



ISSN: 2686-9039 Online

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
**Южно-Российский
онкологический журнал**

**South Russian
Journal of Cancer**

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL

ТОМ 3 № 4/2022
vol. 3 № 4/2022

www.cancersp.com

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL
South Russian Journal of Cancer

The journal is included in the list of peer reviewed scientific journals and publications recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Federation for publishing the main scientific results of dissertations for the degree of candidate and Doctor of Sciences.

"South-Russian Oncological Journal": professional medical publication. It publishes news from the medical and pharmaceutical communities, scientific and practical articles for the target audience-oncologists. The editorial board of the journal aims to popularize the research works and achievements of oncologists of the Southern Federal District, to analyze the process of deep reorganization of healthcare in Russia. The editorial board invites as authors all those who are looking for and find interesting solutions to the multifaceted problems facing modern medicine and want to share their thoughts and observations with colleagues.

Purpose: to promote the development of cancer medicine in the South of Russia and the introduction of its achievements into practice.

Tasks: to highlight the current achievements of the oncology service in the South of Russia; to promote the exchange of experience and advanced knowledge between specialists; to inform readers about the results of major medical forums.

The journal contains publications of various categories: literature reviews, meta-analyses, clinical studies, observations of clinical cases, discussions, announcements and descriptions of new treatment methods.

The journal accepts for publication: original articles, health organizations, radiation diagnostics, exchange of experience, reviews, clinical case reviews.

EDITOR-IN-CHIEF

Oleg I. Kit,

Academician of the RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Aleksei Yu. Maksimov,

Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

EXECUTIVE SECRETARY

Elena A. Dzhenkova,

Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

PROOFREADER

Liubov V. Elivanova

DESIGNER

Sergei I. Khodosov,

Printed by "P-Center", Moscow, Russia

Founder and Publisher:

Autonomous Non-profit Organization "Perspectives of Oncology" (ANO "Perspectives of Oncology")

Editorial and publisher address:

63, G, room 1, 14 line, Rostov-on-Don 344037, Russia
 E-mail: info@cancersp.com
 Phone: +7 (903) 547-04-62, +7 (863) 295-53-62
 www.cancersp.com

EDITORIAL BOARD

Irina A. Balueva,

Dr. Sci. (Med.), N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia

Lyubov Yu. Vladimirova,

Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Marina A. Engibaryan,

Dr. Sci. (Med.), National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Elena Yu. Zlatnik,

Dr. Sci. (Med.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Tatyana Yu. Semiglazova,

Dr. Sci. (Med.), Prof., N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia

Aleksandr V. Snezhko,

Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Natalya V. Soldatkina,

Dr. Sci. (Med.), National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Aleksandr V. Soldatov,

Dr. Sci. (Phys.-Math.), Prof., Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

Aleksandr G. Khitryan,

Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University, Central Clinical Hospital "Russian Railways-Medicine", Rostov-on-Don, Russia

Tatyana P. Shkurat,

Dr. Sci. (Biol.), Prof., Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

Subscription: the magazine is subscribed to via the electronic editorial system on the website. The price is free.

Advertisers are responsible for the accuracy of the information provided in the advertisements. The editorial board's point of view may not coincide with the authors opinion.

The journal is registered at the Roskomnadzor on 28.10.2019, PI № FS 77-77100 – print.
 From 15.03.2021 EL № FS 77-80665 of 15.03.2021 – online.
 Frequency: 4 issues per year.

Published 12.12.2022.

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ Южно-Российский онкологический журнал

Журнал входит в рекомендованный ВАК РФ перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора наук.

«Южно-Российский онкологический журнал»: профессиональное медицинское издание. В нем публикуются новости медицинского и фармацевтического сообществ, научно-практические статьи для целевой аудитории – врачей-онкологов. Редакция журнала ставит своей задачей популяризацию научно-исследовательских работ и достижений онкологов Южного федерального округа, анализ процесса глубокой реорганизации здравоохранения в России. Редакция приглашает в качестве авторов всех, кто ищет и находит интересные решения многогранных задач, стоящих перед современной медициной, и хочет поделиться своими мыслями и наблюдениями с коллегами.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Кит Олег Иванович,
академик РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Максимов Алексей Юрьевич,
д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Дженкова Елена Алексеевна,
д.б.н., доцент, ученый секретарь, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

КОРРЕКТОР

Эливанова Любовь Владимировна

ДИЗАЙНЕР

Ходосов Сергей Иванович,
Типография П-Центр, Москва, Россия

Издатель и учредитель:

Автономная некоммерческая организация
«Перспективы онкологии» (АНО «Перспективы онкологии»)

Адрес редакции и издателя:

344037, Россия, Ростов-на-Дону, 14-я линия, д. 63,
литер Г, комната 1
E-mail: info@cancersp.com
Телефон: +7 (903) 547-04-62, +7 (863) 295-53-62
Сайт: www.cancersp.com

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре 28.10.2019 г.,
ПИ № ФС 77-7100 – печатное издание.
С 15.03.2021 г. ЭЛ № ФС 77-80665 – сетевое издание.
Периодичность: 4 раза в год.

Опубликовано 12.12.2022.

Цель: способствовать развитию онкологической медицины Юга России и внедрению её достижений в практику.

Задачи: освещать современные достижения онкологической службы Юга России; содействовать обмену опытом и передовыми знаниями между специалистами; информировать читателей об итогах крупных медицинских форумов.

В журнале размещаются публикации различных рубрик: обзоры литературы, мета-анализы, клинические исследования, наблюдения клинических случаев, обсуждения, анонсы и описания новых методов лечения.

Журнал принимает к публикации: оригинальные статьи, организации здравоохранения, лучевой диагностики, обмен опытом, обзоры, клинические наблюдения.

РЕДКОЛЛЕГИЯ

Балдуева Ирина Александровна,
д.м.н., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Владимилова Любовь Юрьевна,
д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Енгибарян Марина Александровна,
д.м.н., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Златник Елена Юрьевна,
д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Семиглазова Татьяна Юрьевна,
д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Снежко Александр Владимирович,
д.м.н., доцент, ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Солдаткина Наталья Васильевна,
д.м.н., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Солдатов Александр Владимирович,
д.ф.м.н., проф., директор, ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, Россия

Хитарьян Александр Георгиевич,
д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «РостГМУ», ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина», Ростов-на-Дону, Россия

Шкурят Татьяна Павловна,
д.б.н., проф., ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, Россия

Журнал открытого доступа, весь контент находится в свободном доступе бесплатно для пользователя или учреждения.

За достоверность сведений, указанных в рекламных объявлениях, ответственность несут рекламодатели. Точка зрения редакции может не совпадать с мнением авторов.

ORIGINAL ARTICLES

- Own experience of surgical treatment for advanced cancer
of the tongue and the mouth floor
*P. V. Svetitskiy, I. V. Pustovaya, M. A. Engibaryan,
M. V. Bauzhadze, A. K. Donskaya* 6
- Practical experience of a lung cancer primary cell
culture collection creation at the National
Medical Research Centre for Oncology
*I. V. Mezhevova, A. O. Sitkovskaya, S. Yu. Filippova, T. V. Shamova,
S. V. Timofeeva, N. V. Gnennaya, I. A. Novikova, D. A. Haragezov, A. G. Milakin,
I. A. Leiman, O. N. Stateshny, E. E. Rostorguev, D. P. Atmachidi, T. O. Lapteva,
M. V. Voloshin, K. S. Eremin, I. A. Suhar* 14
- Changes in pathophysiology of tumor growth and functional
activity of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in rats
of both sexes with the development of Guerin's carcinoma
on the background of hypothyroidism
*E. M. Frantsiyants, V. A. Bandovkina, I. V. Kaplieva, E. I. Surikova,
I. V. Neskubina, Yu. A. Pogorelova, L. K. Trepitaki, N. D. Cheryarina,
L. A. Nemashkalova, A. Yu. Arakelova*..... 26
- Dynamics of changes in expression of VEGF neoangiogenic
factor in tumor tissue bioptates in patients with squamous cell
carcinoma of oral mucosa receiving cetuximab treatment and
chemotherapy
*A. A. Lyanova, L. Yu. Vladimirova, E. P. Ulyanova, N. A. Abramova,
A. E. Storozhakova, I. L. Popova, N. M. Tikhonovskaya, M. A. Teplyakova,
L. A. Ryadinskaya, I. A. Udalenkova, E. A. Kalabanova, S. N. Kabanov*..... 40
- Expression profile of immunophenotypic marker molecules on
B-lymphocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia at
the stages of immunochemotherapy
O. N. Selyutina, N. K. Guskova, I. B. Lysenko, M. A. Konovalchik 49
- Local immunity features in patients with
non-invasive muscular bladder cancer of various
degrees of malignance
*A. B. Sagakyants, L. I. Belyakova, A. N. Shevchenko, E. S. Bondarenko, E. U. Zlatnik,
I. A. Novikova, E. V. Filatova, V. K. Hvan, I. A. Homutenko, D. V. Burtsev* 58
- Sequential bronchoplastic lobectomies
in complex treatment for synchronous
bilateral multiple primary non-small cell lung cancer:
a rare clinical case
*O. I. Kit, D. A. Kharagezov, Yu. N. Lazutin,
E. A. Mirzoyan, I. A. Leyman, S. N. Tikhonova*..... 67

CLINICAL CASE
REPORT

ОРИГИНАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

Собственный опыт хирургического лечения
распространенного рака языка и дна полости рта
*П. В. Светицкий, И. В. Пустовая, М. А. Енгибарян,
М. В. Баужадзе, А. К. Донская* 6

Опыт создания коллекции клеточных культур
немелкоклеточного рака легкого
в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России
*И. В. Межевова, А. О. Ситковская, С. Ю. Филиппова, Т. В. Шамова,
С. В. Тимофеева, Н. В. Гненная, И. А. Новикова, Д. А. Харагезов,
А. Г. Милакин, И. А. Лейман, Статешный, Э. Е. Росторгуев, Д. П. Атмачиди,
Т. О. Лаптева, М. В. Волошин, К. С. Еремин, И. А. Сухарь* 14

Изменение патофизиологии роста опухоли и функциональной
активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси
у крыс обоего пола при развитии карциномы Герена на фоне
гипотиреоза
*Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина, И. В. Каплиева, Е. И. Сурикова,
И. В. Нескубина, Ю. А. Погорелова, Л. К. Трепитаки, Н. Д. Черярина,
Л. А. Немашкалова, А. Ю. Аракелова* 26

Динамика изменения экспрессии фактора неоангиогенеза
VEGF в биоптатах опухолевой ткани у больных
плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта
при проведении терапии цетуксимабом и химиотерапии
*А. А. Льянова, Л. Ю. Владимирова, Е. П. Ульянова, Н. А. Абрамова,
А. Э. Сторожакова, И. Л. Попова, Н. М. Тихановская, М. А. Теплякова,
Л. А. Рядинская, И. А. Удаленкова, Е. А. Калабанова, С. Н. Кабанов* 40

Профиль экспрессии иммунофенотипических маркерных
молекул на В-лимфоцитах у больных хроническим
лимфолейкозом на этапах иммунохимиотерапии
О. Н. Селютина, Н. К. Гуськова, И. Б. Лысенко, М. А. Коновальчик 49

Особенности локального иммунитета у пациентов
с неинвазивно-мышечным раком мочевого пузыря
различной степени злокачественности
*А. Б. Сагакянц, Л. И. Белякова, А. Н. Шевченко, Е. С. Бондаренко, Е. Ю. Златник,
И. А. Новикова, Е. В. Филатова, В. К. Хван, И. А. Хомутенко, Д. В. Бурцев* 58

КЛИНИЧЕСКОЕ
НАБЛЮДЕНИЕ

Последовательные бронхопластические лобэктомии в струк-
туре комплексного лечения синхронного двухстороннего
первично-множественного немелкоклеточного рака легкого:
редкое клиническое наблюдение
*О. И. Кит, Д. А. Харагезов, Ю. Н. Лазутин, Э. А. Мирзоян,
И. А. Лейман, С. Н. Тихонова* 67



СОБСТВЕННЫЙ ОПЫТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ЯЗЫКА И ДНА ПОЛОСТИ РТА

П. В. Светицкий✉, И. В. Пустовая, М. А. Енгибарян, М. В. Баужадзе, А. К. Донская

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ svetitskiy.p@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Улучшить результаты хирургического лечения больных с распространенным раком языка и дна полости рта обеспечивающего радикальное проведение операции с сохранением функций оперируемых органов.

Материалы и методы. Двое больных с распространенным раком языка и дна полости рта и метастазами в лимфатические узлы шеи St.4 (IVA, pT4a N2b M0) клиническая группа 2, были прооперированы по разработанной нами методике. Операцию проводили под эндотрахеальным наркозом. Сначала осуществлялась шейная лимфодиссекция, далее интраоральным способом резецировался язык с тканями дна полости рта. Разрезы проводились через всю толщу по здоровым тканям. С рассеченной раневой поверхности языка изымались ткани для срочного гистологического исследования – контроля на наличие раковых клеток. Пораженные опухолью ткани дна полости рта полностью удалялись, не выходя за пределы подъязычно-язычной мышцы, по наружной поверхности которой проходят язычный и подъязычный нервы. Это позволяет радикально убрать опухоль с сохранением функций языка.

Результаты. Больные, прооперированные по разработанной методике, находятся под наблюдением без продолженного роста и рецидива опухоли более 9 месяцев, с сохранением функций языка и дна полости рта.

Заключение. У данной категории больных принципы абластики сочетались с сохранением функций языка. Это достигалось тем, что после удаления опухоли языка, резекция дна полости рта проводилась в пределах здоровых тканей сохраняя подъязычно-язычную мышцу, на внешней стороне которой проходят язычный и подъязычный нервы. Тем самым, при соблюдении абластики, сохраняются функции языка: жевание, глотание, членораздельная речь, вкусовое восприятие.

Ключевые слова:

распространенный рак, органы полости рта, мандибулотомия, оростомы, язычный и подъязычный нервы, подъязычно-язычная мышца

Для корреспонденции:

Светицкий Павел Викторович – д.м.н., профессор, руководитель отдела опухолей головы и шеи, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: svetitskiy.p@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5198-9873>

SPIN: 6856-6020, AuthorID: 735792

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Светицкий П. В., Пустовая И. В., Енгибарян М. А., Баужадзе М. В., Донская А. К. Собственный опыт хирургического лечения распространенного рака языка и дна полости рта. Южно-Российский онкологический журнал. 2022; 3(4):6-13.

<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-1>

Статья поступила в редакцию 20.05.2022; одобрена после рецензирования 01.11.2022; принята к публикации 12.12.2022.

© Светицкий П. В., Пустовая И. В., Енгибарян М. А., Баужадзе М. В., Донская А. К., 2022

OWN EXPERIENCE OF SURGICAL TREATMENT FOR ADVANCED CANCER OF THE TONGUE AND THE MOUTH FLOOR

P. V. Svetitskiy✉, I. V. Pustovaya, M. A. Engibaryan, M. V. Bauzhadze, A. K. Donskaya

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ svetitskiy.p@gmail.com

ABSTRACT

Purpose of the study. Improvement of surgical treatment outcomes in patients with advanced cancer of the tongue and the mouth floor providing radical surgery with preservation of the organ functions.

Materials and methods. Two patients with advanced cancer of the tongue and the mouth floor with metastases to lymph nodes in the neck (St.4 (IVA, pT4a N2b M0), clinical group 2, were operated on according to our special technique.

The surgery was performed under endotracheal anesthesia. After cervical lymph node dissection, the tongue and the mouth floor tissues were resected intraorally. The incisions were made through their entire thickness along healthy tissues. Smears were taken from the dissected tissues for intraoperative pathology consultation control for the presence of cancer cells. The tissues of the mouth floor affected by the tumor were completely removed without going beyond the hyoglossus muscle, since the lingual and hypoglossal nerves go along its outer surface. This allowed radical tumor removal with preservation of the tongue functions.

Results. Patients operated on according to our special technique have been observed for more than 9 months without continued tumor growth and recurrences tumor with preservation of the tongue and the mouth floor functions.

Conclusion. In such patients, ablastics principles are combined with the preservation of the tongue functions. This can be achieved because after removal of the tongue tumor, resection of the mouth floor is performed without going beyond the hyoglossus muscle not affected by the tumor, since the lingual and hypoglossal nerves go along its outer surface. Complying with ablastics, it preserves the tongue functions: chewing, swallowing, articulate speech, taste perception.

Keywords:

advanced cancer, oral organs, mandibulotomy, orostoma, lingual and hypoglossal nerves, hyoglossus muscle

For correspondence:

Pavel V. Svetitskiy – Dr. Sci. (Med.), professor, head of the department of head and neck tumors, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: svetitskiy.p@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5198-9873>

SPIN: 6856-6020, AuthorID: 735792

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Svetitskiy P. V., Pustovaya I. V., Engibaryan M. A., Bauzhadze M. V., Donskaya A. K. Own experience of surgical treatment for advanced cancer of the tongue and the mouth floor. South Russian Journal of Cancer. 2022; 3(4): 6-13. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-1>

The article was submitted 20.05.2022; approved after reviewing 01.11.2022; accepted for publication 12.12.2022.

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные опухоли полости рта в Российской Федерации (РФ) занимают ведущее место среди опухолей головы и шеи. Динамика заболеваемости населения постоянно растет. Абсолютное число больных (мужчин и женщин) в 2010 г. составило 5251, а в 2020 г. – 6089. Динамика показателей заболеваемости в данные сроки составила 5,18 и 6,18 при приросте в 28,58 %. При этом, грубый показатель заболеваемости раком полости рта в РФ на 100 000 населения в 2010 г. составлял 5,18, а в 2020–6,18. Среднегодовой темп прироста данной патологии составил 2,47 при приросте в 28,58 %. Грубый показатель смертности у больных раком губы, полости рта и глотки в 2010 г. составил 6,36, а в 2020 г. – 6,50 при среднегодовом темпе прироста за данный период 0,46 и приросте 4,77 [1].

Лечение распространенного рака языка и дна полости рта остается актуальной проблемой, при которой используется комплексный подход: операция, химиотерапия и облучение.

Имея более чем 50-летний опыт проведения операций у данной категории больных приходится выслушивать жалобы пациентов, подвергнутых расширенным операциям, излеченных от рака и ныне живущих. Жалобы в основном на неудовлетворительное качество жизни: затрудненное или зондовое питание, неразборчивость или отсутствие речи и т.д.

Утрата функций органов полости рта делает пациентов социально неполноценными и поэтому вопросы их реабилитации приобретают первостепенное

значение [2]. В литературе по данной проблеме имеется масса публикаций с использованием различных методик. Это речевая реабилитация, основанная на увеличении подвижности культи языка и коррекции звукопроизношения [3], а также разработанные методы протезирования резецированных органов с использованием различных аутоканей: фасций, кожно-мышечной, костно-хрящевой и т.д. [4].

Детальное знакомство с литературой по данной проблеме в определенной степени послужило для нас основанием к изучению уже используемых методов, а также к разработке новых, на наш взгляд, более эффективных хирургических вмешательств.

При ограниченном раке языка и дна полости рта (T1 и T2 стадии) используется как хирургический, так и лучевой методы, тогда как при распространенном (T3, T4) применяется комплексный, где доминируют операции [5]. Хирургические вмешательства у данной категории больных постоянно совершенствуются [6]. При этом, в ряде случаев рекомендуется удалять в едином блоке с первичной опухолью содержимое поднижнечелюстного, а при показаниях – подбородочного треугольников [7]. В то же время, радикальные операции, при всем своем радикализме, как правило, повреждая афферентную и эфферентную нервную систему, нарушают двигательную и сенсорную функции языка и дна полости рта.

Иннервация языка и дна полости рта сложная. Она обусловлена наличием многообразия её функций и проводится как афферентными, так и эфферентными путями посредством VII, IX, X и XII пар черепно-мозговых нервов. Наиболь-

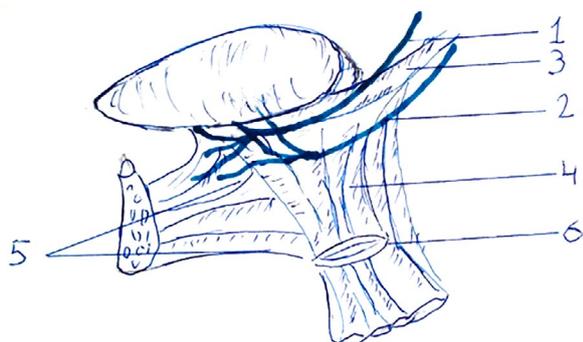


Рис. 1. Топография чувствительной и двигательной иннервации языка.

Примечание: 1 – *n. lingualis* (язычный нерв), 2 – *n. hypoglossus* (подъязычный нерв), 3 – *m. styloglossus* (мышца щилоязычная), 4 – *m. hyoglossus* (мышца подъязычно-язычная), 5 – *m. genioglossus* (подбородочно-язычная мышца), 6 – *os. hyoideum* (подъязычная кость).

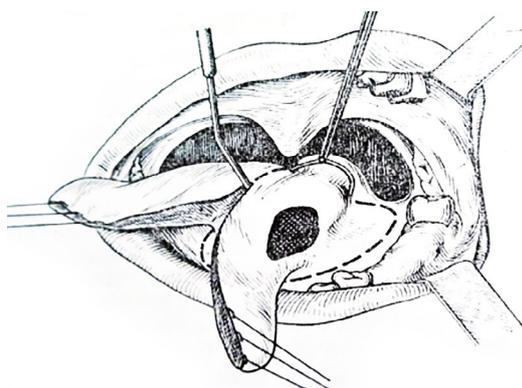


Рис. 2. Общепринятая методика резекции языка, средняя треть половины которого, поражена раком.

шая нагрузка приходится на язычный (*n.lingualis*), подъязычный (*n.hypoglossus*), языкоглоточный (*n.glossopharyngeus*) и верхнегортанный (*n.laryngeus superior* – ветвь блуждающего нерва) нервы [8]. *N.lingualis* является одним из двух ветвей чувствительной части III ветви (*ramus mandibularis*) тройничного нерва (*n.trigeminus* – V пара). Он, в основном, обеспечивает афферентную связь, тогда как эфферентная, осуществляется подъязычным (XII пара) нервом (*n.hypoglossus*).

Радикальное удаление распространенной (III–IV стадии) опухоли языка и/или дна полости рта может осложняться повреждением нервов языка, наиболее важными из которых являются язычный и подъязычный (рис. 1). Их главная функция заключается в обеспечении чувствительности и двигательной функции языка. Для наглядности нами представлены собственные рисунки по рассматриваемой проблеме.

При распространенном раке языка, поражающего одну из его половин с повреждением подъязычного нерва, возникает одностороннее нарушение его функций – обездвиживание пораженной опухолью данной половины языка.

Как видно из рисунка 1, основные нервы языка, сенсорный и двигательный, проходят на латеральной стороне дубликатуры щило-язычной и подъязычно-язычной мышц, ориентируясь на которые, можно избежать травмирования этих нервов.

Если до операции у больного с распространенным раковым процессом язык был подвижным и сохранял чувствительность, то это говорит о том, что опухоль не распространилась на выше приведенные нервы. Поэтому при проведении операций у данной категории больных для сохранения функций языка, соблюдая абластику, необходимо исключать, по мере возможности, их повреждения.

Операции, проводимые на языке и органах полости рта, относятся к категории сложных, когда радикализм их выполнения следует совмещать с возможностью сохранения функций резецированных органов: жевания, глотания и речи.

