной дозы гелофузина [16]. Введение пациентам гелофузина уменьшило накопление меченного ^{111}In эксендина-4 (пептид, содержащий 39 аминокислот) на 18 %, эксендина-4, меченного ^{68}Ga , – на 57 % [14]. Гелофузин также блокировал накопление в почках крыс и пациентов других пептидов, меченных ^{111}In [15]. При этом показано, что гелофузин не способен изменить накопление в почках меченного лиганда ^{111}In -PSMA-I&T [17]. Есть данные, что накопление радиоконъюгата ^{68}Ga -HBED-CC-PSMA в почках блокировалось осмотическим диуретиком маннитолом [18]. Интересно, что совместное введение лизина или гелофузина не было эффективным для снижения поглощения почками $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -G3 DARPin. Введение малеата натрия перед введением $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -G3 DARPin снижало почечную активность на 60,4 %, а введение фруктозы – на 46,9 % по сравнению с контролем [19]. Введение гелофузина или лизина не изменяло накопление $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -ADAPT6 в почках. Малеат натрия снижал накопление $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -ADAPT6 примерно до 25 % от накопления в контроле, высокая доза фруктозы (50 ммоль/кг) снижала накопление примерно на 30 % [20]. Таким образом, опубликованы работы, в которых утверждается, что лизин и гелофузин не блокировали накопление в почках радиоактивно меченных каркасных белков в отличие от фруктозы и малеата.

При введении сопутствующих веществ вместе с радиоконъюгатами, как правило, удается достичь не более чем двукратного снижения радиоактивности почек [10–16]. Как уже было отмечено, в ранних работах есть данные о значительно более сильном эффекте при введении лизина в количестве, сопоставимом с максимально переносимой дозой для мышей [9].

Изменение строения молекул радиоконъюгатов

Помимо описанного выше подхода с введением сопутствующих веществ, снижение накопления в

почках радиоконъюгатов может быть достигнуто путем изменения количества заряженных и гидрофобных участков и их расположения в молекуле, использованием для мечения соответствующих радионуклидов, применением расщепляемых линкеров, присоединением альбуминсвязывающего домена (АСД), а также присоединением полиэтиленгликоля.

Для улучшения биораспределения радиоконъюгатов, включая накопление в почках, можно менять физико-химические свойства как радионуклидов, так и молекул, селективно связывающихся с молекулярной мишенью. При реабсорбции в почках радиоконъюгаты взаимодействуют с сайтами связывания, несущими заряд. Меняя заряд селективной молекулы или положение зарядов, можно влиять на накопление радиоконъюгата в почках, что было сделано в многочисленных исследованиях [21–25].

Показано влияние строения и расположения различных хелатирующих групп на биораспределение радиоконъюгатов [26–28]. В работе Н.Т. Куо et al. показано, что через 1 ч после введения радиоконъюгата удельная радиоактивность почек отличалась до 47 раз в зависимости от того, какая хелатирующая группа использовалась при мечении лигандов PSMA ^{68}Ga и от того, какой линкер использовался для ее присоединения. При этом биораспределение исследованных радиоконъюгатов в остальных органах и тканях было сопоставимо [21]. В других работах изменения в строении радиоконъюгатов приводили к менее значительному эффекту. Так, добавление гистидина и глутаминовой кислоты в состав радиоконъюгата ^{68}Ga -PSMA-11 уменьшало накопление радиоактивности в почках только в 2 раза [22]. Важное практическое значение могут иметь данные, показывающие, что наличие заряженной метки, необходимой для выделения или очистки белка, может влиять на биораспределение радиоконъюгата. Продемонстрировано, что удаление гистидиновой метки (His tag) уменьшало накопление в почках радиоконъюгатов, содержащих наноконъюгата [29, 30]. Кроме того, показано, что строение и местоположение гистидиновой метки может сильно влиять на поглощение почками радиоконъюгатов, содержащих каркасные белки [24]. В целом, результаты исследований влияния местоположения, количества и строения заряженных и/или незаряженных липофильных участков радиоконъюгатов на накопление радиоактивности в почках сильно различаются и плохо поддаются обобщению. При этом установлено, что метаболиты конъюгатов, содержащих радиоактивные галогены, как правило, быстро выводятся из почечных клеток в мочу, тогда как метаболиты, содержащие металлические радионуклиды, обычно задерживаются в лизосомальном компартменте [11]. Соответственно, использование для мечения изотопов галогенов вместо изотопов металлов приводит к

значительно более быстрому снижению радиоактивности почек после введения препарата [25, 31–35]. В опубликованных работах обсуждается возможность использования в радиоконъюгатах ^{18}F вместо ^{68}Ga при диагностике с применением ПЭТ [32, 34]. Еще одним подходом для уменьшения радиоактивности в почках является использование расщепляемых линкеров, связывающих лиганд и комплекс, содержащий радионуклид. Подобный линкер расщепляется ферментами щеточной каймы почек, такими как нейтральная эндопептидаза. После расщепления радиометаболит выводится с мочой, не задерживаясь в почках.

В литературе удалось найти несколько релевантных публикаций, где описывалось применение расщепляемых линкеров для снижения накопления в почках радиоактивно меченных фрагментов антител и пептидов. Три публикации посвящены использованию последовательностей глицил-тирозин (Gly-Tyr) и глицил-лизин (Gly-Lys) в качестве расщепляемых линкеров для меченных фрагментов антител и пептидов изотопами ^{18}F и ^{125}I [36–38]. Использование расщепляемых линкеров в этих работах снижало радиоактивность в почках до 6–8 раз.

Группа Y. Arano применила трипептидный линкер, Gly-Phe-Lys (GFK), для Fab-фрагментов против c-kit, меченных $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [39]. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ хелатировали, используя производное изоникотиновой кислоты 2-пиколлилглиина ($^{99\text{m}}\text{Tc}$]-Tc-IPG). У мышей [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-Tc-IPG-GFK-Fab показал такое же поглощение опухолью, как и [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-Tc-IPG-GK-Fab (где трипептид GFK заменен дипептидом GK): $7,65 \pm 1,77$ vs $8,50 \pm 1,54$ % ID/г через 3 ч, но значительно более низкое поглощение почками ($3,74 \pm 0,49$ vs $11,9 \pm 2,20$ % ID/г через 3 ч).

Опубликован ряд работ [40–43] по использованию расщепляемой последовательности Met-Val-Lys (MVK) в качестве линкера при мечении радиометаллами пептидов и фрагментов антител. Присутствие MVK последовательности снижало накопление радиоактивности в почках в 2–3 раза. Можно отметить, что использование расщепляемой последовательности Met-Val-Lys дало более значимые результаты, чем использование последовательности Met-Ile (MI) [40].

Одним из недавних вкладов в эту область стало исследование M. Zhang et al. [44], в котором использовали конъюгат ^{68}Ga с эксендином-4/GLP-1R, производным эксендина-4. Препарат, содержащий последовательность MVK, сравнивали с аналогичными препаратами с двумя другими последовательностями: Met-Phe-Lys (MFK) и Met-Trp-Lys (MWK). Поглощение радиоактивности привитой мышам опухолью INS-1 было сходным для тестируемых аналогов после введения последних в кровотоки. Линкеры MVK, MFK и MWK успешно снижали накопление почечной активности на 40–55 % по сравнению с контролем, при

этом линкер MWK показал лучшие результаты [44]. Интересно, что попытка использовать расщепляемую последовательность MAL (малеил-1-лизил-глицин) при мечении производного эксендина-4, NODAGA- N^{ϵ} -эксендин изотопом ^{64}Cu не привела к снижению радиоактивности в почках [45]. Важно, что включение расщепляемых линкеров в состав радиоконъюгатов не приводит к заметному изменению времени пребывания последних в крови [41, 45], что является серьезным преимуществом данного подхода по сравнению с присоединением альбумин-связывающих участков или полиэтиленгликоля.

Изменить биораспределение радиоконъюгатов можно также присоединением различных связывающих альбумин молекул. К ним относится АСД с молекулярной массой 6 КДа. Он представляет собой небольшой трехспиральный белковый домен, обнаруженный в различных поверхностных белках, экспрессируемых грамположительными бактериями [46]. Также можно использовать другие альбумин-связывающие молекулы: полипептиды, а также соединения небелковой природы, такие как краситель Эванса синий и ибупрофен. Связывание альбумина с радиоконъюгатом блокирует фильтрацию последнего через почечный фильтр в первичную мочу. Соответственно, исключается реабсорбция радиоконъюгата, что должно приводить к уменьшению накопления радиоактивности в почках.

Действительно, методом ОФЭКТ этот эффект выявлен для радиоконъюгатов Fab-фрагментов с ^{111}In после слияния с АСД [47]. При этом установлено радикальное увеличение задержки радиоактивности в крови. Аналогичные результаты были получены для наноантител против белка CD20. Присоединение к таким антителам АСД уменьшало радиоактивность почек после введения радиоконъюгата в 3–4 раза, при этом резко возросла радиоактивность крови [48].

V. Tolmachev et al. исследовали роль АСД в радиоконъюгатах аффител (одного из типов каркасных белков), имеющих молекулярную массу 7 КДа [49, 50]. Показано очень низкое накопление радиоактивности в почках после введения таких радиоконъюгатов, содержащих АСД, через 24 ч после введения мышам радиоконъюгата накопление составляло 4,3 % радиоактивности от введенной дозы на 1 г [50]. Эта работа интересна тем, что показывает важность подбора правильного дизайна радиоконъюгата, содержащего АСД, поскольку в зависимости от строения молекулы накопление в почках различалось в 2–3 раза. В приведенной выше работе лучшие результаты были получены при использовании АСД₀₃₅, который был целенаправленно получен и исследован в более ранней статье [51]. Проведено исследование накопления в почках меченного ^{111}In каркасного белка, аффинного к HER2, с присоединенными токсич-

ными пептидами, полученными из эндотоксина *A. pseudomonas*. Установлено, что включение в состав данного радиокоњуогата АСД уменьшало накопление радиоактивности в почках в 2,2 раза через 4 ч после введения. При этом удельная радиоактивность крови увеличивалась в 16 раз [52].

В последнее время опубликован ряд работ, в которых исследованы содержащие альбумин-связывающие участки радиокоњуогаты различных лигандов с молекулярной массой менее 5 КДа [53–58]. Нужно отметить, что в некоторых исследованиях пептидных радиокоњуогатов (пептида, связывающего интегрин $\alpha_v\beta_6$, и лигандов PSMA) присоединение к препарату связывающегося с альбумином пептида приводит к увеличению радиоактивности почек, очевидно, из-за многократно увеличенного времени циркуляции таких радиокоњуогатов в крови [54–57]. При этом радиокоњуогаты, способные связываться с альбумином, сильнее накапливались в опухолях, чем контрольные. В клиническом исследовании отмечено, что у пациентов поглощенная доза радиоактивности в почках увеличилась в 6 раз после присоединения к радиокоњуогату ^{177}Lu -PSMA-617 связывающей альбумин молекулы красителя Эванса синего [56]. При исследовании радиокоњуогата пептидного лиганда рецептора GLP-1 эксендин-4 с ^{111}In присутствие альбумин-связывающего участка уменьшало радиоактивность почек в 6 раз через 4 ч после введения метки в кровь мышей. При этом задержка радиоактивности в крови увеличивалась в 52 раза, а накопление в опухоли уменьшалось в 1,7 раза [53]. Показано, что биораспределение радиокоњуогатов лигандов с низкой молекулярной массой, получивших способность связываться с альбумином, очень сильно зависит от строения молекул. Так, замена линкера, присоединяющего альбумин-связывающий участок в составе радиокоњуогата ^{177}Lu -PSMA-617, меняла накопление радиоактивности в 1 г ткани почек от 51,9 до 10,9 % от дозы, введенной мышам за 24 ч до измерения. Отношения радиоактивностей опухоль/кровь также варьировали от 17 до 46 в зависимости от строения линкера [55]. В другой работе радиокоњуогат ^{177}Lu -Ibu-DAB-PSMA, в котором ибупрофен, связывающий альбумин, был коњуогирован через положительно заряженную диаминомасляную кислоту, продемонстрировал более благоприятные отношения радиоактивностей опухоль/кровь и опухоль/почка по сравнению с радиокоњуогатом, полученным коњуогацией через другие линкеры [58].

Представленные данные показывают, что способность связывать альбумин приводит к снижению радиоактивности в почках при введении в кровь радиокоњуогатов на основе относительно крупных белковых молекул, таких как Fab-фрагменты и каркасные белки. Однако присоединение альбумин-связывающих участков

к радиокоњуогатам на основе лигандов, имеющих молекулярный вес менее 5 КДа, может приводить к увеличению задержки радиоактивности в почках после введения таких препаратов.

Связывание различных белков и пептидов с полиэтиленгликолем (пэгилирование), включая фрагменты антител, используется для уменьшения почечного клиренса этих молекул и задержки их пребывания в кровотоке [59–64]. Эффект достигается за счет увеличения молекулярной массы выше порога почечной фильтрации, а также благодаря снижению протеолиза. M. Rashidian et al. [61] исследовали эффект присоединения полиэтиленгликоля к меченным ^{89}Zr наноантителам против белка CD8 Т-лимфоцитов. Проводилось сайт-специфическое присоединение остатков ПЭГ массой 5, 10 или 20 кДа с участием фермента сортазы. Присоединение остатка ПЭГ массой 20 КДа уменьшало накопление в почках в 4 раза после введения препарата в кровь мышей. Присоединение остатков ПЭГ с меньшей массой вызывало более слабый эффект. Однако при этом увеличивалась задержка радиоактивности в сердечной мышце, что должно быть связано с увеличением времени пребывания радиокоњуогата в крови. Радиоактивность сердца падала в два раза в среднем за 6,9 мин, если радиокоњуогат не содержал остатков ПЭГ. При присоединении остатков ПЭГ массой 5 КДа к молекулам радиокоњуогата подобное падение происходило за 18,6 мин, при присоединении остатков массой 10 кДа – за 35,0 мин, при присоединении остатков массой 20 кДа – за 183,2 мин. Очевидно, что пэгилирование радиоактивно меченных наноантител к CD8 приводит к уменьшению их накопления в почках и одновременно с этим резко увеличивает их задержку в кровотоке. В других работах также показано, что задержка радиоактивности в крови и величина ее накопления в привитой мышам опухоли прямо пропорциональны массе присоединенного ПЭГ, а величина накопления радиоактивности в почках имеет обратную зависимость [63, 64]. Подобный эффект давало пэгилирование меченных ^{111}In двухвалентных диател против TAG-72 с молекулярной массой 52,5 кДа. Наибольший эффект достигался при использовании пэгилированных меченых диател против TAG-72 с молекулярной массой 70 кДа, у диател с массой 60 кДа эффект был меньше [64]. Это подтверждает возможность подбора необходимых свойств пэгилированных радиокоњуогатов при их конструировании.

Претаргетинг

Еще одним подходом, используемым для улучшения биораспределения РФП, является метод претаргетинга, или предварительного нацеливания. При использовании этого метода образование комплекса «антитело – радионуклид» происходит внутри организма. На первом этапе человеку вводят специфичные для мишени антитела или их

фрагменты. После связывания этих антител с целевыми антигенами (мишенями) и удаления из крови несвязавшихся вводится радионуклид. Последний соединяется с антителами, что позволяет провести диагностику или терапию опухолевого заболевания. Применение такого подхода позволяет уменьшить время циркулирования радионуклида в крови и его накопление в органах, что должно снизить радиационное облучение и увеличить контрастность изображения при терапии и диагностике с использованием ПЭТ или ОФЭКТ.

Для претаргетинга обычным является использование бифункциональных или мультифункциональных антител. При этом антитело имеет сродство к целевому антигену и к комплексу «гаптен – радионуклид» [65–67]. Также распространено и применение пары стрептавидин – биотин для образования связи между антителом или его фрагментом и радионуклидом внутри организма [68–71]. В последнее десятилетие для претаргетинга используются каркасные белки [72, 73], гибридизация комплементарных олигонуклеотидов [74, 75] и клик-химия [76, 77].

Использование претаргетинга позволяет добиться низкого накопления радиоактивности в почках при применении в качестве радиофармпрепаратов молекул с молекулярной массой меньше 70 кДа. При использовании олигонуклеотидных зондов, меченных ^{177}Lu , для претаргетинга, опосредованного каркасными белками, подобная относительная радиоактивность почек мышей не превышала 10–15 % на 1 г веса через 4 ч после инъекции [78]. Результат является типичным при претаргетинге независимо от того, какие молекулы используются для связывания с мишенью. При использовании предварительного нацеливания максимальное накопление радиоактивности в почках обычно составляет от 1–2 до 15 % на 1 г веса органа от введенной дозы [76, 79, 80]. При этом накопление радиоактивности в опухоли, несущей целевой антиген, может быть заметно выше, чем в почках [76, 80].

Претаргетинг выглядит очень перспективным для улучшения биораспределения РФП. Однако пока он не нашел широкого применения в клинической практике, несмотря на более чем 30-летнюю историю исследований [81, 82]. Претаргетинг является многоэтапным процессом, что делает его разработку сложной и дорогостоящей, метод требует тщательной оптимизации как для разработки бифункциональных антител и малых молекул, переносящих

радионуклид, так и для определения временных графиков введения и дозирования. Для его использования в рутинной практике необходимо проведение масштабных клинических исследований.

Заключение

Из представленных подходов к снижению накопления радиоактивности в почках при радиолигандной терапии с использованием молекул, способных проходить через почечный фильтр, наиболее простым является введение радиоконъюгатов вместе с сопутствующими веществами. Этот метод не требует предварительной работы по модификации радиоконъюгата и выглядит более универсальным, не зависящим от особенностей того или иного радиофармпрепарата. Несмотря на ограниченную эффективность, пока только этот подход нашел свое применение в клинической практике для улучшения биораспределения таргетных радиофармпрепаратов.

Создание модифицированных радиоконъюгатов с приемлемым биораспределением, включая малое накопление в почках, представляется более практичным для клинического использования. Изменение самих радиоконъюгатов позволяет радикально снизить накопление радиоактивности в почках, однако такие модификации, как пегилирование и присоединение альбумин-связывающего домена или участка, уменьшая радиоактивность почек после введения радиоконъюгата, увеличивают время циркуляции последнего в крови. Такое изменение свойств препарата может быть нежелательным для использования в клинике. Необходимо также отметить, что для модификации свойств радиоконъюгатов трудно найти общие пути, модификация каждого радиоконъюгата может требовать своего решения. Возможно, среди подходов, связанных с изменением строения радиоконъюгатов, наиболее перспективным для уменьшения накопления радиоактивности в почках является использование расщепляемых при реабсорбции линкеров. Ценно, что этот способ не меняет время присутствия радиоконъюгатов в крови.

Претаргетинг, очевидно, является наиболее интересным и сложным подходом для улучшения биораспределения радиоактивно меченных молекул, способных специфически связываться с белками. Для его внедрения в практику необходимо решение многих задач, стоящих перед разработчиками.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Cyprine Neba Funeh C.N., Asiabi P., D'Huyvetter M., Devoogdt N.* Case Study #3: Antibody Fragments in Radiopharmaceutical Therapy. Radiopharmaceutical Therapy. PP. 253–273. doi: 10.1007/978-3-031-39005-0_12.
2. *Kuna M., Mahdi F., Chade A.R., Bidwell G.L.* 3rd. Molecular Size Modulates Pharmacokinetics, Biodistribution, and Renal Deposition of the Drug Delivery Biopolymer Elastin-like Polypeptide. Sci Rep. 2018; 8(1): 7923. doi: 10.1038/s41598-018-24897-9.

3. *Wittrup K.D., Thurber G.M., Schmidt M.M., Rhoden J.J.* Practical theoretic guidance for the design of tumor-targeting agents. Methods Enzymol. 2012; 503: 255–68. doi: 10.1016/B978-0-12-396962-0.00010-0.
4. *Schmidt M.M., Wittrup K.D.* A modeling analysis of the effects of molecular size and binding affinity on tumor targeting. Mol Cancer Ther. 2009; 8(10): 2861–71. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0195.
5. *Vivier D., Sharma S.K., Adumeau P., Rodriguez C., Fung K., Zeglis B.M.* The Impact of FcγRI Binding on Immuno-PET. J Nucl Med. 2019; 60(8): 1174–82. doi: 10.2967/jnumed.118.223636.

6. Vivier D., Fung K., Rodriguez C., Adumeau P., Ulaner G.A., Lewis J.S., Sharma S.K., Zeglis B.M. The Influence of Glycans-Specific Bioconjugation on the FcγRI Binding and In vivo Performance of 89Zr-DFO-Pertuzumab. *Theranostics*. 2020; 10(4): 1746–57. doi: 10.7150/thno.39089.
7. Behr T.M., Goldenberg D.M., Becker W. Reducing the renal uptake of radiolabeled antibody fragments and peptides for diagnosis and therapy: present status, future prospects and limitations. *Eur J Nucl Med*. 1998; 25(2): 201–12. doi: 10.1007/s002590050216.
8. Vegt E., de Jong M., Wetzel J.F., Masereeuw R., Melis M., Oyen W.J., Gotthardt M., Boerman O.C. Renal toxicity of radiolabeled peptides and antibody fragments: mechanisms, impact on radionuclide therapy, and strategies for prevention. *J Nucl Med*. 2010; 51(7): 1049–58. doi: 10.2967/jnumed.110.075101.
9. Pimm M.V., Gribben S.J. Prevention of renal tubule re-absorption of radiometal (indium-111) labelled Fab fragment of a monoclonal antibody in mice by systemic administration of lysine. *Eur J Nucl Med*. 1994; 21(7): 663–5. doi: 10.1007/BF00285590.
10. Behr T.M., Becker W.S., Sharkey R.M., Jurweid M.E., Dunn R.M., Bair H.J., Wolf F.G., Goldenberg D.M. Reduction of renal uptake of monoclonal antibody fragments by amino acid infusion. *J Nucl Med*. 1996; 37(5): 829–33.
11. Chigoho D.M., Bridoux J., Hernot S. Reducing the renal retention of low- to moderate-molecular-weight radiopharmaceuticals. *Curr Opin Chem Biol*. 2021; 63: 219–28. doi: 10.1016/j.cbpa.2021.06.008.
12. Xiong C., Yin D., Li J., Huang Q., Ravoori M.K., Kundra V., Zhu H., Ang Z., Lu Y., Li C. Metformin Reduces Renal Uptake of Radiotracers and Protects Kidneys from Radiation-Induced Damage. *Mol Pharm*. 2019; 16(2): 808–15. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b01091.
13. Gaikam L.O., Cavelliers V., Devoogdt N., Vanhove C., Xavier C., Boerman O., Muyldermans S., Bossuyt A., Lahoutte T. Localization, mechanism and reduction of renal retention of technetium-99m labeled epidermal growth factor receptor-specific nanobody in mice. *Contrast Media Mol Imaging*. 2011; 6(2): 85–92. doi: 10.1002/cmmi.408.
14. van Eerd J.E., Vegt E., Wetzel J.F., Russel F.G., Masereeuw R., Corstens F.H., Oyen W.J., Boerman O.C. Gelatin-based plasma expander effectively reduces renal uptake of ¹¹¹In-octreotide in mice and rats. *J Nucl Med*. 2006; 47(3): 528–33.
15. Briat A., Wenk C.H., Ahmadi M., Claron M., Boturyn D., Joserand V., Dumy P., Fagret D., Coll J.L., Ghezzi C., Sancey L., Vuillez J.P. Reduction of renal uptake of ¹¹¹In-DOTA-labeled and A700-labeled RAFT-RGD during integrin αvβ3 targeting using single photon emission computed tomography and optical imaging. *Cancer Sci*. 2012; 103(6): 1105–10. doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02286.x.
16. Melis M., Bijster M., de Visser M., Konijnenberg M.W., de Swart J., Rolleman E.J., Boerman O.C., Krenning E.P., de Jong M. Dose-response effect of Gelofusine on renal uptake and retention of radiolabelled octreotate in rats with CA20948 tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009; 36(12): 1968–76. doi: 10.1007/s00259-009-1196-8.
17. Chatalic K.L., Heskamp S., Konijnenberg M., Molkenboer-Kuennen J.D., Franssen G.M., Clahsen-van Groningen M.C., Schottelius M., Wester H.J., van Weerden W.M., Boerman O.C., de Jong M. Towards Personalized Treatment of Prostate Cancer: PSMA I&T, a Promising Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Theranostic Agent. *Theranostics*. 2016; 6(6): 849–61. doi: 10.7150/thno.14744.
18. Matteucci F., Mezzenga E., Caroli P., Di Iorio V., Sarnelli A., Celli M., Fantini L., Moretti A., Galassi R., De Giorgi U., Paganelli G. Reduction of ⁶⁸Ga-PSMA renal uptake with mannitol infusion: preliminary results. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017; 44(13): 2189–94. doi: 10.1007/s00259-017-3791-4.
19. Altai M., Garousi J., Rinne S.S., Schulga A., Deyev S., Vorobyeva A. On the prevention of kidney uptake of radiolabeled DARpins. *EJNMMI Res*. 2020; 10(1): 7. doi: 10.1186/s13550-020-0599-1.
20. Vorobyeva A., Oroujeni M., Lindbo S., Hober S., Xu T., Liu Y., Rinne S.S., Garousi J. Investigation of a Pharmacological Approach for Reduction of Renal Uptake of Radiolabeled ADAPT Scaffold Protein. *Molecules*. 2020; 25(19): 4448. doi: 10.3390/molecules25194448.
21. Kuo H.T., Pan J., Zhang Z., Lau J., Merckens H., Zhang C., Colpo N., Lin K.S., Bénard F. Effects of Linker Modification on Tumor-to-Kidney Contrast of ⁶⁸Ga-Labeled PSMA-Targeted Imaging Probes. *Mol Pharm*. 2018; 15(8): 3502–11. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00499.
22. Baranski A.C., Schäfer M., Bauder-Wüst U., Wacker A., Schmidt J., Liolios C., Mier W., Haberkorn U., Eisenhut M., Kopka K., Eder M. Improving the Imaging Contrast of ⁶⁸Ga-PSMA-11 by Targeted Linker Design: Charged Spacer Moieties Enhance the Pharmacokinetic Properties. *Bioconjug Chem*. 2017; 28(9): 2485–92. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.7b00458.
23. Flook A.M., Yang J., Miao Y. Substitution of the Lys linker with the β-Ala linker dramatically decreased the renal uptake of ^{99m}Tc-labeled Arg-X-Asp-conjugated and X-Ala-Asp-conjugated α-melanocyte stimulating hormone peptides. *J Med Chem*. 2014; 57(21): 9010–8. doi: 10.1021/jm501114v.
24. Hofström C., Altai M., Honarvar H., Strand J., Malmberg J., Hosseinimehr S.J., Orlova A., Gräslund T., Tolmachev V. HAHAA, HEHEHE, HHHHH, or HKHKHK: influence of position and composition of histidine containing tags on biodistribution of [^{99m}Tc(CO)₃](+)-labeled affibody molecules. *J Med Chem*. 2013; 56(12): 4966–74. doi: 10.1021/jm400218y.
25. Strand J., Nordeman P., Honarvar H., Altai M., Orlova A., Larhed M., Tolmachev V. Site-Specific Radioiodination of HER2-Targeting Affibody Molecules using 4-Iodophenethylmaleimide Decreases Renal Uptake of Radioactivity. *ChemistryOpen*. 2015; 4(2): 174–82. doi: 10.1002/open.201402097.
26. Ekblad T., Tran T., Orlova A., Widström C., Feldwisch J., Abrahamson L., Wennborg A., Karlström A.E., Tolmachev V. Development and preclinical characterisation of ^{99m}Tc-labelled Affibody molecules with reduced renal uptake. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008; 35(12): 2245–55. doi: 10.1007/s00259-008-0845-7.
27. Guo H., Yang J., Gallazzi F., Prossnitz E.R., Sklar L.A., Miao Y. Effect of DOTA position on melanoma targeting and pharmacokinetic properties of ¹¹¹In-labeled lactam bridge-cyclized alpha-melanocyte stimulating hormone peptide. *Bioconjug Chem*. 2009; 20(11): 2162–8. doi: 10.1021/bc9003475.
28. Mitran B., Thisgaard H., Rinne S., Dam J.H., Azami F., Tolmachev V., Orlova A., Rosenström U. Selection of an optimal macrocyclic chelator improves the imaging of prostate cancer using cobalt-labeled GRPR antagonist RM26. *Sci Rep*. 2019; 9(1). doi: 10.1038/s41598-019-52914-y.
29. Chatalic K.L., Veldhoven-Zweistra J., Bolkestein M., Hoeben S., Koning G.A., Boerman O.C., de Jong M., van Weerden W.M. A Novel ¹¹¹In-Labeled Anti-Prostate-Specific Membrane Antigen Nanobody for Targeted SPECT/CT Imaging of Prostate Cancer. *J Nucl Med*. 2015; 56(7): 1094–9. doi: 10.2967/jnumed.115.156729.
30. D'Huyvetter M., Vincke C., Xavier C., Aerts A., Impens N., Baatout S., De Raeye H., Muyldermans S., Cavelliers V., Devoogdt N., Lahoutte T. Targeted radionuclide therapy with A ¹⁷⁷Lu-labeled anti-HER2 nanobody. *Theranostics*. 2014; 4(7): 708–20. doi: 10.7150/thno.8156.
31. Duncan J.R., Behr T.M., DeNardo S.J. Intracellular fate of radiometals. *J Nucl Med*. 1997; 38(5): 829.
32. Dietlein M., Kobe C., Kuhnert G., Stockter S., Fischer T., Schomäcker K., Schmidt M., Dietlein F., Zlatopolskiy B.D., Krapf P., Richarz R., Neubauer S., Drzezga A., Neumaier B. Comparison of [¹⁸F]DCFPyL and [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-HBED-CC for PSMA-PET Imaging in Patients with Relapsed Prostate Cancer. *Mol Imaging Biol*. 2015; 17(4): 575–84. doi: 10.1007/s11307-015-0866-0.
33. Bala G., Crauwels M., Blykers A., Remory I., Marschall A.L.J., Dübel S., Dumas L., Broisat A., Martin C., Ballet S., Cosyns B., Cavelliers V., Devoogdt N., Xavier C., Hernot S. Radiometal-labeled anti-VCAM-1 nanobodies as molecular tracers for atherosclerosis – impact of radiochemistry on pharmacokinetics. *Biol Chem*. 2019; 400(3): 323–32. doi: 10.1515/hsz-2018-0330.
34. Maschauer S., Einsiedel J., Hübner H., Gmeiner P., Prante O. (18) F- and (68) Ga-Labeled Neurotensin Peptides for PET Imaging of Neurotensin Receptor 1. *J Med Chem*. 2016; 59(13): 6480–92. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00675.
35. Potemkin R., Strauch B., Kuwert T., Prante O., Maschauer S. Development of 18F-Fluoroglycosylated PSMA-Ligands with Improved Renal Clearance Behavior. *Mol Pharm*. 2020; 17(3): 933–43. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b01179.
36. Akizawa H., Imajima M., Hanaoka H., Uehara T., Satake S., Arano Y. Renal brush border enzyme-cleavable linkages for low renal radioactivity levels of radiolabeled antibody fragments. *Bioconjug Chem*. 2013; 24(2): 291–9. doi: 10.1021/bc300428b.
37. Zhou Z., Devoogdt N., Zalutsky M.R., Vaidyanathan G. An Efficient Method for Labeling Single Domain Antibody Fragments with 18F Using Tetrazine-Trans-Cyclooctene Ligation and a Renal Brush Border Enzyme-Cleavable Linker. *Bioconjug Chem*. 2018; 29(12): 4090–103. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.8b00699.
38. Vaidyanathan G., Kang C.M., McDougald D., Minn I., Brummet M., Pomper M.G., Zalutsky M.R. Brush border enzyme-cleavable linkers: Evaluation for reducing renal uptake of radiolabeled prostate-specific membrane antigen inhibitors. *Nucl Med Biol*. 2018; 62–63: 18–30. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2018.05.002.
39. Suzuki C., Uehara T., Kanazawa N., Wada S., Suzuki H., Arano Y. Preferential Cleavage of a Tripeptide Linkage by Enzymes on Renal Brush Border Membrane To Reduce Renal Radioactivity Levels of Radiolabeled Antibody Fragments. *J Med Chem*. 2018; 61(12): 5257–68. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00198.
40. Uehara T., Yokoyama M., Suzuki H., Hanaoka H., Arano Y. A Gallium-67/⁶⁸ Ga-Labeled Antibody Fragment for Immuno-SPECT/PET Shows Low Renal Radioactivity Without Loss of Tumor Uptake. *Clin Cancer Res*. 2018; 24(14): 3309–16. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0123.
41. Zhang M., Jacobson O., Kiesewetter D.O., Ma Y., Wang Z., Lang L., Tang L., Kang F., Deng H., Yang W., Niu G., Wang J., Chen X.

Improving the Theranostic Potential of Exendin 4 by Reducing the Renal Radioactivity through Brush Border Membrane Enzyme-Mediated Degradation. *Bioconjug Chem.* 201; 30(6): 1745–53. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.9b00280.

42. Bendre S, Zhang Z, Kuo H.T, Rousseau J, Zhang C, Merckens H, Roxin A, Bénard F, Lin K.S. Evaluation of Met-Val-Lys as a Renal Brush Border Enzyme-Cleavable Linker to Reduce Kidney Uptake of 68Ga-Labeled DOTA-Conjugated Peptides and Peptidomimetics. *Molecules.* 2020; 25(17): 3854. doi: 10.3390/molecules25173854.

43. Suzuki H, Kise S, Kaizuka Y, Watanabe R, Sugawa T, Furukawa T, Fujii H, Uehara T. Copper-64-Labeled Antibody Fragments for Immuno-PET/Radioimmunotherapy with Low Renal Radioactivity Levels and Amplified Tumor-Kidney Ratios. *ACS Omega.* 2021; 6(33): 21556–62. doi: 10.1021/acsomega.1c02516.

44. Zhang M, Ye J, Xie Z, Yan Y, Wang J, Chen X. Optimization of Enzymolysis Clearance Strategy To Enhance Renal Clearance of Radioligands. *Bioconjug Chem.* 2021; 32(9): 2108–16. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.1c00392.

45. Yim C.B., Mikkola K., Fagerholm V., Elomaa V.V., Ishizu T., Rajander J., Schlesinger J., Roivainen A., Nuutila P., Solin O. Synthesis and preclinical characterization of [64Cu]NODAGA-MAL-exendin-4 with a Nε-maleoyl-L-lysyl-glycine linkage. *Nucl Med Biol.* 2013; 40(8): 1006–12. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2013.06.012.

46. Nilvebrant J., Hober S. The albumin-binding domain as a scaffold for protein engineering. *Comput Struct Biotechnol J.* 2013. doi: 10.5936/csbj.201303009.

47. Dennis M.S., Jin H., Dugger D., Yang R., McFarland L., Ogasawara A., Williams S., Cole M.J., Ross S., Schwall R. Imaging tumors with an albumin-binding Fab, a novel tumor-targeting agent. *Cancer Res.* 2007; 67(1): 254–61. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2531.

48. Krasniqi A., Bialkowska M., Xavier C., van der Jeught K., Muyldermans S., Devoogdt N., D'Huyvetter M. Pharmacokinetics of radiolabeled dimeric sdAbs constructs targeting human CD20. *N Biotechnol.* 2018; 45: 69–79. doi: 10.1016/j.nbt.2018.03.004.

49. Tolmachev V., Orlova A., Pehrson R., Galli J., Baastrup B., Andersson K., Sandström M., Rosik D., Carlsson J., Lundqvist H., Wennborg A., Nilsson F.Y. Radionuclide therapy of HER2-positive microxenografts using a 177Lu-labeled HER2-specific Affibody molecule. *Cancer Res.* 2007; 67(6): 2773–82. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1630.

50. Orlova A., Jonsson A., Rosik D., Lundqvist H., Lindborg M., Abrahmsen L., Ekblad C., Frejd F.Y., Tolmachev V. Site-specific radiometal labeling and improved biodistribution using ABY-027, a novel HER2-targeting affibody molecule-albumin-binding domain fusion protein. *J Nucl Med.* 2013; 54(6): 961–8. doi: 10.2967/jnumed.112.110700.

51. Jonsson A., Dogan J., Herne N., Abrahmsen L., Nygren P.A. Engineering of a femtomolar affinity binding protein to human serum albumin. *Protein Eng Des Sel.* 2008; 21(8): 515–27. doi: 10.1093/protein/gzn028.

52. Liu H., Lindbo S., Ding H., Altai M., Garousi J., Orlova A., Tolmachev V., Hober S., Gräslund T. Potent and specific fusion toxins consisting of a HER2-binding, ABD-derived affinity protein, fused to truncated versions of *Pseudomonas* exotoxin A. *Int J Oncol.* 2019; 55(1): 309–19. doi: 10.3892/ijo.2019.4814.

53. Kaeppli S.A.M., Jodal A., Gotthardt M., Schibli R., Béhé M. Exendin-4 Derivatives with an Albumin-Binding Moiety Show Decreased Renal Retention and Improved GLP-1 Receptor Targeting. *Mol Pharm.* 2019; 16(9): 3760–9. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b00271.

54. Davis R.A., Hausner S.H., Harris R., Sutcliffe J.L. A Comparison of Evans Blue and 4-(p-Iodophenyl)butyryl Albumin Binding Moieties on an Integrin αvβ6 Binding Peptide. *Pharmaceutics.* 2022; 14(4): 745. doi: 10.3390/pharmaceutics14040745.

55. Benešová M., Umbricht C.A., Schibli R., Müller C. Albumin-Binding PSMA Ligands: Optimization of the Tissue Distribution Profile. *Mol Pharm.* 2018; 15(3): 934–46. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00877.

56. Zang J., Fan X., Wang H., Liu Q., Wang J., Li H., Li F., Jacobson O., Niu G., Zhu Z., Chen X. First-in-human study of 177Lu-EB-PSMA-617 in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2019; 46(1): 148–58. doi: 10.1007/s00259-018-4096-y.

57. Wang Z., Tian R., Niu G., Ma Y., Lang L., Szajek L.P., Kiesewetter D.O., Jacobson O., Chen X. Single Low-Dose Injection of Evans Blue Modified PSMA-617 Radioligand Therapy Eliminates Prostate-Specific Membrane Antigen Positive Tumors. *Bioconjug Chem.* 2018; 29(9): 3213–21. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.8b00556.

58. Deberle L.M., Benešová M., Umbricht C.A., Borgna F., Büchler M., Zheronosev K., Schibli R., Müller C. Development of a new class of PSMA radioligands comprising ibuprofen as an albumin-binding entity. *Theranostics.* 2020; 10(4): 1678–93. doi: 10.7150/thno.40482.

59. Chapman A.P. PEGylated antibodies and antibody fragments for improved therapy: a review. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54(4): 531–45. doi: 10.1016/s0169-409x(02)00026-1.

60. Koussoroplis S.J., Paulissen G., Tyteca D., Goldansaz H., Todoroff J., Barilly C., Uyttenhove C., Van Snick J., Cataldo D., Vanbever R.

PEGylation of antibody fragments greatly increases their local residence time following delivery to the respiratory tract. *J Control Release.* 2014; 187: 91–100. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.05.021.

61. Rashidian M., Ingram J.R., Dougan M., Dongre A., Whang K.A., LeGall C., Cragnolini J.J., Bieri B., Gostissa M., Gorman J., Grotenbreg G.M., Bhan A., Weinberg R.A., Ploegh H.L. Predicting the response to CTLA-4 blockade by longitudinal noninvasive monitoring of CD8 T cells. *J Exp Med.* 2017; 214(8): 2243–55. doi: 10.1084/jem.20161950.

62. Kang J.S., Deluca P.P., Lee K.C. Emerging PEGylated drugs. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2009; 14(2): 363–80. doi: 10.1517/14728210902907847.

63. Li L., Crow D., Turatti F., Bading J.R., Anderson A.L., Poku E., Yazaki P.J., Carmichael J., Leong D., Wheatcroft D., Raubitschek A.A., Hudson P.J., Colcher D., Shively J.E. Site-specific conjugation of monodispersed DOTA-PEGn to a thiolated diabody reveals the effect of increasing peg size on kidney clearance and tumor uptake with improved 64-copper PET imaging. *Bioconjug Chem.* 2011; 22(4): 709–16. doi: 10.1021/bc100464e. Erratum in: *Bioconjug Chem.* 2011; 22(6): 1256. Wheatcroft, Michael P [corrected to Wheatcroft, David].

64. Li L., Turatti F., Crow D., Bading J.R., Anderson A.L., Poku E., Yazaki P.J., Williams L.E., Tamvakis D., Sanders P., Leong D., Raubitschek A.A., Hudson P.J., Colcher D., Shively J.E. Monodispersed DOTA-PEG-conjugated anti-TAG-72 diabody has low kidney uptake and high tumor-to-blood ratios resulting in improved 64Cu PET. *J Nucl Med.* 2010; 51(7): 1139–46. doi: 10.2967/jnumed.109.074153.

65. Stickney D.R., Anderson L.D., Slater J.B., Ahlem C.N., Kirk G.A., Schweighardt S.A., Frincke J.M. Bifunctional antibody: a binary radiopharmaceutical delivery system for imaging colorectal carcinoma. *Cancer Res.* 1991; 51(24): 6650–5.

66. Barbet J., Peltier P., Bardet S., Vuillez J.P., Bachelot L., Denet S., Olivier P., Leccia F., Corcuff B., Huglo D., Proye C., Rouvier E., Meyer P., Chatal J.F. Radioimmunodetection of medullary thyroid carcinoma using indium-111 bivalent hapten and anti-CEA x anti-DTPA-indium bispecific antibody. *J Nucl Med.* 1998; 39(7): 1172–8.

67. Sharkey R.M., Karacay H., Litwin S., Rossi E.A., McBride W.J., Chang C.H., Goldenberg D.M. Improved therapeutic results by pretargeted radioimmunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a new recombinant, trivalent, anti-CD20, bispecific antibody. *Cancer Res.* 2008; 68(13): 5282–90. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0037.

68. Hnatowich D.J., Virzi F., Rusckowski M. Investigations of avidin and biotin for imaging applications. *J Nucl Med.* 1987; 28(8): 1294–302.

69. Weiden P.L., Breit H.B., Press O., Appelbaum J.W., Bryan J.K., Gaffigan S., Stone D., Axworthy D., Fisher D., Reno J. Pretargeted radioimmunotherapy (PRIT) for treatment of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): initial phase I/II study results. *Cancer Biother Radiopharm.* 2000; 15(1): 15–29. doi: 10.1089/cbr.2000.15.15.

70. Breit H.B., Fisher D.R., Goris M.L., Knox S., Ratliff B., Murtha A.D., Weiden P.L. Radiation absorbed dose estimation for 90Y-DOTA-biotin with pretargeted NR-LU-10/streptavidin. *Cancer Biother Radiopharm.* 1999; 14(5): 381–95. doi: 10.1089/cbr.1999.14.381.

71. Green D.J., Frayo S.L., Lin Y., Hamlin D.K., Fisher D.R., Frost S.H., Kenoyer A.L., Hylarides M.D., Gopal A.K., Gooley T.A., Orozco J.J., Till B.G., O'Steen S., Orcutt K.D., Wilbur D.S., Wittrup K.D., Press O.W. Comparative Analysis of Bispecific Antibody and Streptavidin-Targeted Radioimmunotherapy for B-cell Cancers. *Cancer Res.* 2016; 76(22): 6669–79. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0571.

72. Westerlund K., Altai M., Mitran B., Konijnenberg M., Oroujeni M., Atterby C., de Jong M., Orlova A., Mattsson J., Mücke P., Karlström A.E., Tolmachev V. Radionuclide Therapy of HER2-Expressing Human Xenografts Using Affibody-Based Peptide Nucleic Acid-Mediated Pretargeting: In Vivo Proof of Principle. *J Nucl Med.* 2018; 59(7): 1092–8. doi: 10.2967/jnumed.118.208348.

73. Altai M., Perols A., Tsourma M., Mitran B., Honarvar H., Robillard M., Rossin R., ten Hoeve W., Lubberink M., Orlova A., Karlström A.E., Tolmachev V. Feasibility of Affibody-Based Bioorthogonal Chemistry-Mediated Radionuclide Pretargeting. *J Nucl Med.* 2016; 57(3): 431–6. doi: 10.2967/jnumed.115.162248.

74. Leonidova A., Foerster C., Zarschler K., Schubert M., Pietzsch H.J., Steinbach J., Bergmann R., Metzler-Nolte N., Stephan H., Gasser G. In vivo demonstration of an active tumor pretargeting approach with peptide nucleic acid bioconjugates as complementary system. *Chem Sci.* 2015; 6(10): 5601–16. doi: 10.1039/c5sc00951k.

75. Westerlund K., Honarvar H., Tolmachev V., Eriksson Karlström A. Design, Preparation, and Characterization of PNA-Based Hybridization Probes for Affibody-Molecule-Mediated Pretargeting. *Bioconjug Chem.* 2015; 26(8): 1724–36. doi: 10.1021/acs.bioconjugchem.5b00292.

76. Poty S., Carter L.M., Mandleywala K., Membreno R., Abdel-Atti D., Ragupathi A., Scholz W.W., Zeglis B.M., Lewis J.S. Leveraging Bioorthogonal Click Chemistry to Improve 225Ac-Radioimmunotherapy of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2019; 25(2): 868–80. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1650.

77. Timperanza C., Jensen H., Bäck T., Lindegren S., Aneheim E. Pretargeted Alpha Therapy of Disseminated Cancer Combining Click Chemistry and Astatine-211. *Pharmaceuticals* (Basel). 2023; 16(4): 595. doi: 10.3390/ph16040595.
78. Tano H., Oroujeni M., Vorobyeva A., Westerlund K., Liu Y., Xu T., Vasconcelos D., Orlova A., Karlström A.E., Tolmachev V. Comparative Evaluation of Novel ¹⁷⁷Lu-Labeled PNA Probes for Affibody-Mediated PNA-Based Pretargeting. *Cancers* (Basel). 2021; 13(3): 500. doi: 10.3390/cancers13030500.
79. Su F.M., Beaumier P., Axworthy D., Atcher R., Fritzberg A. Pretargeted radioimmunotherapy in tumored mice using an in vivo ²¹²Pb/²¹²Bi generator. *Nucl Med Biol.* 2005; 32(7): 741–7. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2005.06.009.
80. Heskamp S., Hernandez R., Molkenboer-Kueneen J.D.M., Essler M., Bruchertseifer F., Morgenstern A., Steenbergen E.J., Cai W., Seidl C., McBride W.J., Goldenberg D.M., Boerman O.C. α -Versus β -Emitting Radionuclides for Pretargeted Radioimmunotherapy of Carcinoembryonic Antigen-Expressing Human Colon Cancer Xenografts. *J Nucl Med.* 2017; 58(6): 926–33. doi: 10.2967/jnumed.116.187021.
81. Altai M., Membreno R., Cook B., Tolmachev V., Zeglis B.M. Pretargeted Imaging and Therapy. *J Nucl Med.* 2017; 58(10): 1553–9. doi: 10.2967/jnumed.117.189944.
82. Cheal S.M., Chung S.K., Vaughn B.A., Cheung N.V., Larson S.M. Pretargeting: A Path Forward for Radioimmunotherapy. *J Nucl Med.* 2022; 63(9): 1302–15. doi: 10.2967/jnumed.121.262186.

Поступила/Received 25.04.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 29.07.2024

Принята к публикации/Accepted 05.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Авров Кирилл Олегович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории гибридной технологии, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 8366-9682. Researcher ID (WOS): ABE-4959-2020. ORCID: 0000-0003-3001-5855.

Шатик Сергей Васильевич, кандидат биологических наук, заведующий отделением циклотронных радиофармпрепаратов, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): ABB-4584-2021. ORCID: 0000-0002-1718-9335.

Самойлович Марина Платоновна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории гибридной технологии, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 8771-1479. Researcher ID (WOS): A-1517-2017. ORCID: 0000-0002-0957-8453.

ВКЛАД АВТОРОВ

Авров Кирилл Олегович: поиск и обработка материала, написание текста статьи.

Шатик Сергей Васильевич: утверждение публикуемой версии статьи.

Самойлович Марина Платоновна: внесение правок в статью, утверждение публикуемой версии статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава РФ (№ 122040800129-5).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Kirill O. Avrov, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Hybridoma Technology, A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). E-mail: kirillavrov@hotmail.com. Researcher ID (WOS): ABE-4959-2020. ORCID: 0000-0003-3001-5855.

Sergey V. Shatik, PhD, Head of the Department of Cyclotron Radiopharmaceuticals, A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): ABB-4584-2021. ORCID: 0000-0002-1718-9335.

Marina P. Samoilovich, DSc, Chief Researcher, Laboratory of Hybridoma Technology, A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): A-1517-2017. ORCID: 0000-0002-0957-8453.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Kirill O. Avrov: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Sergey V. Shatik: approval of the published version of the manuscript.

Marina P. Samoilovich: revision of the manuscript, approval of the published version of the manuscript.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

This research was supported by Ministry of Health of Russia (No. 122040800129-5).

Для цитирования: Майбородин И.В., Гончаров М.А., Шевела А.И., Красильников С.Э., Шумейкина А.О., Майбородина В.И. Ангиогенез при раке эндометрия: клиническое и биологическое значение. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 172–185. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-172-185
For citation: Maiborodin I.V., Goncharov M.A., Shevela A.I., Krasilnikov S.E., Shumeikina A.O., Maiborodina V.I. Angiogenesis in endometrial cancer: clinical and biological significance. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 172–185. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-172-185

АНГИОГЕНЕЗ ПРИ РАКЕ ЭНДОМЕТРИЯ: КЛИНИЧЕСКОЕ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

И.В. Майбородин¹, М.А. Гончаров¹, А.И. Шевела¹, С.Э. Красильников²,
А.О. Шумейкина², В.И. Майбородина¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН»

Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»

Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Аннотация

Цель исследования – обобщение имеющихся данных об особенностях васкуляризации эндометриоидной аденокарциномы (ЭАК). **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников был произведен в базе данных «PubMed» по ключевым словам «endometrium + cancer + angiogenesis» и «endometrium + cancer + angiogenesis + lymph». Из выбранных источников в данный обзор включено 78 публикаций. **Результаты.** Ангиогенез представляет собой важный и необходимый этап в появлении, прогрессировании и метастазировании ЭАК, изучение васкуляризации опухоли открывает возможности для улучшения диагностики и персонализированного подхода к лечению. Сосудистая плотность коррелирует с продвинутой стадией ЭАК, высокой злокачественностью, инвазией миометрия, поражением шейки матки, придатков, прорастанием сосудов, метастазами в лимфатические узлы (ЛУ), присутствием раковых клеток в перитонеальной жидкости, низкой общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования опухоли. При этом есть публикации, отрицающие связь васкуляризации с гистотипом и степенью дифференцировки опухоли, лимфоваскулярной инвазией, метастазами в ЛУ, глубиной прорастания миометрия и даже доказывающие, что плотность микрососудов не является независимым прогностическим фактором. Таким образом, нет единого мнения, о чем свидетельствует низкая или высокая васкуляризация ЭАК. В последнее время создано множество препаратов, влияющих как непосредственно на процессы ангиогенеза, так и на индукторы и факторы, контролирующие рост сосудов. К сожалению, эти средства обладают достаточно высокой токсичностью, и к ним быстро развивается резистентность. **Заключение.** Несмотря на многочисленность публикаций результатов исследований, посвященных изучению формирования кровеносных сосудов, и единичные данные о лимфоангиогенезе при ЭАК, в литературе отсутствуют результаты изучения изменений васкуляризации ЛУ при гинекологическом раке, тогда как проангиогенные и антиангиогенные факторы диссемируются по всему организму и должны проявить свое действие в отдаленных органах и тканях. По изменениям васкуляризации ЛУ, видимо, станут возможными предсказание активности ангиогенеза в первичном опухолевом узле и оценка как прогноза течения основного процесса, так и эффективности лечения. Кроме того, значительная выраженность сосудистой сети в увеличенном и биопсированном ЛУ может являться симптомом развития злокачественной опухоли в регионе лимфооттока даже при отсутствии метастазов.

Ключевые слова: опухолевый ангиогенез, васкуляризация опухоли, эндометриоидная аденокарцинома, фактор роста эндотелия сосудов, факторы ангиогенеза, прогностические факторы, лимфатические узлы.