Существует общепринятая методика операции при раке языка, поражающей часть его спинки. Она предусматривает удаление 2-х и более анатомических областей в пределах 2–3 см здоровых тканей (рис. 2) [7].

Как видно из представленного рисунка, в процессе их проведения данных операций при резекции здоровых тканей вполне возможно травмирование

наиболее важной части языка – не пораженной опухолью задней трети спинки языка, нижняя часть которой анатомически связана с дном полости рта и проходящими там нервами. К тому же, при проведении гемостаза, осуществляемого прошиванием оставшихся здоровых тканей, также возрастает вероятность повреждения нервов.

В тех случаях, когда опухоль больших размеров и переходит на противоположную половину языка, при её удалении, с использованием выше приведенных методик, при обеспечении радикализма, не исключается травмирование нервов с обеих сторон.

Очевидно, что хирургу, в первую очередь, требуется проведение радикально-абластичной операции. Однако, при этом всегда необходимо думать и о её последствиях – качестве последующей жизни пациента. До операции проверяются функции языка и дна полости рта: жевание, глотание, речь. Сохраненные функции после радикальной операции говорят о целостности нервов.

Цель исследования: улучшить результаты хирургического лечения больных с распространенным раком языка и дна полости рта посредством радикального проведения операции с возможным сохранением чувствительного и двигательного нервов, обеспечивающих их функции.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Предлагаемая методика операции у больных с распространенным раком языка и дна полости рта, обеспечивая радикализм, позволяет в процессе её проведения сохранить не пораженных опухолью двигательный и чувствительный нервы.

Учитывая анатомические особенности органов полости рта, ограничивающие обзор операционного поля и усложняющие проведение операции, особенно при распространенном (IV стадии) раке, рекомендовано предварительно осуществлять мандибулотомию [6]. При отказе больного от её проведения или при III стадии заболевания, операцию проводят интраоральным способом.

Операция проводится под эндотрахеальным наркозом через предварительно наложенную трахеостому. Язык, пораженный опухолью, максимално выводится наружу. При одностороннем расположении опухоли или при её распространении на другую половину языка, рассечение по здоровым тканям делается, отступив на 2,0 см от края опухоли в соответствии с её формой и раз-

мерами, максимально сохраняя непораженные ткани (рис. 3).

С середины и краев оставленной после резекции здоровой ткани языка берутся 3 фрагмента тканей для срочного гистологического исследования на наличие раковых клеток. При их отсутствии операция продолжается, а при выявлении злокачественных клеток расширяется зона резекции еще на 1,0 см с повторным гистологическим исследованием. Позволим себе повторить, что выполнение данных требований легче осуществлять с предварительно проведенной мандибулотомией.

При распространении опухоли на ткани дна полости рта при сохраненных функциях языка, что указывает на интактность опухоли с чувствительным и двигательным нервами, операцию проводят радикально, с сохранением этих нервов. Для этого, ориентируясь на дубликатуру щило-язычной и подъязычно-язычной мышц, на латеральной поверхности которых проходят данные нервы, под визуальным и мануальным контролем, проводимым как в полости рта, так и наружно на шее, опухолевая ткань удаляется медиальнее выше названной мышечной дубликатуры.

При опухолевом процессе, распространяющемся на одну половину языка и дна полости рта с поражением подъязычного и язычного нервов, что делает её неподвижной, операцию проводят радикально, включая выше названную мышечную дубликатуру до здоровых тканей. При опухоли, поражающей обе половины языка, радикально удаляется непо-

движная половина, тогда как другая, подвижная, оперируется по представленной методике. Радикальное её выполнение в последствии, в зависимости от характера операции, возвращает больному определенные функции языка, достаточные для естественного питания и речи.

Наш сравнительно небольшой опыт (двое больных с распространенным в объеме IV ст. раком языка и дна полости рта при односторонней неподвижности языка, подписавших информированное согласие об объеме операции и давших согласие на её проведение) выявил целесообразность применения данных операций, так как, при соблюдении радикализма, в то же время сохранялись функции языка. В послеоперационном периоде этим больным проводилось облучение и химиотерапия. Набор клинического материала продолжается.

Клиническое наблюдение

Больная К. 1999 г.р. поступила в отделение Опухолей головы и шеи, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростова-на-Дону, с диагнозом «рак языка с распространением на дно полости рта и метастазами в лимфатические узлы шеи (плоскоклеточный рак St.4 (IVA, pT4a N2b M0))». Сопутствующее заболевание: лейкоз, состояние после лечения, стабилизация процесса. Считает себя больной около 6 месяцев. В то время появилась опухоль на левой половине языка. К врачу не обращалась, лечилась самостоятельно средствами для полоскания рта.

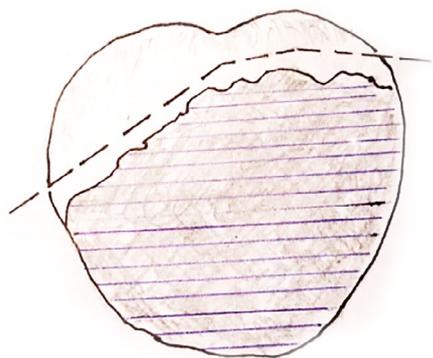


Рис. 3. Резекция языка с распространенным раком, поражающим обе его половины. Линии рассечения проводятся в пределах здоровых тканей, в соответствии с формой опухоли, что позволяет максимально сохранить здоровые ткани языка.



Рис. 4. Больная К. 1999 г.р. Рак языка с поражением передней, средней и частично задней трети левой половины, а также передней трети правой половины.

Патология во рту расценивалась как стоматит на фоне лейкоза. При осмотре стоматологом была выявлена опухоль языка. Направлена к онкологу.

Локальный статус: лицо симметричное. В подчелюстной области слева и на шее увеличенные, слабо подвижные лимфатические узлы 2,5 × 3,0 см, по ходу внутренней яремной вены – 2,0 × 3,0 см. Открывание рта болезненное, но в полном объеме. Зубы на верхней и нижней челюстях отсутствуют после перенесенного лейкоза. Левая половина языка неподвижная. Его передняя, средняя и частично задняя треть поражены опухолью, распространяющейся на переднюю треть правой его половины (рис. 4).

После обследования больная была прооперирована. Под местной анестезией произведена трахеотомия с интубацией и последующим проведением радикальной операции под общим эндотрахеально-интубационным наркозом. Осуществлена шейная лимфаденэктомия (I–V уровней) с перевязкой наружной сонной артерии. Учитывая отказ больной от мандибулотомии, операция продолжена интраоральным методом. Средняя треть правой, непораженной опухолью половины языка прошита и выведена наружу. Под визуальным контролем произведена резекция левой половины языка и частично правой с сохранением его средней и задней трети спинки и бокового края (отступ от опухоли – на 2,0 см). Пораженные опухолью отделы

языка удалены единым блоком. В тканях, взятых на срочное гистологическое исследование с оставленной части языка, злокачественные клетки не были обнаружены. В удаленных тканях языка и дна полости рта выявлена плоскоклеточная карцинома.

Под визуальным контролем дна полости рта и наружно-мануальным шею, определены пораженные опухолью ткани, которые были удалены, не выходя за пределы не пораженной опухолью подъязычно-язычной мышцы. Аналогичным способом, ориентируясь на правую дубликатуру щило-язычной и подъязычно-язычной мышц, опухоль дна полости рта была удалена, не выходя за пределы подъязычно-язычной мышцы. С оставленных тканей также взят мазок для срочного цитологического исследования на наличие раковых клеток, которое не выявило их присутствие. Дефект тканей языка и дна полости рта послойно ушит с формированием культи языка, составляющей до половины его прежнего объема. Заживление проходило первичным натяжением. Послеоперационный период протекал без осложнений. На 5-е сутки частично восстановилось движение культи языка (рис. 5). Питание осуществлялось с помощью носо-пищеводного зонда, который был удален на 10-е сутки, после чего, при частичном восстановлении функции языка, была деканулирована трахеостома (рис. 6). К концу второй недели, после снятия швов, пациентка выписана домой.



Рис. 5. Та же больная. 5-е сутки после операции. Движения культи языка ограничены. Питание через носо-пищеводный зонд. Дыхание через трахеостому и естественные пути (рот и нос).



Рис. 6. Та же больная. 10 суток после операции. Дыхание через трахеостому и естественные пути (рот и нос). Лабильность культи языка достаточна для питания жидкой пищей. Выписана в удовлетворительном состоянии для проведения послеоперационной химиолучевой терапии по месту жительства. Через 1 мес. после выписки восстановились естественные питание и дыхание. Находится под наблюдением после операции без продолженного роста и рецидива 9 мес.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проблема лечения больных распространенным раком языка и дна полости рта остается сложной до сегодняшнего дня. Это объясняется особенностями строения этих органов и, в первую очередь, их иннервацией. Наиболее важными для жизни больного при данном заболевании являются язычный (*n.lingualis*) и подъязычный (*n.hypoglossus*) нервы, ответственные за чувствительную и двигательную функции. Радикальное удаление распространенной (III–IV стадий) опухоли языка и/или дна полости рта может осложняться повреждением этих нервов. При этом нарушаются функции языка. Говоря о топографии языка и дна полости рта с мышцами и нервами, следует учесть, что челюстно-подъязычная мышца (*m.mylohyoideus*) образует диафрагму рта, которая делит дно полости рта на два этажа – верхний и нижний. Если до операции у больного была сохранена чувствительность и подвижность языка, то это говорит о целостности нервов. Значит, у этой категории больных опухолевой процесс не распространился на дно полости рта или частично захватил ткани только верхнего его этажа, не распространяясь на нервы. В данных случаях хирург убирает только опухоль, не углубляясь в проекцию расположения нервов. Практика показала, что ранняя выявляемость рака в большой степени зависит от самого пациента, что особенно выражено при онкологическом заболевании. Часто больные обращаются к медикам при первых признаках заболевания, тогда как другая категория больных, терпит неприятности, связанные с ним, и лишь с его прогрессированием обращается к врачу с уже распространенной или даже запущенной болезнью. Это встречается достаточно часто у больных раком органов полости рта: пациенты видят свою патологию и, осознавая опасность, терпят. И только тогда, когда возникает выраженный дискомфорт при приеме пищи и речи, а процесс явно распространился, такая категория пациентов идет к врачу. Следует отметить, что при первичном осмотре больных с III–IV стадиями практически не выявляются случаи с двухсторонним поражением нервов языка. При этом, как правило, у больных, имеющих уже распространенный процесс, при неподвижности одной половины языка другая остается сохранной. При осмотре такого больного с IV стадией, обычно выявляются регионарные метастазы и опухоль, поражающая одну из половин языка с частич-

ным распространением на другую. Клиническое обследование практически всегда подтверждает данную ситуацию и не исключает вероятность необходимости проведения у данной категории больных радикальной операции с двухсторонней резекцией нервов. В данных случаях, надо обязательно предупредить больного о возможных последствиях до проведения операции. Сложности возникают при распространении ракового процесса на обе половины языка с неподвижностью одной из его половин. Предлагаемая нами методика операции предназначена, в первую очередь, для данной категории больных, но её также можно применять и в случаях с менее распространенным процессом. Для ориентации хирурга в процессе операции, после рассечения пораженного опухолью языка, необходимо проанализировать топографию расположения нервов. Для этого в процессе операции, после рассечения тканей языка и получения патолого-гистологического заключения об отсутствии раковых клеток в сохраненных его тканях, все свое внимание следует уделить ориентации в топографии мышц и нервов дна полости рта. Мануально и визуально, как интраоральным подходом, так и наружным, на шее, выше подъязычной кости, определяют место совмещения щило-язычной (*m.stiloglossus*) и подъязычно-язычной (*m.hypoglossus*) мышц. При этом мануально, в проекции этих мышц, определяют топографию подъязычно-язычной мышцы, по латеральной поверхности которой проходят нервы. В последующем, удаление пораженных тканей дна полости рта осуществляют до медиального края не пораженной опухолевым процессом подъязычно-язычной мышцы. Это позволяет провести радикальную операцию без травмирования нервов, что сохраняет функцию языка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных с распространенным раком языка и дна полости рта, при поражении одной из его половин, принципы абластики следует, по возможности, совмещать с сохранением их функций. Это достигается тем, что после радикального удаления опухоли языка резекцию дна полости рта проводят абластично, не выходя за пределы не пораженной опухолью подъязычно-язычной мышцы, на внешней стороне которой проходят язычный и подъязычный нервы. Таким образом, проводя абластическую операцию, сохраняются функции языка: жевание, глотание, членораздельная речь, вкусовое восприятие и слюноотделение.

Список источников

1. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021, 252 с. Доступно по: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/11/zis-2020-elektronnaaya-versiya.pdf>, Дата обращения: 29.10.2022.
2. Сангинов Д. Р., Мудунов А. М., Юлдошев Р. З., Базаров Н. И., Ниязов И. К., Сафарзода Н. А. Реконструктивно-восстановительные операции и вопросы качества жизни больных с местно-распространенным раком головы и шеи. Вестник Авиценны. 2019;21(1):168 –170. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2019-21-1-165-172>
3. Красавина Е. А., Балацкая Л. Н., Чойнзонов Е. Л., Кульбакин Д. Е. Речевая реабилитация больных раком органов полости рта и ротоглотки после хирургического лечения. Сибирский научный медицинский журнал. 2019;39(6):65–69. <https://doi.org/10.15372/ssmj20190608>
4. Задеренко И. А., Мудунов А. М., Алиева С. Б., Ахундов А. А. Выбор варианта хирургического лечения рецидивного рака органов орофарингеальной области. Опухоли головы и шеи. 2017;7(2):25–29. <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2017-7-2-25-29>
5. Пачес А. И. Опухоли головы и шеи. 4-е издание. М.: Медицина; 2000.
6. Аединова И. В., Волкова В. Л., Светицкий П. В., Баужадзе М. В., Исламова Е. Ф. Хирургическое лечение рака слизистой оболочки задних отделов полости рта и ротоглотки с применением мандибулотомии. Современные проблемы науки и образования. 2016;(3). Доступно по: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=24857>, Дата обращения: 27.09.2022.
7. Пачес А. И, Ольшанский В. О., Любаев В. Л., Туок Т. Х. Злокачественные опухоли полости рта, глотки и гортани. М.: Медицина; 1988.
8. Лойт А. А., Каюков А. В. Хирургическая анатомия головы и шеи. СПб: Питер; 2002.

Информация об авторах:

Светицкий Павел Викторович – д.м.н., профессор, руководитель отдела опухолей головы и шеи, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5198-9873>, SPIN: 6856-6020, AuthorID: 735792

Пустовая Ирина Викторовна – к.м.н., врач-челюстно-лицевой хирург отделения опухолей головы и шеи, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7884-7995>, SPIN: 5913-8360, AuthorID: 416789

Енгибарян Марина Александровна – д.м.н., заведующая отделением опухолей головы и шеи, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7293-2358>, SPIN: 1764-0276, AuthorID: 318503

Баужадзе Мамука Важаевич – к.м.н., врач-онколог отделения опухолей головы и шеи, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9765-8612>, SPIN: 5315-3382, AuthorID: 734578

Донская Алия Катифовна – врач-радиотерапевт отделения радиотерапии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7353-2807>, SPIN: 9764-9563, AuthorID: 734505

Вклад авторов:

Светицкий П. В. – концепция и дизайн исследования, выполнение операций, написание исходного текста, итоговые выводы;

Пустовая И. В. – ассистирование на операциях, обработка материала исследования;

Енгибарян М. А. – научное руководство, научное редактирование и консультирование;

Баужадзе М. В. – ассистирование на операциях, обработка материала исследования, доработка текста;

Донская А. К. – техническое редактирование, оформление библиографии, подготовка иллюстраций.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

ОПЫТ СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО В ФГБУ «НМИЦ ОНКОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ

И. В. Межевова[✉], А. О. Ситковская, С. Ю. Филиппова, Т. В. Шамова, С. В. Тимофеева,
Н. В. Гненная, И. А. Новикова, Д. А. Харагезов, А. Г. Милакин, И. А. Лейман, О. Н. Статешный,
Э. Е. Росторгуев, Д. П. Атмачиди, Т. О. Лаптева, М. В. Волошин, К. С. Еремин, И. А. Сухарь

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ Mezhevova88@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Тестирование новых химиотерапевтических агентов в трансляционной и биомедицине нуждается в исследованиях на иммортализованных клеточных линиях. Однако такие модели не всегда обладают биологическими свойствами опухоли *in situ*, в отличие от первичных культур клеток. Первичные культуры клеток рака легкого обладают близкими или идентичными опухолевым клеткам *in vivo* биологическими, гистологическими и молекулярными характеристиками. Получение коллекций первичных клеточных линий рака легкого является важной задачей в создании различных моделей для доклинических исследований.

Материалы и методы. В работе использовали послеоперационные образцы опухоли, полученные от 25 пациентов с впервые выявленным раком лёгкого без предварительного лечения. Для получения первичных культур использовали следующие методы: ферментативной диссоциации в растворе Хэнкса с добавлением 300 ед./мл коллагеназы I (Thermo Fisher Scientific, США), ферментативной диссоциации с использованием набора Brain Tumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec, Германия) и 150 ед./мл коллагеназы I, а также метод эксплантатов. Для удаления фибробластов использовали следующие методы: применение системы FibrOut™ (CHI Scientific, США), магнитная сепарация фибробластов с использованием Anti-Fibroblast MicroBeads (Miltenyi Biotec, Германия) и метод холодной трипсинизации.

Результаты. Получено 15 первичных клеточных культур рака легкого, прошедших нулевой пассаж. В данной работе наиболее эффективным оказался метод ферментативной диссоциации. Инкубирование образцов опухоли легкого с коллагеназой в течение 1 ч. сохраняет жизнеспособность и адгезивную способность клеток. Метод эксплантатов не показал своей эффективности в целях долгосрочного культивирования, отсутствовала миграция клеток опухоли на пластик. Магнитная сепарация, как метод удаления стромальных компонентов фибробластов, показала наибольшую эффективность, сохраняя жизнеспособность клеток опухоли.

Заключение. Полученные первичные клеточные культуры рака легкого могут быть использованы для многих задач экспериментальной онкологии: исследования биологических особенностей рака легкого, разработки доклинических моделей исследования новых химиотерапевтических препаратов.

Ключевые слова:

первичная клеточная культура, рак легких, механическая диссоциация, ферментативная диссоциация, коллагеназа, метод эксплантатов, удаление фибробластов

Для корреспонденции:

Межевова Ирина Валентиновна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

E-mail: mezhevova88@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7902-7278>

SPIN: 3367-1741, AuthorID: 1011695

ResearcherID: AAI-1860-2019

Scopus Author ID: 57296602900

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Межевова И. В., Ситковская А. О., Филиппова С. Ю., Шамова Т. В., Тимофеева С. В., Гненная Н. В., Новикова И. А., Харагезов Д. А., Милакин А. Г., Лейман И. А., Статешный О. Н., Росторгуев Э. Е., Атмачиди Д. П., Лаптева Т. О., Волошин М. В., Еремин К. С., Сухарь И. А. Опыт создания коллекции клеточных культур немелкоклеточного рака легкого в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Южно-Российский онкологический журнал. 2022; 3(4): 14-25. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-2>

Статья поступила в редакцию 25.05.2022; одобрена после рецензирования 12.10.2022; принята к публикации 12.12.2022.

© Межевова И. В., Ситковская А. О., Филиппова С. Ю., Шамова Т. В., Тимофеева С. В., Гненная Н. В., Новикова И. А., Харагезов Д. А., Милакин А. Г., Лейман И. А., Статешный О. Н., Росторгуев Э. Е., Атмачиди Д. П., Лаптева Т. О., Волошин М. В., Еремин К. С., Сухарь И. А., 2022

PRACTICAL EXPERIENCE OF A LUNG CANCER PRIMARY CELL CULTURE COLLECTION CREATION AT THE NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTRE FOR ONCOLOGY

I. V. Mezheva[✉], A. O. Sitkovskaya, S. Yu. Filippova, T. V. Shamova, S. V. Timofeeva, N. V. Gnennaya, I. A. Novikova, D. A. Kharagezov, A. G. Milakin, I. A. Leiman, O. N. Stateshny, E. E. Rostorguev, D. P. Atmachidi, T. O. Lapteva, M. V. Voloshin, K. S. Eremin, I. A. Suhar

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ Mezheva88@gmail.com

ABSTRACT

Purpose of the study. Testing of new chemotherapeutic agents in translational and biology medicine needs studies on immortalized cell lines. However, such models do not always have the biological properties of a tumor *in situ*, in contrast to primary cell cultures. Primary cultures of lung cancer cells have biological, morphological and molecular characteristics close or identical to tumor cells *in vivo*. Obtaining collections of primary lung cancer cell lines is an important task in creating various models for preclinical studies.

Materials and methods. The materials are represented by postoperative tumor samples obtained from 25 patients with newly diagnosed lung cancer without prior treatment. The following methods were used to obtain primary cultures: enzymatic dissociation in Hanks' solution with the addition of 300 units/ml collagenase I (Thermo Fisher Scientific, USA), enzymatic dissociation using the Brain Tumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec, Germany) and 150 units/ml. ml of collagenase I, as well as the method of explants. The following methods were used to remove fibroblasts: the use of the FibrOut™ system (CHI Scientific, USA), magnetic separation of fibroblasts using Anti-Fibroblast MicroBeads (Miltenyi Biotec, Germany), and cold trypsinization.

Results. We have obtained 15 primary lung cancer cell cultures that have passed the zero order passage. In this work, the method of enzymatic dissociation turned out to be the most effective. Incubation of lung tumor samples with collagenase for 1 hour preserves the viability and adhesiveness of the cells. The explant method did not show its effectiveness for long-term cultivation, there was no migration of tumor cells to plastic. Magnetic separation, as a method of removing stromal components of fibroblasts, showed the greatest efficiency, while maintaining the viability of tumor cells.

Conclusion. The obtained primary cell cultures of lung cancer can be used for many tasks of experimental oncology: studies of the biological characteristics of lung cancer, development of preclinical models for the studies on new chemotherapeutic drugs.

Keywords:

primary cell culture, lung cancer, mechanical dissociation, enzymatic dissociation, collagenase, explant method, fibroblast removal

For correspondence:

Irina V. Mezheva – junior research fellow at the laboratory of cellular technologies, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

E-mail: mezheva88@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7902-7278>

SPIN: 3367-1741, AuthorID: 1011695

ResearcherID: AAI-1860-2019

Scopus Author ID: 57296602900

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Mezheva I. V., Sitkovskaya A. O., Filippova S. Yu., Shamova T. V., Timofeeva S. V., Gnennaya N. V., Novikova I. A., Kharagezov D. A., Milakin A. G., Leiman I. A., Stateshny O. N., Rostorguev E. E., Atmachidi D. P., Lapteva T. O., Voloshin M. V., Eremin K. S., Suhar I. A. Practical experience of a lung cancer primary cell culture collection creation at the National Medical Research Centre for Oncology. South Russian Journal of Cancer. 2022; 3(4): 14-25. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-2>

The article was submitted 25.05.2022; approved after reviewing 12.10.2022; accepted for publication 12.12.2022.