ANGIOGENESIS IN ENDOMETRIAL CANCER: CLINICAL AND BIOLOGICAL SIGNIFICANCE

I.V. Maiborodin¹, M.A. Goncharov¹, A.I. Shevela¹, S.E. Krasilnikov²,
A.O. Shumeikina², V.I. Maiborodina¹

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch
8, Akademika Lavrenteva St., Novosibirsk, 630090, Russia

²National Research Novosibirsk State University
2, Pirogova St., Novosibirsk, 630090, Russia

Abstract

Objective: to summarize the available data on the features of vascularization of endometrioid adenocarcinoma (EAC). **Material and Methods.** The search for relevant sources was performed in the "PubMed" database using the keywords "endometrium + cancer + angiogenesis", "endometrium + cancer + angiogenesis + lymph". Of the selected sources, 78 were included in this review. **Results.** Angiogenesis is an important and necessary stage in the pathogenesis of the appearance, progression and metastasis of EAC and, thus, the study of tumor vascularization provides an opportunity to improve diagnosis and personalized approach to treatment. Vascular density correlates with advanced stage of EAC, high grade of malignancy, myometrial invasion, cervical and adnexal lesions, vascular invasion, metastases to lymph nodes (LN), the presence of cancer cells in the peritoneal fluid, low overall survival and survival without tumor progression. There are publications that deny the connection of vascularization with the histological type of tumor, its grade, lymphovascular invasion, lymph node metastases, the depth of myometrial invasion, and these publications even prove that microvessel density is not an independent prognostic factor. So, there is still no consensus and final opinion, as evidenced by low or high vascularization of EAC. Recently, there are many drugs that affect both the processes of angiogenesis directly and the inducers and factors that control vascular growth. Unfortunately, all such drugs have a fairly high toxicity, and resistance to them very quickly develops. **Conclusion.** Despite numerous results of studies devoted to the study of the formation of blood vessels and isolated data on lymphangiogenesis in EAC, there is no data in the literature on studying changes in the vascularization of LN in gynecological cancer. However, proangiogenic and antiangiogenic factors are disseminated throughout the body and must exert their effects in distant organs and tissues. Based on changes in the vascularization of LN, it will apparently become possible to predict the activity of angiogenesis in the primary tumor, assess the prognosis of the disease, and the effectiveness of the treatment. In addition, significant expression of the vascular network in an enlarged lymph node biopsied for diagnosis may be a symptom of the development of a malignant tumor in the lymph collection region, even in the absence of metastases.

Key words: tumor angiogenesis, tumor vascularization, endometrioid adenocarcinoma, vascular endothelial growth factor, angiogenesis factors, prognostic factors, lymph nodes.

Введение

Рак эндометрия является наиболее частым злокачественным новообразованием тела матки и в 90–95 % случаев представляет собой эндометриодную аденокарциному (ЭАК), возникающую из слоя железистого эпителия. Данная опухоль является второй по распространенности у женщин после рака молочной железы и наиболее частым злокачественным новообразованием после менопаузы, рост заболеваемости отмечается каждый год, а повышенная частота встречаемости связана с возрастом, ожирением, гипертензией и гипострогией. Уровень заболеваемости ЭАК составляет 19–21/100 000 в США и Канаде, 12–18/100 000 в Европе, 10–12/100 000 в Австралии и Новой Зеландии и 0,9–5/100 000 в Азии и Африке. Несмотря на научные достижения, заболеваемость и смертность от ЭАК продолжают расти [1–3].

Ангиогенезом называется образование новых сосудов из ранее существовавших, это происходит во

время репарации после травм и в основном инициируется ишемией. Низкий уровень внутриклеточного кислорода вызывает выработку проангиогенных факторов, их секрецию в окружающие ткани и связывание с капиллярами или артериолами, запуская рост новых сосудов. Этот физиологический процесс регулируется про- и антиангиогенными молекулами, в основном цитокинами. Ангиогенез очень важен для женской репродуктивной системы, где обеспечивает циклические менструальные изменения и успешную беременность. Вместе с этим, ангиогенез – один из важнейших процессов в патогенезе рака, поскольку он необходим для роста опухоли, неконтролируемой пролиферации, инвазии, эпителиально-мезенхимального перехода и метастатического распространения. Недостаточное ингибирование ангиогенеза способствует развитию и быстрому росту опухолей [4, 5].

На начальном этапе развития рака, до того как размер опухоли превысит 1–2 мм³, он не зависит

от сосудистой сети, поскольку питательные вещества и кислород могут быть получены путем диффузии. На более поздних стадиях канцерогенеза такое поступление питательных веществ становится недостаточным. Из-за быстрого роста опухоли, высокого интерстициального давления и больших расстояний между раковыми клетками и капиллярами в опухолях начинается и прогрессирует гипоксия, которая при посредстве HIF-1 α (hypoxia-inducible factor 1-alpha, индуцируемый гипоксией фактор-1 α) активирует транскрипцию набора ключевых генов, участвующих в выживании клеток в условиях гипоксии, в том числе в запуске ангиогенеза [6]. Таким образом, внутри и вокруг опухоли формируется новая сосудистая сеть, обеспечивающая опухолевые клетки питательными веществами и кислородом, а также непрерывный рост и неограниченную пролиферацию. Одновременно эта сосудистая сеть служит для распространения метастазов [4].

В связи с большой противоречивостью публикаций и для обобщения результатов последних исследований особенностей ангиогенеза и васкуляризации ЭАК, ее терапии и прогноза течения заболевания проведен поиск литературы в базе данных «PubMed» по ключевым словам «endometrium + cancer + angiogenesis» (за 2022–2024 гг. найдено 59 публикаций) и «endometrium + cancer + angiogenesis + lymph» (с 1987 г. по настоящее время выявлено 54 статьи). В данный обзор включено 78 источников.

Патогенез ангиогенеза при раке эндометрия

Различные доброкачественные и злокачественные процессы в эндометрии являются причиной сосудистых изменений, таких как застой, дилатация и прерывистость сосудистых оболочек. Для морфометрического анализа васкуляризации N.M. Bhosale et al. [7] проведено поперечное исследование эндометрия у пациенток с аномальным кровотечением. Среднее количество всех кровеносных сосудов и отдельно крупных в эндометрии было больше при ЭАК и гиперплазии эндометрия без атипии по сравнению с пролиферативной фазой, секреторной фазой и атрофией. Нарушения формы сосудов и явления застоя наблюдали во всех случаях ЭАК, атрофии и гиперплазии эндометрия без атипии. Кроме того, при ЭАК также было найдено выраженное расширение кровеносных сосудов.

Ишемия опухоли вызывает индукцию ангиогенеза. Гипоксию ЭАК оценивали на основании экспрессии генов HIF-1 α и карбоангидразы IX (CA-IX). Плотность сосудов была значительно ниже, а экспрессия HIF-1 α – выше в рецидивирующей ЭАК, по сравнению с ее же первичной опухолью, что подтверждает роль гипоксии в развитии рецидива ЭАК [8].

Жировая ткань – эндокринный орган, синтезирующий адипокины – биологически активные

вещества, участвующие в росте и дифференцировке клеток, ангиогенезе, апоптозе и канцерогенезе. Ожирение является хорошо известным фактором риска развития ЭАК. Среди всех новообразований, связанных с ожирением, уровень заболеваемости и смертности от ЭАК наиболее тесно связан с повышенным индексом массы тела [9]. По мнению P.P. Wang et al. [10], уровни лептина при ЭАК не зависят от индекса массы, а лептин является независимым фактором развития этой опухоли.

Адипонектин и лептин являются наиболее важными адипокинами в развитии ЭАК. Лептин – основной фактор, регулирующий массу тела через управление энергетическим балансом и метаболизмом глюкозы. Во время канцерогенеза лептин способствует опухолевому ангиогенезу, пролиферации, миграции и инвазии и подавляет апоптоз раковых клеток. Указанные адипокины можно использовать независимо или в виде соотношения в качестве новых маркеров при определении потенциального риска развития ЭАК или в его прогнозе [11, 12]. Кроме того, большие количества адипокинов и других цитокинов способствуют привлечению макрофагов и нарушают функцию адипоцитов, что в конечном итоге вызывает хроническое воспаление и способствует канцерогенезу [13].

У пациенток с ЭАК обнаружены значительные уровни лептина, особенно на поздних стадиях и с более высокой степенью злокачественности. Женщины с большим содержанием лептина в сыворотке крови имели повышенный риск лимфоваскулярной инвазии и метастазирования в лимфатические узлы (ЛУ). Кроме того, глубина инвазии миометрия коррелировала с уровнем лептина, а экспрессия лептина и лептиновых рецепторов влияет на выживаемость больных при ЭАК [12]. *In vitro* и *in vivo* показано, что лептин также стимулирует пролиферацию и дифференцировку эндотелиоцитов [14, 15]. Лептин также индуцирует секрецию и синтез протеаз и молекул адгезии, необходимых для ангиогенеза [16], и влияет на стромальные клетки и опухолеассоциированные макрофаги, имеющие лептиновые рецепторы и секретирующие VEGF (vascular endothelial growth factor, фактор роста эндотелия сосудов) и интерлейкин-1 (ИЛ-1) [17].

K.E. Baumann et al. [18] оценивали связь между диетой и ангиогенными биомаркерами у мышей КрВ, а также связь между этими маркерами, индексом массы тела и общей выживаемостью при раке высокой степени злокачественности. Не выявлено связи между экспрессией CD31 в опухоли и диетой. Однако VEGF может секретироваться жировой тканью, и, таким образом, ангиогенез напрямую связан с ожирением [19].

Таким образом, рост опухоли более какого-то объема приводит к гипоксии ее клеточных элементов, продукции ими проангиогенных факторов и ангиогенезу. Очень интересны данные о роли жировой ткани в развитии ЭАК. Видимо, избыточ-

ное развитие жировой ткани без сосудистой сети способствует гипоксии тканей и усилению васкуляризации. Рост сосудов сохраняет группы клеток с поврежденным геномом (постоянно появляющихся в организме и уничтожающихся инициацией апоптоза или иммунной системой): дефектные клеточные элементы без такого ангиогенеза могли погибнуть от гипоксии или пролиферировать более медленно и дать возможность их ликвидации иммунокомпетентными клетками.

Клеточные элементы, влияющие на ангиогенез

Популяция фибробластов, ассоциированных с опухолью, является гетерогенной. Подтип фибробластов CD146+ обнаружен при ЭАК и коррелирует с плохим прогнозом. CD146+ опухолевые фибробласты способствуют ангиогенезу и васкулогенной мимикрии *in vitro*. Моделирование опухоли (ксенотрансплантат) также показало, что CD146+ клетки могут способствовать прогрессированию рака. В CD146+ фибробластах повышена экспрессия ИЛ-10, что способствовало эпителиально-эндотелиальной трансформации и усилению васкулогенной мимикрии в клетках ЭАК [20]. Концепция васкулогенной мимикрии описывает уникальную способность высокоагрессивных опухолевых клеток формировать капиллярноподобные структуры и богатую матрицами структурированную сеть в трехмерной культуре, которая имитирует эмбриональную васкулогенную сеть [21]. В формировании васкулогенной мимикрии немаловажная роль отводится микроокружению опухоли, в первую очередь опухолеассоциированным макрофагам и фибробластам [22].

I. Hashimoto et al. [23] наблюдали отчетливую инфильтрацию опухолевой стромы опухолеассоциированными макрофагами в 56 из 109 случаев ЭАК. Макрофагальная инфильтрация была значительно выше в опухолях с глубокой инвазией миометрия, при высокой степени злокачественности и у пациенток пожилого возраста. Количество микрососудов с сильной зависимостью коррелировало с инфильтрацией опухолеассоциированных макрофагов в строму опухоли. Однако инфильтрация опухолеассоциированными макрофагами не была прогностическим фактором. Опухлеассоциированные макрофаги могут играть решающую роль в стимулировании ангиогенеза, но не могут использоваться для прогноза у пациенток с ЭАК.

S. Soeda et al. [24] изучено 76 случаев ЭАК. Содержание CD68+ макрофагов на периферии опухоли было значимо связано со стадией FIGO, степенью злокачественности, инвазией в миометрий, метастазами в тазовые ЛУ и лимфоваскулярной инвазией. Количество внутриопухолевых макрофагов значимо коррелировало с экспрессией Ki67 и плотностью CD34+ кровеносных микрососудов. Пациентки с высокой численностью периферических макро-

фагов имели значительно худшую выживаемость без прогрессирования и общую выживаемость. По данным многомерного анализа, макрофаги на периферии ЭАК были значимо связаны с инвазией в сосудистое пространство и в миометрий.

Опухлеассоциированные макрофаги стимулируют ангиогенез и способствуют распространению рака. В ЭАК с инвазией в миометрий найдено большее количество CD163+ опухолевых макрофагов и большая плотность CD31+ кровеносных микрососудов, чем в ЭАК без инвазии. Выявлена значительная положительная коррелятивная связь между плотностью микрососудов и CD163+ макрофагами как при инвазии в миометрий, так и в преинвазивных опухолях. ЭАК высокой степени злокачественности имели больше макрофагальных инфильтратов и микрососудов. Также выявлена положительная корреляция между CD163+ макрофагами и плотностью микрососудов в первичных опухолях и в метастазах в регионарные ЛУ. Усиленный ангиогенез в ЭАК связан с макрофагальными инфильтратами стромы, и, возможно, эти макрофаги запускают и регулируют пролиферацию сосудов [25]. Все исследователи, занимающиеся клетками, инфильтрирующими ЭАК, считают, что опухолеассоциированные макрофаги и фибробласты поддерживают ангиогенез и «помогают» клеточным элементам опухоли уклоняться от иммунитета и что большое число клеток макрофагального и фибробластного рядов в ЭАК является неблагоприятным прогностическим фактором.

Молекулярные факторы и цитокины, регулирующие рост сосудов

VEGF является наиболее мощным и специфичным фактором роста эндотелиальных клеток. Он играет решающую роль в инициации физиологического и патологического ангиогенеза, васкулогенеза и лимфангиогенеза [26, 27]. Уровень экспрессии VEGF отражает агрессивность опухоли [28]. В 63 % случаев ЭАК экспрессировали VEGF-A, в 55 % – VEGFR2, в 26 % – VEGFR3, причем последний значимо коррелировал с распространенностью опухоли с тенденцией к снижению выживаемости, а VEGF-A коррелировал с плотностью микрососудов. Повышенную экспрессию VEGFR2 (в 17,2 раза) и VEGFR3 (в 21,9 раза) наблюдали при ЭАК, по сравнению с нормальным эндометрием, со значительной корреляцией между уровнями экспрессии самих указанных рецепторов [29]. VEGF и VEGFR сверхэкспрессируются в условиях гипоксии с помощью HIF-1 α , также возможна активация лептином [30, 31].

Развитие ЭАК включает индукцию HIF-1 α в условиях гипоксии посредством экспрессии STAT3 (сигнальный белок и активатор транскрипции, является одним из белков-посредников, обеспечивающих ответ клетки на сигналы, поступающие через рецепторы ИЛ, и факторов роста), что при-

водит к ангиогенезу [32]. Клетки НЕС-1А (human endometrial adenocarcinoma) в условиях гипоксии усиливают экспрессию VEGF-A [33].

Экспрессия TGF- α (transforming growth factor alpha, трансформирующий фактор роста-альфа) была на 72 % больше у мышей, находящихся на диете с высоким содержанием жиров, по сравнению с животными на низколипидном корме. Высокая экспрессия TGF- α коррелировала с более значительным индексом массы тела и более короткой выживаемостью при раке. Диета с высоким содержанием липидов и ожирение могут способствовать прогрессированию опухоли за счет дифференциальной модуляции TGF- α [18].

Металлопротеиназы (ММП) представляют собой семейство протеолитических ферментов, участвующих в деградации коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса. Они играют очень важную роль во многих физиологических процессах: ангиогенезе, гемостазе, циклических изменениях эндометрия, заживлении ран, а также в росте и распространении опухолей. К. Mieszalo et al. [34] показали значительное увеличение экспрессии ММП-2 и ММП-9 при наиболее распространенных гинекологических онкологических заболеваниях, в том числе ЭАК, по сравнению с нормальными тканями и доброкачественными образованиями. Кроме того, концентрация ММП-9 коррелировала с клинической стадией и наличием отдаленных метастазов, уровень ММП-2 был значимо связан со степенью злокачественности, а ММП-7 может быть полезна при ЭАК для оценки наличия метастазов в ЛУ.

ИЛ-8, продуцируемый макрофагами и фибробластами, является провоспалительным фактором и опосредует ангиогенез при многих заболеваниях, включая ЭАК. Обнаружена значительная корреляция между стадией рака и экспрессией ИЛ-8. При ЭАК повышенное содержание ИЛ-8 в сыворотке крови до лечения было связано с низкой общей и безрецидивной выживаемостью [35, 36]. Следует обратить внимание, что ИЛ-8 также вырабатывается и секретируется адипоцитами, и его концентрация увеличивается с ростом индекса массы тела и окружности талии, это, в свою очередь, как было отмечено выше, связано с частотой возникновения и исходами ЭАК [37].

Однозначно, что VEGF, являющийся наиболее мощным и специфичным фактором роста эндотелиоцитов, продуцируется опухолевыми клеточными элементами с участием HIF-1 α и является основным звеном в опухолевом ангиогенезе. Экспрессия VEGF и VEGFR коррелирует с плотностью сосудов и служит основным показателем прогноза течения ЭАК, ее рецидивирования и метастазирования. Кроме VEGF, другие цитокины и ферменты также могут модулировать рост сосудов (TGF- α и ИЛ-8) и подготовку межклеточного матрикса к этому процессу (ММП). Необходимо обратить вни-

мание на связь отдельных провоспалительных ИЛ, секретируемых макрофагами и фибробластами, с опухолевым ангиогенезом и негативным влиянием на прогноз у пациенток с ЭАК.

Диагностика опухолевой васкуляризации и прогностические факторы, связанные с ангиогенезом

S. Ozalp et al. [38] в исследование «случай-контроль» были включены 43 пациентки с ЭАК. В качестве контроля изучали образцы тканей после гистерэктомий, выполненных по поводу доброкачественных процессов (опущение и миома матки, хроническая тазовая боль, аденомиоз) во время пролиферативной и секреторной фаз. Кровеносные микрососуды оценивали в «горячих зонах», где присутствовала значительная васкуляризация как в опухолевой ткани, так и в нормальном эндометрии. Плотность микрососудов не различалась между пролиферативной и секреторной фазами цикла ($48,5 \pm 3,6/0,739$ vs $47,4 \pm 3,8$ мм² соответственно) и была максимальной при ЭАК. Сосудистая плотность коррелировала с продвинутой стадией, поражением шейки матки, придатков и лимфоваскулярного пространства, метастазами в тазовых и парааортальных ЛУ и положительными результатами цитологического исследования перитонеальной жидкости. При одномерном и многофакторном анализе с пороговым значением васкуляризации в 81 объект на указанной площади среза количество сосудов оказалось независимым фактором выживаемости. Ангиогенез проявляется как на начальных, так и на дальнейших этапах эволюции опухолевого процесса, васкуляризация имеет существенное прогностическое значение для выживаемости при ЭАК.

J.Z. Wang et al. [39] в систематический обзор, в котором оценивалась связь между ангиогенезом и клинико-патологическими характеристиками и определялась прогностическая ценность различных признаков при ЭАК, включили 29 публикаций об исследованиях с участием 2517 пациенток. Выявлено, что плотность CD34+ кровеносных микрососудов была прямо связана с глубиной инвазии миометрия, инвазией в лимфоваскулярное пространство, метастазированием в ЛУ и низкой общей выживаемостью.

С 1979 по 1989 г. проанализировано 85 случаев ЭАК I и II стадий. Все образцы были подвергнуты иммуногистохимическому исследованию на антиген, связанный с фактором VIII. Плотность кровеносных микрососудов подсчитывали в поле зрения при $\times 200$ ($0,785$ мм²) в наиболее активной зоне неоваскуляризации. Плотность сосудов значимо коррелировала со степенью злокачественности, инвазией в миометрий и в лимфатическое пространство. Не выявлено корреляции между количеством микрососудов и состоянием ЛУ. У пациенток с высокой васкуляризацией (≥ 60 сосу-

дов) отмечались худшие показатели общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования. Многомерный анализ подтвердил, что плотность микрососудов значимо и независимо коррелирует с общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования [40].

Е. Kiliç, A. Y. Bahar [41] ретроспективно изучили 151 случай ЭАК после гистерэктомии в период с 2005 по 2020 г. Плотность микрососудов определяли во внутриопухолевых (самая плотная сосудистая область) и периферических областях с использованием иммуногистохимической реакции с антителами к CD31. Большой размер опухоли, глубокая инвазия миометрия, высокая степень злокачественности, инвазия шейки матки, метастазы в ЛУ, стадии III–IV, значительная лимфоваскулярная инвазия и общая выживаемость имели значительную связь с внутри- и внеопухолевой васкуляризацией. Возраст и лимфоплазмозитарная инфильтрация имели только слабое значение для внеопухолевого ангиогенеза. Показатели вне- и внутриопухолевых микрососудов имели очень высокую (почти идеальную) положительную корреляцию между собой ($\kappa=0,870$). Инвазия шейки матки, стадии III–IV, высокая степень злокачественности, внутриопухолевая и внеопухолевая плотность микрососудов коррелировали с более низкой общей выживаемостью при многомерном анализе. В другом исследовании 40 образцов ЭАК были получены от ранее не леченных пациенток. Ангиогенез в опухоли оценивали на основании подсчета микрососудов. Плотность кровеносных микрососудов была связана со стадией FIGO IIIc, инвазией лимфатического пространства, метастазами в ЛУ и яичники, степенью злокачественности [42].

S. Wagatsuma et al. [43] изучали ангиогенез с применением иммуногистохимического окрашивания эндотелиальных клеток на фактор фон Виллебранда в случайном участке инвазивного края первичной ЭАК у 93 пациенток. Микрососуды подсчитывали в наиболее интенсивных участках неоваскуляризации. Высокое количество микрососудов (≥ 110 на площади $0,9 \text{ мм}^2$) значимо коррелировало с хирургической стадией III и IV, степенью злокачественности III, поражением ЛУ и более низкой выживаемостью. Многофакторный анализ показал, что хирургическая стадия III и IV, градация злокачественности III, инвазия более половины миометрия и высокое количество микрососудов являются независимыми факторами прогноза у больных с ЭАК.

Была оценена связь между ангиогенезом, выживаемостью и клинико-патологическими параметрами у 60 женщин, у которых в период с 1993 по 1998 г. диагностирована ЭАК. Все образцы были иммуногистологически окрашены на антиген, связанный с фактором VIII. Область с наиболее интенсивной микрососудистой сетью определяли при малом увеличении ($\times 100$), а количество

микрососудов в ней – при $\times 200$. Средняя плотность кровеносных микрососудов составляла $26,2 \pm 13,0$ (6–68) и считалась высокой, когда было >30 объектов на единице площади среза, средней – от 15 до 30, низкой – при <15 . Выявлена положительная корреляция между увеличением плотности сосудов и стадией опухолевого процесса, а также с метастазами в ЛУ. Не было различий между васкуляризацией и возрастом, гистотипом и степенью злокачественности, лимфоваскулярной инвазией. Сосудистая плотность не менялась в зависимости от глубины инвазии миометрия. Была значительная разница в выживаемости пациенток между группами с низкой и высокой васкуляризацией, усиление ангиогенеза оказалось связанным с поздней стадией и снижением выживаемости. Однако плотность микрососудов, по данным многомерного анализа, не являлась независимым прогностическим фактором [44].

O. Erdem et al. [45] исследовали связь экспрессии CD34 как показателя плотности микрососудов с традиционными клинико-патологическими прогностическими переменными при ЭАК (гистологический тип, степень, глубина инвазии миометрия, ангиолимфатическая инвазия, поражение ЛУ). В образцах от 63 пациенток среднее значение плотности кровеносных сосудов ($64,38 \pm 28,71$ микрососудов в поле зрения при $\times 200$) не было связано с какими-либо клинико-патологическими факторами. При анализе выживаемости обнаружено, что наиболее значимыми прогностическими показателями являются высокие и средние значения васкуляризации.

Другие исследователи также обнаружили связь васкуляризации при ЭАК только с отдельными, зачастую единичными клинико-гистологическими и прогностическими показателями. Была проанализирована иммуноэкспрессия маркеров ангиогенеза и пролиферации клеток в 50 образцах ЭАК. Плотность CD105+ (endoglin, эндоглин) микрососудов и индекс пролиферации Ki67 были выше при ЭАК высокой степени злокачественности и поздней стадии [46].

G. Guşet et al. [47] включили в исследование образцы тканей 54 пациенток с ЭАК. Плотность микрососудов оценивали с применением антител к CD34 в наиболее интенсивных областях неоваскуляризации. Обнаружено, что плотность микрососудов при высокодифференцированном ЭАК была ниже, чем при средне- и низкодифференцированном раке. Плотность микрососудов у женщин с ЭАК I стадии была меньше, чем при ЭАК II–III стадий. Не наблюдали значимой разницы между содержанием микрососудов у пациенток без и с метастазами в ЛУ. Повышенная васкуляризация связана с развитием и агрессивностью ЭАК и является важным индикатором плохого прогноза.

У 90 пациенток средняя плотность микрососудов в поле зрения при $\times 200$ при использовании

CD105 составила $32,87 \pm 19,99$, для CD34 – $55,46 \pm 31,25$, между этими двумя маркерами отмечена положительная корреляция. Что касается клиничко-патологических переменных (возраст, стадия, гистологический тип, степень, глубина инвазии в миометрий, инвазия в лимфоваскулярное пространство, метастазы в ЛУ и общая выживаемость), ни одно из сравнений не оказалось значимым в течение среднего периода наблюдения, равного 60,5 мес [48].

Из 55 исследованных случаев ЭАК 10 образцов сложной гиперплазии эндометрия с атипией и 10 образцов гиперплазии без атипии были иммуногистохимически окрашены на эндоглин и CD31. Положительно окрашенные микрососуды подсчитывали в наиболее васкуляризированных очагах в поле зрения при $\times 400$ в каждом образце. Выявлена положительная корреляция количества сосудов, экспрессирующих эндоглин и CD31, с дифференцировкой клеточных элементов опухоли и глубиной инвазии. Однако только количество эндоглина значимо коррелировало с наличием ангиолимфатической инвазии, метастазов в ЛУ и стадией опухоли [49].

Высокая плотность кровеносных микрососудов, а также HIF-1 α могут быть связаны с рецидивом заболевания и агрессивностью опухоли. Плотность сосудов изучалась при первичной и рецидивирующей ЭАК. Всего исследовано 65 первичных опухолей у пациенток с рецидивом ЭАК (n=40) и без рецидива (n=25), дополнительно оценены еще 23 рецидивные опухоли. Иммуногистохимический анализ проводили на ткани опухоли, залитой в парафин. Плотность кровеносных микрососудов определяли количественным анализом CD31/FVIII+ объектов. В целом по группам содержание сосудов и HIF-1 α существенно не различалось в первичных опухолях пациенток с рецидивом от ЭАК без рецидива. Экспрессия сосудов и HIF-1 α не является независимыми прогностическими маркерами рецидивирующей ЭАК [8].

Большинство исследователей для выявления кровеносных сосудов использовали антигены CD31 и CD34, несколько реже CD105, фактор фон Виллебранда и фактор свертывания крови VIII. Обычно определяли плотность кровеносных сосудов на какой-то произвольной площади среза опухоли с визуальной максимальной васкуляризацией («горячие» точки), поэтому для сравнения результатов различных публикаций между собой и со своими данными требуется перерасчет. Показатели вне- и внутриопухолевых микрососудов имеют очень высокую положительную корреляцию между собой, в связи с этим не имеет большого значения, где определена васкуляризация ЭАК: в центре опухолевого узла или на его периферии.

По разным данным, сосудистая плотность коррелирует с поздней стадией ЭАК, высокой степенью злокачественности, инвазией миометрия,

поражением шейки матки, придатков, прорастанием сосудов, метастазами в ЛУ, присутствием раковых клеток в перитонеальной жидкости, низкой общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования опухоли. При этом есть публикации, отрицающие связь васкуляризации с гистотипом и степенью дифференцировки опухоли, лимфоваскулярной инвазией, метастазами в ЛУ, глубиной прорастания миометрия и даже утверждающие, что плотность микрососудов не является независимым прогностическим фактором. Таким образом, до настоящего времени нет единого мнения, о чем свидетельствует низкая или высокая васкуляризация ЭАК.

Методы терапии рака эндометрия, связанные с воздействием на ангиогенез

Зависимость ЭАК от биомолекулярных механизмов, участвующих в прогрессировании опухоли, таких как ангиогенез и пролиферация эндотелиоцитов, является фактором, который может способствовать улучшению результатов лечения у пациенток [46]. Из-за важности ангиогенеза для роста опухоли активно разрабатывается антиангиогенная терапия. Основными классами антиангиогенных агентов являются моноклональные антитела против VEGF (например, бевацизумаб), VEGFR (афлиберцепт), ингибиторы рецептора ангиопоэтина-Tie2 (требананиб) и ингибиторы тирозинкиназы (бриваниб, цедираниб, нинтеданиб, сунитиниб и ленватиниб) [50]. Хотя эти препараты клинически активны при различных солидных опухолях, их применение связано с побочными эффектами: гипертонией, тромбозом, эмболией, кровотечением, нарушением заживления ран, протеинурией, перфорацией кишечника и расстройствами ЦНС, что в ряде случаев приводит к прекращению лечения [51]. Более того, многие опухоли либо изначально устойчивы, либо постепенно развивают адаптивную устойчивость к терапии, ингибирующей VEGF [52].

Другой группой антиангиогенных средств, оцениваемых в клинических исследованиях для применения у пациенток с ЭАК, являются ингибиторы тирозинкиназы VEGFR. Нинтеданиб продемонстрировал умеренную активность с частотой объективного ответа 9,4 % при лечении распространенного или рецидивирующего ЭАК и не достиг основной конечной эффективности [53].

Анлотиниб – новый пероральный низкомолекулярный многоцелевой ингибитор тирозинкиназы, участвующий в ангиогенезе. Данные от 249 пациенток, получавших анлотиниб по поводу персистирующего, рецидивирующего или метастатического рака шейки матки, ЭАК или рака яичников, были собраны в 17 центрах с августа 2018 г., средняя продолжительность наблюдения составила 14,5 мес. Препарат назначали перорально с 1-го по 14-й день каждые 3 нед до прогрессирования заболевания, неперено-

симой токсичности или смерти. Более высокая кумулятивная доза анлотиниба (>700 мг) в целом была связана с более длительной выживаемостью без прогрессирования при распространенном гинекологическом раке. Наиболее частым нежелательным явлением, связанным с приемом анлотиниба, была боль/артралгия (18,3 %). Анлотиниб перспективен в лечении пациенток с распространенным гинекологическим раком с определенной эффективностью и приемлемой безопасностью [54].

Афлиберцепт служит рецептором-ловушкой с высоким сродством для связывания VEGF. В клиническом исследовании II фазы у больных с гинекологическими опухолями препарат соответствовал параметрам эффективности, определенным до начала исследования, но при клиническом применении наблюдалась значительная токсичность [55].

Иммунологические контрольные «точки» (immunological checkpoints) – система ингибиторных механизмов, которые регулируют активацию иммунного ответа, препятствуя запуску аутоиммунных процессов, а также модулируют его, уменьшая повреждения в органах и тканях, вызванные иммунными клетками. В процессе канцерогенеза иммунные контрольные точки (ИКК) часто активируются и ослабляют противоопухолевый иммунный ответ. Ингибиторы ИКК эффективны против метастатических опухолей и улучшают показатели выживаемости. Недавние клинические испытания сообщают о многообещающей эффективности ингибиторов ИКК при некоторых онкогинекологических заболеваниях. В настоящее время в стадии разработки находятся ингибиторы ИКК, такие как химерные Т-клеточные рецепторы и Т-клетки, нацеленные на антигены опухолей эндометрия. Молекулярный механизм, лежащий в основе эффектов ингибиторов ИКК, особенно в сочетании с химиотерапией, лучевой терапией, ингибиторами ангиогенеза и поли-АДФ-рибозополимеразы (PARP), окончательно не определен и требует изучения [56].

Важность ангиогенеза для развития и прогрессирования ЭАК доказывает целесообразность изучения влияния на процесс образования сосудов в комплексе противоопухолевых терапевтических мер. В последнее время созданы препараты, действующие как непосредственно на процессы ангиогенеза, так и на индукторы, факторы и рецепторы, контролируемые рост сосудов. К сожалению, подобные средства обладают достаточно высокой токсичностью, и к ним быстро развивается резистентность.

Лимфангиогенез и изменения васкуляризации лимфатических узлов при карциноме эндометрия

Как было отмечено, изменения васкуляризации опухоли происходят при воздействии различных

факторов и релизов, продуцируемых как самими раковыми клетками, так и окружающими тканями при их гипоксии [6, 8, 32]. Известно, что VEGF стимулирует не только гемангиогенез, но и образование и рост лимфатических сосудов [26, 27, 57]. Эти цитокины диссеминируются по организму и должны проявить свое про- и антиангиогенное действие в отдаленных органах и тканях. В связи с этим является целесообразным изучение ангиогенеза в местах, отдаленных от первичного опухолевого очага, в первую очередь в регионарных ЛУ. Не исключено, что по изменениям их васкуляризации станут возможными предсказание активности ангиогенеза в первичной опухоли и прогноз как течения заболевания, так и эффективности его лечения [58, 59].

Чем дольше существует опухоль, тем более длительное время будут происходить продукция проангиогенных цитокинов и их воздействие на ЛУ. Чем больше размер опухоли, тем более выражена ее гипоксия и более значительна выработка веществ, стимулирующих ангиогенез, и тем сильнее должно быть выражено воздействие этих факторов на рост сосудов в различных структурах ЛУ. Выраженность сосудистой сети в увеличенном и взятом на биопсию ЛУ может являться симптомом развития злокачественной опухоли в регионе лимфооттока даже при отсутствии метастазов. По степени увеличения количества сосудов в ЛУ, по-видимому, можно косвенно судить о длительности процесса и о размере самой опухоли [59].

В ретроспективном исследовании «случай-контроль» мультиплексная иммуногистохимия была проведена на 38 образцах тканей тела матки, полученных от женщин в пременопаузе. В пролиферативной фазе плотность кровеносных и лимфатических сосудов была выше в эктопическом и эутопическом эндометрии больных аденомиозом, чем в эндометрии контрольной группы. Относительное количество кровеносных сосудов без гладкомышечного α -актина (α SMA) также было выше в эутопическом и эктопическом эндометрии при аденомиозе. Уровень интенсивности окрашивания VEGF был очень высоким в миометрии, но не различался между пациентками с аденомиозом и с контрольной группой. При аденомиозе в эндометрии отмечено усиление ангио- и лимфангиогенеза [57].

Н.К. Maghraby et al. [60] изучали опухолевый лимфангиогенез в 55 случаях ЭАК. Положительно окрашенные D2-40 (podoplanin, маркер лимфатических сосудов) микрососуды подсчитывали в наиболее васкуляризованных очагах на площади 0,17 мм² при $\times 400$. Лимфоваскулярная инвазия обнаружена у 20 пациенток, но количество перитуморальных лимфатических сосудов было значительно выше, чем внутри опухоли, – 17 ± 7 vs 5 ± 4 на единице площади среза. Количество перитуморальных лимфатических сосудов значи-

мо коррелировало с дифференцировкой опухоли, лимфоваскулярной инвазией и метастазами в ЛУ, однако корреляция со стадией заболевания была слабой. Внутритропухлевая лимфоваскулярная инвазия также была в значительной степени связана с метастазами в ЛУ.

Несмотря на многочисленность результатов исследований, посвященных изучению формирования кровеносных сосудов, и единичные данные о лимфангиогенезе при ЭАК, в литературе полностью отсутствуют итоги изучения ангиогенеза и изменений васкуляризации регионарных и отдаленных ЛУ при гинекологическом раке.

Связь между основными молекулярными подтипами и клиническими особенностями эндометриоидной аденокарциномы **Рак эндометрия и мутации в гене POLE**

Ген POLE кодирует каталитическую субъединицу ДНК-полимеразы ϵ . Этот белок отвечает за синтез ведущей нити в процессе репликации ДНК в S-фазе клеточного цикла. POLE – белок, играющий критически важную роль в поддержании геномной стабильности. У пациенток при ЭАК с мутацией гена POLE наблюдали улучшение общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования. Опухоли с мутацией POLE в основном имели эндометриоидную гистологию и были значимо связаны с инвазией менее половины глубины миометрия. Мутации POLE служат важным биомаркером благоприятного прогноза при ЭАК, опухоли характеризуются высокой степенью злокачественности, ранней стадией и отличаются низкой вероятностью метастазирования в ЛУ [61, 62].

Микросателлитная нестабильность при карциноме эндометрия

Микросателлитная нестабильность (MSI, microsatellite instability) – нарушение стабильности генома из-за дефектов в системе MMR (mismatch repair, система репарации неспаренных оснований – система, отвечающая за распознавание и удаление ошибочно спаренных оснований, которые образуются в результате нарушений в процессах репликации и рекомбинации ДНК), характеризующееся широким спектром полиморфизмов длин микросателлитных повторов. Когда работа MMR-системы нарушена, то происходят накопление ошибок, как следствие, нарушение стабильности генома и появление множественных мутаций-триггеров канцерогенеза.

W. Ju et al. [63] у 50 пациенток с ЭАК обнаружили значительную корреляцию между статусом MSI и потерей экспрессии hMLH1 и hMSH2 (гены белков восстановления несоответствия ДНК). Не найдено значимой связи между статусом MSI и клинико-патологическими параметрами, включая возраст, степень дифференцировки, стадию, глубину инвазии в миометрий, инвазию в лимфатическое пространство, поражение ЛУ или состояние брю-

шины. Однако обнаружены значимые корреляции между потерей hMLH1 и более низким гистологическим классом, а также отсутствием инвазии лимфатического пространства.

MSI была обнаружена в 10 из 89 (11 %) образцов ЭАК, из них в одном случае наблюдали потерю hMLH1 и hMSH2, а у 5 из 10 – только hMLH1. MSI с потерей hMLH1 часто диагностирована при ЭАК III–IV стадий по FIGO и при наличии очагов некроза. Фенотип MSI наблюдается в небольшой подгруппе ЭАК, и это часто связано с потерей экспрессии hMLH1, но лишь в редких случаях с дефектами hMSH2 [64].

Однако, по данным L.H. Honoré et al. [65], MSI положительно коррелировала со степенью злокачественности, атрофией эндометрия, плоскоклеточной метаплазией, поражением перешейка, глубиной инвазии в миометрий, сосудистой инвазией, распространением опухоли за пределы матки и внematочной ангиолимфатической инвазией у 218 больных с ЭАК. Не выявлено значимой корреляции с развитием ЭАК на фоне аденомиоза, муцинозной метаплазией, размером опухоли, поражением роговицы, гипертрофией шейки матки, прорастанием серозной оболочки матки и лимфоидной реакцией. По данным L.L. Li et al. [62], у больных с высокой MSI, по результатам предоперационного обследования, неэндометриоидный рак был независимым фактором риска метастазирования в ЛУ.

Некоторые случаи ЭАК имеют характерный морфологический фенотип, характеризующийся образованием микрокистозных, удлинённых и фрагментированных желез, что является признаком эпителиально-мезенхимального перехода. C.J. Stewart et al. [66] оценивали MSI в 33 образцах ЭАК низкой степени злокачественности с подобными изменениями, результаты сравнивали с 33 наблюдениями, демонстрирующими «традиционный» паттерн. В целом MSI идентифицирована в 20 % образцов, но не коррелировала с фенотипом изменённых желез.

Идентификация биомаркеров, связанных с эффективностью лечения ИКК, может отобрать пациентов, которые с большей вероятностью ответят на эту терапию. Высокий уровень MSI может быть связан с реакцией на блокаду ИКК, а о значительной MSI может свидетельствовать повышенное количество опухолеассоциированных CD3+ и CD8+ лимфоцитов [67].

Эндометриоидная аденокарцинома и мутации в гене CTNNB1

Кодируемый геном CTNNB1 β -катенин – белок, участвующий в клеточной адгезии и в регуляции экспрессии генов. Мутации и сверхэкспрессия β -катенина связаны со многими видами рака, включая ЭАК, что предполагает его роль в контроле клеточной пролиферации или гибели клеток [68]. Примерно 90 % случаев ЭАК имеют, по крайней

мере, одну мутацию в гене CTNNB1. Мутации в генах, связанных с опухолями, могут быть идентифицированы в периферической крови. Однако неясно, является ли повторное появление мутации предиктором рецидива [69].

Валидированные мутации были обнаружены в 91 из 100 случаев ЭАК, изменения гена CTNNB1 идентифицированы только в 21 % наблюдений. Эти мутации были связаны с молодым возрастом, эндометриоидной гистологией и лучшей выживаемостью [70]. Инвазия миометрия микрокистозными, удлиненными и фрагментированными железами не оказывает независимого влияния на риск рецидива при ранней стадии ЭАК, часто наблюдается при опухолях низкой степени злокачественности и не связана с мутациями CTNNB1 в 92,2 % [71].

Из выборки в 253 случая ЭАК I стадии опухолевые мутации CTNNB1 присутствовали у 45 (18 %) женщин. У пациенток с низким риском, не получавших адъювантную терапию, наличие мутации CTNNB1 не оказывало существенного влияния на безрецидивную выживаемость (11,3 без мутации vs 8,1 года с мутацией; $p=0,65$). Когда безрецидивная выживаемость была стратифицирована по статусу мутации CTNNB1 и адъювантной терапии, у пациенток с мутациями CTNNB1 и без адъювантной терапии была самая низкая безрецидивная выживаемость – 1,6 года, далее следовали пациентки с мутациями CTNNB1, получавшие адъювантную терапию (4,0 года), и без мутаций с адъювантной терапией и без нее (8,5 и 7,2 года соответственно). Таким образом, адъювантная терапия связана с улучшением безрецидивной выживаемости при опухолевых мутациях в CTNNB1 [72].

Ранее эти же авторы [73] по данным многомерного анализа показали низкую безрецидивную выживаемость у пациенток с ЭАК I–II клинических стадий с мутацией CTNNB1. Опухоли, мутантные по гену CTNNB1, чаще имели I–II степени злокачественности и были ассоциированы с более выраженной инвазией опухоли в миометрий и лимфоваскулярной инвазией. Мутационный анализ гена CTNNB1 может помочь выявить подгруппу пациенток с ЭАК ранней стадии и низкой степенью злокачественности, которые подвержены высокому риску рецидива.

Мутации в гене TP53 при раке эндометрия

Белок p53 является транскрипционным фактором, регулирующим клеточный цикл. Он выполняет функцию супрессора образования злокачественных опухолей, соответственно, ген TP53 является антионкогеном, его мутации выявляются в клетках около 50 % злокачественных опухолей [74, 75]. Транскрипционная экспрессия гена TP53 снижена при эндометриозе и эндометриоидной карциноме яичника, но значительно увеличивается при ЭАК, по сравнению с нормальным эндометрием [76].

При анализе 100 образцов ЭАК, полученных хирургическим путем, мутации гена TP53 присутствовали в 30 % случаев и были связаны с поздней стадией, высоким риском рецидива и плохой общей выживаемостью [70]. По мнению М.А. Brett et al. [77], статус TP53 является наиболее важным прогностическим биомаркером при ЭАК. Мутантный тип p53 наблюдали в 100 % случаев ($n=126$) при ЭАК III стадии, все пациентки имели неблагоприятный исход. По данным К.С. Kurnit et al. [73], мутация TP53 при ЭАК также ассоциирована с низкой безрецидивной выживаемостью. Вместе с этим, мутация TP53 повышает радиорезистентность клеточных элементов карциномы эндометрия *in vitro* [78].

Влияние гипоксии на экспрессию TP53 оценивали на различных линиях клеток рака эндометрия (ECC-1), Ishikawa (полученных из аденокарциномы) и AN3CA (полученных из метастазов в ЛУ). Экспрессия HIF-1 α хорошо коррелировала с уровнями экспрессии TP53 в первичных опухолях, но не при рецидивах. Уровни белка TP53 были самыми высокими в клетках AN3CA. Гипоксические условия индуцировали белок TP53 в клетках ECC-1 и Ishikawa, но не в метастатических опухолевых клетках AN3CA [8].

Таким образом, нет однозначного мнения о взаимосвязи большинства клинико-патологических факторов с основными молекулярными подтипами ЭАК. Можно отметить, что мутации гена POLE служат признаком благоприятного прогноза при ЭАК, опухоли характеризуются ранней стадией, реже метастазируют в ЛУ, но при этом диагностируются высокие степени злокачественности. Изменения гена TP53 однозначно связаны с поздней стадией, высоким риском рецидива и плохой общей выживаемостью. Часть исследователей отмечает отсутствие зависимости большинства клинических показателей от выраженности MSI. Однако, по другим данным, MSI положительно коррелирует со степенью злокачественности, атрофией эндометрия, плоскоклеточной метаплазией, поражением перешейка, глубиной инвазии в миометрий, сосудистой инвазией, распространением опухоли за пределы матки и внематочной ангиолимфатической инвазией. Некоторые работы показывают достаточно частую встречаемость (~90 %) мутаций гена CTNNB1 при ЭАК. Тогда как есть результаты, согласно которым только в 18–21 % образцов ЭАК можно зарегистрировать указанные изменения.

Заключение

Ангиогенез представляет собой важный этап в патогенезе появления, прогрессирования и метастазирования ЭАК, и изучение васкуляризации опухоли дает возможность для улучшения диагностики и персонализированного подхода к лечению. По разным данным, сосудистая плотность коррелирует с высокой стадией ЭАК, низкой дифференцировкой,

инвазией миометрия, поражением шейки матки, придатков, прорастанием сосудов, метастазами в ЛУ, присутствием раковых клеток в перитонеальной жидкости, низкой общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования опухоли. При этом есть публикации, отрицающие связь васкуляризации с гистотипом и степенью дифференцировки опухоли, лимфоваскулярной инвазией, метастазами в ЛУ, глубиной прорастания миометрия и даже

доказывающие, что плотность микрососудов не является независимым прогностическим фактором. Несмотря на многочисленность исследований, посвященных изучению формирования кровеносных сосудов, и единичные данные о лимфангиогенезе при ЭАК, в литературе полностью отсутствуют результаты изучения ангиогенеза и изменений васкуляризации регионарных и отдаленных ЛУ при гинекологическом раке.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Abdelmaksoud N.M., El-Mahdy H.A., Ismail A., Elsakka E.G.E., El-Husseiny A.A., Khidr E.G., Ali E.M., Rashed M.H., El-Demerdash F.E., Doghish A.S. The role of miRNAs in the pathogenesis and therapeutic resistance of endometrial cancer: a spotlight on the convergence of signaling pathways. *Pathol Res Pract*. 2023; 244. doi: 10.1016/j.prp.2023.154411.
2. Khan N.A., Elsoori D., Rashid G., Tamanna S., Chakraborty A., Farooqi A., Kar A., Sambyal N., Kamal M.A. Unraveling the relationship between the renin-angiotensin system and endometrial cancer: a comprehensive review. *Front Oncol*. 2023; 13. doi: 10.3389/fonc.2023.1235418.
3. Al-Kuraishy H.M., Al-Maiah T.J., Al-Gareeb A.I., Alexiou A., Papadakis M., Saad H.M., Batiha G.E. The possible role furin and furin inhibitors in endometrial adenocarcinoma: A narrative review. *Cancer Rep (Hoboken)*. 2024; 7(1). doi: 10.1002/cnr2.1920.
4. Carmeliet P., Jain R.K. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*. 2000; 407(6801): 249–57. doi: 10.1038/35025220.
5. Yetkin-Arik B., Kastelein A.W., Klaassen I., Jansen C.H.J.R., Latul Y.P., Vittori M., Biri A., Kahraman K., Griffioen A.W., Amant F., Lok C.A.R., Schlingemann R.O., van Noorden C.J.F. Angiogenesis in gynecological cancers and the options for anti-angiogenesis therapy. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2021; 1875(1). doi: 10.1016/j.bbcan.2020.188446.
6. Semenza G.L. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3(10): 721–32. doi: 10.1038/nrc1187.
7. Bhosale N.M., Arakeri S.U., Reddy A.K., Mudanur S.R. Endometrial blood vessel morphometry in patients presenting with abnormal uterine bleeding. *Indian J Pathol Microbiol*. 2022; 65(4): 844–50. doi: 10.4103/ijpm.ijpm_89_21.
8. Pijnenborg J.M., Wijnakker M., Hagelstein J., Delvoux B., Groothuis P.J. Hypoxia contributes to development of recurrent endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2007; 17(4): 897–904. doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.00893.x.
9. Yunusova N.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Afanas'ev S.G., Kishkina A.Y., Spirina L.V. The role of metabolic syndrome variant in the malignant tumors progression. *Diabetes Metab Syndr*. 2018; 12(5): 807–12. doi: 10.1016/j.dsx.2018.04.028.
10. Wang P.P., He X.Y., Wang R., Wang Z., Wang Y.G. High leptin level is an independent risk factor of endometrial cancer: a meta-analysis. *Cell Physiol Biochem*. 2014; 34(5): 1477–84. doi: 10.1159/000366352.
11. Ellis P.E., Barron G.A., Bermano G. Adipocytokines and their relationship to endometrial cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol*. 2020; 158(2): 507–16. doi: 10.1016/j.ygyno.2020.05.033.
12. Boron D., Nowakowski R., Grabarek B.O., Zmarzły N., Oplawski M. Expression Pattern of Leptin and Its Receptors in Endometrioid Endometrial Cancer. *J Clin Med*. 2021; 10(13): 2787. doi: 10.3390/jcm10132787.
13. Kang Y.E., Kim J.M., Joung K.H., Lee J.H., You B.R., Choi M.J., Ryu M.J., Ko Y.B., Lee M.A., Lee J., Ku B.J., Shong M., Lee K.H., Kim H.J. The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. *PLoS One*. 2016; 11(4). doi: 10.1371/journal.pone.0154003.
14. Zhou W., Guo S., Gonzalez-Perez R.R. Leptin pro-angiogenic signature in breast cancer is linked to IL-1 signalling. *Br J Cancer*. 2011; 104(1): 128–37. doi: 10.1038/sj.bjc.6606013.
15. Gonzalez-Perez R.R., Lanier V., Newman G. Leptin's Pro-Angiogenic Signature in Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 2013; 5(3): 1140–62. doi: 10.3390/cancers5031140.
16. Park H.Y., Kwon H.M., Lim H.J., Hong B.K., Lee J.Y., Park B.E., Jang Y., Cho S.Y., Kim H.S. Potential role of leptin in angiogenesis: leptin induces endothelial cell proliferation and expression of matrix metalloproteinases in vivo and in vitro. *Exp Mol Med*. 2001; 33(2): 95–102. doi: 10.1038/emmm.2001.17.
17. Guo S., Liu M., Wang G., Torroella-Kouri M., Gonzalez-Perez R.R. Oncogenic role and therapeutic target of leptin signaling in breast cancer and cancer stem cells. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1825(2): 207–22. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.01.002.