ВВЕДЕНИЕ

Рак легкого является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний с высоким уровнем смертности как в Российской Федерации, так и в мире. В России заболеваемость раком легкого входит в тройку ведущих, при этом у мужчин занимает первое место и составляет 16,5 % от общего числа всех онкопатологий [1]. Являясь гетерогенным заболеванием, рак легкого включает в себя несколько подтипов, имеющих значение для клинического и патологического течения заболевания. Гистологически опухоли легких подразделяются на два основных гистотипа: мелкоклеточный рак (МРЛ) и немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). Мелкоклеточный рак лёгкого составляет 15–20 % первичных опухолей легкого и является наиболее агрессивной формой злокачественных новообразований данной локализации. Немелкоклеточный рак легкого составляет около 80 % от общего количества опухолей легкого и подразделяется на четыре гистологических подтипа: аденокарцинома легкого, плоскоклеточный рак, крупноклеточный рак легкого и карциноидная опухоль бронхов [2]. Молекулярно-генетические подтипы НМРЛ определяются наличием или отсутствием мутаций в генах EGFR, KRAS, транслокаций в генах ALK, ROS1, что позволяет на основе этих данных принимать решения о назначении таргетной терапии, а экспрессия белка PD-L1 – об иммунотерапии [3]. Несмотря на все успехи в лечении рака легких, достигнутые благодаря применению лучевой, химиотерапии, а также иммунотерапии, прогнозы для пациентов остаются неутешительными: для МРЛ характерно раннее метастазирование, а общая пятилетняя выживаемость составляет около 5 %, НМРЛ имеет более благоприятный прогноз, однако учитывая тот факт, что чаще заболевание диагностируют на III–IV стадии, пятилетняя выживаемость остается низкой и составляет 15–19 % [4]. Поиск новых лекарственных средств включает в себя скрининг библиотек противоопухолевых соединений на первичных культурах и постоянных клеточных линиях рака [5]. Первичная культура представляет собой клетки опухоли, помещенные в среду культивирования после механической или ферментативной дезагрегации или в результате миграции из эксплантов. Первичная клеточная культура, прошедшая первый пассаж, т.е. прошедшая первый пересев после того, как выделенные из образца опухоли клетки при-

крепились к культуральному пластику, называется клеточной линией. Постоянная клеточная линия – это трансформированная *in vitro* клеточная линия, преодолевшая так называемый предел Хейфлика – предельное количество делений, определяемое длиной теломера [6]. Постоянные клеточные линии рака легкого впервые были получены в 80-х годах XX века, на 25 лет позже создания первой линии клеток рака шейки матки (HeLa). После разработки бессывороточных сред, например, среды ACL4 и HITES, введение в культуру клеточных линий рака легкого достигло своего пика. В настоящее время известно более 200 постоянных клеточных линий этой нозологии [7; 8].

Использование постоянных клеточных линий позволяет оценить прямой цитотоксический и цитостатический эффекты, органоспецифическую токсичность тестируемых химических соединений и препаратов, определить их механизм действия, а также белки и гены–мишени [9]. Однако постоянная культура клеток *in vitro* после длительного субкультивирования не может демонстрировать гетерогенность исходной опухоли *in vivo*, которая возникает из-за наличия в клеточном составе первичной опухоли нескольких субклонов, генотипически отличных друг от друга, что характерно, в частности, для немелкоклеточного рака легкого. Гетерогенность рака легкого характеризуется различием в скорости роста клеток, их кариотипе, наличии рецепторов клеточной поверхности, продукции ферментов, экспрессии генов [10], чувствительности к различным цитостатикам [11]. Известно, что различия в биологических характеристиках клеток опухоли лежат в основе метастатического прогрессирования первичной опухоли, приобретения ею устойчивости к таргетной и химиотерапии, возникновению рецидивов. Игнорирование гетерогенности опухоли на ранних этапах доклинических исследований является одной из причин провала клинических испытаний новых противоопухолевых препаратов, что ведёт к большим экономическим тратам и замедлению прогресса в этой области [3; 12].

В связи с этим, более адекватным источником для создания клеточных моделей опухолевого роста являются первичные клеточные культуры, в которых воспроизводится гетерогенность опухоли на уровне её гистопатологических, молекулярных и генетических особенностей. Создание коллекций первичных культур рака лёгкого является распространённой практикой в различных научных учре-

ждениях по всему миру. Такие коллекции служат для воспроизведения популяционных особенностей заболевания [13], изучения ответа НМРЛ на химиотерапию [14] и исследования различных аспектов онкогенеза [15; 16].

Существует множество методов получения первичных клеточных культур, которые исследователи постоянно оптимизируют в зависимости от особенностей опухолевого материала и целей, стоящих перед исследованием. Ключевым этапом в процессе создания клеточной культуры является получение в ходе ферментативной или механической дезагрегации ткани пула жизнеспособных опухолевых клеток, по составу, приближенному к гетерогенному клеточному составу исходной опухоли. Для опухолей с плотной структурой, к которым относится и рак лёгкого, предпочтительным является метод ферментативной диссоциации, при этом состав и жизнеспособность получаемых клеток прямо зависят от используемых реагентов и условий ферментирования [17]. Одним из наиболее популярных компонентов смесей для ферментативной диссоциации ткани плотных опухолей является коллагеназа I, которая обладает высокой специфичностью по отношению к волокнам коллагена – основного белка внеклеточного матрикса, – оставляя нетронутыми белки клеточных мембран, что важно для сохранения жизнеспособности и биологических особенностей выделенных клеток [18]. Коллагеназа I часто используется и при получении первичных клеточных линий рака лёгкого, как в чистом виде [19], так и в смеси с другими ферментами (трипсином) [13]. В качестве альтернативы диссоциации ткани применяют метод эксплантатов, в основе которого лежит миграция неповрежденных клеток на культуральный пластик из небольших фрагментов опухоли. Преимуществом такого подхода является высокая выживаемость клеток при наиболее полном сохранении гетерогенности их состава, однако эффективность получения клеточной линии ограничена подвижностью клеток опухоли [6; 14].

Получение первичных культур является довольно сложным процессом в связи с небольшим количеством исходных опухолевых клеток, а также с частичной потерей жизнеспособности клеток после резекции опухоли и применения методов дезагрегации материала [17].

Независимо от способа получения первичной культуры рака лёгкого, как и других злокачествен-

ных новообразований с выраженным фиброзным компонентом, большую проблему представляет контаминация клетками стромы, из которых самыми многочисленными являются фибробласты, которые в условиях *in vitro* быстро переходят к делению и за счёт этого способны подавить клетки опухоли. Существует целый ряд способов борьбы с фибробластами в культуре, которые можно разделить на три группы: 1) применение цитостатиков, специфичных для фибробластов; 2) использование свойств дифференциальной адгезии клеток первичной культуры и 3) клеточный сортинг. Каждый из этих методов обладает своими достоинствами и недостатками [20].

Цель исследования: оценить эффективность различных методов выделения опухолевых клеток при создании коллекции клеточных культур немелкоклеточного рака легкого.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с марта по сентябрь 2021 г. для исследований был отобран опухолевый материал 25 пациентов с немелкоклеточным раком легкого (аденокарцинома легкого), из которых 20 образцов были получены из первичного очага и 5 образцов – из метастаза в головной мозг.

Больные проходили лечение в отделении торакальной хирургии и в отделении нейроонкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2021 г. Гистологический диагноз подтверждали в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Пациенты были осведомлены об участии в научном исследовании и подписывали информированное согласие на сбор биологического материала. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России протокол № 6/1 от 10 февраля 2020 г.

Образцы из операционной передавали в растворе Хенкса (HBSS, Gibco, США) с добавлением 1 % пенициллина-стрептомицина (Биолот, Россия) при температуре +4–8 °С в Лабораторию клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в промежутке не более 20 мин. после удаления опухолевого препарата. Для отработки методики получения жизнеспособных клеток нами были выбраны несколько вариантов протоколов ферментативной диссоциации, а также метод эксплантатов. В 15 случаях нами применялась процедура ферментативной

диссоциации с использованием чистой коллагеназы I в случае с первичным очагом ($n = 10$) и с использованием комбинации коллагеназы I и ферментов для диссоциации ткани мозга в случае с образцами, полученными из метастазов ($n = 5$). В 10 случаях для получения клеточной культуры из первичного очага применяли метод эксплантатов. Схематическое изображение использованных в работе протоколов и методов представлено на рисунке 1. Во всех случаях для выращивания первичных клеточных линий использовали стандартную среду культивирования, представляющую собой среду DMEM (Gibco, США) с добавлением 10 % FBS (HyClone, США), 1 % инсулина-трансферрина-селенита натрия (Биолот, Россия), 10 нг/мл FGF-2 (Miltenyi Biotec, Германия), 10 нг/мл EGF (Miltenyi Biotec, Германия), 1 % NEAA (Gibco, США).

Визуальное исследование морфологии клеток и фотофиксацию проводили при помощи инвертированного микроскопа Axio Vert. A1 (Carl Zeiss Microscopy, Германия).

Протокол № 1. Ферментативная диссоциация в растворе Хэнкса и коллагеназы I (Thermo Fisher Scientific, США). Применяемый протокол соответствует обычной практике ферментативной обработки ткани опухолей лёгкого [19]. Фрагменты опухоли помещали в чашку Петри ($d = 35$ мм) (Eppendorf, Германия) с раствором Хэнкса (с ионами Ca^{2+} и Mg^{2+}) (Gibco, США) и фрагментировали образцы скальпелем до размера 1–2 мм³, после чего добавляли 300 ед./мл коллагеназы I (Thermo Fisher Scientific, США) и инкубировали 1 час в термостате при 37 °C и 5 % CO₂. По окончании культивирования образец ресуспендировали, пропуская через пластиковый наконечник несколько раз, в результате чего получали однородную клеточную суспензию. Далее вносили 3 мл стандартной среды культивирования, центрифугировали 5 мин при 300g и декантировали супернатант. К клеточному осадку вносили 5 мл питательной среды DMEM (Gibco, USA) и ресуспендировали, после чего суспензию опухолевых клеток пропускали через стерильный нейлоновый фильтр ($d = 70$ нм) (Becton Dickinson, США). Подсчёт, определение жизнеспособности клеток проводили в камере Горяева с 0,4 % раствором трипанового синего (Биолот, Россия). Образцы, в зависимости от количества клеток, пассировали во флаконы с площадью культуральной поверхности 25 см², либо 75 см² (Thermo Fisher Scientific NUNC™ EasYFlask™, Дания) в питательной среде для первичных клеточных линий Primary Cancer Culture System (PromoCell®,

Германия) и помещали в CO₂-инкубатор для дальнейшего культивирования при 37 °C и 5 % CO₂. На 3 сутки культивирования добавляли 2 мл свежей питательной среды Primary Cancer Culture System. Далее замену питательной среды производили раз в три дня. Через месяц культивирования питательную среду для первичных клеточных линий заменяли на стандартную среду культивирования.

Протокол № 2. Ферментативная диссоциация при совместном использовании Brain Tumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec, Германия) и 150 ед./мл коллагеназы I (Thermo Fisher Scientific, США). Образцы измельчали скальпелями до размера 1–2 мм³. Для ферментативной диссоциации использовали набор Brain Tumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec, Германия) согласно инструкциям производителя. Культивировали 2 часа в CO₂-инкубаторе (Binder, Германия) при 37 °C и 5 % CO₂ на механической мешалке, программируя прибор по инструкции к набору. Далее к суспензии ферментов и опухолевых фрагментов вносили 150 ед./мл коллагеназы I и инкубировали ещё 18 ч при +4...+8 °C. По истечении времени инкубации, образец отмывали, фильтровали, производили подсчёт и пассаж клеток, как указано в протоколе 1.

Протокол № 3. Метод эксплантатов. Опухолевый материал фрагментировали скальпелем до 2 мм в чашке Петри диаметром 35 мм (Eppendorf, Германия) с 5 мл питательной среды для культивирования первичных клеточных линий Primary Cancer Culture System (PromoCell®, Германия), после чего полученные эксплантаты культивировали в инкубаторе при 37 °C, 5 % CO₂. Через несколько недель культивирования неадгезированные эксплантаты переносили из чашки Петри, измельчали пипетированием и далее отмывали, фильтровали, производили подсчёт и пассаж клеток, как указано в протоколе 1.

Удаление фибробластов из первичной культуры проводили несколькими методами, широко применяемыми в практике получения клеточных линий из солидных опухолей [20].

Метод № 1. Удаление фибробластов с помощью системы FibrOut™ (CHI Scientific, США). Во флаконы с первичными культурами клеток рака лёгкого вносили систему FibrOut™ из расчёта 1 мл системы к 500 мл питательной среды культивирования. Далее клетки культивировали 3–5 суток до полного открепления фибробластов, после чего заменяли среду стандартной средой культивирования.

Метод № 2. Магнитная сепарация клеток с использованием набора Anti-Fibroblast MicroBeads (Miltenyi

Biotec, Германия). На первом этапе проводили снятие первичных культур с помощью раствора трипсина – версена (1:1) (Биолот, Россия) при температуре 37 °С, затем фибробласты из клеточной суспензии сепарировали на магнитной колонке согласно инструкции производителя. Отрицательную фракцию, обеднённую фибробластами, пассировали в стандартной среде культивирования и помещали в CO₂-инкубатор для дальнейшего культивирования при 37 °С и 5 % CO₂.

Метод № 3. Холодная трипсинизация. Из культуральных флаконов с первичными культурами

декантировали отработанную питательную среду, после чего вносили охлаждённый раствор трипсина – версена (1:1) (Биолот, Россия) (+4...+8 °С) и инкубировали 3 мин при комнатной температуре, наблюдая в микроскоп процесс открепления клеток от дна флакона. Отделившиеся от дна флакона фибробласты аккуратно отмывали средой DMEM, содержащей 5 % FBS, и удаляли из флакона. Затем во флакон с оставшимися клетками вносили стандартную среду культивирования и помещали в CO₂-инкубатор для дальнейшего культивирования при 37 °С и 5 % CO₂.

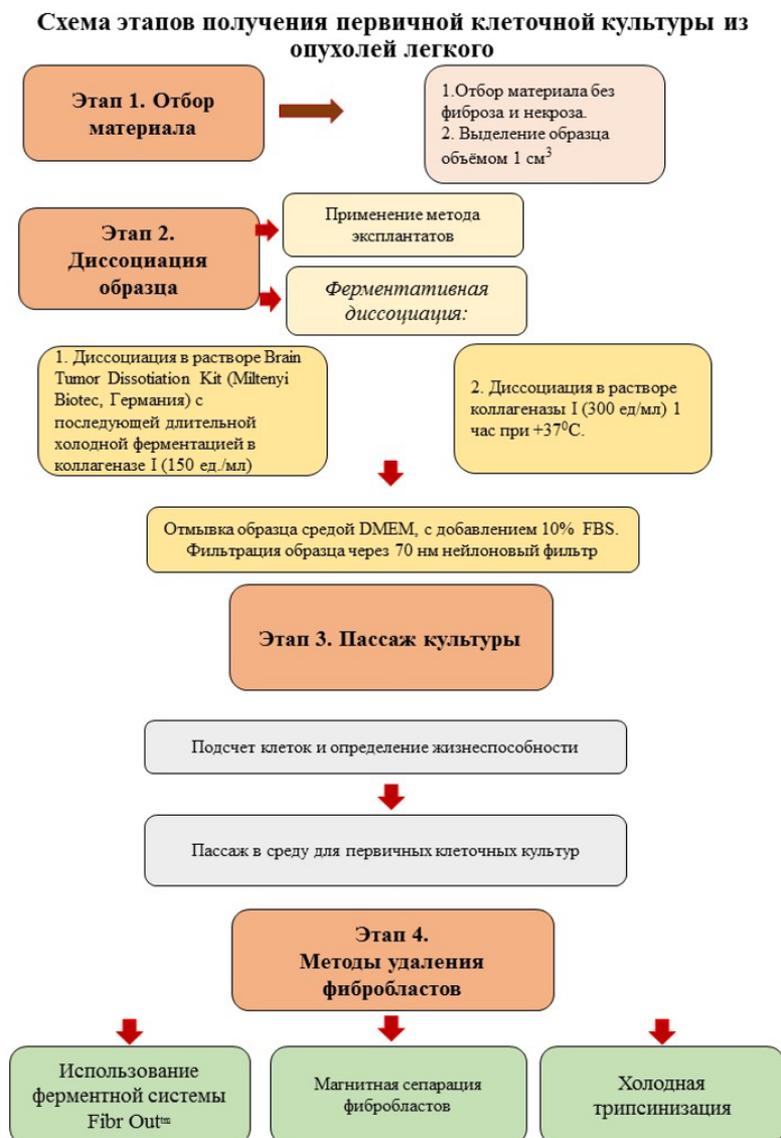


Рис. 1. Схема этапов получения первичных клеточных линий рака лёгкого.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во всех случаях при ферментативной диссоциации материала нам удалось получить суспензию с долей жизнеспособных клеток около 90 %. Причем, жизнеспособность не была снижена даже в образцах, полученных из метастазов, несмотря на их продолжительную инкубацию при пониженной температуре (+4...+8 °С). На 2 сутки после воздействия ферментов наблюдали небольшое количество прикрепившихся клеток, при этом опухолевые клетки образовывали кластеры, а фибробласты наблюдались в виде единичных веретеновидных клеток (рис. 2А). По мере увеличения времени культивирования количество адгезированных клеток росло, фибробласты занимали всю поверхность флакона, а клетки опухоли образовывали единичные кластеры округлой формы (рис. 2Б). Первую замену питательной среды осуществляли на 5 сут.

культивирования, затем каждые 3 сут. Элиминация эритроцитов и клеточного детрита из питательной среды происходила в процессе декантирования отработанной среды.

Эксплантаты прикреплялись ко дну флакона на 2 сутки. В образцах эксплантатов после прикрепления к поверхности чашки Петри наблюдали лишь небольшое количество мигрировавших клеток, у которых к тому же отсутствовали признаки пролиферации даже спустя несколько недель культивирования. Пользуясь тем, что фрагменты ткани опухоли после длительного пребывания в питательной среде стали рыхлыми, остатки эксплантатов подвергали механической диссоциации. Полученный осадок клеток пропускали через 70 нм нейлоновый фильтр и пассировали в культуральные флаконы с площадью поверхности 25 см². Доля жизнеспособных клеток при таком способе получения первичной культуры рака лёгкого составляла 70–80 %. Через

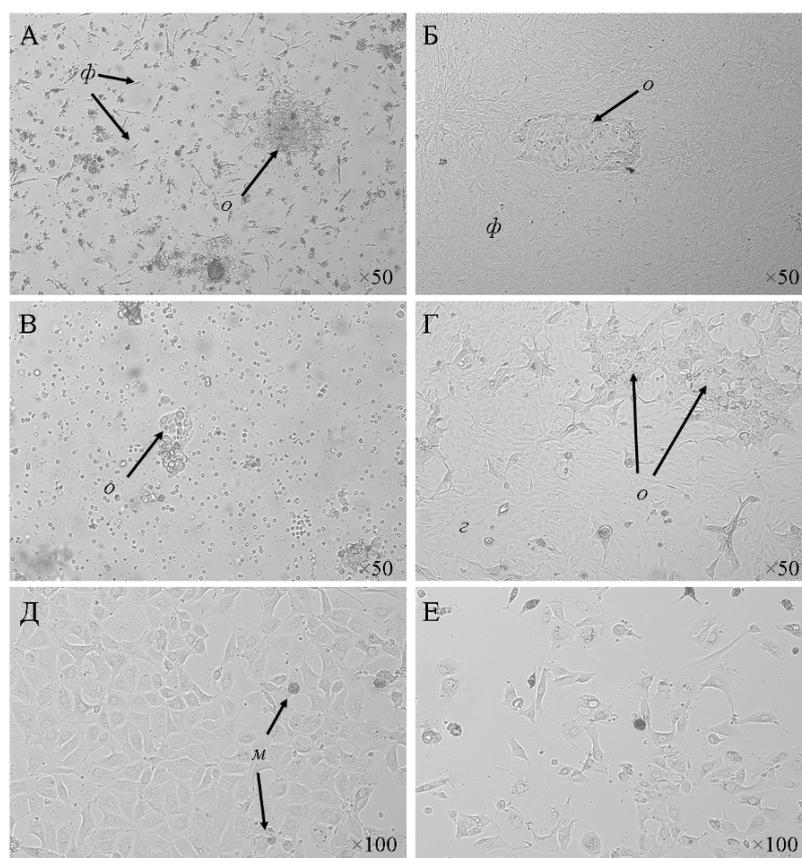


Рис. 2. Вид первичных клеточных линий рака лёгкого. А – клетки после ферментативной диссоциации на 2 сутки культивирования. Б – пролиферация клеток через 7 суток культивирования. В – пролиферация клеток из эксплантата после дезагрегации. Г – первичная культура рака лёгкого, полученная из метастаза в головной мозг. Д – пролиферирующая первичная культура эпителиоподобной морфологии, прошедшая нулевой пассаж. Е – деградация клеточной линии: вакуолизация клеток опухоли. Обозначения: о – клетки опухоли, φ – фибробласты, г – глиальные клетки, м – митозы.

2 суток клетки прикрепились к поверхности флакона, а уже через 7 сут. культивирования наблюдали их пролиферацию (рис. 2В).

Работая с образцами метастазов рака легкого в мозг, зачастую отмечали контаминацию клетками морфологически схожими с глиальными, имеющими веретеновидную форму и полупрозрачные отростки, образующие сеть (рис. 2Г). В отличие от фибробластов, эти клетки не пролиферировали, их пул истощался после каждого пассажа первичных клеточных линий. При большом количестве глиальных клеток проводили дополнительно механическую очистку образца при помощи скрепера под контролем в инвертированном микроскопе в ламинарном боксе.

Во всех культурах, полученных из образцов местнораспространенного рака легкого, наблюдали контаминацию фибробластами (рис. 2Б), для элиминации которых использовали несколько методов очищения. Систему FibrOut™ использовали в 7 образцах. Во всех случаях помимо открепления фибробластов, наблюдали также потерю адгезии и гибель клеток опухоли, что, возможно, было связано с их низкой конфлюентностью (не более 20 %) на поверхности культурального флакона. Используя системы для таргетной элиминации фибробластов необходимо учитывать их возможное токсическое влияние на опухолевые клетки и строго выдерживая концентрацию, подбирать безопасные дозировки и время инкубации. Магнитную сепарацию фибробластов с применением Anti-Fibroblast MicroBeads использовали в 7 случаях. После магнитной сепарации сохранялись жизнеспособные опухолевые клетки, которые быстро прикреплялись к поверхности флакона и в дальнейшем активно пролиферировали. Тем не менее,

удаление фибробластов было неполным, и через некоторое время снова наблюдался их рост, что требовало неоднократного проведения повторных сепараций. При использовании холодной трипсинизации (6 образцов) наблюдали наименее полное удаление фибробластов с поверхности флакона, так как время выдержки с трипсином было строго ограниченным из-за высокой вероятности потери опухолевых клеток. Для поддержания низкого содержания фибробластов требовалось повторное проведение процедуры холодной трипсинизации, которая проводилась в итоге чаще, чем процедура магнитной сепарации фибробластов. Сравнительная характеристика методов удаления фибробластов из первичной культуры рака лёгкого представлена в таблице 1.

По результатам исследования были получены 25 первичных клеточных культур рака легкого, из которых только 15 прошли нулевой пассаж и были криоконсервированы на 1, 2 и 4 пассажах. Клетки успешных линий были распластаны в монослое (конфлюентность – 100 %) по дну флаконов, имели преимущественно полигональную форму, соответствующую эпителиальной морфологии, наблюдались единичные митозы (рис. 2Д). В остальных линиях наблюдали в течение 21 дня постепенную деградацию клеток: вакуолизацию и открепление от адгезионной поверхности (рис. 2Е).