18. Baumann K.E., Siamakpour-Reihani S., Dottino J., Dai Y., Bentley R., Jiang C., Zhang D., Sibley A.B., Zhou C., Berchuck A., Owzar K., Bae-Jump V., Secord A.A. High-fat diet and obesity are associated with differential angiogenic gene expression in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2023; 179: 97–105. doi: 10.1016/j.ygyno.2023.11.002.
19. Michalczyk K., Niklas N., Rychlicka M., Cymbaluk-Ploska A. The Influence of Biologically Active Substances Secreted by the Adipose Tissue on Endometrial Cancer. *Diagnostics (Basel)*. 2021; 11(3): 494. doi: 10.3390/diagnostics11030494.
20. Yu Z., Zhang Q., Wei S., Zhang Y., Zhou T., Zhang Q., Shi R., Zinovkin D., Pranjal Z.I., Zhang J., Wang H. CD146+CAFs promote progression of endometrial cancer by inducing angiogenesis and vasculogenic mimicry via IL-10/JAK1/STAT3 pathway. *Cell Commun Signal*. 2024; 22(1): 170. doi: 10.1186/s12964-024-01550-9.
21. Ротин Д.Л., Титов К.С., Казаков А.М. Васкулогенная мимикрия при меланоме: молекулярные механизмы и клиническое значение. *Российский биотерапевтический журнал*. 2019; 18(1): 16–24. [Rotin D.L., Titov K.S., Kazakov A.M. Vasculogenic mimicry in melanoma: molecular mechanisms and clinical significance. *Russian Journal of Biotherapy*. 2019; 18(1): 16–24. (in Russian)]. doi: 10.17650/1726-9784-2019-18-1-16-24.
22. Лапкина Е.З., Есимбекова А.Р., Рукуша Т.Г. Васкулогенная мимикрия. *Архив патологии*. 2023; 85(6): 62–9. [Lapkina E.Z., Esimbekova A.R., Ruksha T.G. Vasculogenic mimicry. *Archive of Pathology*. 2023; 85(6): 62–9. (in Russian)]. doi: 10.17116/20238506162.
23. Hashimoto I., Kodama J., Seki N., Hongo A., Miyagi Y., Yoshinouchi M., Kudo T. Macrophage infiltration and angiogenesis in endometrial cancer. *Anticancer Res*. 2000; 20(6C): 4853–6.
24. Soeda S., Nakamura N., Ozeki T., Nishiyama H., Hojo H., Yamada H., Abe M., Sato A. Tumor-associated macrophages correlate with vascular space invasion and myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2008; 109(1): 122–8. doi: 10.1016/j.ygyno.2007.12.033.
25. Espinosa L., José Carnicer M., Catasus L., Canet B., D'angelo E., Zannoni G.F., Prat J. Myometrial invasion and lymph node metastasis in endometrioid carcinomas: tumor-associated macrophages, microvessel density, and HIF1A have a crucial role. *Am J Surg Pathol*. 2010; 34(11): 1708–14. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181f32168.
26. Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med*. 2003; 9(6): 677–84. doi: 10.1038/nm0603-677.
27. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer*. 2011; 2(12): 1097–105. doi: 10.1177/1947601911423031.
28. Nishida N., Yano H., Nishida T., Kamura T., Kojiro M. Angiogenesis in cancer. *Vasc Health Risk Manag*. 2006; 2(3): 213–9. doi: 10.2147/vhrm.2006.2.3.213.
29. Wang J., Taylor A., Showell R., Trivedi P., Horimoto Y., Bagwan I., Ewington L., Lam E.W., El-Bahrawy M.A. Expression profiling and significance of VEGF-A, VEGFR2, VEGFR3 and related proteins in endometrial carcinoma. *Cytokine*. 2014; 68(2): 94–100. doi: 10.1016/j.cyto.2014.04.005.
30. Bottaro D.P., Liotta L.A. Cancer: Out of air is not out of action. *Nature*. 2003; 423(6940): 593–5. doi: 10.1038/423593a.
31. Guo S., Colbert L.S., Fuller M., Zhang Y., Gonzalez-Perez R.R. Vascular endothelial growth factor receptor-2 in breast cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1806(1): 108–21. doi: 10.1016/j.bbcan.2010.04.004.
32. Mori H., Nishida H., Kusaba T., Kawamura K., Oyama Y., Daa T. Clinicopathological correlations of endometrioid and clear cell carcinomas in the uterus and ovary. *Medicine (Baltimore)*. 2023; 102(37). doi: 10.1097/MD.00000000000035301.
33. Wang X.X., Hua T., Wang H.B. Estrogen receptor-related receptor γ suppresses hypoxia-induced angiogenesis by regulating VEGFA in endometrial cancer. *Gynecol Endocrinol*. 2023; 39(1). doi: 10.1080/09513590.2023.2264411.
34. Mieszal K., Lawicki S., Szmitskowski M. Przydatność oznaczania metaloproteinaz (MMPs) i ich inhibitorów (TIMPs) w diagnostyce nowot-

worów narządu rodowego [The utility of metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in diagnostics of gynecological malignancies]. *Pol Merkuri Lekarski*. 2016; 40(237): 193–7. Polish.

35. Ewington L., Taylor A., Sriraksa R., Horimoto Y., Lam E.W., El-Bahravy M.A. The expression of interleukin-8 and interleukin-8 receptors in endometrial carcinoma. *Cytokine*. 2012; 59(2): 417–22. doi: 10.1016/j.cyt.2012.04.036.

36. Kotowicz B., Foksiewicz M., Jonska-Gmyrek J., Berezowska A., Radziszewski J., Bidzinski M., Kowalska M. Clinical significance of pre-treatment serum levels of VEGF and its receptors, IL-8, and their prognostic value in type I and II endometrial cancer patients. *PLoS One*. 2017; 12(10). doi: 10.1371/journal.pone.0184576.

37. Kim C.S., Park H.S., Kawada T., Kim J.H., Lim D., Hubbard N.E., Kwon B.S., Erickson K.L., Yu R. Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *Int J Obes (Lond)*. 2006; 30(9): 1347–55. doi: 10.1038/sj.ijo.0803259.

38. Ozaalp S., Yalcin O.T., Acikalin M., Tanir H.M., Oner U., Akkoyunlu A. Microvessel density (MVD) as a prognosticator in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2003; 24(3–4): 305–8.

39. Wang J.Z., Xiong Y.J., Man G.C.W., Chen X.Y., Kwong J., Wang C.C. Clinicopathological and prognostic significance of blood microvessel density in endometrial cancer: a meta-analysis and subgroup analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2018; 297(3): 731–40. doi: 10.1007/s00404-018-4648-1.

40. Kaku T., Kamura T., Kinukawa N., Kobayashi H., Sakai K., Tsuruchi N., Saito T., Kawachi S., Tsuneyoshi M., Nakano H. Angiogenesis in endometrial carcinoma. *Cancer*. 1997; 80(4): 741–7. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19970815)80:4<741::aid-cncl13>3.0.co;2-t.

41. Kiliç E., Bahar A.Y. The Value of Intratumoral and Extratumoral Microvessel Density for the Tumor-dominated Area in the Endometrial Carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2022; 30(7): 501–8. doi: 10.1097/PAL.0000000000001044.

42. Watanabe M., Aoki Y., Kase H., Tanaka K. Heparanase expression and angiogenesis in endometrial cancer. *Gynecol Obstet Invest*. 2003; 56(2): 77–82. doi: 10.1159/000072821.

43. Wagatsuma S., Konno R., Sato S., Yajima A. Tumor angiogenesis, hepatocyte growth factor, and c-Met expression in endometrial carcinoma. *Cancer*. 1998; 82(3): 520–30. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19980201)82:3<520::aid-cncl14>3.0.co;2-3.

44. Ozuysal S., Bilgin T., Ozan H., Kara H.F., Öztürk H., Ercan I. Angiogenesis in endometrial carcinoma: correlation with survival and clinicopathologic risk factors. *Gynecol Obstet Invest*. 2003; 55(3): 173–7. doi: 10.1159/000071533.

45. Erdem O., Erdem M., Dursun A., Akyol G., Erdem A. Angiogenesis, p53, and bcl-2 expression as prognostic indicators in endometrial cancer: comparison with traditional clinicopathologic variables. *Int J Gynecol Pathol*. 2003; 22(3): 254–60. doi: 10.1097/01.PGP.0000070850.25718.A5.

46. Drocaş I., Crăiţoiu Ş., Stepan A.E., Iliescu D.G., Drocaş I.A., Stepan M.D. The analysis of hormonal status and vascular and cell proliferation in endometrial endometrial adenocarcinomas. *Rom J Morphol Embryol*. 2022; 63(1): 113–20. doi: 10.47162/RJME.63.1.11.

47. Guşet G., Costi S., Lazăr E., Dema A., Cornianu M., Vernic C., Păușan L. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and assessment of microvascular density with CD34 as prognostic markers for endometrial carcinoma. *Rom J Morphol Embryol*. 2010; 51(4): 677–82.

48. Erdem O., Taskiran C., Onan M.A., Erdem M., Guner H., Ataoglu O. CD105 expression is an independent predictor of survival in patients with endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2006; 103(3): 1007–11. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.06.010.

49. Saad R.S., Jasnosz K.M., Tung M.Y., Silverman J.F. Endoglin (CD105) expression in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol*. 2003; 22(3): 248–53. doi: 10.1097/01.PGP.0000070852.25718.37.

50. Ferrara N., Kerbel R.S. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*. 2005; 438(7070): 967–74. doi: 10.1038/nature04483.

51. Oza A.M., Selle F., Davidenko I., Korach J., Mendiola C., Pautier P., Chmielowska E., Bamias A., DeCensi A., Zvirbulė Z., González-Martín A., Hegg R., Joly F., Zamagni C., Gadducci A., Martin N., Robb S., Colombo N. Efficacy and Safety of Bevacizumab-Containing Therapy in Newly Diagnosed Ovarian Cancer: ROSiA Single-Arm Phase 3B Study. *Int J Gynecol Cancer*. 2017; 27(1): 50–8. doi: 10.1097/IGC.0000000000000836.

52. van Beijnum J.R., Nowak-Sliwinska P., Huijbers E.J., Thijssen V.L., Griffioen A.W. The great escape: the hallmarks of resistance to antiangiogenic therapy. *Pharmacol Rev*. 2015; 67(2): 441–61. doi: 10.1124/pr.114.010215.

53. Dizon D.S., Sill M.W., Schilder J.M., McGonigle K.F., Rahman Z., Miller D.S., Mutch D.G., Leslie K.K. A phase II evaluation of nintedanib (BIBF-1120) in the treatment of recurrent or persistent endometrial cancer: an NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol Oncol*. 2014; 135(3): 441–5. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.10.001.

54. Hong X., Qiu S., Wu X., Chen S., Chen X., Zhang B., He A., Xu Y., Wang J., Gao Y., Xu X., Sun L., Zhang Y., Xiang L., Zhou J., Guan Q., Zhu Y., Liu H., Xu H., Zhou Y., Chen B., Shen Y. Efficacy and Safety of Anlotinib in Overall and Disease-Specific Advanced Gynecological Cancer: A Real-World Study. *Drug Des Devel Ther*. 2023; 17: 2025–33. doi: 10.2147/DDDT.S408304.

55. Coleman R.L., Sill M.W., Lankes H.A., Fader A.N., Finkler N.J., Hoffman J.S., Rose P.G., Sutton G.P., Drescher C.W., McMeekin D.S., Hu W., Deavers M., Godwin A.K., Alpaugh R.K., Sood A.K. A phase II evaluation of aflibercept in the treatment of recurrent or persistent endometrial cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2012; 127(3): 538–43. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.08.020.

56. Zou Y., Xu Y., Chen X., Zheng L. Advances in the application of immune checkpoint inhibitors in gynecological tumors. *Int Immunopharmacol*. 2023; 117. doi: 10.1016/j.intimp.2023.109774.

57. Harmsen M.J., Arduç A., Bleeker M.C.G., Juffermans L.J.M., Griffioen A.W., Jordanova E.S., Huirne J.A.F. Increased Angiogenesis and Lymphangiogenesis in Adenomyosis Visualized by Multiplex Immunohistochemistry. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(15). doi: 10.3390/ijms23158434.

58. Майбородин И.В., Красильников С.Э., Козяков А.Е., Баба-янц Е.В., Кулиджанян А.П. Целесообразность изучения опухолевого ангиогенеза как прогностического фактора развития рака. *Новости хирургии*. 2015; 23(3): 339–47. [Maiborodin I.V., Krasilnikov S.E., Kozjakov A.E., Babayants E.V., Kulidzhanyan A.P. The Feasibility of Tumor-Related Angiogenesis Study as a Prognostic Factor for Cancer Development. *News of Surgery*. 2015; 23(3): 339–47. (in Russian)]. doi: 10.18484/2305-0047.2015.3.339.

59. Майбородин И.В., Козяков А.Е., Бабаянц Е.В., Красильников С.Э. Ангиогенез в лимфатических узлах при развитии рака в регионе лимфобора. *Новости хирургии*. 2016; 24(6): 579–85. [Maiborodin I.V., Kozjakov A.E., Babayants E.V., Krasilnikov S.E. Angiogenesis in Lymph Nodes in the Development of Cancer in the Region of Lymph Collection. *News of Surgery*. 2016; 24(6): 579–85. (in Russian)]. doi: 10.18484/2305-0047.2016.6.579.

60. Maghraby H.K., Elsarha A.I., Saad R.S. Peritumoral lymphatic vessel density as a prognostic parameter in endometrial carcinoma: an immunohistochemical study. *Indian J Pathol Microbiol*. 2010; 53(3): 465–9. doi: 10.4103/0377-4929.68278.

61. Jumaah A.S., Al-Haddad H.S., McAllister K.A., Yasseen A.A. The clinicopathology and survival characteristics of patients with POLE proof-reading mutations in endometrial carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2022; 17(2). doi: 10.1371/journal.pone.0263585.

62. Li L.L., Li H., Li J., Zhang X.B., Wang Z.Q., Shen D.H., Wang J.L. [Risk factor analysis of lymph node metastasis in endometrial carcinoma combined with molecular types]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2023; 58(10): 733–41. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn112141-20230317-00125.

63. Ju W., Park H.M., Lee S.N., Sung S.H., Kim S.C. Loss of hMLH1 expression is associated with less aggressive clinicopathological features in sporadic endometrioid endometrial adenocarcinoma. *J Obstet Gynaecol Res*. 2006; 32(5): 454–60. doi: 10.1111/j.1447-0756.2006.00438.x.

64. Peiró G., Diebold J., Lohse P., Ruebsamen H., Lohse P., Baretton G.B., Löhrs U. Microsatellite instability, loss of heterozygosity, and loss of hMLH1 and hMSH2 protein expression in endometrial carcinoma. *Hum Pathol*. 2002; 33(3): 347–54. doi: 10.1053/hupa.2002.32220.

65. Honoré L.H., Hanson J., Andrew S.E. Microsatellite instability in endometrioid endometrial carcinoma: correlation with clinically relevant pathologic variables. *Int J Gynecol Cancer*. 2006; 16(3): 1386–92. doi: 10.1111/j.1525-1438.2006.00535.x.

66. Stewart C.J., Amanuel B., Grieff F., Carrello A., Iacopetta B. KRAS mutation and microsatellite instability in endometrial adenocarcinomas showing MELF-type myometrial invasion. *J Clin Pathol*. 2010; 63(7): 604–8. doi: 10.1136/jcp.2009.069500.

67. Crumley S., Kurnit K., Hudgens C., Fellman B., Tetzlaff M.T., Broaddus R. Identification of a subset of microsatellite-stable endometrial carcinoma with high PD-L1 and CD8+ lymphocytes. *Mod Pathol*. 2019; 32(3): 396–404. doi: 10.1038/s41379-018-0148-x.

68. Morin P.J. beta-catenin signaling and cancer. *Bioessays*. 1999; 21(12): 1021–30. doi: 10.1002/(SICI)1521-1878(199912)22:1<1021::AID-BIES6>3.0.CO;2-P.

69. Bolivar A.M., Luthra R., Mehrotra M., Chen W., Barkoh B.A., Hu P., Zhang W., Broaddus R.R. Targeted next-generation sequencing of endometrial cancer and matched circulating tumor DNA: identification of plasma-based, tumor-associated mutations in early stage patients. *Mod Pathol*. 2019; 32(3): 405–14. doi: 10.1038/s41379-018-0158-8.

70. Watanabe T., Nanamiya H., Kojima M., Nomura S., Furukawa S., Soeda S., Tanaka D., Isogai T., Imai J.I., Watanabe S., Fujimori K. Clinical relevance of oncogenic driver mutations identified in endometrial carcinoma. *Transl Oncol*. 2021; 14(3). doi: 10.1016/j.tranon.2021.101010.

71. van der Heerik A.S.V.M., Aiyer K.T.S., Stelloo E., Jürjgenliemk-Schulz I.M., Lutgens L.C.H.W., Jobsen J.J., Mens J.W.M., van der Steen-

Banasik E.M., Creutzberg C.L., Smit V.T.H.B.M., Horeweg N., Bosse T. Microcystic elongated and fragmented (MELF) pattern of invasion: Molecular features and prognostic significance in the PORTEC-1 and -2 trials. *Gynecol Oncol.* 2022; 166(3): 530–7. doi: 10.1016/j.ygyno.2022.06.027.

72. Kurnit K.C., Fellman B.M., Mills G.B., Bowser J.L., Xie S., Broadus R.R. Adjuvant treatment in early-stage endometrial cancer: context-dependent impact of somatic CTNNB1 mutation on recurrence-free survival. *Int J Gynecol Cancer.* 2022; 32(7): 869–74. doi: 10.1136/ijgc-2021-003340.

73. Kurnit K.C., Kim G.N., Fellman B.M., Urbauer D.L., Mills G.B., Zhang W., Broadus R.R. CTNNB1 (beta-catenin) mutation identifies low grade, early stage endometrial cancer patients at increased risk of recurrence. *Mod Pathol.* 2017; 30(7): 1032–41. doi: 10.1038/modpathol.2017.15.

74. Lane D.P., Benchimol S. p53: oncogene or anti-oncogene? *Genes Dev.* 1990; 4(1): 1–8. doi: 10.1101/gad.4.1.1.

75. Hollstein M., Sidransky D., Vogelstein B., Harris C.C. p53 mutations in human cancers. *Science.* 1991; 253(5015): 49–53. doi: 10.1126/science.1905840.

76. Kumari P., Sharma I., Saha S.C., Srinivasan R., Sharma A. Promoter methylation status of key genes and its implications in the pathogenesis of endometriosis, endometrioid carcinoma of ovary and endometrioid endometrial cancer. *J Cancer Res Ther.* 2022; 18(Supplement): 328–34. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_1704_20.

77. Brett M.A., Atenafu E.G., Singh N., Ghatage P., Clarke B.A., Nelson G.S., Bernardini M.Q., Köbel M. Equivalent Survival of p53 Mutated Endometrial Endometrioid Carcinoma Grade 3 and Endometrial Serous Carcinoma. *Int J Gynecol Pathol.* 2021; 40(2): 116–23. doi: 10.1097/PGP.0000000000000674.

78. Miyasaka A., Oda K., Ikeda Y., Sone K., Fukuda T., Inaba K., Makii C., Enomoto A., Hosoya N., Tanikawa M., Uehara Y., Arimoto T., Kuramoto H., Wada-Hiraike O., Miyagawa K., Yano T., Kawana K., Osuga Y., Fujii T. PI3K/mTOR pathway inhibition overcomes radioresistance via suppression of the HIF1- α /VEGF pathway in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2015; 138(1): 174–80. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.04.015.

Поступила/Received 31.05.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 29.07.2024

Принята к публикации/Accepted 09.08.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Майбородин Игорь Валентинович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории технологий управления здоровьем, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 8626-5394. ORCID: 0000-0002-8182-5084.

Гончаров Максим Александрович, аспирант лаборатории технологий управления здоровьем, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0009-0001-8005-0723.

Шевела Андрей Иванович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом «Центр новых медицинских технологий», ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0002-3164-9377.

Красильников Сергей Эдуардович, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0003-0687-0894.

Шумейкина Анастасия Олеговна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 8038-5941. ORCID: 0009-0008-1839-071X.

Майбородина Виталина Игоревна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории технологий управления здоровьем, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 8492-6291. ORCID: 0000-0002-5169-6373.

ВКЛАД АВТОРОВ

Майбородин Игорь Валентинович: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование.

Гончаров Максим Александрович: сбор и обработка материала, написание текста.

Шевела Андрей Иванович: концепция и дизайн исследования, написание текста.

Красильников Сергей Эдуардович: сбор и обработка материала, написание текста.

Шумейкина Анастасия Олеговна: сбор и обработка материала, написание текста.

Майбородина Виталина Игоревна: сбор и обработка материала, написание текста, редактирование.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Работа выполнена по государственному заданию в рамках бюджетной темы ИХБФМ СО РАН «Фундаментальные основы здоровьесбережения» № 121031300045-2.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Igor V. Maiborodin, MD, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Health Management Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-8182-5084.

Maxim A. Goncharov, Postgraduate, Laboratory of Health Management Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0009-0001-8005-0723.

Andrew I. Shevela, MD, Professor, Head of Department the Center of New Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and

Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-3164-9377.

Sergey E. Krasilnikov, MD, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, National Research Novosibirsk State University (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-0687-0894.

Anastasia O. Shumeikina, Postgraduate, Department of Obstetrics and Gynecology, National Research Novosibirsk State University (Novosibirsk, Russia). SPIN-код: 8038-5941. ORCID: 0009-0008-1839-071X.

Vitalina I. Maiborodina, MD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Health Management Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch (Novosibirsk, Russia). SPIN-code: 8492-6291. ORCID: 0000-0002-5169-6373.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Igor V. Maiborodin: study concept and design, data collection and analysis, writing of the manuscript, editing of the article.

Maxim A. Goncharov: data collection and analysis, writing of the manuscript.

Andrew I. Shevela: study concept and design, writing of the manuscript.

Sergey E. Krasilnikov: data collection and analysis, writing of the manuscript.

Anastasia O. Shumeikina: data collection and analysis, writing of the manuscript.

Vitalina I. Maiborodina: data collection and analysis, writing of the manuscript, editing of the article.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This research was supported by Russian State Funded Budget Project of ICBFM SB RAS (reg. No. 121031300045-2).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-186-193
УДК: 618.19-006.6-08-091.8:615.28



Для цитирования: Константинова В.В., Дашян Г.А., Ахмедов Р.М., Белоусов А.М. Полный патоморфологический регресс местнораспространенного трижды негативного рака молочной железы после неоадъювантной химиотерапии: клинический случай. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 186–193. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-186-193
For citation: Konstantinova V.V., Dashyan G.A., Ahmedov R.M., Belousov A.M. Pathological complete response of locally advanced triple-negative breast cancer: case report. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 186–193. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-186-193

ПОЛНЫЙ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ РЕГРЕСС МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСЛЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

В.В. Константинова, Г.А. Дашян, Р.М. Ахмедов, А.М. Белоусов

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

Аннотация

Актуальность. Трижды негативный рак молочной железы является наиболее агрессивным молекулярным подтипом среди злокачественных опухолей молочной железы. Из-за высокой пролиферативной активности опухолевых клеток и отсутствия мишеней для таргетной терапии основным методом в комплексном лечении данного подтипа является своевременное и обоснованное назначение неоадъювантной химиотерапии. Оптимальное время начала неоадъювантной химиотерапии определяется как менее 8 нед, превышение этого периода может влиять на эффективность лечения, а также приводить к местному или системному прогрессированию опухолевого процесса. Достижение полного патоморфологического регресса на фоне неоадъювантной химиотерапии обеспечивает снижение относительного риска рецидива более чем на 70 %, что, в свою очередь, ведет к значимому улучшению долгосрочной выживаемости данной когорты пациентов. **Описание клинического случая.** Пациентка 32 лет обратилась в клинику спустя 15 мес после постановки диагноза трижды негативного рака молочной железы. На протяжении 15 мес пациентка лечилась методами альтернативной медицины, и на момент обращения зарегистрирован выраженный местный рост опухоли с массивным распадом, симптомами опухолевой интоксикации и нутритивных нарушений. На фоне симптоматической и поддерживающей терапии проведена неоадъювантная химиотерапия: 12 циклов паклитаксел + карбоплатин в еженедельном режиме с последующими 4 циклами доксорубицин + циклофосфамид в дозоуплотненном режиме. На фоне лечения отмечается выраженная положительная динамика в виде значительного уменьшения размера опухоли, улучшения общего состояния больной. Клинически значимых побочных эффектов, потребовавших госпитализации или редукции дозы препарата, не наблюдалось. По завершении неоадъювантного этапа лечения пациентке выполнена радикальная мастэктомия по Madden слева. По результатам гистологического исследования послеоперационного материала достигнут полный патоморфологический регресс первичной опухоли и регионарных лимфоузлов. В адъювантном режиме назначена дистанционная лучевая терапия. Спустя 3 года после постановки диагноза и 1,5 года после завершения комплексного лечения пациентка продолжает жить полноценной жизнью и планирует отсроченную реконструкцию удаленной левой молочной железы с аугментационной маммопластикой справа. **Заключение.** Данный клинический случай демонстрирует редкий вариант массивного местного прогрессирования трижды негативного рака молочной железы с полным патоморфологическим регрессом после неоадъювантной химиотерапии спустя 15 мес после постановки диагноза.

Ключевые слова: трижды негативный рак молочной железы, полный патоморфологический регресс, неоадъювантная химиотерапия, дозоуплотненный режим.

PATHOLOGICAL COMPLETE RESPONSE OF LOCALLY ADVANCED TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER: CASE REPORT

V.V. Konstantinova, G.A. Dashyan, R.M. Ahmedov, A.M. Belousov

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

Abstract

Background. Triple-negative breast cancer is the most aggressive molecular subtype among breast malignancies. Due to the high proliferative activity of tumor cells and the lack of targets for targeted therapy, neoadjuvant chemotherapy plays the main role in complex treatment of this subtype. The optimal time to start neoadjuvant chemotherapy is defined as less than 8 weeks. Delays in time to treatment initiation may adversely affect treatment outcomes, as well as cause local or systemic disease progression. Achieving complete pathological response after neoadjuvant chemotherapy reduces the relative risk of relapse by more than 70 %, which, in turn, leads to a significant improvement in long-term survival of these patients. **Description of the clinical case.** A 32-year-old woman came to the clinic 15 months after being diagnosed with triple-negative breast cancer. The patient was treated with alternative medicine methods for 15 months, and upon admission to the hospital, the patient had pronounced local tumor growth with massive decay, tumor lysis syndrome and nutritional disorders. We decided to perform neoadjuvant chemotherapy: 12 cycles of weekly paclitaxel + carboplatin, followed by 4 cycles of dose-dense doxorubicin + cyclophosphamide. Chemotherapy resulted in a significant reduction in tumor size and improvement of health status of the patient. There were no clinically significant side effects requiring hospitalization or dose reduction. Upon completion of neoadjuvant treatment, the patient underwent mastectomy. The histological examination revealed a complete pathological response of the primary tumor and regional lymph nodes. The patient underwent adjuvant external beam radiation therapy. The patient is alive 3 years after diagnosis and 1.5 years after treatment completion. She plans delayed breast reconstruction with contralateral breast augmentation. **Conclusion.** This is a rare case of locally advanced triple-negative breast cancer with pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy 15 months after diagnosis.

Key words: breast cancer, triple-negative breast cancer, pathological complete response, neoadjuvant chemotherapy, dose-dense regimen.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) на протяжении многих десятилетий занимает лидирующие позиции в заболеваемости женщин по всему миру и до сих пор остается одной из главных причин смертности от онкологических заболеваний [1]. Столкнувшись с онкологическим диагнозом, многие пациенты впадают в отчаяние и ищут дополнительные методы лечения вместо стандартной терапии рака. Специалисты альтернативной медицины зачастую предлагают полное излечение от болезни и отсутствие побочных эффектов, что подталкивает пациентов отказаться от общепринятых методов лечения. L.M. Kemppainen et al. [2] проанализировали использование комплементарной и альтернативной медицины в Европе за 2018 г. и сделали вывод, что более 25 % населения Европы регулярно прибегают к неофициальной медицине для лечения менее серьезных заболеваний, таких как боль в шее и аллергия, которую некоторые врачи назначают в качестве плацебо с небольшим количеством побочных эффектов.

В большинстве случаев пациенты обращаются к альтернативной медицине в дополнение

к стандартному противоопухолевому лечению, например, для коррекции психоэмоционального состояния, депрессии и болевого синдрома, несмотря на слабую доказательную базу и отсутствие стандартизированных подходов в этой области [3]. Однако нередки случаи полного отказа от официального лечения в пользу альтернативных методов, что приводит к местному или системному прогрессированию основного заболевания и представляет угрозу жизни пациента.

Время до лечения (time-to-treatment, TTT) в последние годы все больше привлекает внимание исследователей и становится важным прогностическим фактором в лечении рака молочной железы. Этот показатель определяется как период от постановки диагноза или первичной консультации до начала специфического лечения. Известно, что увеличение времени до лечения достоверно ассоциировано со снижением общей и безрецидивной выживаемости [4]. В ретроспективном исследовании A.C. Polverini et al. (2016), включающем 420 792 пациентки, пролеченных хирургическим путем на первом этапе, показано увеличение времени от постановки диагноза до хирургического

лечения в зависимости от стадии РМЖ. Увеличение времени до хирургического лечения >12 нед связано со снижением общей выживаемости (отношение рисков (hazard ratio, HR) 1,14, 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,09–1,20). При стратификации по стадиям у пациенток с РМЖ I стадии, получавших лечение в течение 8–12 нед (HR 1,07, 95 % ДИ 1,02–1,13) и >12 нед (HR 1,19, 95 % ДИ 1,11–1,28), а также у пациенток с РМЖ II стадии, получавших лечение через >12 нед (HR 1,16, 95 % ДИ 1,08–1,25), наблюдалось снижение общей выживаемости по сравнению с больными, пролеченными менее чем через 4 нед после постановки диагноза [5].

В настоящее время системному лечению более агрессивных молекулярных подтипов РМЖ, таких как трижды негативный и HER2-позитивный, отводится первостепенная роль, поэтому оптимальная тактика лечения в таких случаях включает в себя проведение неoadъювантной системной терапии. Влияние времени от постановки диагноза до начала неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) изучалось D. Livingston-Rosanoff et al. [6]. В анализ включено 12 806 пациенток с РМЖ I–III стадии; среднее время от первоначального диагноза до начала НАХТ составило 4 нед, более 90 % пациенток начали лечение в течение 8 нед после постановки диагноза, независимо от молекулярного подтипа. Авторы не обнаружили связи между временем начала НАХТ и выживаемостью при HER2-положительном раке (HR 0,91; 95 % ДИ 0,74–1,12) и трижды негативном РМЖ (HR 1,10; 95 % ДИ 0,97–1,24), однако отмечается, что исследование имеет определенные ограничения: большинство пациенток начали НАХТ в течение 8 нед после постановки диагноза, поэтому невозможно оценить различия в выживаемости, связанные с более длительными задержками (>8 нед). На данный момент большинство исследователей сходятся во мнении, что оптимальное начало неoadъювантного лечения РМЖ составляет менее 8 нед.

Представленный клинический случай демонстрирует успешное применение НАХТ в лечении распадающейся опухоли молочной железы спустя 15 мес с момента постановки диагноза. Сложность в выборе оптимальной тактики лечения обусловлена запущенностью опухолевого процесса, агрессивностью молекулярного подтипа первичной опухоли, наличием выраженной опухолевой интоксикации и тяжестью общего состояния больной. Клиническая и социальная значимость представленного случая заключается в важности своевременной диагностики и лечения злокачественных опухолей, а также в опасности применения недоказательных методов терапии в отношении РМЖ. Клинический случай публикуется в соответствии с критериями CARE для представления клинических случаев, разработанными D.S. Riley et al. в 2017 г. [7].

Клинический случай

Пациентка О., 32 лет, впервые обратилась в Клинику высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ в октябре 2021 г. с жалобами на общую слабость, увеличение левой молочной железы в размерах и отделяемое из нее. Из анамнеза: в июле 2020 г. самостоятельно обнаружила образование в левой молочной железе, в связи с чем обратилась к онкологу по месту жительства, выполнено УЗИ молочных желез: в левой молочной железе в верхне-наружном квадранте в 2 см от соска определялось гипоехогенное очаговое образование с нечеткими неровными контурами, размерами 24×15×16 мм, BI-RADS MS 4c. Выполнена core-биопсия этого образования. Гистологическое заключение (№ 20537–2020, 21.08.20): инвазивная карцинома неспецифического типа, G3. Заключение иммуногистохимического исследования № 553.20: ER – 0, PR – 0, HER2 – 0, Ki67 – 90 %. Трижды негативный подтип. Установлен диагноз: Рак левой молочной железы cT2N0M0 G3 (трижды негативный подтип), IIb стадия. Решением онкологического консилиума назначена неoadъювантная химиотерапия по схеме: 4 цикла AC с последующими 4 циклами препаратом Доцетаксел. 28.08.20 проведен 1-й цикл НАХТ по схеме AC. От второго введения и дальнейшего специального лечения пациентка отказалась, выбрав методы альтернативной и гомеопатической медицины. Спустя несколько месяцев альтернативного лечения отмечен продолженный рост опухоли с образованием свищевого отверстия на коже молочной железы. Летом 2021 г. в связи с развившейся опухолевой интоксикацией, кровотечением из язвенного дефекта молочной железы, синдромом нутритивных нарушений и анемией тяжелой степени экстренно доставлена в стационар, где проведена первичная хирургическая обработка язвенного дефекта молочной железы, гемостатическая терапия, а также коррекция нутритивных нарушений и гематологических показателей. В проведении специального противоопухолевого лечения отказано ввиду распространенности процесса и тяжести общего состояния, в связи с чем пациентка обратилась в Клинику высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ.

При осмотре на момент обращения: состояние средней степени тяжести, обусловленное распространением и осложнениями опухолевого процесса, ECOG – 2, индекс Карновского – 60 %. Локальный статус: левая молочная железа резко увеличена в размерах, отечна, с участками распада, занимающими большую часть железы, поверхность контактно кровоточива (рис. 1). Выполнено УЗИ молочных желез (03.09.20): левая молочная железа асимметрично увеличена в размерах, осмотрена на отдельных фрагментах, где нет язвенных дефектов на коже. Структура молочной

железы представлена бесформенной тканью, где не прослеживаются ни жировые дольки, ни желези́стая ткань. В структуре этой ткани, особенно в глубоких отделах, множественные кальцинаты в виде россыпи. Отдельного узла как такого нет. На всю толщину выполнить УЗ-исследование не представляется возможным из-за больших размеров увеличенной железы. Кожа изменена за счет язвенных дефектов. В подмышечной впадине слева лоцируются множественные лимфоузлы, сливающиеся друг с другом, округлой формы, размерами до 2,0 см, кора узлов утолщена до 6,3 мм, кровоток усилен в области ворот и в коре. Отдельные лимфоузлы представлены гипэзогенными образованиями, без сердцевины. КТ органов грудной клетки с внутривенным контрастированием (22.09.21): образование левой молочной железы с ровными, четкими контурами, размерами 12,5×17,8 см, неоднородного характера за счет разнокалиберных фрагментов газа. Отмечается выпот в подкожно-жировой клетчатке левой молочной железы толщиной слоя до 11 мм. Подмышечные лимфоузлы слева представлены в большом количестве, увеличены до 16 мм. По данным комплексного обследования отдаленных метастазов не выявлено. Молекулярно-генетическое исследование на наличие наследственных мутаций, ассоциированных с риском развития рака молочной железы, методом NGS (15.11.21): мутаций не обнаружено. Заключение онкологической комиссии (21.10.21): с учетом гистологического подтипа опухоли (инвазивная карцинома неспецифического типа G3, трижды негативный молекулярный подтип, Ki67 – 90 %), незавершенной полихимиотерапии (ПХТ) принято решение о проведении химиотерапии по схеме паклитаксел + карбоплатин.



Рис. 1. Локальный статус на момент обращения.
Примечание: фотография выполнена авторами
Fig. 1. First visit examination.
Note: created by the authors

21.10.21 пациентка госпитализирована для проведения химиотерапии по схеме паклитаксел + карбоплатин. С учетом язвенного дефекта, распада опухоли и инфицирования раны выполнялись ежедневные перевязки, сделан бактериологический посев с раневой поверхности для подбора антибактериальной терапии, по данным которого (1.11.21) выявлен обильный рост условно-патогенной микрофлоры (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Corynebacterium striatum*). На основании антибиотикограммы, учитывая последующую цитостатическую терапию, подобрана антибиотикотерапия: линезолид + меропенем. С 21.10.21 по 20.01.22 проведено 12 циклов ПХТ по схеме паклитаксел + карбоплатин в еженедельном режиме: паклитаксел 80 мг/м² + карбоплатин АУС 2, цикл – 7 дней. При оценке эффекта химиотерапии отмечается выраженная положительная динамика в виде значительного уменьшения размера опухоли (рис. 2), улучшения общего состояния больной.

На фоне проводимой химиотерапии клинически значимых побочных эффектов, потребовавших госпитализации или редукции дозы препарата, не наблюдалось. С 7.02.22 по 28.03.22 проведено 4 цикла ПХТ по схеме АС в дозоуплотненном режиме: доксорубицин 60 мг/м² + циклофосфамид 600 мг/м², цикл 14 дней. В качестве профилактики фебрильной нейтропении и гематологической токсичности III и IV степени использован рекомбинантный гранулоцитарный колониестимулирующий фактор – эмпэгфилграстим 7,5 мг через 24 ч после окончания введения химиопрепаратов. По окончании запланированных циклов химиотерапии отмечалась выраженная клиническая регрессия первичной опухоли (рис. 3). При контрольной КТ



Рис. 2. Локальный статус после 12 введений 1-го блока химиотерапии по схеме паклитаксел + карбоплатин.
Примечание: фотография выполнена авторами
Fig. 2. Examination after 12 cycles of weekly paclitaxel-carboplatine chemotherapy. Note: created by the authors



Рис. 3. Локальный статус по завершении последнего цикла химиотерапии. Примечание: фотография выполнена авторами

Fig. 3. Examination after completion of neoadjuvant chemotherapy. Note: created by the authors

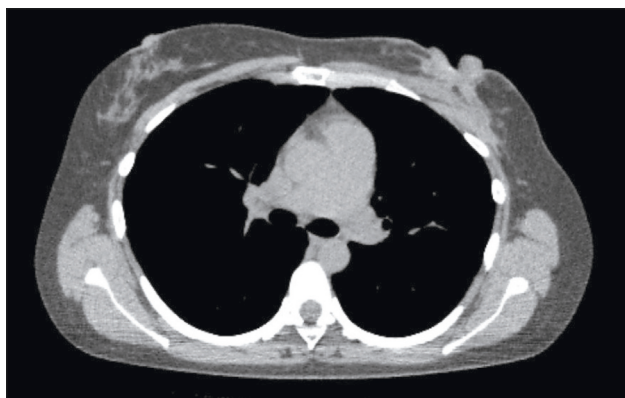


Рис. 4. Компьютерная томография органов грудной клетки после завершения всех запланированных циклов химиотерапии. Примечание: снимок выполнен авторами

Fig. 4. Computed tomography scan after completion of neoadjuvant chemotherapy. Note: created by the authors

органов грудной клетки с внутривенным контрастированием по окончании НАХТ (25.04.23): в левой молочной железе, преимущественно в верхних квадрантах, определяется патологическое образование с втяжением и дефектом кожи, размерами 44×14 мм с неравномерным накоплением контрастного вещества. Частичная регрессия аксиллярной лимфаденопатии слева (рис. 4).

27.04.22 выполнена радикальная мастэктомия по Madden слева. По данным гистологического исследования послеоперационного материала (№ 44468 от 5.05.22): в левой молочной железе в проекции предсуществующей опухоли определяется лимфогистиоцитарная инфильтрация с обилием ксантомных клеток, гемосидерофагов, микрокальцинозом, гранулемами по типу инородных тел, фиброзом и гиалинозом стромы. Морфологическая картина может соответствовать V степени лечебного патоморфоза по Miller–

Rayne. В 16 лимфатических узлах (0,1–1,5 см) реактивные изменения, очаговый липоматоз, без признаков метастатического поражения. С учетом полного патоморфологического ответа по первичной опухоли и регионарным лимфатическим узлам адъювантная химиотерапия не показана, рекомендована дистанционная лучевая терапия на область удаленной молочной железы и зоны регионарного лимфооттока. С июня 2022 г. по июль 2022 г. проведено 25 сеансов дистанционной лучевой терапии, клинически значимых побочных эффектов не наблюдалось. По данным контрольного обследования в сентябре 2023 г. не выявлено признаков местного или отдаленного прогрессирования. Спустя 3 года с момента постановки диагноза и 1,5 года после радикального лечения пациентка продолжает жить полноценной жизнью и планирует отсроченную реконструкцию удаленной левой молочной железы с аугментационной маммопластикой справа.

Обсуждение

Трижды негативный РМЖ составляет 10–20 % всех случаев рака молочной железы и является наиболее агрессивным молекулярным подтипом, характеризующимся стремительным ростом, частым прогрессированием и отсутствием мишеней для таргетной терапии [8]. Современный стандарт лечения больных трижды негативным РМЖ включает неoadъювантную химиотерапию, хирургическое вмешательство и лучевую терапию, из которых системное лечение является основным. Ввиду высокой гетерогенности и агрессивности трижды негативного РМЖ неoadъювантная химиотерапия позволяет добиться полного патоморфологического регресса (pCR) примерно у 30–40 % пациенток [9]. Больные, достигшие pCR после НАХТ, демонстрируют улучшение долгосрочных показателей выживаемости, что соответствует снижению относительного риска рецидива более чем на 70 % по сравнению с пациентками с частичным регрессом [10]. Подобно стандартному адъювантному режиму лечения, традиционная неoadъювантная химиотерапия основана на антрациклинах и таксанах [11]. Исторически сложилось так, что блок химиотерапии, включающий антрациклины, обычно назначают до введения таксанов, поскольку лечение антрациклиновыми антибиотиками было введено в клиническую практику раньше. В исследовании M. Zaheed et al. [12] значимых различий в показателях общей и безрецидивной выживаемости, а также в частоте полного патоморфологического регресса в зависимости от очередности введения таксанов до или после лечения антрациклинами не выявлено. В представленном клиническом случае мы выбрали нестандартную очередность введения химиопрепаратов, ожидая более выраженный клинический эффект от таксан-содержащей схемы перед антрациклинами на основании исследования

NeoSAMBA, опубликованного в 2020 г. [13]. В исследовании изучалось влияние очередности введения таксанов и антрациклинов на частоту полного патоморфологического регресса, а также общую и безрецидивную выживаемость у пациенток с метастатическим РМЖ (ПВ–ПВ ст.). Полученные результаты продемонстрировали улучшение показателей общей и безрецидивной выживаемости при проведении таксан-содержащей схемы первым этапом (75,7 vs 48,2 % и 89,7 vs 64,7 % соответственно), а также небольшое увеличение частоты полного патоморфологического ответа (7 vs 3 %) при трижды негативном молекулярном подтипе. Профиль токсичности и степень тяжести побочных эффектов в исследуемых группах были сопоставимы.

Режим введения паклитаксела (еженедельный или 1 раз в 3 нед) значимо не влияет на общую и безрецидивную выживаемость, однако ввиду лучшей переносимости еженедельного режима и, следовательно, меньшей вероятности редукции дозы препарата у ослабленных пациентов такой режим введения предпочтителен [14]. Согласно рекомендациям Американского общества клинической онкологии (ASCO), добавление карбоплатина в схему неoadъювантной химиотерапии при трижды негативном РМЖ должно рассматриваться индивидуально [15]. Метаанализ, проведенный J.G.P Pandey et al. [16], показал, что комбинация паклитаксела с карбоплатином в неoadъювантном режиме увеличивает частоту полного патоморфологического регресса у больных трижды негативным РМЖ (44,6 vs 27,8 %, $p < 0,0001$) вне зависимости от наличия мутаций в генах *BRCA*. Опубликованные данные позволили предположить более значимый клинический эффект от химиотерапии при добавлении карбоплатина.

С учетом массивного распространения опухоли, агрессивности молекулярного подтипа, а также наличия пораженных регионарных лимфатических узлов было решено неoadъювантную химиотерапию проводить в дозоуплотненном режиме. По данным метаанализа Y. Ding et al. [17], дозоуплотненный режим введения химиопрепаратов в неoadъювантном режиме значимо увеличивает частоту полного патоморфологического регресса (на 35 % по сравнению со стандартным режимом

химиотерапии) в подгруппе трижды негативного РМЖ (HR 1,36, 95 % ДИ 1,09–1,69, $p = 0,007$), что может улучшать показатели общей и безрецидивной выживаемости.

При использовании дозоуплотненного режима введения химиопрепаратов увеличивается частота гематологической токсичности III и IV степени, поэтому для профилактики серьезных нежелательных явлений использовался рекомбинантный гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) через 24 ч после введения химиопрепаратов после каждого цикла. Эффективность эмпагфилграстима в профилактике фебрильной нейтропении при дозоуплотненном режиме химиотерапии подтверждена в ряде исследований, в настоящее время введение Г-КСФ при дозоуплотненных режимах является «золотым стандартом» [18]. За время НАХТ у данной пациентки серьезных нежелательных явлений, включающих токсичность III и IV степени, потребовавших госпитализации, редукции дозы или увеличения промежутка между циклами, не отмечено.

Заключение

Злокачественные опухоли сопровождали человечество на протяжении всей его истории. В настоящее время наука и доказательная медицина предлагают множество вариантов диагностики и лечения; новые лекарственные препараты и высокотехнологичные методы дают шанс на успешное излечение или длительную ремиссию. Однако по сей день наиболее важным ресурсом, от которого в большинстве случаев зависит успех лечения, – это время. На ранних стадиях рак излечим, в то время как распространенные и метастатические опухоли, к сожалению, до сих пор ежегодно уносят тысячи жизней. Выбор лечиться ресурсами официальной или альтернативной медицины – личная ответственность пациента. Однако при выборе недоказательных методов лечения человек теряет свой самый важный ресурс – время, за которое потенциально излечимый рак успевает перейти в более позднюю стадию. Данный клинический случай демонстрирует успешное лечение запущенного онкологического процесса, однако, к сожалению, в реальной клинической практике такие случаи редки.

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. Kemppainen L.M., Kemppainen T.T., Reippainen J.A., Salmenniemi S.T., Vuolanto P.H. Use of complementary and alternative medicine in Europe: Health-related and sociodemographic determinants. *Scand J Public Health.* 2018; 46(4): 448–55. doi: 10.1177/1403494817733869.
3. Sasaki Y., Cheon C., Motoo Y., Jang S., Park S., Ko S.G., Jang B.H., Hwang D.S. [Complementary and Alternative Medicine for Breast Cancer Patients: An Overview of Systematic Reviews]. *Yakugaku Zasshi.* 2019; 139(7): 1027–46. Japanese. doi: 10.1248/yakushi.18-00215.

4. Guay E., Cordeiro E., Roberts A. Young Women with Breast Cancer: Chemotherapy or Surgery First? An Evaluation of Time to Treatment for Invasive Breast Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2022; 29(4): 2254–60. doi: 10.1245/s10434-021-11102-x.
5. Polverini A.C., Nelson R.A., Marcinkowski E., Jones V.C., Lai L., Mortimer J.E., Taylor L., Vito C., Yim J., Kruper L. Time to Treatment: Measuring Quality Breast Cancer Care. *Ann Surg Oncol.* 2016; 23(10): 3392–402. doi: 10.1245/s10434-016-5486-7.
6. Livingston-Rosanoff D., Hanlon B., Marka N., Vande Walle K., Stankowski-Drengler T., Schumacher J., Greenberg C.C., Neuman H., Wilke L.G. Time to initiation of neo-adjuvant chemotherapy for breast cancer treatment does not influence patient survival: A study of US breast cancer patients. *Breast J.* 2020; 26(4): 625–9. doi: 10.1111/tbj.13625.

7. Riley D.S., Barber M.S., Kienle G.S., Aronson J.K., von Schoen-Angerer T., Tugwell P., Kiene H., Helfand M., Altman D.G., Sox H., Werthmann P.G., Moher D., Rison R.A., Shamseer L., Koch C.A., Sun G.H., Hanaway P., Sudak N.L., Kaszkin-Bettag M., Carpenter J.E., Gagnier J.J. CARE guidelines for case reports: explanation and elaboration document. *J Clin Epidemiol.* 2017; 89: 218–35. doi: 10.1016/j.jclinepi.2017.04.026.

8. MacDonald I., Nixon N.A., Khan O.F. Triple-Negative Breast Cancer: A Review of Current Curative Intent Therapies. *Curr Oncol.* 2022; 29(7): 4768–78. doi: 10.3390/curroncol29070378.

9. Liedtke C., Mazouni C., Hess K.R., André F., Tordai A., Mejia J.A., Symmans W.F., Gonzalez-Angulo A.M., Hennesy B., Green M., Cristofanilli M., Hortobagyi G.N., Pusztai L. Response to Neoadjuvant Therapy and Long-Term Survival in Patients With Triple-Negative Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2023; 41(10): 1809–15. doi: 10.1200/JCO.22.02572.

10. Cortazar P., Zhang L., Untch M., Mehta K., Costantino J.P., Wolmark N., Bonnefoi H., Cameron D., Gianni L., Valagussa P., Swain S.M., Prowell T., Loibl S., Wickerham D.L., Bogaerts J., Baselga J., Perou C., Blumenthal G., Blohmer J., Mamounas E.P., Bergh J., Semiglazov V., Justice R., Eidtmann H., Paik S., Piccart M., Sridhara R., Fasching P.A., Slaets L., Tang S., Gerber B., Geyer C.E. Jr, Pazdur R., Ditsch N., Rastogi P., Eiermann W., von Minckwitz G. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet.* 2014; 384(9938): 164–72. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62422-8. Erratum in: *Lancet.* 2019; 393(10175): 986. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32772-7.

11. Berry D.A., Cirincione C., Henderson I.C., Citron M.L., Budman D.R., Goldstein L.J., Martino S., Perez E.A., Muss H.B., Norton L., Hudis C., Winer E.P. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA.* 2006; 295(14): 1658–67. doi: 10.1001/jama.295.14.1658. Erratum in: *JAMA.* 2006; 295(20): 2356.

12. Zaheed M., Wilcken N., Willson M.L., O'Connell D.L., Goodwin A. Sequencing of anthracyclines and taxanes in neoadjuvant and adjuvant

therapy for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019; 2(2). doi: 10.1002/14651858.CD012873.pub2.

13. Bines J., Small I.A., Sarmiento R., Kestelman F., Silva S., Rodrigues F.R., Faroni L., Gonçalves A., Ebecken E., Maroun P., Millen E., Bonamino M. Does the Sequence of Anthracycline and Taxane Matter? The NeoSAMB Trial. *Oncologist.* 2020; 25(9): 758–64. doi: 10.1634/theoncologist.2019-0805.

14. Bacinski X.E., Anghel R.M., Toma P.I., Safta I., Ilie A., Ilie S.M. Pathologic Response After Weekly Paclitaxel versus Docetaxel in Operable Breast Cancer. *Cancer Manag Res.* 2020; 12: 1419–26. doi: 10.2147/CMAR.S234527.

15. Korde L.A., Somerfield M.R., Carey L.A., Crews J.R., Denduluri N., Hwang E.S., Khan S.A., Loibl S., Morris E.A., Perez A., Regan M.M., Spears P.A., Sudheendra P.K., Symmans W.F., Yung R.L., Harvey B.E., Hershman D.L. Neoadjuvant Chemotherapy, Endocrine Therapy, and Targeted Therapy for Breast Cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol.* 2021; 39(13): 1485–505. doi: 10.1200/JCO.20.03399.

16. Pandey J.G.P., Balolong-Garcia J.C., Cruz-Ordinario M.V.B., Que F.V.F. Triple negative breast cancer and platinum-based systemic treatment: a meta-analysis and systematic review. *BMC Cancer.* 2019; 19(1): 1065. doi: 10.1186/s12885-019-6253-5.

17. Ding Y., Ding K., Yang H., He X., Mo W., Ding X. Does dose-dense neoadjuvant chemotherapy have clinically significant prognostic value in breast cancer?: A meta-analysis of 3,724 patients. *PLoS One.* 2020; 15(5). doi: 10.1371/journal.pone.0234058.

18. Wang X., He Y., Wang T., Xie Y., Li J., Ouyang T., Fan Z. Efficacy of pegfilgrastim to support neoadjuvant dose-dense epirubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer. *Support Care Cancer.* 2019; 27(8): 3019–25. doi: 10.1007/s00520-018-4572-8.

Поступила/Received 28.02.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 14.06.2024

Принята к публикации/Accepted 01.07.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Константинова Валерия Валерьевна, хирург, онколог онкологического отделения № 1 (хирургических методов лечения молочной железы, кожи и мягких тканей), Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 1788-9097. Researcher ID (WOS): JGL-7604-2023. ORCID: 0000-0001-9650-7305.

Дашян Гарик Альбертович, доктор медицинских наук, онколог, заведующий отделением онкологического отделения № 1 (хирургических методов лечения молочной железы, кожи и мягких тканей), Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 6989-7148. Author ID (Scopus): 17344871400. ORCID: 0000-0001-6183-9764.

Ахмедов Руслан Мерзалиевич, онколог онкологического отделения № 1 (хирургических методов лечения молочной железы, кожи и мягких тканей), Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5361-5059.

Белоусов Александр Михайлович, кандидат медицинских наук, хирург, онколог, заместитель директора по медицинской части (хирургия и онкология), Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 2842-7325. ORCID: 0000-0002-2274-8170.

ВКЛАД АВТОРОВ

Константинова Валерия Валерьевна: разработка концепции научной работы, написание текста работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Дашян Гарик Альбертович: общее руководство проектом, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение публикуемой версии статьи

Ахмедов Руслан Мерзалиевич: существенный вклад в дизайн научной работы, сбор и анализ данных, в том числе иллюстративных материалов, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Белоусов Александр Михайлович: утверждение концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение публикуемой версии статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информированное согласие

От пациентки получено письменное информированное добровольное согласие на публикацию описания клинического случая и публикацию фотоматериалов в медицинском журнале, включая его электронную версию (дата подписания: 28.04.2023).