ОБСУЖДЕНИЕ

Процесс создания первичных клеточных культур из опухолей легких сопровождается некоторыми сложностями, по сравнению с другими типами эпителиальных тканей, и вероятность успешного выхода первичных культур клеток рака легких

Таблица 1. Сравнение методов удаления фибробластов из первичной культуры рака лёгкого

	FibrOut™	Anti-Fibroblast MicroBeads	Холодная трипсинизация
Сокращение доли фибробластов, %	100 %	80 %	40 %
Влияние на жизнеспособность клеток опухоли	Оказывает токсическое воздействие на клетки опухоли. Необходим подбор оптимального времени культивирования.	Не оказывало влияния на жизнеспособность клеток опухоли.	Не оказывало влияния на жизнеспособность клеток опухоли.
Оптимальная частота процедуры для достижения эффекта	Культивирование совместно с системой FibrOut™ в течении 3–5 дней. Повтор процедуры не требуется.	Для полного разделения опухолевых клеток и фибробластов необходимо проводить 2–3 процедуры магнитной сепарации.	Для полной элиминации фибробластов необходимо проводить 3–4 процедуры.

составляет не более 40 % [21], что соответствует и нашему опыту. Другие авторы отмечают многоядерность клеток и вакуолизацию цитоплазмы [22], постепенную деграцию опухолевых клеток в ходе длительного культивирования [19].

В данной работе мы применяли методики ферментативной диссоциации с коллагеназой I как наиболее эффективные для получения первичных клеточных линий [19]. Коктейли ферментов активно используются исследователями для получения сфероидов и органоидов рака легкого, имеющих аналогичные свойства и генетические мутации, что и у исходной опухоли [22]. Коллагеназа I постепенно расщепляет коллагеновые фибриллы, при этом становятся доступными новые участки волокна для взаимодействия с ферментом. Деграция коллагена и внеклеточного матрикса приводит к высвобождению клеток из опухолевой ткани [23]. В своей работе мы также подтвердили, что инкубирование образца рака легкого с коллагеназой в течение 1 ч. не угнетает другие клетки, сохраняет их жизнеспособность, адгезивную и пролиферативную способность.

Эксплантаты являются эффективной моделью для тестирования лекарственных препаратов для многих нозологий солидного рака [24]. В частности, в работе Karekla с соавт. эксплантаты немелкоклеточного рака легкого использовались в качестве *ex vivo* модели для оценивания ответа на терапию цисплатином [14]. В нашей работе предполагалось долгосрочное культивирование, в ходе которого, как мы полагали, опухолевые клетки начнут выходить из эксплантата, что наблюдалось в нашей практике ранее при работе с глиальными опухолями [25] и раком предстательной железы, когда миграция клеток опухоли на пластик происходила в течение недели [26]. Однако в настоящей работе во всех случаях длительное культивирование не привело к выходу достаточного количества клеток опухоли из эксплантата на культуральный пластик. Какие биологические особенности рака лёгкого лежат в основе низкой подвижности клеток опухоли в первичной культуре, ещё предстоит установить.

Важным аспектом работы с опухолевым материалом, полученным из ткани лёгких, является удаление фибробластов, в большом количестве присутствующих в данном типе ткани. Известно, что фибробласты являются источником целого ряда сигнальных воздействий, регулирующих пролиферацию и подвижность клеток опухоли как *in situ* [27], так и в культуре [28]. Несмотря на то, что фибро-

бласты могут поддерживать рост клеток опухоли в культуре [29], их чрезмерное разрастание приводит к ограничению пролиферации опухолевых клеток, так как фибробласты в условиях *in vitro* делятся быстрее и постепенно вытесняют клетки опухоли из флакона. В связи с этим тактика регулярного «прореживания» фибробластов с применением методов холодной трипсинизации и магнитного клеточного сортирования, которую мы реализовали в своей работе, является наиболее удачной для образцов с небольшим количеством опухолевых клеток, так как позволяет сохранить сигнальные функции фибробластов при сдерживании их чрезмерного размножения. Однако на более поздних этапах, когда опухолевые клетки достигнут необходимой для успешного культивирования клеточной плотности, а также в образцах с количеством клеток опухоли, изначально достаточным для создания необходимого контактного взаимодействия, поддерживающего их жизнеспособность и пролиферацию, может быть рекомендован переход к более радикальным методам удаления фибробластов, например, к применению коммерческих систем FibrOut™ (CHI Scientific, США) или Genetecin™ (Thermo Fisher Scientific, США), предназначенных для таргетного подавления этого типа клеток.

Наконец, решающим фактором, определяющим успех культивирования первичных клеточных линий, является выбор питательной среды. В своей работе мы не ставили цель подбора оптимальной среды для введения в культуру клеток рак лёгкого, а воспользовались готовыми коммерческими решениями и опытом других авторов. На первом пассаже мы использовали среду Primary Cancer Culture System (PromoCell®, Германия) для первичных клеточных линий с добавками производителя. Используемая нами на более поздних сроках культивирования среда была приготовлена на основе питательной среды DMEM – одной из наиболее распространенных и широко используемых сред при культивировании различных опухолевых клеток, в том числе с высокой скоростью пролиферации [30]. В состав среды также входила фетальная бычья сыворотка (10 %), смесь инсулина-трансферрина-селенита натрия (1 %), 10 нг/мл FGF-2, 10 нг/мл EGF и раствор незаменимых аминокислот (1 %). Сыворотка, незаменимые аминокислоты и добавка инсулина-трансферрина-селенита являются необходимыми компонентами для поддержания жизнедеятельности клеток, проходящих адаптацию к условиям *in vitro* [31; 32].

Наличие факторов роста, таких как фактор роста фибробластов и эпидермальный фактор роста, необходимо для избирательной стимуляции деления злокачественных клеток опухоли, добавление этих факторов в питательную среду культивирования обусловлено небольшими концентрациями их в сыворотке и является популярным приёмом для повышения эффективности получения первичных клеточных линий рака лёгкого. При этом концентрация факторов роста в среде культивирования в различных работах колеблется от 10 нг/мл [16] до 20 нг/мл [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проделанной работы были получены 15 первичных клеточных линий рака лёгкого. Наи-

более эффективным методом получения первичной культуры рака лёгкого оказалась ферментативная диссоциация в коллагеназе I с последующим удалением фибробластов с помощью магнитной сепарации. Полученные клеточные линии могут быть использованы для решения широкого круга исследовательских задач в области экспериментальной онкологии. Первичные культуры клеток рака легкого, в отличие от иммортализованных клеточных линий, претерпевающих генетические aberrации с увеличением числа пассажей, имеют биологические характеристики опухолевых клеток близких или идентичным таковым *in vivo*, что делает их идеальными моделями для доклинических исследований новых лекарственных препаратов, исследования биологических особенностей рака лёгкого, создания ксенографтных моделей и др.

Список источников

1. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021, 252 с. Доступно по: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/11/zis-2020-elektronnayaversiya.pdf>, Дата обращения: 29.10.2022.
2. Saab S, Zalzal H, Rahal Z, Khalifeh Y, Sinjab A, Kadara H. Insights Into Lung Cancer Immune-Based Biology, Prevention, and Treatment. *Front Immunol.* 2020;11:159. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00159>
3. Leitão de Sousa VM, Carvalho L. Heterogeneity in Lung Cancer. *Pathobiology.* 2018;85(1–2):96–107. <https://doi.org/10.1159/000487440>
4. Knight SB, Crosbie PA, Balata H, Chudziak J, Hussell T, Dive C. Progress and prospects of early detection in lung cancer. *Open Biol.* 2017 Sep;7(9):170070. <https://doi.org/10.1098/rsob.170070>
5. Li PJ, Roose JP, Jablons DM, Kratz JR. Bioinformatic Approaches to Validation and Functional Analysis of 3D Lung Cancer Models. *Cancers (Basel).* 2021 Feb 9;13(4):701. <https://doi.org/10.3390/cancers13040701>
6. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток: практическое руководство. М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2010, 691 с.
7. Le H, Seitlinger J, Lindner V, Olland A, Falcoz PE, Benkirane-Jessel N, et al. Patient-Derived Lung Tumors—An Emerging Technology in Drug Development and Precision Medicine. *Biomedicines.* 2022 Jul 12;10(7):1677. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10071677>
8. Gazdar AF, Girard L, Lockwood WW, Lam WL, Minna JD. Lung cancer cell lines as tools for biomedical discovery and research. *J Natl Cancer Inst.* 2010 Sep 8;102(17):1310–1321. <https://doi.org/10.1093/jnci/djq279>
9. Галимова Э. С., Галагудза М. М. Двухмерные и трехмерные модели культур клеток опухолей *in vitro*: преимущества и недостатки. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018;17(3):188–196.
10. Кутилин Д. С., Айрапетова А. Г., Анистратов П. А., Пыльцин С. П., Лейман И. А., Карнаухов Н. С. и др. Изменение копийности генов в опухолевых клетках и внеклеточной ДНК у больных аденокарциномой легкого. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2019;167(6):731–738.
11. Passaro A, Malapelle U, Del Re M, Attili I, Russo A, Guerini-Rocco E, et al. Understanding EGFR heterogeneity in lung cancer. *ESMO Open.* 2020 Oct;5(5):e000919. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2020-000919>
12. Fidler IJ. Biological heterogeneity of cancer: implication to therapy. *Hum Vaccin Immunother.* 2012 Aug;8(8):1141–1142. <https://doi.org/10.4161/hv.19643>
13. Zheng C, Sun Y hua, Ye X lei, Chen H quan, Ji H bin. Establishment and characterization of primary lung cancer cell lines from Chinese population. *Acta Pharmacol Sin.* 2011 Mar;32(3):385–392. <https://doi.org/10.1038/aps.2010.214>

14. Karekla E, Liao WJ, Sharp B, Pugh J, Reid H, Quesne JL, et al. Ex Vivo Explant Cultures of Non-Small Cell Lung Carcinoma Enable Evaluation of Primary Tumor Responses to Anticancer Therapy. *Cancer Res.* 2017 Apr 15;77(8):2029–2039. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1121>
15. Herreros-Pomares A, Zhou X, Calabuig-Fariñas S, Lee SJ, Torres S, Esworthy T, et al. 3D printing novel in vitro cancer cell culture model systems for lung cancer stem cell study. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021 Mar;122:111914. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.111914>
16. Herrero A, Sanchez M, Rey L, Mejía J, Cañas A, Moreno O, et al. Primary lung cancer cell culture from Transthoracic needle biopsy samples. *Cogent Medicine.* 2018 Jul 23;5:1503071. <https://doi.org/10.1080/2331205X.2018.1503071>
17. Mitra A, Mishra L, Li S. Technologies for deriving primary tumor cells for use in personalized cancer therapy. *Trends in Biotechnology.* 2013 Jun;31(6):347–354. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.03.006>
18. Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Сагакянц А. Б., Бондаренко Е. С., Ващенко Л. Н., Кечеджиева Э. Э. и др. Выделение опухолевых стволовых клеток рака молочной железы с применением коллагеназы. *Современные проблемы науки и образования.* 2019;(6):147.
19. Seo J, Park SJ, Kim J, Choi SJ, Moon SH, Chung HM. Effective method for the isolation and proliferation of primary lung cancer cells from patient lung tissues. *Biotechnol Lett.* 2013 Aug;35(8):1165–1174. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1189-3>
20. Kisselbach L, Merges M, Bossie A, Boyd A. CD90 Expression on human primary cells and elimination of contaminating fibroblasts from cell cultures. *Cytotechnology.* 2009 Jan;59(1):31–44. <https://doi.org/10.1007/s10616-009-9190-3>
21. Dai Y, Guo S, Huang S, Zhang J, Zhang Z. Summary of primary culture of human lung cancer cells. *Austin J Cancer Clin Res.* 2018;5(1):1083.
22. Boucherit N, Gorvel L, Olive D. 3D Tumor Models and Their Use for the Testing of Immunotherapies. *Front Immunol.* 2020;11:603640. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.603640>
23. Green ML, Breite AG, Beechler CA, Dwulet FE, McCarthy RC. Effectiveness of different molecular forms of *C. histolyticum* class I collagenase to recover islets. *Islets.* 2017 Nov 2;9(6):177–181. <https://doi.org/10.1080/19382014.2017.1365996>
24. Powley IR, Patel M, Miles G, Pringle H, Howells L, Thomas A, et al. Patient-derived explants (PDEs) as a powerful preclinical platform for anti-cancer drug and biomarker discovery. *Br J Cancer.* 2020 Mar;122(6):735–744. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0672-6>
25. Шамова Т. В., Ситковская А. О., Росторгуев Э. Е., Кузнецова Н. С., Кавицкий С. Э. Получение первичных клеточных линий глиальных опухолей. *Пермский медицинский журнал.* 2020;37(5):79–89.
26. Межева И. В., Шамова Т. В., Ситковская А. О., Шевченко А. Н., Швырев Д. А., Филатова Е. В. и др. Опыт создания первичной культуры рака предстательной железы in vitro. *Современные проблемы науки и образования.* 2020;5:91.
27. Gentles AJ, Hui ABY, Feng W, Azizi A, Nair RV, Bouchard G, et al. A human lung tumor microenvironment interactome identifies clinically relevant cell-type cross-talk. *Genome Biol.* 2020 May 7;21(1):107. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02019-x>
28. Serebriiskii I, Castelló-Cros R, Lamb A, Golemis EA, Cukierman E. Fibroblast-derived 3D matrix differentially regulates the growth and drug-responsiveness of human cancer cells. *Matrix Biol.* 2008 Jul;27(6):573–585. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2008.02.008>
29. Xu Y, Hu YD, Zhou J, Zhang MH. Establishing a lung cancer stem cell culture using autologous intratumoral fibroblasts as feeder cells. *Cell Biol Int.* 2011 May;35(5):509–517. <https://doi.org/10.1042/CBI20100473>
30. Yan X, Zhou L, Wu Z, Wang X, Chen X, Yang F, et al. High throughput scaffold-based 3D micro-tumor array for efficient drug screening and chemosensitivity testing. *Biomaterials.* 2019 Apr;198:167–179.
31. Wu R. Growth of Human Lung Tumor Cells in Culture. 2005, 1–21 p. <https://doi.org/10.1002/0471722782.ch1>
32. Tiran V, Lindenmann J, Brcic L, Heitzer E, Stanzer S, Tabrizi-Wizsy NG, et al. Primary patient-derived lung adenocarcinoma cell culture challenges the association of cancer stem cells with epithelial-to-mesenchymal transition. *Sci Rep.* 2017 Aug 30;7(1):10040. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09929-0>

Информация об авторах:

Межева Ирина Валентиновна ✉ – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7902-7278>, SPIN: 3367-1741, AuthorID: 1011695, ResearcherID: AAI-1860-2019, Scopus Author ID: 57296602900

Ситковская Анастасия Олеговна – к.б.н., заведующая лабораторией клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6035-1756>, SPIN: 1659-6976, AuthorID: 791081, ResearcherID: E-7496-2018, Scopus Author ID: 56381527400

Филиппова Светлана Юрьевна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>, SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784, ResearcherID: AAN-4408-2020, Scopus Author ID: 57189618843

Шамова Татьяна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4555-8556>, SPIN: 5426-1873, AuthorID: 1051985, ResearcherID: AAR-3198-2021, Scopus Author ID: 57221303597

Тимофеева Софья Владимировна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5945-5961>, SPIN: 5362-1915, AuthorID: 1064599, ResearcherID: AAN-4834-2020, Scopus Author ID: 57243356500

Гненная Надежда Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. <https://orcid.org/0000-0002-3691-3317>, SPIN: 9244-2318, AuthorID: 900758, ResearcherID: V-5582-2018, Scopus Author ID: 57214806863

Новикова Инна Арнольдовна – к.м.н., заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. <https://orcid.org/0000-0002-6496-9641>, SPIN: 4810-2424, AuthorID: 726229, ResearcherID: E-7710-2018, Scopus Author ID: 57202252773

Харагезов Дмитрий Акимович – к.м.н., врач-онколог, заведующий отделением торакальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0640-2994>, SPIN: 5120-0561, AuthorID: 733789, ResearcherID: AAZ-3638-2021, Scopus Author ID: 56626499300

Милакин Антон Григорьевич – врач-онколог отделения торакальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2589-7606>, SPIN: 7737-4737, AuthorID: 794734, Scopus Author ID: 57192109933

Лейман Игорь Александрович – к.м.н., врач-онколог отделения торакальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2572-1624>, SPIN: 2551-0999, AuthorID: 735699, Scopus Author ID: 57225151943

Статешный Олег Николаевич – врач-онколог отделения торакальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4513-7548>, SPIN: 9917-1975, AuthorID: 1067071

Росторгуев Эдуард Евгеньевич – д.м.н., заведующий отделением нейроонкологии, врач-нейрохирург, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2937-0470>, SPIN: 8487-9157, AuthorID: 794808, Scopus Author ID: 57196005138

Атмачиди Дмитрий Панаетович – к.м.н., врач-нейрохирург отделения нейроонкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3937-8003>, SPIN: 6800-1457, AuthorID: 794785, Scopus Author ID: 57189576376

Лаптева Татьяна Олеговна – заведующая патологоанатомическим отделением, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6544-6113>, SPIN: 2771-3213, AuthorID: 849370, Scopus Author ID: 55895197300

Волошин Марк Витальевич – врач-патологоанатом патоморфологического отделения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2302-3542>, SPIN: 6122-4084, AuthorID: 969003, ResearcherID: C-5601-2018, Scopus Author ID: 57221474658

Еремин Константин Станиславович – врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9331-3353>, SPIN: 9865-0123, AuthorID: 1150930, ResearcherID: AIE-7050-2022

Сухарь Ирина Александровна – врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1282-4811>, SPIN: 8387-1938, AuthorID: 1147554

Вклад авторов:

Межевова И. В. – обработка материала, написание статьи;
Ситковская А. О. – идея, научное редактирование;
Филиппова С. Ю. – написание статьи, научное и графическое редактирование текста;
Шамова Т. В. – сбор материала;
Тимофеева С. В. – сбор материала;
Гненная Н. В. – сбор материала;
Новикова И. А. – научное редактирование текста;
Харагезов Д. А. – получение опухолевого материала;
Милакин А. Г. – получение опухолевого материала;
Лейман И. А. – получение опухолевого материала;
Статешный О. Н. – получение опухолевого материала;
Росторгуев Э. Е. – получение опухолевого материала;
Атмачиди Д. П. – получение опухолевого материала;
Лаптева Т. О. – гистологическая верификация;
Волошин М. В. – нарезка опухолевого материала;
Еремин К. С. – нарезка опухолевого материала;
Сухарь И. А. – нарезка опухолевого материала.

ИЗМЕНЕНИЕ ПАТОФИЗИОЛОГИИ РОСТА ОПУХОЛИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-ТИРЕОИДНОЙ ОСИ У КРЫС ОБОЕГО ПОЛА ПРИ РАЗВИТИИ КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА НА ФОНЕ ГИПОТИРЕОЗА

Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина[✉], И. В. Каплиева, Е. И. Сурикова, И. В. Нескубина,
Ю. А. Погорелова, Л. К. Трепитаки, Н. Д. Черярина, Л. А. Немашкалова, А. Ю. Аракелова

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
✉ valerryana@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение изменения патофизиологических параметров роста перевивной опухоли и функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси (ГГТ) у крыс обоего пола с карциномой Герена на фоне индуцированного гипотиреоза.

Материалы и методы. У белых беспородных крыс обоего пола с подкожно перевитой карциномой Герена на фоне индуцированного тиреостатиком гипотиреоза (основная группа) изучали динамику роста опухоли и среднюю продолжительность жизни, радиоиммунным и иммуноферментным методами (РИА и ИФА) определяли содержание тиреоидных гормонов в крови, щитовидной железе и в образцах опухоли, тиреотропного рилизинг гормона в гипоталамусе и тиреотропного гормона (ТТГ) в гипофизе. В эксперименте использовали 2 контрольные группы: животные обоего пола с гипотиреозом – контрольная группа № 1 (по 15 животных) и контрольная группа № 2 – самостоятельный рост опухоли – подкожная перевивка карциномы Герена (по 15 животных).

Результаты. У самок крыс гипотиреоз вызвал торможение роста перевивной опухоли и увеличение средней продолжительности жизни в 1,8 раза ($p < 0,05$). У самцов основной группы подобного эффекта не наблюдали. У самок основной группы установлено снижение уровня регуляторных пептидов гипоталамуса и гипофиза, тогда как у самцов уровень ТТГ в гипофизе повышался несмотря на снижение ТГ-рилизинга в 3,5 раза. В щитовидной железе и крови у животных обоего пола установлено снижение содержания ТГ, однако в опухоли установлено падение уровня общего и свободного тироксина (Т4 и FT4) в 1,6 раза и в 2,8 раза соответственно, образцы карциномы Герена у самцов основной группы оставались насыщенными Т4 и FT4 также, как и в контрольной, у животных без индуцированного гипотиреоза.

Заключение. Выявленные в настоящем исследовании половые различия в патофизиологии течения злокачественного процесса на фоне гипотиреоза, а также изменения функциональной активности ГГТ оси у экспериментальных животных, вероятно, могут быть связаны с половыми гормонами, что требует дальнейшего исследования гипоталамо-гипофизарно-гонадной (ГГГ) оси и показателей стероидных гормонов в периферических органах и образцах опухоли.

Ключевые слова:

карцинома Герена, гипотиреоз, гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная ось, тиреоидные гормоны

Для корреспонденции:

Бандовкина Валерия Ахтямовна – д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: valerryana@yandex.ru

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>

SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989

Финансирование: финансирование в рамках государственного задания № 121031100252-6.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Погорелова Ю. А., Трепитаки Л. К., Черярина Н. Д., Немашкалова Л. А., Аракелова А. Ю. Изменение патофизиологии роста опухоли и функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси у крыс обоего пола с карциномой Герена на фоне гипотиреоза. Южно-Российский онкологический журнал. 2022; 3(4): 26-39. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-3>

Статья поступила в редакцию 26.05.2022; одобрена после рецензирования 21.10.2022; принята к публикации 12.12.2022.

© Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Погорелова Ю. А., Трепитаки Л. К., Черярина Н. Д., Немашкалова Л. А., Аракелова А. Ю., 2022

CHANGES IN PATHOPHYSIOLOGY OF TUMOR GROWTH AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-THYROID AXIS IN RATS OF BOTH SEXES WITH THE DEVELOPMENT OF GUERIN'S CARCINOMA ON THE BACKGROUND OF HYPOTHYROIDISM

E. M. Frantsiyants, V. A. Bandovkina✉, I. V. Kaplieva, E. I. Surikova, I. V. Neskubina, Yu. A. Pogorelova, L. K. Trepitaki, N. D. Cheryarina, L. A. Nemashkalova, A. Yu. Arakelova

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ valerryana@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Was to analyze changes in pathophysiological parameters of transplantable tumor growth and functional activity of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis (HPT) in rats of both sexes with Guerin's carcinoma in presence of induced hypothyroidism.

Materials and methods. The dynamics of tumor growth and average life span were assessed in white alley rats of both sexes with Guerin's carcinoma transplanted subcutaneously on the background of thyreostatic induced hypothyroidism. RIA (radioimmune assay) and ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) methods were used to determine levels of thyroid hormones in the blood and thyroid and tumor samples, and thyrotropin-releasing hormone (TRH) in the hypothalamus, as well as TSH in the pituitary gland. The experiment included 2 control groups: animals of both sexes with hypothyroidism (control group 1, number of rodents = 15) and animals with subcutaneously transplanted Guerin's carcinoma without hypothyroidism (control group 2, number of rodents = 15).

Results. Hypothyroidism in female rats inhibited the tumor growth and improved median survival by 1.8 times ($p < 0.05$). No such effect was observed in males of the main group. Levels of regulatory peptides of the hypothalamus and pituitary gland declined in females of the main group, while levels of TSH in the pituitary gland in males increased, despite a decrease in TRH by 3.5 times. TSH levels decreased in the thyroid and blood of animals of both sexes; however, a decrease in levels of total and free circulating thyroxine (T4 and FT4) by 1.6 times and by 2.8 times was found in the tumor, respectively; samples of Guerin's carcinoma in males of the main group remained saturated with T4 and FT4 as well as and in control group rodents without induced hypothyroidism.

Conclusions. The gender differences in the pathophysiology of the tumor development in presence of hypothyroidism, as well as changes in the functional activity of the HPT axis in experimental animals revealed in this study can probably be associated with sex hormones, which requires further study of the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis and steroid hormones in peripheral organs and tumor samples.

Keywords:

Guerin's carcinoma, hypothyroidism, hypothalamic-pituitary-thyroid axis, thyroid hormones

For correspondence:

Valeriya A. Bandovkina – Dr. Sci. (Biol.), senior researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: valerryana@yandex.ru

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>

SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989

Funding: financing within the framework of state task No. 121031100252-6.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Kaplieva I. V., Surikova E. I., Neskubina I. V., Pogorelova Yu. A., Trepitaki L. K., Cheryarina N. D., Nemashkalova L. A., Arakelova A. Yu. Changes in pathophysiology of tumor growth and functional activity of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in rats of both sexes with the development of Guerin's carcinoma on the background of hypothyroidism. South Russian Journal of Cancer. 2022; 3(4): 26-39. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-3>

The article was submitted 26.05.2022; approved after reviewing 21.10.2022; accepted for publication 12.12.2022.

ВВЕДЕНИЕ

Гормоны щитовидной железы (ТГ) являются одними из факторов, оказывающими наибольшее влияние на человеческий организм, и играют ключевую регулирующую роль во многих физиологических процессах, включая клеточный рост, дифференцировку и метаболизм [1; 2]. Синтез и высвобождение ТГ строго контролируется осью гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа (ГГТ ось). В ответ на различные физиологические и экологические раздражители нейроны мелкоклеточных паравентрикулярного ядра секретируют тиреотропин-высвобождающий гормон (ТГ-рилизинг), который стимулирует переднюю долю гипофиза вырабатывать тиреотропный гормон (ТТГ). ТТГ, в свою очередь, регулирует все этапы роста и функции щитовидной железы. С другой стороны, продукция ТГ-рилизинг и ТТГ подвергается отрицательному контролю с помощью ТГ [2].

Щитовидная железа вырабатывает два основных гормона: L-тироксин (Т4) и L-трийодтиронин (Т3). Т4 – это преобладающая форма (более 80 %), секретруемая железой и циркулирующая, тогда как Т3 считается наиболее активной формой, поскольку он связывается с гораздо более высоким сродством с ядерными рецепторами [2; 3]. Свободный трийодтиронин и сводный тироксин (FT3 и FT4) проникают в клетки через трансмембранные белки-переносчики и наиболее известные механизмы их действия основаны на регуляции транскрипции, опосредованной ядерными рецепторами. Однако некоторые клеточные активности инициируются ТГ на плазматической мембране и обозначаются как «негеномные» [2].

ГГТ ось взаимодействует с другими регуляторными осями – гипоталамо-гипофизарно-гонадной (ГГГ) и надпочечниковой. Так, ТГ-рилизинг гормон гипоталамуса способен стимулировать высвобождение пролактина, а ТГ гормоны – регулировать маммотропные эффекты пролактина и влиять на метаболизм половых стероидов [4], с другой стороны активность дейодиназ находится под эндокринным влиянием половых стероидов и пролактина [5].

Гипотиреоз относится к патологическому состоянию дефицита гормонов щитовидной железы. Отсутствие адекватной терапии может привести к серьезным неблагоприятным последствиям для здоровья и, в конечном итоге, к смерти [6]. Гипотиреоз является распространенным заболеванием, поражающим около 5 % населения, и чаще встречается у женщин [7].

Из-за плейотропного действия гормонов щитовидной железы гипотиреоз также может влиять на течение других заболеваний. Механизм связи между дисфункцией щитовидной железы как гипо-, так и гипертиреоза и риском развития рака остается неясным, а сведения эпидемиологических и экспериментальных исследований достаточно противоречивы [8; 9]. В одних исследованиях было установлено, что женщины с гипотиреозом подвержены более высокому риску рака молочной железы, чем женщины без гипотиреоза, а прием левотироксина может снизить риск развития рака молочной железы у женщин с гипотиреозом [10]. В других исследованиях сообщалось, что более высокие уровни ТТГ в крови, как биомаркера гипотиреоза, связаны со снижением риска рака молочной железы [11]. В то время как Khan S. R. с соавт. не выявил в своих исследованиях связь между гипотиреозом и раком молочной железы (РМЖ) [12]. Wang Y. с соавт. сообщали, что высокие уровни ТТГ в сыворотке улучшают результаты лечения рака головы и шеи, глиомы и РМЖ, но связаны с плохими результатами лечения почечно-клеточного рака [13].

В то же время экспериментальные данные показали, что Т4 и Т3 обладают пролиферативным и антиапоптотическим действием на опухолевые клетки рака молочной железы, регулируя экспрессию генов и стимулируя эстрогеноподобные эффекты [9; 14]. Роль ТГ в патофизиологическом механизме пролиферации и дифференцировки в клетках злокачественных опухолей остается спорным, однако известно, что их повышенный уровень может коррелировать с худшим прогнозом течения заболевания [15].

Повышение риска возникновения злокачественных новообразований различных локализаций под влиянием приема тиреоидных гормонов для лечения гипотиреоза может быть объяснено тем фактом, что ТГ усиливают активацию митохондриальной функции, ответственной за перепроизводство активных форм кислорода (АФК). Повышенный уровень АФК может быть связан с усилением окислительного стресса в организме и дальнейшим развитием рака. Предыдущие исследования показали, что окислительный стресс может нарушать функцию клеток и, следовательно, приводит к ряду хронических болезненных состояний, включая рак и аутоиммунные заболевания [16].

Однако, поскольку механизмы, объясняющие связь между дисфункцией щитовидной железы и риском развития рака, так до конца и не опреде-

лены, необходим новый подход для дальнейшего изучения причинно-следственной связи между ними. Экспериментальная животная модель, с учетом половой принадлежности, может быть лучшим вариантом для определения возможного биологического механизма.

Цель исследования: изучение изменения патофизиологических параметров роста перевивной опухоли и функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси (ГГТ), у крыс обоего пола с карциномой Герена на фоне индуцированного гипотиреоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на белых беспородных крысах обоего пола массой 150–180 г. Животные были получены из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (филиал «Андреевка», Московская область). Лабораторные животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 2010/63/EU), а также в соответствии с «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Манипуляции с животными производили в боксе с соблюдением общепринятых правил асептики и антисептики.

В работе использовали штамм карциномы Герена, полученный из ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Материал для трансплантации получали от крыс-доноров на 12–16 сутки роста опухоли. Трансплантацию карциномы Герена животным осуществляли путем стандартного введения опухолевой взвеси под кожу правой лопатки в объеме 0,5 мл взвеси клеток в разведении 1:10 в физиологическом растворе.

Белые беспородные крысы обоего пола в течение 30 дней получали фармакопейный тиреостатик – препарат «мерказолил» («Акрихин» Россия) (действующее вещество Thiamazole) в суточной дозе 2,5 мг/100 г веса (суммарная доза составила 75 мг/100 г веса). Животные не отказывались от еды, прибавили в весе, зарегистрировано ухудшение внешнего вида кожи и волосяного покрова,

вялость и сонливость. Гипотиреоз у животных подтверждали определением содержания в сыворотке крови общего тироксина и тиреотропного гормона радиоиммунным методом (РИА) с помощью стандартных наборов (Immunotech, Чехия) через 30 дней приема тиреостатика. Животные каждого пола были разделены на следующие группы:

Основная группа – после получения стойкого гипотиреоза для исследования его влияния на рост злокачественных опухолей группам животных обоего пола (по 15 самок и 15 самцов) подкожно перевивали карциному Герена

Контрольная группа № 1 животные обоего пола с гипотиреозом ($n = 15$ самок и $n = 15$ самцов)

Контрольная группа № 2 животные обоего роста ($n = 15$ самок и $n = 15$ самцов) с подкожной перевивкой карциномы Герена в той же дозе и объеме, что и у животных из основных групп.

Интактные животные обоего пола (по 10 шт.).

Животных с опухолевым ростом – контрольной группы № 2 и основной группы – декапитировали спустя 14 суток роста карциномы Герена. Животных контрольной группы № 1 и интактных крыс декапитировали в те же сроки, что и основную группу. В крови и 10 % гомогенатах опухоли, перифокальной зоне, щитовидной железе и 1 % гомогенатах гипофизов радиоиммунным анализом (РИА методом) с помощью стандартных наборов определяли уровень тиреоидных гормонов и ТТГ, в 1 % гомогенатах гипоталамусов иммуноферментным методом (ИФА) методом определяли уровень ТГ-рилизинга.

Кроме того, у 60 крыс обоего пола (по 15 животных) исследовали динамику роста опухоли и среднюю продолжительность жизни при росте карциномы Герена в самостоятельно варианте и на фоне индуцированного гипотиреоза.

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Полученные данные подвергали анализу на соответствие нормальному закону распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка (для малых выборок). Сравнение количественных данных в группах проводили с использованием t – критерия Стьюдента и Манна-Уитни. Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего, за уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$. Полученные результаты статистически обрабатывали с соблюдением общих рекомендаций для медицинских исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Особенности роста опухолей при стандартной перевивке карциномы Герена и перевивке на фоне гипотиреоза у крыс обоего пола представлены в таблицах 1 и 2. Подкожная опухоль у самок крыс основной группы начала определяться через 4 дня после перевивки, опухоль перевивалась у 80 % самок, тогда как у 20 % крыс-самок с гипотиреозом

карцинома Герена не воспроизвелась. В контрольной группе опухоль также определялась через 4 суток, перевиваемость составила 100 %. У самок основной группы на всех этапах измерения опухолей средний объем был меньше, чем в контрольной группе: через 4 день в 1,3 раза, через 7 и 10 дней в 1,4 раза, через 14 дней в 1,5 раза, через 18 дней в 1,3 раза и через 21 день в 1,4 раза ($p < 0,05$). При этом выживаемость крыс-самок основной группы

Таблица 1. Динамика роста опухолей и выживаемость у самок крыс с карциномой Герена

Сроки исследования	Основная группа Гипотиреоз + карцинома Герена (V опухолей см ³)	Контрольная группа Карцинома Герена (V опухолей см ³)
4 дня	0,12 ± 0,01 ¹	0,16 ± 0,06
7 дней	2,28 ± 0,53 ¹	3,18 ± 0,33
10 дней	13,21 ± 0,93 ¹	18,40 ± 2,42
14 дней	27,28 ± 1,62 ¹	44,76 ± 3,98
18 дней	55,94 ± 5,4 ¹	70,30 ± 4,78
21 день	75,73 ± 6,88 ¹	107,96 ± 9,01
Появление алопеции на коже	Начиная с 11 суток	Нет
Появление некроза на коже	Нет	Начиная с 14 суток
Средняя продолжительность жизни (сутки)	29,3 ± 1,2 ¹	18,2 ± 1,4
Гибель первого животного в группе	24 сутки	13 сутки
Гибель последнего животного в группе	33 сутки	26 сутки

Примечание: 1 – статистически значимые различия по сравнению с показателями у животных контрольной группы $p < 0,05$.

Таблица 2. Динамика роста опухолей и выживаемость у самцов крыс с карциномой Герена на фоне гипотиреоза

Сроки исследования	Основная группа Гипотиреоз + карцинома Герена (V опухолей см ³)	Контрольная группа Карцинома Герена (V опухолей см ³)
4 дня	0,04 ± 0,004 ¹	0,50 ± 0,04
7 дней	0,5 ± 0,002 ¹	3,82 ± 0,27
10 дней	7,94 ± 0,80 ¹	14,74 ± 1,15
14 дней	15,61 ± 1,40 ¹	40,68 ± 3,81
18 дней	44,90 ± 3,74	52,84 ± 5,48
21 день	72,93 ± 7,09	77,50 ± 6,25
Появление некроза на коже	Нет	Начиная с 7 суток
Средняя продолжительность жизни (сутки)	23,7 ± 2,1	20,0 ± 1,3
Гибель первого животного в группе	20 сутки	14 сутки
Гибель последнего животного в группе	25 сутки	24 сутки

Примечание: 1 – статистически значимые различия по сравнению с показателями у животных контрольной группы $p < 0,05$.

оказалась в 1,6 раза ($p < 0,05$) больше по сравнению с крысами контрольной группы. Первая гибель животных основной группы наступила через 24 дня, на 11 дней позже, по сравнению с первой гибелью животных контрольной группы.

Исследование динамики роста перевивной карциномы Герена на фоне гипотиреоза у самцов крыс представлено в таблице 2. Подкожная опухоль у самцов крыс основной группы и контрольной группы в 100 % случаев начала определяться через 4 дня после перевивки. У самцов основной группы по сравнению с показателями у контрольных животных средний объем опухоли на этапах эксперимента с 4 по 14 день оказался меньше: через 4 суток в 13,3 раза, через 7 дней в 7,5 раза, через 10 дней в 1,9 раза, через 14 дней в 2,6 раза ($p < 0,05$). Однако через 18 дней и через 21 сутки не выявлено значимых отличий в объемах опухоли. Средняя продолжительность жизни у животных не имела значимых отличий, по сравнению с показателями у самцов контрольной группы.

Учитывая половые различия во влиянии гипотиреоза на рост перевивной карциномы Герена, далее нами были проведены исследования уровня ТГ, а также основных регуляторов ГГТ оси в крови и тканях. Показатели содержания ТГ и ТТГ в крови у крыс контрольных и основных групп представлены в таблице 3.

Было установлено, что у самок и самцов крыс с индуцированным гипотиреозом (контрольная группа № 1) в крови уровень общего Т4 оказался ниже, чем у интактных животных в 7,3 раза и в 2 раза соответственно, а ТТГ повышен в 1,6 раза и в 1,5 раза. Кроме того, у самцов крыс оказался снижен в 1,3 раза уровень общего Т3. При этом нами не установлено изменение содержания в крови свободных форм тиреоидных гормонов у животных обоего пола.

Оказалось, что рост карциномы Герена (животные контрольной группы 2) также повлиял на содержание тиреоидных гормонов в крови. Так, у самок крыс с опухолевым ростом по сравнению с показателями у интактных животных снизился уровень не только общего Т4 в 2,0 раза, но и свободных форм тироксина и трийодтиронина (FT4 и FT3) в среднем в 1,4 раза, несмотря на повышенное в 1,6 раза содержание общего Т3 и отсутствие изменения концентрации ТТГ.

У самцов контрольной группы № 2 установлено снижение как общих форм ТГ: Т4 – в 4,7 раза, Т3 – в 2,8 раза, но и свободных форм – FT4 – в 2 раза и FT3 – в 1,3 раза, на фоне повышенного – в 1,8 раза уровня ТТГ.

У самок основной группы в крови уровень общих форм тиреоидных гормонов был ниже, чем у интактных животных Т4 2,3 раза и Т3 в 1,9 раза. Концен-

Таблица 3. Уровень тиреоидных гормонов в сыворотке у крыс обоего пола

Группы	FT4 Моль/л	FT3 пМоль/л	T4 пМоль/л	T3 пМоль/л	ТТГ мкМЕ/мл
Самки					
Интактная	15,73 ± 0,37	5,85 ± 0,14	61,29 ± 1,33	1,07 ± 0,06	0,085 ± 0,0015
Контрольная группа № 1	19,35 ± 1,20	5,82 ± 0,17	8,45 ± 0,28 ¹	0,95 ± 0,07	0,14 ± 0,006 ¹
Контрольная группа № 2	11,25 ± 0,14 ¹	4,17 ± 0,11	28,12 ± 0,79 ¹	1,76 ± 0,08 ¹	0,07 ± 0,004 ²
Основная группа	8,85 ± 0,34 ^{1,2,3}	3,5 ± 0,13 ^{1,2}	26,70 ± 0,92 ^{1,2}	0,55 ± 0,02 ^{1,2,3}	0,07 ± 0,003 ²
Самцы					
Интактная	20,11 ± 0,90	5,83 ± 0,30	75,77 ± 1,15	1,46 ± 0,07	0,083 ± 0,003
Контрольная группа № 1	17,18 ± 0,18	6,15 ± 0,26	38,51 ± 0,70 ¹	1,11 ± 0,06 ¹	0,122 ± 0,004 ¹
Контрольная группа № 2	9,86 ± 0,44 ^{1,2}	4,32 ± 0,19 ^{1,2}	15,98 ± 0,64 ^{1,2}	0,72 ± 0,03 ^{1,2}	0,140 ± 0,005 ¹
Основная группа	5,72 ± 0,35 ^{1,2,3}	1,85 ± 0,08 ^{1,2,3}	11,32 ± 0,48 ^{1,2,3}	0,52 ± 0,03 ^{1,2,3}	0,310 ± 0,011 ^{1,2,3}

Примечание: значимые различия по сравнению: 1 – с интактными животными соответствующего пола; 2 – с контрольной группой № 1; 3 – с контрольной группой № 2 ($p < 0,05$).

трация FT4 и FT3 также была ниже нормы в 1,8 раза и в 1,7 раза соответственно. При этом содержание T4 было выше, чем у животных с самостоятельным гипотиреозом в 3,2 раза, но не имело значимых отличий от показателей у самок в контроле № 2, а концентрация T3 была ниже в 1,7 раза по сравнению с показателями контрольной группы № 1 и в 3,2 раза по сравнению с контрольной группой № 2. Уровень FT4 в крови у самок основной группы был ниже, чем при гипотиреозе в 2,2 раза, а по сравнению с самостоятельным ростом опухоли – в 1,3 раза, тогда как концентрация FT3 в крови оказалась ниже, чем при гипотиреозе в 1,7 раза и не имела значимых отличий от показателей при самостоятельном росте карциномы Герена. Уровень ТТГ в крови самок основной группы был в 2 раза ниже, чем у животных с гипотиреозом, и не отличался от показателей у интактных животных и животных с самостоятельным опухолевым ростом.

У самцов основной группы концентрация T4 в крови оказалась ниже, чем у интактных животных в 6,7 раз, по сравнению с гипотиреозом в 3,4 раза, по сравнению с самостоятельным опухолевым ростом в 1,4 раза. Содержание T3 также было ниже по сравнению с показателями: интактных животных в 2,8 раза; самцов с гипотиреозом – в 2,1 раза, с уровнем животных с опухолевым ростом – в 1,4 раза. Что касается свободных форм, то их содержание в крови самцов основной группы было ниже, чем у интактных животных и в контрольных группах № 1 и № 2: FT4 – 3,5 раза, в 3 раза и в 1,7 раза соответственно, а FT3 – в 3,2 раза, 3,3 раза и в 2,3 раза соответственно. Уровень ТТГ у самцов основной группы превышал показатели у интактных животных в 3,9 раза, контроля 1 – в 2,6 раза, контроля 2 в 2,2 раза.

Далее было проведено исследование центральных звеньев регуляции ГГТ оси, а именно: уровня ТГ-рилизинга в гипоталамусе и ТТГ в гипофизе у животных основной и контрольных групп (табл. 4).

Установлено, что у самок крыс как основной, так и контрольных групп № 1 и № 2 содержание ТГ-рилизинга в гипоталамусе было ниже, чем у интактных самок в 2,9 раза, в 2,1 раза и в 2,2 раза соответственно. Следует отметить, что у животных контрольной группы № 1 концентрация ТГ-рилизинга была ниже, чем в основной и контрольной группе № 2 в среднем в 1,4 раза. Только у самок крыс основной группы выявлено снижение содержания ТТГ в гипофизе в среднем в 1,4 раза по сравнению с интактными и животными контрольных групп.

У самцов крыс уровень ТГ-рилизинга в гипоталамусе был ниже нормы, а ТТГ в гипофизе выше, только у животных самостоятельным гипотиреозом и сочетанным с опухолевым ростом – в контрольной группе № 1 и основной группе – в 2,2 раза и в 3,5 раза соответственно, и в 1,4 раза и в 1,2 раза соответственно. При самостоятельном росте карциномы Герена не выявлено значимых отличий в содержании этих регуляторных пептидов.

Далее провели исследование уровня тиреоидных гормонов и ТТГ в периферическом органе – щитовидной железе (табл. 5).

Установлено, что у самок крыс контрольных и основной групп в щитовидной железе в разной степени выраженности найдено снижение уровня T4 и T3, на фоне нормального содержания ТТГ в контрольных группах и повышения в 2,9 раза в основной группе. Максимальное снижение уровня общих форм T4 и T3 в щитовидной железе – в 24,2 раза и 51,3 раза установлено в контрольной группе № 1, у самок крыс контрольной группы № 2 и основной

Таблица 4. Содержание ТГ-рилизинг гормона в гипоталамусе и ТТГ в гипофизе крыс при росте карциномы Герена на фоне гипотиреоза

Группы	Самки		Самцы	
	ТГ-рилизинг гипоталамус (пг/гтк)	ТТГ гипофиз (мМЕ/гтк)	ТГ-рилизинг гипоталамус (пг/гтк)	ТТГ гипофиз (мМЕ/гтк)
Интактная	42,57 ± 2,24	0,28 ± 0,015	30,7 ± 1,78	0,25 ± 0,015
Контрольная 1	14,6 ± 0,56 ^{1,3}	0,28 ± 0,019	14,2 ± 0,64 ^{1,3}	0,35 ± 0,012 ^{1,3}
Контрольная 2	20,5 ± 1,21 ^{1,2}	0,29 ± 0,017	36,1 ± 1,22 ²	0,27 ± 0,016 ²
Основная	19,26 ± 1,10 ^{1,2}	0,20 ± 0,01 ^{1,2,3}	8,7 ± 0,47 ^{1,2,3}	0,31 ± 0,026 ¹

Примечание: значимые различия по сравнению: 1 – с интактными животными соответствующего пола; 2 – с контрольной группой 1; 3 – с контрольной группой 2 ($p < 0,05$).

группы уровень Т4 и Т3 оказался ниже значений интактных животных в 3,1 и 2,6 раза и в 9,5 и 5,1 раза соответственно.