ABOUT THE AUTHORS

Valeria V. Konstantinova, MD, Surgeon, Oncologist, Oncology Department No. 1 (breast, skin and soft tissue surgery), N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University (Saint Petersburg, Russia). E-mail: konstantinova.valery@gmail.com. Researcher ID (WOS): JGL-7604-2023. ORCID: 0000-0001-9650-7305.

Garik A. Dashyan, MD, DSc, Oncologist, Head of Oncology Department No. 1 (breast, skin and soft tissue surgery), N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University (Saint Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 17344871400. ORCID: 0000-0001-6183-9764.

Ruslan M. Ahmedov, MD, Oncologist, Oncology Department No. 1 (breast, skin and soft tissue surgery), N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University (Saint Petersburg, Russia).

Alexander M. Belousov, MD, PhD, Surgeon, Oncologist, Deputy Director, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-2274-8170.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Valeria V. Konstantinova: study conception and design, drafting of the manuscript, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Garik A. Dashyan: study analysis, project management and critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Ruslan M. Ahmedov: study design, data collection and analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Alexander M. Belousov: approval of the concept of the study, study analysis, critical revision with the introduction of valuable intellectual content, final approval of the published version.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Voluntary informed consent

Written informed voluntary consent was obtained from the patient for the publication of a case report and facial photographs in medical journals (date of signing 28/04/2023).

Для цитирования: Афанасьев С.Г., Азовский Д.И., Ронин Я.С., Волков М.Ю., Августинович А.В., Безгодова Н.В., Черемисина О.В., Ермоленко Р.В., Фролова И.Г. Случай успешного хирургического лечения метастатического рака Фатерова соска и протоковой карциномы дистальных отделов поджелудочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(4): 194–203. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-194-203

For citation: Afanasyev S.G., Azovsky D.I., Ronin Ya.S., Volkov M.Yu., Avgustinovich A.V., Bezgodova N.V., Cheremisina O.V., Ermolenko R.V., Frolova I.G. Successful surgical treatment of metachronous carcinoma of the appulla of Vater and ductal carcinoma of the distal parts of the pancreas: A case report. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(4): 194–203. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-4-194-203

СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕТАХРОННОГО РАКА ФАТЕРОВА СОСКА И ПРОТОВОКОЙ КАРЦИНОМЫ ДИСТАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

С.Г. Афанасьев¹, Д.И. Азовский¹, Я.С. Ронин², М.Ю. Волков¹,
А.В. Августинович¹, Н.В. Безгодова¹, О.В. Черемисина¹, Р.В. Ермоленко¹,
И.Г. Фролова¹

¹Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

Аннотация

Актуальность. В настоящее время отмечается устойчивая тенденция к увеличению частоты случаев первично-множественных злокачественных опухолей (ПМЗО) как в виде синхронных, так и метастатических новообразований. Однако метастатические полинеоплазии органов панкреато-билиарной системы достаточно редко встречаются в клинической практике, случаи успешного лечения ПМЗО этой локализации носят эксклюзивный характер. **Описание клинического случая.** Пациент К. находился под наблюдением в абдоминальном отделении НИИ онкологии Томского НИМЦ с сентября 2014 г., когда ему была диагностирована аденокарцинома Фатерова соска T2N0M0, стадия Ib и выполнена радикальная операция в объеме гастропанкреато-дуоденальной резекции с формированием панкреатогастроанастомоза. Послеоперационный период протекал без осложнений. При динамическом наблюдении в течение 6,5 лет признаков прогрессирования заболевания не отмечалось. При контрольном обследовании в условиях НИИ онкологии Томского НИМЦ в апреле 2021 г. выявлено объемное образование дистальных отделов культи поджелудочной железы, которое не имело клинически значимой манифестации. Диагноз ПМЗО подтвержден путем трансгастральной биопсии под контролем эндоУЗИ, гистологически и по данным иммуногистохимического исследования: недифференцированная протоковая карцинома поджелудочной железы. С учетом распространенности и локализации метастатической опухоли была выполнена экстирпация культи поджелудочной железы с резекцией задней стенки желудка и спленэктомией. Послеоперационный период протекал без осложнений, проводилась заместительная терапия экзокринных нарушений и индивидуальная коррекция углеводного обмена. При дальнейшем наблюдении по месту жительства через 15 мес после операции выявлено метастатическое поражение печени, назначенная паллиативная химиотерапия оказалась неэффективной, пациент скончался через 6 мес от прогрессирования заболевания. Продолжительность жизни после первой операции составила 99 мес, после второй операции – 21 мес. **Заключение.** Представленный клинический случай демонстрирует редкий вариант метастатического рака Фатерова соска и культи поджелудочной железы, которые возникли с интервалом в 6,5 лет, по поводу каждого из новообразований удалось выполнить радикальные операции. Общая продолжительность жизни пациента от начала заболевания составила 99 мес.

Ключевые слова: метастатические полинеоплазии, рак Фатерова соска, рак дистальных отделов поджелудочной железы, хирургическое лечение.

SUCCESSFUL SURGICAL TREATMENT OF METACHRONOUS CARCINOMA OF THE AMPULLA OF VATER AND DUCTAL CARCINOMA OF THE DISTAL PARTS OF THE PANCREAS: A CASE REPORT

S.G. Afanasyev¹, D.I. Azovsky¹, Ya.S. Ronin², M.Yu. Volkov¹,
A.V. Avgustinovich¹, N.V. Bezgodova¹, O.V. Cheremisina¹, R.V. Ermolenko¹,
I.G. Frolova¹

¹Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences
5, Kooperativny St., Tomsk, 634009, Russia

²Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia
2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia

Abstract

Background. Currently, there is a steady trend towards an increase in the incidence of both synchronous and metachronous multiple primary malignant tumors (MPMT). However, metachronous polyneoplasia of the pancreatobiliary tract is relatively rare, and there have been very few reports on successful treatment of this malignancy. **Case presentation.** In September 2014, the patient K. was diagnosed with adenocarcinoma of the ampulla of Vater (T2N0M0, stage Ib) and underwent gastropancreatoduodenal resection with the creation of pancreatic-gastric anastomosis at the Abdominal Department of Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center. There were no complications in the postoperative period. At a 6.5-year follow-up, no evidence of disease progression was found. In April 2021, a follow-up examination conducted at the Cancer Research Institute revealed a large lesion on the distal part of the pancreatic stump with no clinically significant manifestations. Diagnosis of MPMT was confirmed by transgastric endoscopic ultrasound-guided biopsy. Histological and immunohistochemical examinations revealed undifferentiated ductal carcinoma of the pancreas. Considering the metachronous tumor localization, pancreatic stump extirpation with resection of the posterior wall of the stomach and splenectomy was performed. No complications occurred in the postoperative period. The patient received replacement therapy for exocrine pancreatic insufficiency and individual correction of carbohydrate metabolism. At a 15-month follow-up, liver metastases were detected, and palliative chemotherapy was administered. The patient died 6 months later due to disease progression. The survival time was 99 months after the first surgery and 21 months after the second surgery. **Conclusion.** We report a rare case of metachronous cancers of the ampulla of Vater and pancreatic stump developed with an interval of 6.5 years. The patient underwent successful curative resections consecutively. The overall survival time from the date of diagnosis was 99 months.

Key words: metachronous polyneoplasia, ampulla of Vater cancer, distal pancreatic cancer, surgical treatment.

Введение

Первично-множественные злокачественные образования (ПМЗО) определяются наличием двух или более гистологически различных злокачественных опухолей, в том числе в одном и том же органе, не связанных с рецидивом, метастазированием или местным распространением. Различают синхронные и метакронные ПМЗО в зависимости от времени диагностики первичного и последующего злокачественного новообразования (ЗНО) – в сроки менее и более 6 мес соответственно. В настоящее время повсеместно отмечается увеличение числа случаев полинеоплазий [1, 2]. В Российской Федерации в 2023 г. впервые выявлено 77 433 ПМЗО, что составило 11,5 % от всех впервые выявленных ЗНО, тогда как в 2022 г. – 68 165 и 10,9 %, в 2019 г. – 59 675 и 9,3 % соответственно. Чаше

встречаются метакронные первично-множественные злокачественные новообразования; синхронные полинеоплазии в 2023 г. составили 28,7 % от всех случаев ПМЗО (в 2022 г. – 26,5 %, в 2019 г. – 25,6 %) [3, 4].

Данные обстоятельства связаны как с совершенствованием методов диагностики и лечения онкологических больных, что обеспечивает улучшение отдаленных результатов и увеличение продолжительности жизни радикально пролеченных пациентов, так и с изменением условий окружающей среды, старением населения. Среди возможных этиологических факторов ПМЗО выделяют генетические изменения, вирусную инфекцию, а также перенесенные ранее комбинированные методы лечения, включая лучевую терапию и химиотерапию [5, 6].

Ряд авторов указывают, что у больных с метакронными ПМЗО первой опухоли чаще выявлялись новообразования с относительно благоприятным прогнозом течения заболевания или с более ранними стадиями. Так, по данным отечественных и зарубежных авторов, у радикально пролеченных пациентов с «ранним» раком желудка частота метакронного рака различных локализаций составила от 10,9 до 15,4 %, при сроках динамического наблюдения от 1–2 до 24–31 года после операции [7–9]. Среди вторых опухолей преобладают наиболее часто встречающиеся новообразования, такие как рак молочной железы, рак легкого, рак толстой кишки, рак желудка, рак предстательной железы, однако следует отметить, что в этом списке может быть представлена злокачественная опухоль любой локализации. Для ряда ПМЗО прослеживается определенная зависимость по более частому одновременному или последовательному поражению различных отделов одной функциональной системы организма, например первично-множественные новообразования верхних дыхательных путей и бронхиального дерева или синхронные/метакронные злокачественные новообразования ободочной кишки, что связано с общим эмбриогенезом и схожей ультраструктурой этих органов [10, 11]. В то же время в литературе достаточно много сообщений об успешном лечении больных с ПМЗО 3 и более локализаций с поражением различных, функционально не связанных между собой органов [12–14].

По данным литературы, частота ПМЗО при злокачественных новообразованиях, поражающих органы билиопанкреатодуоденальной зоны, в основном оценивается для рака поджелудочной железы (РПЖ) и варьирует в широких пределах – от 1,7 до 14,4–20,1 %, что связано как с меньшей встречаемостью новообразований данной локализации, так и с неблагоприятным прогнозом при РПЖ [15, 16]. Первичный рак Фатерова соска является значительно более редкой опухолью, составляя 0,2–2 % среди всех опухолей пищеварительного тракта и примерно 6–20 % среди периапулярных ЗНО. Ежегодно в Российской Федерации выявляется 5–6 первичных случаев рака Фатерова соска на 1 млн жителей [17]. Данные о частоте ПМЗО при раке Фатерова соска нам обнаружить не удалось. В доступной литературе описаны единичные случаи метакронного РПЖ и злокачественных опухолей билиопанкреатодуоденальной зоны других локализаций. Сообщалось о нескольких случаях ПМЗО поджелудочной железы с предшествующим опухолевым поражением билиарного тракта, в частности с первичным раком желчного пузыря и общего желчного протока [18–20]. При этом нам встретилось только одно сообщение японских авторов о лечении больной, первично оперированной по поводу рака Фатерова соска в объеме панкреатодуоденальной резекции, с

метакронным раком культи поджелудочной железы [21]. В связи с редкостью мы полагаем, что наше наблюдение больного с аналогичной клинической ситуацией представляет большой интерес.

Клинический случай

Больной К., 1949 г.р., обратился в клинику НИИ онкологии Томского НИМЦ в сентябре 2014 г. с жалобами на периодические боли в правом подреберье и эпигастрии, частую диарею, общую утомляемость, на момент обращения признаков желтухи не было. Из анамнеза: 13.08.14 по месту жительства (пациент постоянно проживает в Республике Казахстан) в порядке «скорой помощи» по поводу механической желтухи выполнена паллиативная операция в объеме наложения разгрузочного холецистоэнтероанастомоза с межкишечным анастомозом по Брауну. После купирования явлений механической желтухи для дальнейшего специального лечения пациент обратился в НИИ онкологии Томского НИМЦ.

По данным обследования клиничко-лабораторные показатели на момент обращения были в пределах референсных значений. При спиральной компьютерной томографии органов брюшной области с внутривенным контрастированием (9.09.14): в области Фатерова соска определялось объемное образование, до 30 мм в диаметре, полностью перекрывающее просвет холедоха (рис. 1), вирсунгов проток дилатирован, внутривисцеральные желчные протоки не расширены, имеется соустье между дном желчного пузыря и петлей тощей кишки. Заключение: опухоль Фатерова соска, стеноз терминального отдела общего желчного протока, состояние после формирования разгрузочного

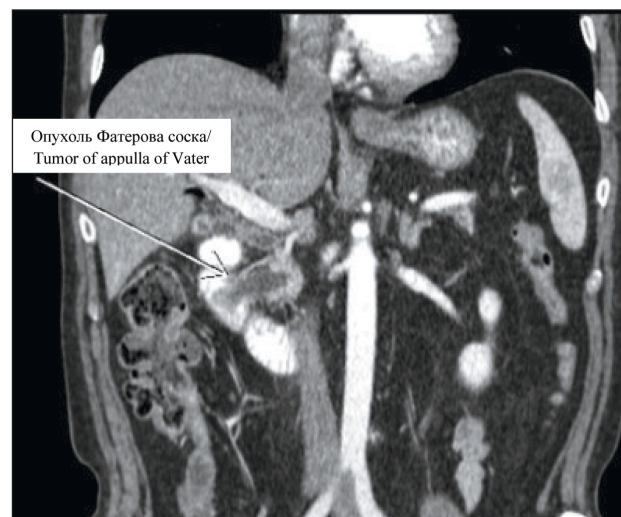


Рис. 1. КТ органов брюшной полости. В проекции Фатерова соска определяется объемное образование диаметром до 30 мм. Образование отмечено стрелкой. Примечание: снимок выполнен атворами

Fig. 1. CT scan of the abdominal organs. In the projection of Vater's nipple a tumor with a diameter of up to 30 mm is determined. Vater's nipple tumor is marked on arrow.

Note: created by the authors

холецистоэнтероанастомоза. При видеогастродуоденоскопии (10.09.14) значимых изменений со стороны желудка и пищевода не выявлено; в двенадцатиперстной кишке, в зоне большого дуоденального соска (БДС) выявлено опухолевидное образование на широком основании, дольчатого строения, ярко-красного цвета, диаметром до 30 мм, обильно кровоточащее при контакте с эндоскопом и при биопсии, на фоне опухоли структуры БДС не дифференцируется. Заключение: опухоль Фатерова соска. По данным гистологического исследования биопсийного материала (№№ 20963–69, 18.09.14): высокодифференцированная аденокарцинома. По данным рентгенографии органов грудной клетки и УЗИ брюшной полости: без признаков отдаленного метастазирования. По результатам обследования установлен следующий клинический диагноз: Рак Фатерова соска Ib стадии (cT2N0M0), принято решения о хирургическом лечении.

После стандартной предоперационной подготовки 23.09.14 выполнена радикальная операция в объеме пилоросохраняющей панкреатодуоденальной резекции, включая холецистэктомию «от дна» с краевой резекцией тощей кишки в зоне ранее сформированного разгрузочного холецистоэнтероанастомоза, с формированием холедохоюноанастомоза и анастомоза «на потерянном дренаже» между культей поджелудочной железы и задней стенкой желудка, с сохранением ранее сформированного межтонкокишечного анастомоза по Брауну. Послеоперационный период протекал без особенностей. Выписан в удовлетворительном состоянии на 20-е сут после операции.

По данным гистологического исследования операционного материала (№№: № 21634–670/14,

30.09.14): высокодифференцированная аденокарцинома Фатерова соска с ростом в пределах слизистой оболочки с очаговой инвазией во внутренний мышечный слой, с инвазией в устье общего желчного протока (рис. 2). Вне опухоли стенка кишки обычного строения. Подлежащая ткань поджелудочной железы обычного строения, с неравномерной атрофией долек. Лимфатические узлы – без особенностей. С учетом результатов гистологического исследования окончательный диагноз: Рак Фатерова соска Ib стадии (pT2N0M0). С учетом распространенности процесса рекомендовано динамическое наблюдение.

Больной регулярно проходил контрольные обследования по месту жительства и 1 раз в год в условиях НИИ онкологии, при которых до 2021 г. признаков прогрессирования заболевания не выявлялось. В апреле 2021 г. при очередном контрольном обследовании в НИИ онкологии Томского НИМЦ выявлено объемное образование дистальных отделов культи поджелудочной железы, которое не имело клинически значимой манифестации. При УЗИ органов брюшной полости (6.04.21) с последующей спиральной компьютерной томографией органов брюшной области с внутривенным контрастированием (9.04.21): в проекции хвоста поджелудочной железы определялось объемное образование, размерами 35×26 мм, с нечеткими контурами, без признаков инвазии в смежные анатомические структуры.

Для верификации диагноза и исключения/подтверждения рецидива заболевания выполнено эндо-УЗИ (14.04.21), при котором в проекции хвоста оставшейся части поджелудочной железы обнаружено гипозоженное образование, размера-

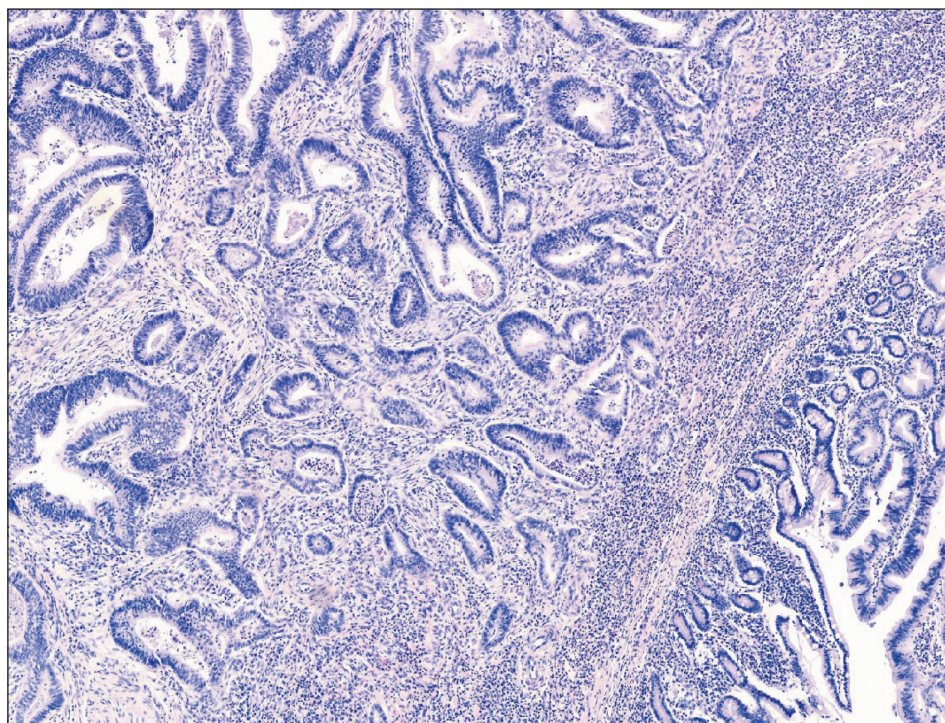


Рис. 2. Микрофото. Рак Фатерова соска. Высокодифференцированная аденокарцинома. Окраска гематоксилином и эозином, ×20.

Примечание: микрофото выполнено авторами
Fig. 2. Microphoto. Carcinoma of the appulla of Vater. Well-differentiated adenocarcinoma. Hematoxylin and eosin staining, ×20. Note: created by the authors

ми 35×25 мм, с неровными нечеткими контурами, но не выходящее за пределы паренхимы органа; под контролем эндоУЗИ выполнена трансгастральная тонкоигольная биопсия опухоли. При гистологическом исследовании биопсийного материала (№№ 9141–47/21, 19.04.2021): недифференцированная протоковая карцинома поджелудочной железы. Для уточнения диагноза выполнено иммуногистохимическое исследование (№ 462/21) с использованием иммуноштейнера Leica Bond Max на срезах с парафинового блока № 9144/21 и 9147/21: в опухолевых клетках отмечалось яркое диффузное окрашивание с антителом Cytokeratine 19 (клон b170, Leica), отсутствовало окрашивание с антителами CD 56 (клон 123C3, Dako), Chromogranin A (клон 5P7, Leica), Synaptophysin (клон 27G12, Leica). Заключение: гистологическая картина и иммунофенотип опухоли соответствуют недифференцированной карциноме поджелудочной железы. С учетом полученных данных рецидивный характер данного новообразования был исключен, подтверждено наличие метакронной полинеоплазии в поджелудочной железе.

При дополнительном клинико-инструментальном обследовании признаков отдаленного метастазирования не выявлено. Установлен следующий клинический диагноз: ПМЗО. Метакронная протоковая карцинома дистальных отделов культы поджелудочной железы Ib стадии (cT2N0M0); Рак Фатерова соска Ib стадии (pT2N0M0), пилоросохраняющая панкреатодуоденальная резекция от 23.09.14. Решением онкологического консилиума рекомендовано хирургическое лечение в объеме экстирпации культы поджелудочной железы.

На предоперационном этапе коррекции сопутствующей патологии не потребовалось, но с учетом планируемого объема оперативного вмешательства

с неизбежной потерей продукции эндогенного инсулина в послеоперационном периоде накануне операции проведена консультация эндокринолога с целью выбора необходимых препаратов для заместительной терапии. Радикальная операция проведена 28.04.21 в объеме панкреатэктомии со спленэктомией, с парциальной резекцией задней стенки желудка в зоне ранее сформированного панкреатогастроанастомоза, лимфодиссекции. Макропрепарат: удаленная культя поджелудочной железы, в дистальных отделах которой имеется опухоль диаметром до 2,5 см, макроскопически признаков опухолевой инвазии окружающих тканей и метастатического поражения регионарных лимфатических узлов не выявлено. Уже с 1-х сут после операции начата заместительная терапия утраченной эндокринной функции поджелудочной железы. Для коррекции гипергликемии больному вводились аналоги инсулинов человека ультракороткого и пролонгированного действия в интенсифицированном режиме, подбор доз препаратов проводился с учетом ежедневного мониторинга гликемии и согласно повторным консультациям эндокринолога. На 2-е сут после операции больной переведен из палаты интенсивной терапии в профильное отделение, энтеральное питание начато с 3-х сут послеоперационного периода в сочетании с поддерживающей терапией полиферментными препаратами во время каждого приема пищи. Дальнейшее течение послеоперационного периода без особенностей.

Гистологическое исследование операционного материала (№ 12167–98/21, 6.05.21): инвазивная протоковая карцинома поджелудочной железы High-grade с инвазией в прилежащую клетчатку (рис. 3), с участками периневрального роста, очагами некроза. Исследованные лимфатические

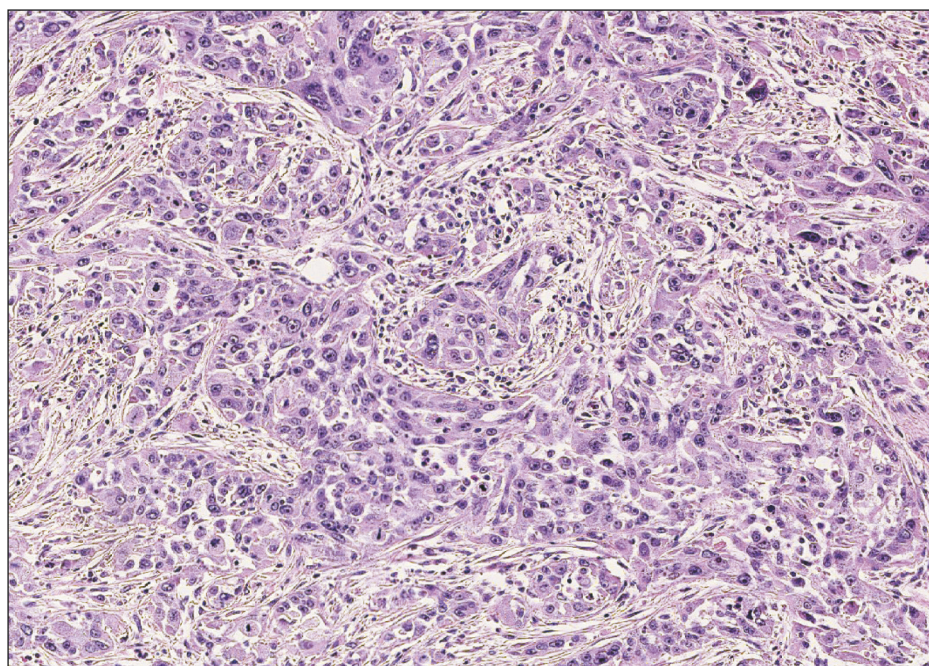


Рис. 3. Микрофото. Метакронный рак дистальных отделов культы поджелудочной железы. Недифференцированный протоковый рак поджелудочной железы. Окрашка гематоксилином и эозином, ×20. Примечание: микрофото выполнено авторами Fig. 3. Microphoto. Metachronous cancer of the ductal distal parts of the remnant of the pancreas. Undifferentiated ductal carcinoma of the pancreas. Hematoxylin and eosin staining, ×20. Note: created by the authors

узлы (8 шт.) без метастатического поражения. В ткани поджелудочной железы вне опухоли – выраженный склероз, воспалительная инфильтрация. Окончательный диагноз: ПМЗО. Метакхронный рак дистальных отделов культи поджелудочной железы Ib стадии (сT2N0M0); Рак Фатерова соска Ib стадии (pT2N0M0), пилоросохраняющая панкреатодуоденальная резекция от 23.09.14. Пациент выписан в удовлетворительном состоянии на 14-е сут послеоперационного периода. С учетом возраста (71 год на момент второй операции), объема выполненной операции (тотальная панкреатэктомия) и распространенности метакхронной опухоли (pT2N0M0) решением онкологического консилиума рекомендовано динамическое наблюдение.

При дальнейшем наблюдении по месту жительства через 15 мес после тотальной панкреатэктомии выявлено метастатическое поражение печени, верифицированное как прогрессирование протоковой карциномы поджелудочной железы. Назначенная и проводимая по месту жительства паллиативная химиотерапия оказалась неэффективной, пациент скончался через 6 мес от прогрессирования заболевания. Продолжительность жизни после первой операции составила 99 мес, после второй операции – 21 мес.