Концентрации свободных форм FT4 и FT3 в щитовидной железе у самок крыс контрольной группы № 1, несмотря на низкий уровень общих форм, были

повышены, по сравнению с интактными животными в 1,4 раза и в 2 раза соответственно. В контрольной группе № 2 уровень FT4 и FT3 в щитовидной железе оказался выше нормы в 1,6 раз и в 2,6 раза. В основной группе, содержание FT4 не имело значимых отличий от показателей у интактных живот-

Таблица 5. Уровень тиреоидных гормонов и ТТГ в щитовидной железе у крыс

Группы	FT4 пМ/гтк	FT3 пМ/гтк	T4 пМ/гтк	T3 пМ/гтк	ТТГ мкМЕ/гтк
Самки					
Интактная	37,52 ± 2,17	45,94 ± 1,68	29,50 ± 0,97	3,59 ± 0,11	1,97 ± 0,05
Контрольная группа № 1	52,95 ± 1,23 ¹	91,86 ± 1,52 ¹	1,22 ± 0,05 ^{1,3}	0,07 ± 0,004 ^{1,3}	1,57 ± 0,07
Контрольная группа № 2	61,31 ± 0,66 ¹	119,61 ± 12,18 ¹	9,57 ± 0,51 ^{1,2}	1,43 ± 0,06 ^{1,2}	1,63 ± 0,058
Основная группа	31,90 ± 0,65 ^{1,2,3}	24,41 ± 0,62 ^{1,2,3}	3,19 ± 0,17 ^{1,2,3}	0,72 ± 0,04 ^{1,2,3}	5,71 ± 0,13 ^{1,2,3}
Самцы					
Интактные	23,66 ± 0,49	21,79 ± 0,68	26,61 ± 1,06	5,37 ± 0,28	0,26 ± 0,01
Контрольная группа № 1	14,21 ± 0,83 ^{1,3}	7,94 ± 0,33 ¹	9,55 ± 0,45 ^{1,3}	0,59 ± 0,03 ^{1,3}	1,43 ± 0,05 ^{1,3}
Контрольная группа № 2	59,89 ± 1,14 ^{1,2}	9,03 ± 0,37 ¹	91,90 ± 1,89 ^{1,2}	7,41 ± 0,36 ^{1,2}	0,20 ± 0,07 ^{1,2}
Основная группа	7,99 ± 0,96 ^{1,2,3}	2,18 ± 0,14 ^{1,2,3}	9,19 ± 0,23 ^{1,3}	1,21 ± 0,08 ^{1,2,3}	0,15 ± 0,004 ^{1,2,3}

Примечание: значимые различия по сравнению: 1 – с интактными животными соответствующего пола; 2 – с контрольной группой № 1; 3 – с контрольной группой № 2 ($p < 0,05$).

Таблица 6. Уровень тиреоидных гормонов и ТТГ в опухоли и перифокальной зоне (п/з) у крыс с карциномой Герена (группа контроль) и гипотиреоз+карцинома Герена (основная группа)

Группы	FT4 пМ/гтк	FT3 пМ/гтк	T4 пМ/гтк	T3 пМ/гтк
Самки				
Опухоль контроль	4,85 ± 0,23	3,88 ± 0,20	25,32 ± 0,41	0,52 ± 0,02
П/з группа контроль	3,12 ± 0,16	1,18 ± 0,06	14,40 ± 0,29	0,48 ± 0,02
Опухоль основная группа	1,73 ± 0,03 ¹	2,40 ± 0,07 ¹	16,11 ± 0,32 ¹	0,59 ± 0,02
П/з основная группа	3,32 ± 0,11	1,30 ± 0,07	20,91 ± 0,42 ²	0,55 ± 0,02
Самцы				
Опухоль группа контроль	1,47 ± 0,08	4,17 ± 0,14	23,83 ± 0,69	0,53 ± 0,03
П/з группа контроль	4,57 ± 0,10	2,17 ± 0,055	19,61 ± 0,56	0,51 ± 0,01
Опухоль основная группа	1,73 ± 0,06	3,12 ± 0,13 ¹	20,33 ± 0,54	0,52 ± 0,03
П/з основная группа	1,41 ± 0,04 ²	0,27 ± 0,01 ²	28,20 ± 0,88 ²	0,52 ± 0,24

Примечание: значимые различия по сравнению: 1 – с опухолью контрольной группы соответствующего пола; 2 – с перифокальной зоной контрольной группы соответствующего пола ($p < 0,05$).

ных, а FT3 в щитовидной железе самок было ниже в 1,9 раза.

У самцов крыс с гипотиреозом самостоятельным и сочетанным с опухолевым ростом в щитовидной железе также отмечено сниженное содержание общих и свободных форм тиреоидных гормонов. Так, уровень T4 у самцов контрольной группы № 1 и основной группы был ниже, чем у интактных животных в среднем в 2,8 раза, T3 в 8,5 раза и в 4,3 раза соответственно; концентрация FT4 – ниже в 1,7 раза и в 3 раза соответственно, а FT3 – в 2,7 раза и в 10,3 раза соответственно. При самостоятельном росте карциномы Герена напротив, уровень T4 и T3 был выше нормы в 3,5 раза и в 1,4 раза соответственно, а FT4 – в 2,5 раза. Только содержание FT3 в самцов крыс с опухолевым ростом оказалось ниже, чем у интактных животных в 2,4 раза. У самцов с гипотиреозом уровень ТТГ в щитовидной железе был выше, чем у интактных животных в 5,4 раза, тогда как в основной группе концентрация ТТГ напротив – ниже в 1,7 раза.

Далее провели исследование уровня тиреоидных гормонов в опухоли и ее перифокальной зоне у животных с самостоятельным ростом карциномы Герена и сочетанным с гипотиреозом (табл. 6).

Было установлено, что у самок основной группы в опухоли уровень общего T4 был ниже в 1,6 раза, а FT4 – в 2,8 раза, а FT3 – в 1,6 раза по сравнению с образцами самостоятельно растущей карциномы Герена. При этом значимых отличий в уровне общего T3 в контрольной и основной группах не отмечено.

В перифокальной зоне у самок основной группы только уровень T4 оказался в 1,5 раза выше, чем у животных контрольной группы, а содержание T3, FT3 и FT4 не имело значимых отличий от показателей в перифокальной зоне самок контрольной группы.

У самцов крыс основной группы, по сравнению с контрольной, в образцах опухоли содержание T4, T3 и FT4 не имело значимых различий, а снижен был только FT3 в 1,3 раза. В перифокальной зоне у самцов основной группы уровень T4 был выше в 1,4 раза, T3 не имел значимых отличий от показателей в группе контроля, тогда как FT4 оказался в 2,7 раза ниже, а FT3 в 8 раз, по сравнению с группой контроля.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наши исследования показали, что рост перевитой подкожно карциномы Герена на фоне гипотиреоза имел половую специфичность: у самок

опухоль перевивалась только в 80 % случаев, наблюдалось торможение роста опухоли, продолжительность жизни животных увеличивалась. У самцов крыс карцинома Герена подкожно перевивалась, как и в контрольной группе в 100 % случаев, некоторое замедление роста опухоли выявлено до 14 суток, но затем объем опухоли нарастал, и продолжительность жизни не имела значимых отличий от показателей у самцов контрольной группы. Мы предполагаем, что существенное увеличение средней продолжительности жизни у самок крыс основной группы по сравнению с контрольной может свидетельствовать о снижении агрессивности течения заболевания и быть связанным с изменением функциональной активности ГГТ-оси, как центральных регуляторных звеньев, так и периферических, а также непосредственно локальным содержанием ТГ в образцах опухоли. В тоже время особый интерес представляет основная группа самцов, у которых, несмотря на наличие гипотиреоза, не выявлено изменения средней продолжительности жизни животных. В связи с такими половыми различиями течения злокачественного процесса на фоне коморбидной патологии, в первую очередь стоит обратить внимание на различия в функционировании ГГТ оси животных контрольных групп № 1.

Экспериментальный гипотиреоз, индуцированный у крыс обоего пола и подтвержденный результатами анализа крови, с повышенным уровнем ТТГ и сниженным T4, сопровождался также снижением в гипоталамусе содержания ТГ-рилизинга, без изменения у самок, но повышением у самцов в гипофизе ТТГ. При этом в щитовидной железе у животных обоего пола выявлено снижение общих форм ТГ, и свободных форм ТГ только у самцов. То есть мы можем отметить половые различия функционирования гипофиза и щитовидной железы в ответ на воздействие тиреостатика. Известно, что в большей мере гипотиреоз поражает женскую часть населения [17], возможно, что выявленное в эксперименте повышение уровня ТТГ в гипофизе у самцов в ответ на низкие концентрации ТГ-рилизинга в гипоталамусе свидетельствует о большей сопротивляемости мужского организма к воздействию тиреостатика. Литературные данные свидетельствуют о том, что центральный гипотиреоз встречается достаточно редко и в равной степени поражает оба пола, чаще связан с нарушениями функционирования гипофиза, чем с гипоталамусом, но часто включает и то, и другое [18].

Так как в нашем исследовании было установлено, что у самок, в отличие от самцов, гипотиреоз оказывал тормозящее действие на рост перевитой подкожно карциномы Герена, для рассмотрения возможных механизмов половой специфичности функционирования ГГТ оси у животных с ростом злокачественной опухоли на фоне гипотиреоза представляет особый интерес проанализировать каким же образом самостоятельный рост карциномы Герена повлиял на факторы ГГТ оси.

Литературные данные свидетельствуют о том, что под влиянием многих факторов, включая голодание, травму, инфаркт миокарда, инфекцию, хирургическое вмешательство, воспаление и т.д. у пациентов с нормальной функцией щитовидной железы возникает ряд нарушений уровня тиреоидных гормонов, в сыворотке крови отмечают снижение уровня ТГ, без повышения уровня ТТГ, усугубляющееся с увеличением тяжести и продолжительности заболевания. Такое состояние называют синдромом слабости эутиреоза, синдром эутиреоидной болезни или low3/low4 синдромом. При этом, нарушение уровня гормонов щитовидной железы является вторичным по отношению к различным клиническим заболеваниям из-за нормальной первичной функции щитовидной железы [19; 20].

В тоже время функционирование ГГТ оси при росте злокачественных опухолей имеет свои особенности. Для больных раком различных локализаций характерны разнонаправленные изменения тиреоидных гормонов в крови, контролируемые или не контролируемые ТТГ [21; 22]. Специфика изменения тиреоидного гормонального фона у онкологических больных также может быть связана с наличием или отсутствием метастазов [23] или коморбидных заболеваний [24]. Кроме того, в экспериментальных исследованиях показано, что функциональные изменения ГГТ оси имеют половую специфичность. Так, в эксперименте с перевивной меланомы B16/F10 мышам линии C57Bl6, выявлена глубокая гипопункции щитовидной железы с потерей контроля гипофизом у самцов и нормальная продукция общих форм ТГ, при уменьшении свободных форм гормона у самок [25–27].

В настоящем исследовании нами было установлено, что в ответ на самостоятельный рост опухоли только у самок крыс в гипоталамусе был снижен уровень ТГ-рилизинга, тогда как у самцов он оставался в пределах нормы. При этом, у животных обоего пола содержание ТТГ в гипофизе не изме-

нялось. То есть в данном случае только для самок оказалось характерным вовлеченность центрального звена регуляции в изменение функциональной активности ГГТ оси. В результате в щитовидной железе у самок–опухоленосителей выявлено снижение уровня общих, но повышение содержания свободных форм ТГ, тогда как у самцов напротив, повышение общих форм ТГ и FT4, но снижение FT3.

Несмотря на половые различия в гормональной насыщенности щитовидной железы, в крови у самцов с карциномой Герена выявлено снижение уровня как общих, так и свободных форм ТГ, сопровождающееся высоким содержанием ТТГ, что соответствует клиническому гипотиреозу. У самок с карциномой Герена в крови, на фоне нормального содержания ТТГ определяли низкие показатели Т4, FT4 и FT3, что соответствует lowT3/lowT4 синдрому.

Известно, что синдром тиреоидной недостаточности связан с системными изменениями в иммунной и эндокринной системах. В современной литературе сообщается, что его специфические механизмы в основном включают изменения в метаболизме гормонов щитовидной железы, секреции ТТГ, белка, связывающего ТГ в сыворотке, трансмембранном транспорте гормонов щитовидной железы, ядерных рецепторах. Следовательно, при синдроме низкого FT3 различные факторы приводят к аномальному ответу организма и нарушениям метаболизма, регуляции, трансмембранного транспорта и связывания рецепторов гормонов щитовидной железы [20]. Большая часть литературы показывает, что гипотиреоидное состояние коррелирует с тяжестью заболевания, а снижение уровня FT3 может использоваться как прогностический маркер неблагоприятного течения заболевания [28].

Таким образом, мы установили, что исследованные контрольные группы – гипотиреоз и самостоятельный рост карциномы Герена, имели половую специфичность изменения активности звеньев ГГТ оси. В ответ на рост опухоли только у самок крыс снижался уровень ТГ-рилизинга в гипоталамусе, тогда как гипотиреоз вызывал снижение содержания регуляторного пептида у животных обоего пола. Только у самцов гипотиреоз вызывал разнонаправленные изменения уровня регуляторных пептидов в гипоталамусе и гипофизе (ТГ-рилизинга и ТТГ). Только у самцов рост карциномы Герена вызывал накопление общих форм ТГ в щитовидной железе, на фоне низкого содержания в крови. Поэтому особый интерес представляло изучение

роста злокачественной опухоли на фоне гипотиреоза у животных обоего пола – основная группа нашего исследования.

В основной группе выявлена половая специфичность изменения активности звеньев ГГТ оси, что вероятно явилось одной из причин замедления роста опухоли только у самок, в отличие от самцов, так как известно, что гормоны щитовидной железы играют ключевую роль в пролиферации и дифференцировке солидных опухолей [9].

У самок крыс основной группы торможение роста карциномы Герена на фоне гипотиреоза выявлено при снижении уровня не только ТГ-релизинга в гипоталамусе, но и ТТГ в гипофизе на фоне низкого содержания общих форм ТГ и FT3 как в периферическом органе, так и в крови. Следует отметить, что содержание ТТГ в щитовидной железе оказывается резко повышено, однако без выхода в кровь.

У самцов основной группы не выявлено торможение опухолевого роста, аналогично самкам, при этом у самцов на фоне снижения уровня ТГ-релизинга в гипоталамусе, уровень ТТГ в гипофизе даже повышался. Судя по показателям ТГ и ТТГ в крови у самцов основной группы дисфункция щитовидной железы по типу гипотиреоза усугублялась, так как уровень ТТГ в крови возрастал, по сравнению с контрольными группами, а содержание ТГ снижалось еще больше, кроме того в щитовидной железе установлены минимальные, по сравнению с контрольными группами, показатели свободных форм ТГ и сниженный, как при самостоятельном гипотиреозе уровень Т4.

Есть экспериментальные исследования, показывающие, что индуцированный гипотиреоз у крыс снижает заболеваемость раком молочной железы и объем опухоли, а также увеличивает латентный период развития опухоли, но когда этих крыс лечили тироксином, то противораковые защитные эффекты гипотиреоза были обращены вспять [29].

Мы предполагаем, что противоречивые клинические данные о роли дисфункции щитовидной железы на риск возникновения рака различных локализаций могут быть связаны с половой спецификой, а также с гормональной зависимостью опухоли, которая может определяться гистологической структурой, степенью дифференцировки, а также полиморфизмом различных генов и многими другими моментами. В связи с этим интерес представляет локальная насыщенность тиреоидными гормонами опухоли и ее перифокальной зоны в зависимости от состояния ГГТ оси.

В нашем исследовании было установлено, что у животных с самостоятельным ростом карциномы Герена в образцах опухоли содержание Т4, Т3 и FT3 у самок и самцов было одинаковым, и средняя продолжительность жизни не различалась. При этом образцы опухоли у самцов основной группы, с ростом карциномы Герена на фоне гипотиреоза, оказались также насыщены Т4, Т3 и FT4, как и образцы контрольной группы, тогда как у самок с карциномой Герена на фоне гипотиреоза в опухоли установлено снижение уровня Т4, FT4 и FT3.

Следует отметить, что в основной группе как у самок, так и у самцов перифокальная зона была более насыщена Т4, чем окружающая ткань опухоли у животных группы контроля. Это может быть связано с перекачкой тироксина у животных с искусственно смоделированной недостаточностью ТГ в опухоль, вероятно, нуждающуюся в этих гормонах.

Исследования дисфункции щитовидной железы у больных раком очень важны, так как избыток или недостаток тиреоидных гормонов может оказывать модифицирующее влияние на течение онкологического заболевания, а также вносить свои коррективы в эффективность противоопухолевого лечения. С одной стороны, преждевременное лечение тиреоидными гормонами без манифестного заболевания щитовидной железы увеличивает риск гипертиреоза [30]. С другой стороны, мы считаем, что лечение гипотиреоза у онкологических больных нельзя прекращать, однако лечебная дозировка препаратов должна тщательно подбираться, основываясь на возрасте, весе пациента, индексе массы тела, состоянии беременности и т.д., так как есть данные, свидетельствующие о том, что у 40–48 % пациентов имеет место передозировка [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлена половая специфичность развития злокачественного процесса на фоне гипотиреоза, которая проявилась в следующем: у самок нелинейных белых крыс с гипотиреозом увеличение объемов опухолевых узлов карциномы Герена, перевиваемой подкожно, развивалось медленнее, чем в группе контроля, а продолжительность жизни животных была больше в 1,6 раза. У самцов нелинейных белых крыс с гипотиреозом увеличение объемов опухолевых узлов карциномы Герена, перевиваемой подкожно развивалось не равномерно, в сроки до 14 дней медленнее, однако затем не отли-

чалось от показателей групп контроля, при этом продолжительность жизни не имела значимых отличий. Выявленные в настоящем исследовании половые различия в течении злокачественного процесса на фоне гипотиреоза, а также изменения функцио-

нальной активности ГТТ оси у экспериментальных животных вероятно могут быть связаны с половыми гормонами, что требует дальнейшего исследования ГТТ оси и показателей стероидных гормонов в периферических органах и образцах опухоли.

Список источников

1. Barr CE, Njoku K, Hotchkies L, Ryan NAJ, Wan YL, Davies DA, et al. Does Clinical and Biochemical Thyroid Dysfunction Impact on Endometrial Cancer Survival Outcomes? A Prospective Database Study. *Cancers (Basel)*. 2021 Oct 29;13(21):5444. <https://doi.org/10.3390/cancers13215444>
2. Giammanco M, Di Liegro CM, Schiera G, Di Liegro I. Genomic and Non-Genomic Mechanisms of Action of Thyroid Hormones and Their Catabolite 3,5-Diiodo-L-Thyronine in Mammals. *Int J Mol Sci*. 2020 Jun 10;21(11):E4140. <https://doi.org/10.3390/ijms21114140>
3. Shahid MA, Ashraf MA, Sharma S. Physiology, Thyroid Hormone. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. 2022 May 8.
4. Baldini E, Lauro A, Tripodi D, Pironi D, Amabile MI, Ferent IC, et al. Thyroid Diseases and Breast Cancer. *J Pers Med*. 2022 Jan 25;12(2):156. <https://doi.org/10.3390/jpm12020156>
5. Anguiano B, Montes de Oca C, Delgado-González E, Aceves C. Prostate gland as a target organ of thyroid hormones: advances and controversies. *Endocr Connect*. 2022 Feb 14;11(2):e210581. <https://doi.org/10.1530/EC-21-0581>
6. Wilson SA, Stem LA, Bruehlman RD. Hypothyroidism: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician*. 2021 May 15;103(10):605–613. <https://www.aafp.org/afp/2021/0515/p605.html>
7. Planck T, Hedberg F, Calissendorff J, Nilsson A. Liothyronine Use in Hypothyroidism and its Effects on Cancer and Mortality. *Thyroid*. 2021 May;31(5):732–739. <https://doi.org/10.1089/thy.2020.0388>
8. Tran TVT, Kitahara CM, de Vathaire F, Boutron-Ruault MC, Journy N. Thyroid dysfunction and cancer incidence: a systematic review and meta-analysis. *Endocr Relat Cancer*. 2020 Apr;27(4):245–259. <https://doi.org/10.1530/ERC-19-0417>
9. Xu L, Leng C, Chen L, Dong H, Chen Y, Chen X. Hypothyroidism is a predictive factor of superior antitumour efficacy of programmed death 1 inhibitors in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*. 2022 Feb 1;150(3):472–481. <https://doi.org/10.1002/ijc.33813>
10. Huang CH, Wei JCC, Chien TC, Kuo CW, Lin SH, Su YC, et al. Risk of Breast Cancer in Females With Hypothyroidism: A Nationwide, Population-Based, Cohort Study. *Endocr Pract*. 2021 Apr;27(4):298–305. <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2020.09.007>
11. Kim EY, Chang Y, Lee KH, Yun JS, Park YL, Park CH, et al. Serum concentration of thyroid hormones in abnormal and euthyroid ranges and breast cancer risk: A cohort study. *Int J Cancer*. 2019 Dec 15;145(12):3257–3266. <https://doi.org/10.1002/ijc.32283>
12. Khan SR, Chaker L, Ruitter R, Aerts JGJV, Hofman A, Dehghan A, et al. Thyroid Function and Cancer Risk: The Rotterdam Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Dec;101(12):5030–5036. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-2104>
13. Wang Y, Zhou R, Wang J. Relationship between Hypothyroidism and Endometrial Cancer. *Aging Dis*. 2019 Feb;10(1):190–196. <https://doi.org/10.14336/AD.2018.0224>
14. Krashin E, Piekietko-Witkowska A, Ellis M, Ashur-Fabian O. Thyroid Hormones and Cancer: A Comprehensive Review of Pre-clinical and Clinical Studies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:59. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00059>
15. Maruzzo M, Verzoni E, Vitale MG, Dionese M, Buti S, Galli L, et al. Prognostic Value of Thyroid Hormone Ratio in Patients With Advanced Metastatic Renal Cell Carcinoma: Results From the Threefour Study (Meet-URO 14). *Front Oncol*. 2021;11:787835. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.787835>
16. Wu CC, Islam MM, Nguyen PA, Poly TN, Wang CH, Iqbal U, et al. Risk of cancer in long-term levothyroxine users: Retrospective population-based study. *Cancer Sci*. 2021 Jun;112(6):2533–2541. <https://doi.org/10.1111/cas.14908>
17. Voulgari PV, Venetsanopoulou AI, Kalpourtzi N, Gavava M, Vantarakis A, Hadjichristodoulou C, et al. Thyroid dysfunction in Greece: Results from the national health examination survey EMENO. *PLoS One*. 2022;17(3):e0264388. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264388>
18. Chaker L, Bianco AC, Jonklaas J, Peeters RP. Hypothyroidism. *Lancet*. 2017 Sep 23;390(10101):1550–1562. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30703-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30703-1)
19. Fliers E, Boelen A. An update on non-thyroidal illness syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2021 Aug;44(8):1597–1607. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01482-4>

20. Guo J, Hong Y, Wang Z, Li Y. Analysis of the Incidence of Euthyroid Sick Syndrome in Comprehensive Intensive Care Units and Related Risk Factors. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:656641. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.656641>
21. Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Моисеенко Т. И., Мягкова Т. Ю., Чалабова Т. Г., Адамян М. Л. и др. Изменения функциональной активности щитовидной железы у пациенток с опухолями оставленного после гистерэктомии яичника. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015;(8-1):59–62.
22. Козлова М. Б., Франциянц Е. М., Владимирова Л. Ю., Анапалян В. Х., Бандовкина В. А., Светицкая Я. В. и др. Тиреоидный и глюкокортикоидный статус у больных со злокачественной и доброкачественной патологией молочных желез. *Сибирский онкологический журнал*. 2009;(4):52–56.
23. Козлова М. Б., Франциянц Е. М., Салатова А. М., Комарова Е. Ф., Погорелова Ю. А. Первичные опухоли и их метастазы в головной мозг: особенности влияния на системный статус тиреоидных гормонов и кортизола. *Фундаментальные исследования*. 2014;(7-1):81–86.
24. Котиева И. М., Кит О. И., Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Погорелова Ю. А. и др. Содержание гормонов в ткани щитовидной железы в динамике роста перевивной меланомы В16/F10, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли у самок мышей. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки*. 2017;(4-2(196-2)):76–83.
25. Кит О. И., Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Черярина Н. Д., Исламова Е. Ф., Черкес М. А. и др. Особенности тиреоидного статуса у самок и самцов мышей C57/BL6 в процессе роста перевивной меланомы В16/F10. *Международный журнал экспериментального образования*. 2016;(10-2):257–258.
26. Кит О. И., Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Черярина Н. Д. Половые различия функционирования щитовидной железы в динамике роста перевивной меланомы В16/F10 у мышей. *Российский онкологический журнал*. 2016;21(5):253–258. <https://doi.org/10.18821/1028-9984-2016-21-5-253-258>
27. Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Трепитаки Л. К., Черярина Н. Д., Димитриади С. Н. и др. Влияние роста перевивной меланомы в16/f10 на функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и тиреоидной осей организма у самцов и самок мышей. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки*. 2017;(3-2(195-2)):118–124.
28. Asai K, Shirakabe A, Kiuchi K, Kobayashi N, Okazaki H, Matsushita M, et al. Relation of Low Triiodothyronine Syndrome Associated With Aging and Malnutrition to Adverse Outcome in Patients With Acute Heart Failure. *Am J Cardiol*. 2020 Feb 1;125(3):427–435. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2019.10.051>
29. Zyla LE, Cano R, Gómez S, Escudero A, Rey L, Santiano FE, et al. Effects of thyroxine on apoptosis and proliferation of mammary tumors. *Mol Cell Endocrinol*. 2021 Dec 1;538:111454. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111454>
30. Calissendorff J, Falhammar H. To Treat or Not to Treat Subclinical Hypothyroidism, What Is the Evidence? *Medicina (Kaunas)*. 2020 Jan 19;56(1):40. <https://doi.org/10.3390/medicina56010040>

Информация об авторах:

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по научной работе, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, ResearcherID: Y-1491-2018, Scopus Author ID: 55890047700

Бандовкина Валерия Ахтямовна – д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989

Каплиева Ирина Викторовна – д.м.н., заведующая лабораторией изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541, AuthorID: 734116

Сурикова Екатерина Игоревна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>, SPIN: 2401-4115, AuthorID: 301537

Нескубина Ирина Валерьевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688

Погорелова Юлия Александровна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>, SPIN: 2168-8737, AuthorID: 558241

Трепитаки Лидия Константиновна – научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>, SPIN: 2052-1248, AuthorID: 734359

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>, SPIN: 2189-3404, AuthorID: 558243

Немашкалова Людмила Анатольевна – научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2713-8598>, SPIN: 1355-8652, AuthorID: 734146

Аракелова Алина Юрьевна – аспирант отделения абдоминальной онкологии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2739-1307>

Вклад авторов:

Франциянц Е. М. – концепция и дизайн исследования;
Бандовкина В. А. – систематизация и анализ полученных данных, написание текста рукописи;
Каплиева И. В. – анализ полученных данных, научное редактирование статьи;
Сурикова Е. И. – статистический анализ полученных данных, интерпретация результатов;
Нескубина И. В. – обзор публикаций, техническое редактирование статьи;
Погорелова Ю. А. – проведение иммуноферментного анализа и интерпретация результатов;
Трепитаки Л. К. – проведение экспериментальной части исследования, техническое оформление;
Черярина Н. Д. – оформление библиографии, редактирование текста статьи;
Немашкалова Л. А. – техническое редактирование статьи;
Аракелова А. Ю. – обзор публикаций по теме статьи.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА НЕОАНГИОГЕНЕЗА VEGF В БИОПТАТАХ ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ТЕРАПИИ ЦЕТУКСИМАБОМ И ХИМИОТЕРАПИИ

А. А. Льянова[✉], Л. Ю. Владимирова, Е. П. Ульянова, Н. А. Абрамова, А. Э. Сторожакова, И. Л. Попова, Н. М. Тихановская, М. А. Теплякова, Л. А. Рядинская, И. А. Удаленкова, Е. А. Калабанова, С. Н. Кабанов

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ blackswan-11@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить изменение экспрессии фактора неоангиогенеза VEGF в ткани опухоли при проведении таргетной терапии цетуксимабом и химиотерапии у больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта.

Пациенты и методы. Было проведено иммуногистохимическое исследование образцов опухолевой ткани, полученных от 60 больных с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта T3-4N0-1M0. Основную группу составили 30 пациентов, которым была проведена лекарственная терапия препаратами цисплатин и фторурацил с добавлением цетуксимаба. Контрольную группу также составили 30 больных, которые подвергались стандартной химиотерапии без таргетной терапии. По степени эффективности каждая из исследуемых групп была поделена на две подгруппы: по чувствительности к лечению ($n = 17$ в группе с цетуксимабом и $n = 12$ в группе без цетуксимаба) и по резистентности к лечению ($n = 13$ в группе с таргетной терапией и $n = 18$ в группе со стандартной химиотерапией).

Результаты. При количественной оценке экспрессии VEGF было выявлено, что минимальное количество сосудов, эндотелий которых окрашен данным маркером в поле зрения, наблюдалось у пациентов основной группы с чувствительностью к ХТ и цетуксимабу. Данный показатель был ниже в 5,3 раза по сравнению с исходными значениями и в 4,3 раза по сравнению с подгруппой пациентов, у которых наблюдалась резистентность к данному лечению (данные статистически значимы $p = 0,0132$ и $p = 0,0455$, соответственно). Что касается контрольной группы, то было отмечено, что при чувствительности к проводимому лечению значения были в 1,4 раза ниже исходных цифр ($p = 0,921$), а при резистентности – в 1,1 раза ниже относительно исходных цифр ($p = 0,936$). Данные оказались статистически не значимы.

Заключение. В ходе исследования нами выявлено, что при наличии резистентности к химиотерапии и цетуксимабу количество сосудов в микроциркуляторном русле было в 4,3 раза выше по сравнению с больными, у которых наблюдался эффект от таргетной терапии ($p = 0,0455$). В контрольной группе значения оказались статистически незначимыми.

Ключевые слова:

плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта, чувствительность, резистентность, VEGF, неоангиогенез, таргетная терапия, цетуксимаб

Для корреспонденции:

Льянова Аза Ахметовна – к.м.н., врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: blackswan-11@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8723-5897>

SPIN: 5292-6017, AuthorID: 734487

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Льянова А. А., Владимирова Л. Ю., Ульянова Е. П., Абрамова Н. А., Сторожакова А. Э., Попова И. Л., Тихановская Н. М., Теплякова М. А., Рядинская Л. А., Удаленкова И. А., Калабанова Е. А., Кабанов С. Н. Динамика изменения экспрессии фактора неоангиогенеза VEGF в биоптатах опухолевой ткани у больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта при проведении терапии цетуксимабом и химиотерапии. Южно-Российский онкологический журнал. 2022; 3(4):40-48. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-4>

Статья поступила в редакцию 02.06.2022; одобрена после рецензирования 01.11.2022; принята к публикации 12.12.2022.

© Льянова А. А., Владимирова Л. Ю., Ульянова Е. П., Абрамова Н. А., Сторожакова А. Э., Попова И. Л., Тихановская Н. М., Теплякова М. А., Рядинская Л. А., Удаленкова И. А., Калабанова Е. А., Кабанов С. Н., 2022

DYNAMICS OF CHANGES IN EXPRESSION OF VEGF NEOANGIOGENIC FACTOR IN TUMOR TISSUE BIOPSTATES IN PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF ORAL MUCOSA RECEIVING CETUXIMAB TREATMENT AND CHEMOTHERAPY

A. A. Lyanova[✉], L. Yu. Vladimirova, E. P. Ulyanova, N. A. Abramova, A. E. Storozhakova, I. L. Popova, N. M. Tikhanovskaya, M. A. Teplyakova, L. A. Ryadinskaya, I. A. Udalenkova, E. A. Kalabanova, S. N. Kabanov

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ blackswan-11@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. An analysis of changes in the expression of the VEGF neoangiogenic factor in the tumor tissue of patients with squamous cell carcinoma of the oral mucosa receiving targeted therapy with cetuximab and chemotherapy.

Patients and methods. We performed an immunohistochemical study of tumor samples obtained from 60 patients with squamous cell carcinoma of the oral mucosa T3-4N0-1M0. The main group comprised 30 patients who received therapy with cisplatin and fluorouracil plus cetuximab. The control group included 30 patients receiving standard chemotherapy without targeted therapy. Each group was divided into two subgroups with different treatment efficacy: patients sensitive to treatment ($n = 17$ in the group with cetuximab and $n = 12$ in the group without cetuximab) and resistant to treatment ($n = 13$ in the group with targeted therapy and $n = 18$ in the group with standard chemotherapy).

Results. Quantification of the VEGF expression demonstrated minimal numbers of vessels stained positively for this marker in the field of view in patients of the main group sensitive to chemotherapy and cetuximab. The value was 5.3 times lower than initial values, and 4.3 times lower than in the subgroup of patients resistant to the treatment (the data were statistically significant, $p = 0.0132$ and $p = 0.0455$, respectively). In the control group, patients who were sensitive to the treatment showed 1.4 times lower values than initially ($p = 0.921$), and patients who were resistant to the treatment had 1.1 times lower values than initial values ($p = 0.936$). The data were not statistically significant.

Conclusions. The study showed that the number of microvessels in patients resistant to chemotherapy and cetuximab was 4.3 times higher than in patients with effective targeted therapy ($p = 0.0455$). The differences in the control group were not statistically significant.

Keywords:

oral squamous cell cancer, sensitivity, resistance, VEGF, neoangiogenesis, targeted therapy, cetuximab

For correspondence:

Aza A. Lyanova – Cand. Sci. (Med.), MD, oncologist at the department of antitumor drug therapy, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: blackswan-11@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8723-5897>

SPIN: 5292-6017, AuthorID: 734487

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Lyanova A. A., Vladimirova L. Yu., Ulyanova E. P., Abramova N. A., Storozhakova A. E., Popova I. L., Tikhanovskaya N. M., Teplyakova M. A., Ryadinskaya L. A., Udalenkova I. A., Kalabanova E. A., Kabanov S. N. Dynamics of changes in expression of VEGF neoangiogenic factor in tumor tissue biopstates in patients with squamous cell carcinoma of oral mucosa receiving cetuximab treatment and chemotherapy. South Russian Journal of Cancer. 2022; 3(4): 40-48. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-4>

The article was submitted 02.06.2022; approved after reviewing 01.11.2022; accepted for publication 12.12.2022.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Онкологические заболевания являются одной из частых причин смертности и инвалидизации во всем мире.

Рак головы и шеи занимает шестое место по распространенности среди всех злокачественных новообразований во всем мире. Рак слизистой полости рта является одной из актуальных проблем в онкологии. Каждый год диагностируется около 630 000 новых случаев, и ежегодно умирает более 350 000 больных данной патологией. Более 90 % случаев рака головы и шеи – это плоскоклеточная карцинома, которая в основном встречается в полости рта и ротоглотке [1; 2].

Плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта характеризуется агрессивным течением, ранним метастазированием и составляет 90–95 % всех злокачественных новообразований полости рта [3]. Большую часть из них составляют опухоли языка и дна полости рта. Даже после радикального хирургического вмешательства с последующей адъювантной химиолучевой терапией выживаемость таких больных остается крайне низкой в связи с развитием раннего рецидивирования и регионарного метастазирования [4–6].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) – это сигнальный белок, наиболее известный своей ролью в развитии патологической сосудистой сети. Он является ключевым медиатором ангиогенеза (образования новых кровеносных сосудов) и связывает два рецептора VEGF (рецептор VEGF-1 и рецептор VEGF-2), которые экспрессируются на эндотелиальных клетках сосудов. Продукция VEGF и других факторов роста опухолью приводит к «ангиогенному переключению», где новая сосудистая сеть формируется внутри и вокруг опухоли, что позволяет ей расти в геометрической прогрессии [7; 8]. Поэтому очень важно понимать основную клеточную биологию таких опухолей.

Термин ангиогенез был впервые применен в 1971 г. Фолкманом. Исследователи сообщили, что опухоли могут расти, образуя новые кровеносные сосуды из существующей сосудистой системы, и что ангиогенез тесно связан не только с опухолями, но и с различными другими заболеваниями, такими как пролиферативная ретинопатия и тд. [9; 10]. Между клетками происходят различные многочисленные взаимодействия, опосредуемые с помощью аутокринных путей, которые способствуют

неоангиогенезу, неконтролируемой пролиферации опухоли и метастазированию [11].

Известно, что цетуксимаб при злокачественных опухолях способен блокировать не только EGFR-сигнальный путь, но и опосредованно влиять на секрецию VEGF-A, тем самым подавляя неоангиогенез

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) чрезмерно экспрессируется при плоскоклеточном раке полости рта и находится в центре внимания при создании новых таргетных препаратов, которые находятся в стадии разработки поскольку повышенная пролиферация клеток и богатая сосудистая сеть принимают непосредственное участие в прогрессировании опухоли.

Сложность механизмов при развитии и прогрессировании злокачественной опухоли требует различного подхода для улучшения диагностики, принятия терапевтических решений и мониторинга заболевания в персонифицированной онкологии. Хотя показатели выживаемости при плоскоклеточном раке полости рта улучшились за последние два десятилетия, прогноз все еще остается неблагоприятным по сравнению с развитием терапии и успехом, достигнутым для других видов злокачественных опухолей. Прогностические факторы многочисленны, а их взаимодействия сложны и до сих пор неясны [12–14].

Основные достижения в лечении онкологических заболеваний связаны, с основным, с появлением молекулярно-нацеленных препаратов, а именно, действующих на различные молекулы, циклин-зависимые киназы, факторы роста VEGF, эпидермальный фактор роста EGF, а также на молекулы, подавляющие апоптоз bcl-2, регуляторы клеточного цикла P53 и тд.

Цетуксимаб – моноклональное антитело иммуноглобулина G1, которое связывает рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), который активируется примерно у 90 % пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи. Моноклональные антитела против EGFR, такие как цетуксимаб, конкурируют с природными лигандами, препятствуя тем самым их связыванию с рецептором и, следовательно, блокируя индукцию сигналов клеточного роста и ингибируя сигнальный путь RAS и активацию ERK. Цетуксимаб связывается с внеклеточным доменом EGFR с более высокой аффинностью, чем естественные лиганды, блокируя тирозинкиназозависимый путь передачи сигнала, индуцированный активацией внутриклеточного домена. Следовательно, противо-

опухолевый эффект цетуксимаба частично обусловлен прямым онкогенным сигнальным стрессом, который блокирует выживание клеток, индуцирует апоптоз и снижает продукцию матриксной металлопротеиназы и фактор роста эндотелия сосудов [15–17]. Понимание молекулярных основ канцерогенеза опухолей полости рта и идентификации потенциальных молекулярных маркеров, которые могут повлиять на прогноз и выживаемость пациентов с раком полости рта, являются актуальной задачей современной онкологии. Неоангиогенез стимулирует рост опухоли и способствует возникновению рецидивов и метастазов за счет нарушения баланса проангиогенных и антиангиогенных факторов. Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) является основным регулятором ангиогенеза, активируя проангиогенные сигнальные пути и регулируя образование новых кровеносных сосудов путем связывания с его основным рецептором. Ангиогенез играет ключевую роль в прогрессировании заболевания и опосредует резистентность к лечению. Таким образом, понимание неоангиогенеза, особенно пути VEGF, крайне необходимо для стратификации риска у пациентов с раком полости рта и разработки новых терапевтических мишеней [18].

Цель исследования: изучить изменение экспрессии фактора неоангиогенеза VEGF в ткани опухоли при проведении терапии таргетной, терапии цетуксимабом и химиотерапии у больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В ходе исследования были проанализированы данные о 60 больных с раком слизистой оболочки полости рта, со степенью распространенности опухолевого процесса T3-4N0-1M0. В обследованных группах преобладали лица мужского пола (в основной группе было 22 мужчины (73,3 %) и 8 женщин (26,7 %); в контрольной – 19 мужчин (63,3 %) и 11 (36,7 %) женщин). Большая часть пациентов имели плоскоклеточный рак умеренной степени дифференцировки (в основной у 23 пациентов – 76,6 %) и у 25 больных контрольной – 83,3 %). Средний возраст больных в основной группе составил 62 года, а в контрольной – 60 лет. По стадии опухолевого процесса в основной группе 17 пациентов были с III стадией заболевания и 13 пациентов с IV стадией; в контрольной группе цифры распределились следующим образом: 15 пациентов с III стадией

и 15 пациентов с IV стадией заболевания. Таким образом, мы видим, что больные в обеих группах были сопоставимы по полу, возрасту, степени дифференцировки опухоли, стадии заболевания. Основную группу составили 30 больных, которые подвергались химиотерапии препаратами платины цисплатином и фторурацилом с таргетной терапией блокатором EGFR: цисплатин 100 мг/м², внутривенно, 1-й день, 5-фторурацил 1000 мг/м²/сутки, внутривенно, 96-часовой непрерывной инфузией в сочетании с таргетной терапией (цетуксимаб 400 мг/м² в 1 день в нагрузочной дозе, затем по 250 мг/м² в 8-й и 15-й дни). В группу контроля также вошло 30 пациентов, которым были проведены курсы стандартной химиотерапии без цетуксимаба- цисплатин 100 мг/м², внутривенно, 1-й день, 5-фторурацил 1000 мг/м²/сутки, внутривенно с 96-часовой непрерывной инфузией в 1–4 дни. По степени эффективности и основная и контрольная группы были поделены на две подгруппы: с чувствительностью и резистентностью. В основной группе при лечении цетуксимабом эффект от лечения наблюдался у 17 пациентов, а резистентность у 13 человек. В контрольной группе чувствительными к лечению оказались 12 человек, а с резистентностью к химиотерапии – 18 соответственно [19].

Был применен раствор 10 % нейтрального забуференного формалина, которым фиксировали материал. Далее выполнялась стандартная проводкой и парафинизация ткани. Следующим этапом готовились срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином (Accu-Cut SRM 200, Sakura (Япония)). Срезы нанесли на высокоадгезивные стекла и высушивали вертикально в термостате при температуре 37 °C в течение ночи или при 60 °C в течение 1 часа. ИГХ проводили на срезах с парафиновых блоков, предназначенных для стандартного морфологического исследования. В работе использовались первичные моноклональные мышиные и кроличьи антитела. Степень экспрессии VEGF определяли подсчетом количества сосудов в каждом поле зрения с применением объективов 40 (антитело VG1 Diagnostic BioSystems, разведение 1:200, 10 мМ Tris, буфер для «демаскировки антигенов» – 1 мМ EDTA (pH 9,0)). Подсчет вели в 10 полях зрения, затем вычисляли среднее количество в препарате [19].

Для обработки статистических данных применялась прикладная программа Statistica 10.0 [20]. Изучаемые данные проверялись на соответствие

нормальному распределению по критерию Шапиро–Уилка. Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего, за уровень достоверности или статистической значимости принимали $p \leq 0,05$. В случае, если распределение оказывалось далеко от нормального, сравнение групп проводилось с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (U-критерий) [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех больных до начала лечения была выполнена биопсия опухоли с дальнейшим иммуногистохимическим исследованием биоптатов опухолевой ткани. В ходе обработки полученных результатов принципиальных различий в исходных значениях выявлено не было между группами, в связи с чем было принято решение при описании результатов не разделять фоновые значения исследуемых маркеров по группам больных в зависимости от чувствительности, а рассматривать в единой группе как фоновые. Был проведен анализ результатов лечения пациентов по ответу на проводимое лечение согласно критериям RECIST 1.1 и сопоставлен с уровнем VEGF по каждому больному.

В основной группе после терапии цетуксимабом при наличии эффективности от проводимого лечения разброс сосудов был от 0 до 1, в группе без цетуксимаба при наличии чувствительности эти цифры составили от 2 до 15 сосудов. При отсутствии эффективности от цетуксимаба разброс количества сосудов составил до 0 до 8 сосудов в поле зрения, в группе, где цетуксимаб не применялся – от 0 до 10 сосудов [19].

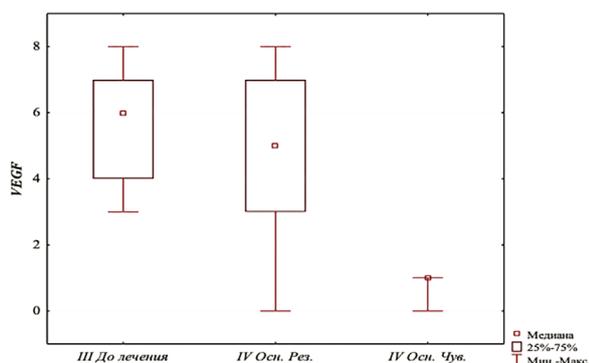


Рис. 1. Диаграмма размаха экспрессии VEGF в сосудах опухолевых клеток у пациентов основной группы.

Среднее количество сосудов, эндотелий которых окрашен маркером VEGF, в поле зрения представлено в таблице.

При количественной оценке экспрессии VEGF было выявлено, в основной группе больных, которым проводили химиотерапию с таргетной терапией цетуксимабом при наличии чувствительности к проводимому лечению, наблюдалось минимальное количество сосудов, эндотелий которых окрашен маркером VEGF. По сравнению с исходными значениями данный показатель был ниже в 5,3 раза. А при наличии резистентности к химиотерапии и цетуксимабу данный показатель был ниже в 4,3 раза относительно исходных значений (данные статистически значимы $p = 0,0132$ и $p = 0,0455$, соответственно). В группе химиотерапии без цетуксимаба были отмечены следующие показатели: при наличии чувствительности к химиотерапии минимальное количество сосудов, окрашенных VEGF, было в 1,4 раза ниже относительно исходных цифр ($p = 0,921$), а при наличии резистентности в данной группе – в 1,1 раза ($p = 0,936$). Данные оказались статистически не значимы [19].

При сравнении данных мы получили следующие результаты: в основной группе, где применялась химиотерапия с таргетной терапией цетуксимабом, при наличии чувствительности к лечению количество сосудов, окрашенных маркером VEGF в опухолевых клетках было в 4,1 раз статистически ниже относительно контрольной группы пациентов, у которых так же отмечалась чувствительность к проводимому лечению ($p = 0,0035$). При возникновении резистентности к химиотерапии и цетуксимабу в основной группе количество сосудов, окрашенных маркером VEGF в опухолевых клетках, было в 1,3 раза ниже относительно больных, у которых так

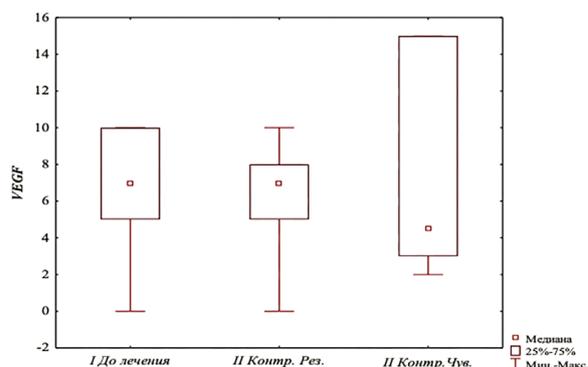


Рис. 2. Диаграмма размаха экспрессии VEGF в сосудах опухолевых клеток у пациентов контрольной группы.

же наблюдалась резистентность к проводимому лечению ($p = 0,3699$) [19].

Проведенный статистический анализ на действие таргетной терапии (сравнение групп контрольная-основная) выявил статистически значимое действие препарата цетуксимаба по данному маркеру ($p = 0,028$).