Обсуждение

В настоящее время лечение больных со злокачественными полинеоплазиями является актуальной проблемой клинической онкологии, что, с одной стороны, обусловлено неуклонным ростом уровня заболеваемости ПМЗО, с другой, – трудностями, возникающими на пути реализации радикального лечения. Сейчас случаи ПМЗО не относятся к редкой патологии, поскольку они встречаются более чем у 10 % онкологических больных, чаще всего в виде метакхронных процессов [3, 4, 18, 20]. Считается, что вероятность выявления вторых и последующих опухолей у пациентов, получивших радикальное лечение, примерно в 1,3–5 раз выше, чем у лиц, которые ранее не попадали в поле зрения онкологов [15]. Определенные трудности возникают при необходимости оперативного лечения второй опухоли в ранее оперированном органе, поскольку после радикальной резекции любого объема неизбежно возникает функциональная недостаточность, иногда лимитирующая выполнение повторного хирургического вмешательства. Кроме того, при развитии ПМЗО в культе резецированного органа в отдаленные сроки после радикальной операции возникает закономерный вопрос о природе второй опухоли – рецидив или самостоятельное новообразование, – который не всегда удается решить даже с использованием современных патоморфологических методов [22].

Все вышеизложенное более чем актуально для ПМЗО, поражающих органы билиопанкреатодуоденальной зоны (БПДЗ). Данное сочетание

злокачественных новообразований достаточно редко встречается в клинической практике, в литературе описаны единичные наблюдения, которые в основном представлены мультицентричными опухолями самой поджелудочной железы. Максимальные серии успешного лечения данной категории больных не превышают 12 случаев [22, 23]. Это связано и с относительно редкой встречаемостью ЗНО данной локализации, в Российской Федерации в 2023 г. первичный рак поджелудочной железы, самая распространенная опухоль органов БПДЗ, составил 3 % от всех первичных случаев злокачественных новообразований у мужчин (10-е ранговое место) и 2,8 % – у женщин (13-е ранговое место) [3]. Опухоли других локализаций в БПДЗ встречаются гораздо реже, в связи с этим не все они включаются в национальные статистические отчеты. Кроме того, многие первичные опухоли БПДЗ, прежде всего рак поджелудочной железы, отличаются агрессивным течением и неблагоприятным прогнозом. При нерезектабельном РПЖ средняя продолжительность жизни составляет ~6–7 мес, после радикального хирургического лечения показатели общей 5-летней выживаемости колеблются в пределах от 0 до 30 %, следует отметить, что опухоли поджелудочной железы, поражающие дистальные отделы органа, обладают худшими прогнозом [24]. Напротив, первичный рак Фатерова соска отличается достаточно благоприятным прогнозом, что обусловлено как биологическими особенностями опухоли, так и достаточно ранней клинической манифестацией, вызванной стенозом терминального отдела холедоха, даже при небольшом объеме опухоли [25], что наглядно демонстрирует представленное наблюдение. В итоге, небольшой объем клинических данных пока не позволяет сформулировать клинические рекомендации по лечению больных со злокачественными полинеоплазиями, поражающими органы БПДЗ, решение в каждом конкретном случае приходится принимать индивидуально, исходя из создавшейся клинической ситуации.

Уникальность представленного наблюдения обусловлена сочетанием первичной аденокарциномы Фатерова соска с протоковой карциномой дистальных отделов поджелудочной железы, развившейся через 6,5 лет в культе оперированного органа. В доступной литературе мы встретили только одно подобное наблюдение японских авторов, в котором метакхронный РПЖ (гистологически – внутрипротоковая папиллярно-муцинозная аденокарцинома) возник у 72-летней женщины через 3,5 года после пилоросохраняющей панкреатодуоденальной резекции, выполненной по поводу рака Фатерова соска, развившегося на фоне муцинозной аденомы [21]. Так же, как и в нашем клиническом наблюдении, данные морфологического исследования позволили подтвердить ПМЗО, поскольку у обеих опухолей был различный гистотип. Однако У.

Gotoh et al. (2019) [22] считают, что в ряде случаев бывает трудно определить, является ли второе поражение поджелудочной железы метакронным мультифокальным процессом или представляет собой местный рецидив. Авторы провели мутационный и иммуногистохимический анализ 4 основных генов (*KRAS*, *TP53*, *CDKN2A*, *SMAD4*) у 12 пациентов, перенесших панкреатэктомию по поводу второй опухоли в культе поджелудочной железы, ранее резецированной по поводу ЗНО. В итоге, у 4 больных, включенных в исследование, мутационный профиль в обоих новообразованиях совпал, что позволило говорить о рецидиве заболевания, у 8 больных – различался, что свидетельствовало о наличии ПМЗО.

Обсуждая возможности радикального лечения ПМЗО с метакронным поражением поджелудочной железы, следует обратить внимание на следующий аспект данной проблемы – панкреатодуоденальная резекция (ПДР) относится к категории наиболее сложных радикальных операций, послеоперационный период при которых сопряжен с высоким риском тяжелых постхирургических осложнений. Современные хирургические технологии и методики периоперационного сопровождения позволили существенно снизить уровень послеоперационных осложнений до 15–30 % и хирургической летальности до 1–5 % [27]. Однако у многих больных, успешно перенесших ПДР, в отдаленные сроки после операции наблюдаются значимые функциональные нарушения, связанные с обширным объемом резекции и обусловленные дефицитом как эндокринной, так и экзокринной функции поджелудочной железы, что усиливает коморбидность. Однако при метакронном процессе в культе оперированной поджелудочной железы приходится пренебрегать риском прогрессирования функциональной недостаточности, поскольку в этом случае радикальная операция подразумевает тотальную панкреатэктомию (ТПЭ) с полной утратой экзо- и эндокринной функции органа [28, 29].

До недавнего времени экстирпация культи поджелудочной железы была достаточно редкой операцией, сопровождалась высоким уровнем послеоперационных осложнений и летальности и в основном выполнялась как «операция спасения» по поводу тяжелых осложнений, возникших после ПДР, таких как недостаточность панкреатодигестического анастомоза и/или аррозивных панкреатогенных кровотечений, либо по причинам,

возникшим «по ходу выделения панкреатодуоденального комплекса» [30]. Совершенствование хирургических технологий существенно расширило объем показаний и частоту ТПЭ, в большинстве случаев операция выполняется по поводу мультицентричных ЗНО или обширном опухолевом поражении поджелудочной железы, в том числе когда не удастся добиться «чистого» края резекции. Однако ТПЭ остается сложным оперативным вмешательством, в большинстве случаев она выполняется в высокоспециализированных клиниках, которые к настоящему времени располагают опытом более 40–60 подобных вмешательств. В настоящее время в высокопотоковых хирургических центрах доля подобных операций среди всех вмешательств на поджелудочной железе составляет 6,7–16,9 %, уровень послеоперационных осложнений не превышает 39–43,5 %, хирургических, в течение 30 дней после операции, – 5,8–8,7 % [28, 30]. При этом доля ТПЭ, выполняемых по поводу рецидива или метакронного рака в культе поджелудочной железы, колеблется в пределах 10 %. Применение адекватных терапевтических технологий, направленных на персонифицированное замещение утраченной функции поджелудочной железы, позволяет успешно нормализовать углеводный обмен и обеспечить удовлетворительное качество жизни в отдаленные сроки [29, 31]. В представленном клиническом наблюдении предоперационное планирование заместительной терапии и адекватное периоперационное сопровождение обеспечили успешное течение послеоперационного периода.

Заключение

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует редкий вариант метакронного рака Фатерова соска и культи поджелудочной железы, которые возникли с интервалом в 6,5 лет. По поводу каждого из новообразований удалось выполнить радикальные операции, в первом случае в объеме пилоросохраняющей панкреатодуоденальной резекции с панкреатогастротомозом, во втором – в объеме экстирпации культи поджелудочной железы со спленэктомией. При выполнении тотальной панкреатэктомии персонифицированное планирование и проведение заместительной терапии и периоперационное сопровождение обеспечили успешное течение послеоперационного периода. Общая продолжительность жизни пациента от начала заболевания составила 99 мес.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Скоропад В.Ю., Бердов Б.А., Рухадзе Г.О. Полинеоплазии у больных раком желудка: закономерности развития, результаты лечения. Вопросы онкологии. 2012; 58(6): 754–761. [Skoropad V.Yu., Berdov B.A., Rukhadze G.O. Polyneoplasia in gastric cancer patients: patterns of development, the results of treatment. Problems in Oncology. 2012; 58(6): 754–761. (in Russian)].
2. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021; 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.

3. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2024. 276 с. [Malignant tumors in Russia in 2023 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2024. 276 p. (in Russian)].
4. 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. [Malignant tumors in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2020. 252 p. (in Russian)].

5. Скоропад В.Ю., Бердов Б.А., Козлов И.Г. Метахронные злокачественные опухоли у больных, радикально оперированных по поводу рака желудка. Сибирский онкологический журнал. 2010; (6): 5–11. [Skoropad V.Yu., Berdov B.A., Kozlov I.G. Metachronic malignant tumors in patients radically operated on gastric cancer. Siberian Journal of Oncology. 2010; (6): 5–11. (in Russian)].
6. Amer M.H. Multiple neoplasms, single primaries, and patient survival. Cancer Manag Res. 2014; 5(6): 119–134. doi: 10.2147/CMAR.S57378.
7. Ikeda Y., Saku M., Kawanaka H., Nonaka M., Yoshida K. Features of second primary cancer in patients with gastric cancer. Oncology. 2003; 65(13): 13–117.
8. Ikeguchi M., Ohfuji S., Oka A., Tsujitani S., Maeda M., Kaibara N. Synchronous and metachronous primary malignancies in organs other than the stomach in patients with early gastric cancer. Hepatogastroenterology. 1995; 42: 672–676.
9. Ławniczak M., Gawin A., Jaroszewicz-Heigelmann H., Rogoza-Mateja W., Raszeja-Wyszomirska J., Bialek A., Karpińska-Kaczmarczyk K., Starzyńska T. Synchronous and metachronous neoplasms in gastric cancer patients: a 23-year study. World J Gastroenterol. 2014 Jun 21; 20(23): 7480–7. doi: 10.3748/wjg.v20.i23.7480.
10. Черемисина О.В., Меньшиков К.Ю., Афанасьев С.Г., Вусик М.В. Предопухолевые изменения и синхронный рак желудка у больных со злокачественными новообразованиями легких и ЛОР-органов. Сибирский онкологический журнал. 2015; (2): 76–80. [Cheremisina O.V., Menshikov K.Yu., Afanasyev S.G., Vusik M.V. Premalignant lesions and synchronous gastric cancer in patients with lung and head and neck cancer. Siberian Journal of Oncology. 2015; (2): 76–80. (in Russian)].
11. Donin N., Filson C., Drakaki A., Tan H.J., Castillo A., Kwan L., Litwin Mark., Chamie K. Risk of second primary malignancies among cancer survivors in the United States, 1992 through 2008. Cancer. 2016; 122(19): 3075–86. doi: 10.1002/cncr.30164.
12. Moores D., Mane P. Pathology of Primary Tracheobronchial Malignancies Other than Adenoid Cystic Carcinomas. Thorac Surg Clin. 2018 May; 28(2): 149–154. doi: 10.1016/j.thorsurg.2018.01.003.
13. Nyqvist J., Parris T.Z., Helou K., Sarenmalm E.K., Einbeigi Z., Karlsson P., Nasic S., Kovács A. Previously diagnosed multiple primary malignancies in patients with breast carcinoma in Western Sweden between 2007 and 2018. Breast Cancer Res Treat. 2020; 184(1): 221–228. doi: 10.1007/s10549-020-05822-z.
14. Alhamadh M.S., Alanazi R.B., Algarni S.T., Alhuntushi A.A.R., Alshehri M.Q., Chachar Y.S., Alkaiyat M., Sabatin F. A Descriptive Study of the Types and Survival Patterns of Saudi Patients with Multiple Primary Solid Malignancies: A 30-Year Tertiary Care Center Experience. Curr Oncol. 2022; 29(7): 4941–55. doi: 10.3390/curroncol29070393.
15. Кит О.И., Колесников Е.Н., Трифанов В.С., Лаптева Т.О., Волошин М.В., Мецхерякова М.Ю. Метахронный первично-множественный рак головки поджелудочной железы и печени: случай развития гепатоцеллюлярной карциномы 10 лет спустя после панкреатодуоденальной резекции. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021; 195(11): 79–83. [Kit O.I., Kolesnikov E.N., Trifanov V.S., Lapteva T.O., Voloshin M.V., Meshcheryakova M.Yu. Metachronous primary-multiple cancer of the head of the pancreas and liver: a case of development of hepatocellular carcinoma 10 years after pancreaticoduodenal resections. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2021; 195(11): 79–83. (in Russian)]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-195-11-79-83
16. Ikematsu Y., Tamura H., Nakata Y., Hayashi T., Kanai T., Hirayama K., Mori H., Ozawa T., Hasegawa S., Okawada T., Kageyama S., Sugimura H., Nishiwaki Y. Metachronous multiple adenocarcinomas of the pancreas. Int J Clin Oncol. 2011 Dec; 16(6): 726–31. doi: 10.1007/s10147-011-0206-6.
17. Патютко Ю.И., Котельников А.Г., Кудашкин Н.Е., Поляков А.Н., Мороз Е.А., Ястребова Е.В. Рак большого сосочка двенадцатиперстной кишки: лечение и прогноз. Анналы хирургической гепатологии. 2016; 21(4): 84–92. [Patyutko Yu.I., Kotel'nikov A.G., Kudashkin N.E., Polyakov A.N., Moroz E.A., Yastrebova E.V. Major duodenal papilla cancer: treatment and prognosis. Annals of Surgical Hepatology. 2016; 21(4): 84–92. (in Russian)].
18. Kim J.H., Kang C.D., Lee K., Lim K.H. Metachronous squamous cell carcinoma of pancreas and stomach in an elderly female patient: A case report. World J Clin Cases. 2021 Nov 6; 9(31): 9680–9685. doi: 10.12998/wjcc.v9.i31.9680.
19. Kato H., Asano Y., Ito M., Arakawa S., Shimura M., Koike D., Kamio K., Kawai T., Urano M., Horiguchi A. A case of metachronous intraductal tubulopapillary carcinoma of the pancreas after surgery for gallbladder cancer-accompanied pancreaticobiliary maljunction. Clin J Gastroenterol. 2022 Oct; 15(5): 1018–1025. doi: 10.1007/s12328-022-01677-7.
20. Minami Y., Hasuike Y., Takeda Y., Tsujinaka T. Metachronous double cancer of the gallbladder and pancreas associated with pancreaticobiliary maljunction. J Hepatobiliary Pancreat Surg. 2008; 15(3): 330–3. doi: 10.1007/s00534-007-1208-7.
21. Ishida M., Egawa S., Sakata N., Mikami Y., Motoi F., Abe T., Fukuyama S., Sunamura M., Furukawa T., Unno M. Intraductal papillary-mucinous adenocarcinoma in the remnant pancreas after pancreaticoduodenectomy for cancer of Vater's papilla associated with intraductal papillary-mucinous adenoma. J Hepatobiliary Pancreat Surg. 2007; 14(5): 522–5. doi: 10.1007/s00534-006-1199-9. Epub 2007 Sep 28.
22. Gotoh Y., Ohtsuka T., Nakamura S., Shindo K., Ohuchida K., Miyasaka Y., Mori Y., Mochidome N., Oda Y., Nakamura M. Genetic assessment of recurrent pancreatic high-risk lesions in the remnant pancreas: Metachronous multifocal lesion or local recurrence? Surgery. 2019 Apr; 165(4): 767–774. doi: 10.1016/j.surg.2018.10.025.
23. Eriguchi N., Aoyagi S., Hara M., Okuda K., Tamae T., Fukuda S., Hashino K., Sato S., Fujiki K., Furukawa S., Jimi A. Synchronous or metachronous double cancers of the pancreas and other organs: report on 12 cases. Surg Today. 2000; 30(8): 718–21. doi: 10.1007/s005950070083.
24. Гурмиков Б.Н., Болоков М.С., Гурмикова Н.Л. Отдаленные результаты хирургического лечения рака поджелудочной железы. Обзор литературы. Кубанский научный медицинский вестник. 2017; 1(2): 142–147. [Gurmikov B.N., Bolokov M.S., Gurmikova N.L. Long-term results of surgical treatment for pancreatic cancer. A review of the literature. Kuban Scientific Medical Bulletin. 2017; 1(2): 142–147. (in Russian)]. doi: 10.25207/1608-6228-2017-2-142-147
25. Ястребова Е.В., Котельников А.Г., Патютко Ю.И., Поликарпова С.Б., Мороз Е.А., Базин И.С., Кудашкин Н.Е. Результаты лечения больных раком большого дуоденального сосочка. Медицинский алфавит. 2018; 2(29): 32–37. [Yastrebova E.V., Kotel'nikov A.G., Patyutko Yu.I., Polikarpova S.B., Moroz E.A., Bazin I.S., Kudashkin N.E. Results of surgical treatment of patients with Papilla Vateri cancer. Medical alphabet. 2018; 2(29): 32–37. (in Russian)].
26. Каминский М.Н., Качалов С.Н., Иванов Д.В., Рахимова С.Н. Гастростаз после панкреатодуоденальной резекции: вопросы терминологии и профилактики. Анналы хирургической гепатологии. 2022; 27(3): 100–107. [Kaminskiy M.N., Kachalov S.N., Ivanov D.V., Rakhimova S.N. Gastric stasis following pancreaticoduodenal resection: terminology and prevention issues. Annals of Surgical Hepatology. 2022; 27(3): 100–107. (in Russian)]. doi: 10.16931/1995-5464.2022-3-100-107.
27. Олексенко В.В., Захаров В.А., Алиев К.А., Бондарев А.В., Аль-Нсоур Дж.М. Тотальная панкреатэктомия при метакхронном первично-множественном раке поджелудочной железы. Таврический медико-биологический вестник. 2022; 25(2): 158–64. [Oleksenko V.V., Zakharov V.A., Aliev K.A., Bondarev A.V., Al-Nsour J.M. Total pancreatectomy in metachronous primary multiple pancreatic cancer. Tauric Medical-Biological Bulletin. 2022; 25(2): 158–64. (in Russian)]. doi: 10.37279/2070-8092-2022-25-2-158-164
28. Шабунин А.В., Бедин В.В., Тавобилов М.М., Карпов А.А., Ланцынова А.В., Абрамов К.А. Тотальная дуоденопанкреатэктомия с сохранением желудка, селезенки, желудочных и селезеночных сосудов. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2023; 5: 5–12. [Shabunin A.V., Bedin V.V., Tavobilov M.M., Karpov A.A., Lantsynova A.V., Abramov K.A. Stomach and spleen preserving total pancreatectomy. N.I. Pirogov Russian Journal of Surgery. 2023; 5: 5–12. (in Russian)]. doi: 10.17116/hirurgia20230515.
29. Szempruch K.R., Walter K., Ebert N., Bridgens K., Desai C.S. Pharmacological management of patients undergoing total pancreatectomy with auto-islet transplantation. Pancreatol. 2022 Jun; 22(5): 656–664. doi: 10.1016/j.pan.2022.04.009.
30. Кубышкин В.А., Кригер А.Г., Вишневский В.А., Кармазановский Г.Г., Кочатков А.В., Лебедева А.Н., Горин Д.С., Берелавичус С.В., Загагов С.О., Филиппова Е.М. Панкреатэктомия при опухолях поджелудочной железы. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2013; 3: 11–16. [Kubishkin V.A., Kriger A.G., Vishnevskiy V.A., Karmazanovskiy G.G., Kochatkov A.V., Lebedeva A.N., Gorin D.S., Berelavitchus S.V., Zagagov S.O., Filippova E.M. Pancreatectomy for the pancreatic tumors. N.I. Pirogov Russian Journal of Surgery. 2013; 3: 11–16. (in Russian)].
31. Аметов А.С., Шабунин А.В., Пацкова Е.Ю., Аммишиева К.А., Голодников И.И., Тавобилов М.М., Власенко А.В., Лукин А.Ю. Ведение пациента с сахарным диабетом в исходе тотальной панкреатэктомии. Клиническое наблюдение. Терапевтический архив. 2022; 94(10): 1177–1181. [Ametov A.S., Shabunin A.V., Pashkova E.Yu., Amikishieva K.A., Golodnikov I.I., Tavobilov M.M., Vlasenko A.V., Lukin A.Yu. Management of a patient with diabetes mellitus after total pancreatectomy. Case report. Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.). 2022; 94(10): 1177–1181. doi: 10.26442/00403660.2022.10.201882.

Поступила/Received 06.05.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 12.06.2024

Принята к публикации/Accepted 01.07.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

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.

Азовский Даниил Игоревич, аспирант отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1540-2016. Researcher ID (WOS): HNS-4243-2023. ORCID: 0000-0001-7375-9585.

Ронин Ян Сергеевич, студент 6-го курса, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия).

Волков Максим Юрьевич, кандидат медицинских наук, врач-хирург отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8052-9941. Author ID (Scopus): 57218643406.

Августинович Александра Владимировна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2952-6119. Researcher ID (WOS): D-6062-2012. Author ID (Scopus): 56392965300. ORCID: 0000-0001-7301-7581.

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

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. Researcher ID (WOS): C-9259-2012. Author ID (Scopus): 6602197938. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

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.

ВКЛАД АВТОРОВ

Афанасьев Сергей Геннадьевич: концепция и дизайн исследования, написание текста.

Азовский Даниил Игоревич: сбор и обработка материала, анализ литературы, написание текста.

Ронин Ян Сергеевич: сбор и обработка материала, анализ литературы, написание текста.

Волков Максим Юрьевич: сбор и обработка материала.

Августинович Александра Владимировна: редактирование.

Безгодова Наталья Владимировна: сбор и обработка материала.

Черемисина Ольга Владимировна: редактирование.

Ермоленко Роман Владимирович: сбор и обработка материала.

Фролова Ирина Георгиевна: редактирование.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Автор **Афанасьев С.Г.** (доктор медицинских наук, профессор) является ответственным секретарем «Сибирского онкологического журнала». Авторы **Черемисина О.В.** (доктор медицинских наук) и **Фролова И.Г.** (доктор медицинских наук, профессор) являются членами редколлегии «Сибирского онкологического журнала». Авторам неизвестно о каком-либо другом потенциальном конфликте интересов, связанном с этой статьей.

Информированное согласие

От пациента получено письменное информированное добровольное согласие на публикацию описания клинического случая и публикацию фотоматериалов в медицинском журнале, включая его электронную версию (дата подписания: 12.05.2021).

ABOUT THE AUTHORS

Sergey G. Afanasyev, MD, 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.

Daniil I. Azovsky, MD, Postgraduate, Abdominal Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): HNS-4243-2023. ORCID: 0000-0001-7375-9585.

Yan S. Ronin, 6th year student, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia).

Maxim Yu. Volkov, MD, PhD, Surgeon, Abdominal Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57218643406.

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

Natalya V. Bezgodova, MD, Pathologist, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57200544954. ORCID: 0000-0003-4213-9345.

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

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.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Sergey G. Afanasyev: study conception and design, writing of the manuscript.

Daniil I. Azovsky: data collection and analysis, literature reviews, writing of the manuscript.

Yan S. Ronin: data collection and analysis, literature reviews, writing of the manuscript.

Maxim Yu. Volkov: data collection and analysis.

Alexandra V. Avgustinovich: editing of the manuscript.

Natalya V. Bezgodova: data collection and analysis.

Olga V. Cheremisina: editing of the manuscript.

Roman V. Ermolenko: data collection and analysis.

Irina G. Frolova: editing of the manuscript.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

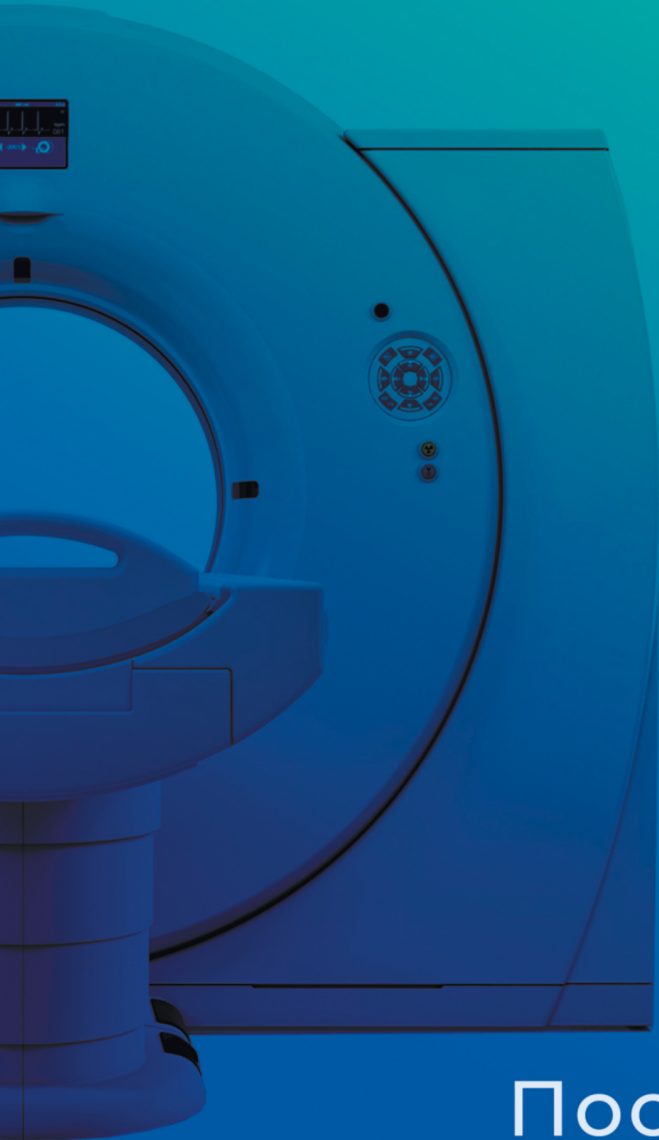
This study required no funding.

Conflict of interests

Prof. Afanasyev S.G. is the Executive Editor of Siberian Journal of Oncology. Dr. Cheremisina O.V. and prof. Frolova I.G. are members of the editorial board of Siberian Journal of Oncology. The authors are not aware of any other potential conflicts of interest related to this manuscript. The authors are not aware of any other potential conflicts of interest related to this manuscript.

Voluntary informed consent

Written informed voluntary consent was obtained from the patient for the publication of a case report and facial photographs in medical journal (date of signing 12/05/2021).



NEOMED

Поставка
высокотехнологич-
ного медицинского
оборудования
и расходных материалов

Г. Томск, пр. Фрунзе, д.115, оф.413
+7 (3822) 60-99-32
neomed.tomsk.ru