Варианты экспрессии VEGF в опухолевых клетках пациентов представлены на рисунках 3 и 4.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и его рецепторы играют важную роль как в физиологическом, так и в патологическом ангиогенезе. VEGF-A широко экспрессируется почти во всех злокачественных опухолях и считается наиболее важным фактором ангиогенеза опухоли. Передача сигналов VEGF-A также играет важную роль в развитии заболеваний, связанных с ангиогенезом, особенно при злокачественных новообразованиях.

VEGF вызывает глубокий ангиогенез при образовании опухоли. В данном исследовании мы

проследили, как изменялась плотность сосудов, окрашенных маркером VEGF, в опухолевых клетках пациентов исследуемых групп.

Множественные факторы роста/цитокины и их сигнальные рецепторы часто сосуществуют в одном и том же микроокружении опухоли и коллективно модулируют рост, инвазивность и метастазирование опухоли. Среди всех известных ангиогенных факторов сосудистый эндотелиальный фактор роста А (VEGF-A), который модулирует ангиогенез, сосудистую проницаемость, выживание сосудов и сосудистое ремоделирование, вероятно, лучше всего охарактеризован.

Транскрипция гена VEGF активируется в условиях гипоксии фактором HIF1a (Hypoxia-inducible factor 1a). Гипоксия – одна из главных причин активации VEGF-сигнализации в тканях VEGF – повышает уровень экспрессии рецептора VEGFR2 эндотелиоцитами опухолевых микрососудов, что активизирует рост клеток и пролиферацию эндотелиаль-

Таблица 1. Экспрессия с использованием среды VEGF в опухолевых клетках исследуемых групп (среднее количество сосудов в 1 поле зрения)

Маркер ангиогенеза	Основная группа (n = 30)		
	Исходные значения (n = 30)	Чувствительность (n = 17)	Резистентность (n = 13)
VEGF	5,86 ± 0,72	1,1 ± 0,28* **↓ * p = 0,0132 ** p = 0,0455	4,8 ± 1,3
	Контрольная группа (n = 30)		
	Исходные значения (n = 30)	Чувствительность (n = 12)	Резистентность (n = 18)
VEGF	6,5 ± 1,52	4,5 ± 1,71	6,1 ± 1,5

Примечание: * – статистически значимые различия по отношению к фоновым значениям, ** – статистически значимые различия по отношению к подгруппе с резистентностью.

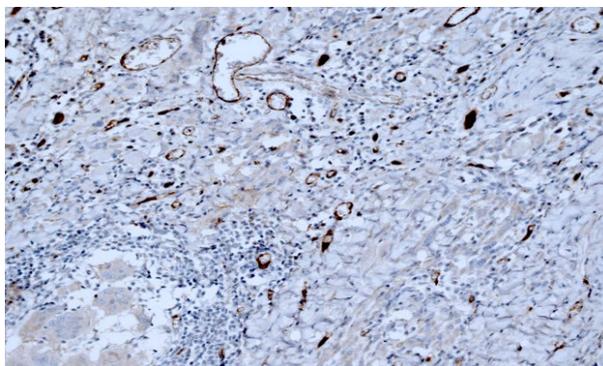


Рис. 3. Сосуды, окрашенные VEGF, в опухолевых клетках пациентов исследуемых групп. Ув. × 200.

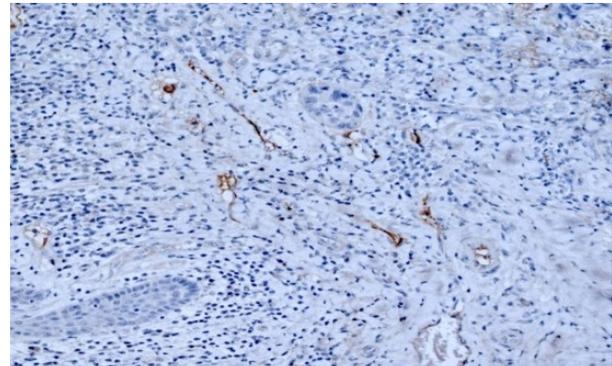


Рис. 4. Единичные сосуды, окрашенные VEGF, в опухолевых клетках пациентов исследуемых групп. Ув. × 200.

ных клеток [20]. Недавние достижения в области молекулярной биологии выявили множественные изменения генов в канцерогенезе при раке полости рта, которые вызывают аберрантную экспрессию и функцию белков в ряде клеточных процессов, включая ангиогенез.

Ангиогенез – образование новых сосудов из ранее существовавших – имеет решающее значение для опухолевого роста, инвазии и метастазирования солидных опухолей. По мере роста опухоли клетки в опухолевой массе лишаются кислорода из-за их удаленности от ближайших кровеносных сосудов. Генерация гипоксического состояния в опухолях индуцирует выработку фактора роста эндотелия сосудов VEGF-ключевого медиатора ангиогенеза. VEGF сверхэкспрессирован в большом количестве карцином человека, включая плоскоклеточный рак головы и шеи, в частности при раке слизистой оболочки полости рта [21; 22].

Метастазирование рака является причиной смертности онкологических больных и включает сложные взаимодействия, модулируемые различными факторами и цитокинами между злокачественными клетками и клетками-хозяевами. Сосудистые структуры в солидных опухолях имеют решающее значение для интраваскулярной миграции опухолевых клеток в кровотоки [23].

Хотя генетические изменения злокачественных клеток определяют внутренние характеристики инвазивности, клеточные и молекулярные компоненты хозяина могут играть преобладающую роль в инвазии и метастазировании рака [24].

Например, сосудистая сеть опухоли необходима для роста опухоли и метастазирования, а блокировка ангиогенеза опухоли успешно используется для лечения рака у животных и человека.

Последующее образование метастатических ниш и повторный рост метастатических узлов до клинически выявляемых масс зависят от ангиогенеза и ремоделирования сосудов. Опухоли часто экспрессируют ангиогенные факторы на высоких уровнях, вызывая неоваскуляризацию.

В электронных базах данных был проведен поиск соответствующих исследований. Был проведен метаанализ исследований, в которых количественно оценивалась взаимосвязь между сверхэкспрессией VEGF и выживаемостью пациентов с раком ротовой полости. Данные о выживаемости были количественно проанализированы. Результаты этих исследований позволяют предположить, что избыточная экспрессия VEGF оказывает неблагоприятное влияние на общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования у больных плоскоклеточным раком полости рта, у больных аденокистозным раком и мукоэпидермоидным раком слюнных желез. Во всех исследованиях не наблюдалось значительной гетерогенности. Сверхэкспрессия VEGF указывает на неблагоприятный прогноз для пациентов с плоскоклеточным раком полости рта, аденокистозным и мукоэпидермоидным раком слюнных желез [25; 26]. В эпоху персонифицированной медицины и лечения злокачественных новообразований на основе выявления биомаркеров важно найти те терапевтические мишени, на которые необходимо воздействовать для достижения максимального ответа на терапию, в особенности для плоскоклеточного рака полости рта, поскольку данная патология является весьма гетерогенной и малоизученной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенного иммуногистохимического исследования биоптатов опухолевой ткани можно сделать вывод о том, что при наличии резистентности к цетуксимабу повышается количество сосудов, окрашенных маркером VEGF в микроциркулярном русле. Были получены статистически значимые результаты, демонстрирующие взаимосвязь степени экспрессии VEGF и ответа на проводимую терапию теми или иными препаратами. Полученные данные представляют особый клинический интерес и могут быть использованы для прогнозирования результатов лечения у больных плоскоклеточным раком полости рта.

Список источников

1. Mohideen K, Krithika C, Jeddy N, Balakrishnan T, Bharathi R, Sankari SL. A Meta-analysis of Oral Squamous Cell Carcinoma in Young Adults with a Comparison to the Older Group Patients (2014-2019). *Contemp Clin Dent*. 2021 Jul-Sep;12(3):213–221. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_466_20
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov;68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

3. Гельфанд И. М., Романов И. С., Минкин А. У. Тактика лечения плоскоклеточного рака полости рта стадий cT1–2cN0M0. 2014;(2):33–36. Опухоли головы и шеи. <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2014-0-2-33-36>
4. Льянова А. А., Владимиров Л. Ю., Франциянц Е. М., Нескубина И. В., Енгибарян М. А., Абрамова Н. А. и др. Динамика изменения инсулиноподобных факторов роста первого и второго типов в крови больных плоскоклеточным раком полости рта при проведении химиотерапии на фоне таргетной терапии цетуксимабом. Злокачественные опухоли. 2021;11(1):29–36. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2021-11-1-29-36>
5. Brown JS, Shaw RJ, Bekiroglu F, Rogers SN. Systematic review of the current evidence in the use of postoperative radiotherapy for oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2012 Sep;50(6):481–489. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2011.08.014>
6. Zhang YY, Wang DC, Su JZ, Jia LF, Peng X, Yu GY. Clinicopathological characteristics and outcomes of squamous cell carcinoma of the tongue in different age groups. *Head Neck.* 2017 Nov;39(11):2276–2282. <https://doi.org/10.1002/hed.24898>
7. Supic G, Jovic N, Zeljic K, Kozomara R, Magic Z. Association of VEGF-A genetic polymorphisms with cancer risk and survival in advanced-stage oral squamous cell carcinoma patients. *Oral Oncol.* 2012 Nov;48(11):1171–1177. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2012.05.023>
8. Льянова А. А., Владимиров Л. Ю., Франциянц Е. М., Кутилин Д. С., Енгибарян М. А. Молекулярные основы современной таргетной терапии плоскоклеточного рака языка и слизистой дна полости рта моноклональными антителами. Злокачественные опухоли. 2017;7(4):77–87. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2017-7-4-77-87>
9. Kurihara T, Westenskow PD, Friedlander M. Hypoxia-inducible factor (HIF)/vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in the retina. *Adv Exp Med Biol.* 2014;801:275–281. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3209-8_35
10. Kim SK, Park SG, Kim KW. Expression of vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2015 Feb;41(1):11–18. <https://doi.org/10.5125/jkaoms.2015.41.1.11>
11. Batelja-Vuletic L, Tomasovic-Loncaric C, Ceppi M, Bruzzone M, Fucic A, Krstanac K, et al. Comparison of Androgen Receptor, VEGF, HIF-1, Ki67 and MMP9 Expression between Non-Metastatic and Metastatic Stages in Stromal and Tumor Cells of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Life (Basel).* 2021 Apr 10;11(4):336. <https://doi.org/10.3390/life11040336>
12. Itashiki Y, Harada K, Takenawa T, Ferdous T, Ueyama Y, Mishima K. Antitumor effects of bevacizumab in combination with fluoropyrimidine drugs on human oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2021 Oct;22(4):730. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12991>
13. Льянова А. А., Владимиров Л. Ю., Кутилин Д. С., Абрамова Н. А., Попова И. Л., Тихановская Н. М. и др. Влияние лекарственной терапии и цетуксимаба на мутационный статус гена KRAS у больных плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта. Фарматека. 2021;7:68–76. <https://doi.org/10.18565/pharmateca.2021.7.68-76>
14. Pérez Sayáns M, Chamorro Petronacci CM, Lorenzo Pouso AI, Padín Iruegas E, Blanco Carrión A, Suárez Peñaranda JM, et al. Comprehensive Genomic Review of TCGA Head and Neck Squamous Cell Carcinomas (HNSCC). *J Clin Med.* 2019 Nov 7;8(11):1896. <https://doi.org/10.3390/jcm8111896>
15. Perez RP, Chen E, Thaddeus Beck J, Shirai K, Neil Hayes D, Shen T, et al. Evaluation of pharmacokinetics and safety of cetuximab with cisplatin/carboplatin in patients with advanced solid tumor: Result from phase II studies. *Pharmacol Res Perspect.* 2019 Nov 25;7(6):e00519. <https://doi.org/10.1002/prp2.519>
16. Vassilakopoulou M, Psyrris A, Argiris A. Targeting angiogenesis in head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2015 May;51(5):409–515. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2015.01.006>
17. Трухачева Н. В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013, 384 с.
18. Чехонин В. П., Шейн С. А., Корчагина А. А., Гурина О. И. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза. *Вестник РАМН.* 2012;67(2):23–34. <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i2.119>
19. Льянова А. А. Изучение резистентности к анти-EGFR моноклональному антителу у больных плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки дна полости рта. Дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.12. Ростов-на-Дону, 2020, 212 с.
20. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev.* 2004 Dec;56(4):549–580. <https://doi.org/10.1124/pr.56.4.3>
21. Seki S, Fujiwara M, Matsuura M, Fujita S, Ikeda H, Asahina I, et al. Prediction of outcome of patients with oral squamous cell carcinoma using vascular invasion and the strongly positive expression of vascular endothelial growth factors. *Oral Oncol.* 2011 Jul;47(7):588–593. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.04.013>
22. Yang X, Zhang Y, Hosaka K, Andersson P, Wang J, Tholander F, et al. VEGF-B promotes cancer metastasis through a VEGF-A-independent mechanism and serves as a marker of poor prognosis for cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Jun 2;112(22):E2900–2909. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503500112>

23. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
24. Cao Y, Arbiser J, D'Amato RJ, D'Amore PA, Ingber DE, Kerbel R, et al. Forty-year journey of angiogenesis translational research. *Sci Transl Med*. 2011 Dec 21;3(114):114rv3. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003149>
25. Jubb AM, Pham TQ, Hanby AM, Frantz GD, Peale FV, Wu TD, et al. Expression of vascular endothelial growth factor, hypoxia inducible factor 1alpha, and carbonic anhydrase IX in human tumours. *J Clin Pathol*. 2004 May;57(5):504–512. <https://doi.org/10.1136/jcp.2003.012963>
26. Zhao SF, Yang XD, Lu MX, Sun GW, Wang YX, Zhang YK, et al. Prognostic significance of VEGF immunohistochemical expression in oral cancer: a meta-analysis of the literature. *Tumour Biol*. 2013 Oct;34(5):3165–3171. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-0886-9>

Информация об авторах:

Льянова Аза Ахметовна – к.м.н., врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8723-5897>, SPIN: 5292-6017, AuthorID: 734487
Владимирова Любовь Юрьевна – д.м.н., профессор, руководитель отдела лекарственного лечения опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-6476>, SPIN: 4857-6202, AuthorID: 289090, ResearcherID: U-8132-2019, Scopus Author ID: 7004401163

Ульянова Елена Петровна – научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5226-0152>, SPIN: 1243-9475, AuthorID: 759154, Scopus Author ID: 57203357998

Абрамова Наталия Александровна – к.м.н., старший научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7793-9794>, SPIN: 1784-8819, AuthorID: 734048, ResearcherID: U-6181-2019, Scopus Author ID: 56737398800

Сторожакова Анна Эдуардовна – к.м.н., врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0965-0264>, SPIN: 2804-7474, AuthorID: 734057, ResearcherID: U-6202-2019, Scopus Author ID: 57045921800

Попова Ирина Леонидовна – к.м.н., старший научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4865-8832>, SPIN: 4542-1937, AuthorID: 413304

Тихановская Наталья Михайловна – врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5139-2639>, SPIN: 9000-4877, AuthorID: 734051

Теплякова Мария Андреевна – врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1957-4931>, SPIN: 5495-5264, AuthorID: 902234

Рядинская Людмила Алексеевна – к.м.н., врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5964-2513>, SPIN: 6146-2396, AuthorID: 795116

Удаленкова Ирина Александровна – к.м.н., врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0075-6935>, SPIN: 2175-4570, AuthorID: 974753

Калабанова Елена Александровна – к.м.н., врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0158-3757>, SPIN: 9090-3007, AuthorID: 734992, ResearcherID: V-2943-2019, Scopus Author ID: 57046062200

Кабанов Сергей Николаевич – к.м.н., врач отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8628-4240>, SPIN: 6369-0824, AuthorID: 794858, ResearcherID: V-3023-2019, Scopus Author ID: 57045732600

Вклад авторов:

Льянова А. А. – концепция исследования, написание исходного текста, развитие методологии, участие в разработке учебных программ и их реализации;

Владимирова Л. Ю. – научное руководство, концепция исследования, написание исходного текста, развитие методологии, участие в разработке учебных программ и их реализации;

Ульянова Е. П. – концепция исследования, развитие методологии, итоговые выводы;

Попова И. Л. – доработка текста, развитие методологии;

Сторожакова А. Э. – доработка текста, развитие методологии;

Абрамова Н. А. – доработка текста, развитие методологии;

Тихановская Н. М. – доработка текста, развитие методологии;

Теплякова М. А. – доработка текста, развитие методологии;

Рядинская Л. А. – доработка текста, развитие методологии;

Удаленкова И. А. – доработка текста, развитие методологии;

Калабанова Е. А. – доработка текста, развитие методологии;

Кабанов С. Н. – доработка текста, развитие методологии.

ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИХ МАРКЕРНЫХ МОЛЕКУЛ НА В-ЛИМФОЦИТАХ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ НА ЭТАПАХ ИММУНОХИМИОТЕРАПИИ

О. Н. Селютин[✉], Н. К. Гуськова, И. Б. Лысенко, М. А. Коновальчик

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
✉ selyutinalesya@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить экспрессию иммунофенотипических маркерных молекул на В-лимфоцитах больных хроническим лимфолейкозом на этапах иммунохимиотерапии при мониторинге минимальной остаточной болезни.
Пациенты и методы. Обследованы 20 больных ХЛЛ, которым в период 2019–2022 гг. проведено 6 курсов иммунохимиотерапии (ИХТ) в режиме RB/FCR в НМИЦ онкологии г. Ростова-на-Дону. До лечения, после 3, 6 курсов ИХТ выполнялось иммунофенотипирование костного мозга методом проточной цитофлюориметрии. Данные оценены в Statistica 13.0.

Результаты. До лечения в зависимости от экспрессии прогностических маркеров (CD38, ZAP-70, CD11c, CD25, FMC7) выделены 3 группы больных. I (2 чел.) – без экспрессии CD38, ZAP-70, CD11c, CD25, FMC7 на опухолевых В-лимфоцитах. II (14 чел.) – с вариабельной экспрессией CD25, CD38 (0,4–47,6 % и 0,0–57,5 %, соответственно), отсутствием экспрессии ZAP-70, CD11c, FMC7. III (4 чел.) – с высокой экспрессией CD38 (57,5–69,2 %), ZAP-70 (36,6–48,3 %), CD11c (20,0–96,5 %), CD25 (64,9–92,7 %), FMC7 (13,6–88,6 %). После 3 курса ИХТ минимальная остаточная болезнь (МОБ): в I группе 0 %, во II-й 0,48 ± 0,13 %, в III-й 33,5 ± 7,84 %. После 6 курса ИХТ МОБ: в I группе 0 %, во II-й 0,42 ± 0,09 %, в III-й 33,2 ± 8,07 %. Экспрессия иммунофенотипических маркеров в II, III группах без изменений после 3,6 курсов ИХТ. Согласно критериям оценки ответа на терапию (IWCLL, 2018 г.) у пациентов I, II групп после 6 курса ИХТ полная ремиссия, у 3-х пациентов III группы частичная ремиссия, у 1 больного стабилизация процесса. Получены предварительные данные, указывающие на то, что отсутствие или повышенный уровень экспрессии CD38, CD25, ZAP-70, CD11c, FMC7 на В-лимфоцитах больных ХЛЛ до лечения могут предопределять гематологический ответ на терапию по схемам RB/FCR.

Заключение. Исходно повышенная экспрессия одновременно всех прогностических антигенов: CD38, CD25, ZAP-70, CD11c, FMC7 на опухолевой популяции В-лимфоцитов больных ХЛЛ ассоциируется с неудовлетворительным ответом на лечение, что представляется перспективным с точки зрения изучения влияния анализируемых маркерных молекул на достижение гематологического ответа на этапах иммунохимиотерапии.

Ключевые слова:

хронический лимфолейкоз, проточная цитометрия, минимальная остаточная болезнь, иммунофенотипические маркеры, иммунохимиотерапия

Для корреспонденции:

Селютин Олеся Николаевна – биолог клинико-диагностической лаборатории, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: selyutinalesya@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6762-0835>
SPIN: 4347-0302, AuthorID: 759134
Scopus Author ID: 57194276434

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Селютин О. Н., Гуськова Н. К., Лысенко И. Б., Коновальчик М. А. Профиль экспрессии иммунофенотипических маркерных молекул на В-лимфоцитах у больных хроническим лимфолейкозом на этапах иммунохимиотерапии. Южно-Российский онкологический журнал. 2022; 3(4):49-57. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-5>

Статья поступила в редакцию 03.06.2022; одобрена после рецензирования 15.10.2022; принята к публикации 12.12.2022.

© Селютин О. Н., Гуськова Н. К., Лысенко И. Б., Коновальчик М. А., 2022

EXPRESSION PROFILE OF IMMUNOPHENOTYPIC MARKER MOLECULES ON B-LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA AT THE STAGES OF IMMUNOCHEMOTHERAPY

O. N. Selyutina✉, N. K. Guskova, I. B. Lysenko, M. A. Konvalchik

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ selyutinalesya@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To study the expression of immunophenotypic marker molecules on B-lymphocytes of patients with chronic lymphocytic leukemia at the stages of immunochemotherapy while monitoring minimal residual disease.

Patients and methods. 20 patients with CLL were examined, who in the period 2019–2022 underwent 6 courses of immunochemotherapy (ICT) in the RB/FCR mode at the National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don. Before, after 3, 6 courses of ICT, bone marrow immunophenotyping was performed by flow cytometry. The data is evaluated in Statistica 13.0.

Results. Before treatment, 3 groups of patients were identified depending on the expression of prognostic markers (CD38, ZAP-70, CD11c, CD25, FMC7). I (2 people) – without expression of CD38, ZAP-70, CD11c, CD25, FMC7 on tumor B-lymphocytes. II (14 people) – with variable expression of CD25, CD38 (0.4–47.6 % and 0.0–57.5 %, respectively), lack of expression of ZAP-70, CD11c, FMC7. III (4 people) – with high expression of CD38 (57.5–69.2 %), ZAP-70 (36.6–48.3 %), CD11c (20.0–96.5 %), CD25 (64.9–92.7 %), FMC7 (13.6–88.6 %). After the 3rd course of ICT, the minimum residual disease (MRD): 0 % in group I, 0.48 ± 0.13 % in group II, 33.5 ± 7.84 % in group III. After the 6th course of ICT MRD: 0 % in group I, 0.42 ± 0.09 % in group II, 33.2 ± 8.07 % in group III. The expression of immunophenotypic markers in groups II and III remained unchanged after 3, 6 courses of ICT. According to the criteria for assessing the response to therapy (IWCLL, 2018), patients of groups I, II after the 6th course of ICT have complete remission, 3 patients of group III have partial remission, 1 patient has stabilization of the process. Preliminary data have been obtained indicating that the absence or increased expression of CD38, CD25, ZAP-70, CD11c, FMC7 on B-lymphocytes of CLL patients before treatment may predetermine the hematological response to therapy according to RB/FCR regimens.

Conclusion. Initially, increased expression of all prognostic antigens simultaneously: CD38, CD25, ZAP-70, CD11c, FMC7 on the tumor population of B-lymphocytes in patients with CLL is associated with an unsatisfactory response to treatment, which seems promising from the point of view of studying the effect of the analyzed marker molecules on achieving a hematological response at the stages of immunochemotherapy.

Keywords:

chronic lymphocytic leukemia, flow cytometry, minimal residual disease, immunophenotypic markers, immunochemotherapy

For correspondence:

Olesya N. Selyutina – biologist, clinical and diagnostic laboratory, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line, Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: selyutinalesya@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6762-0835>

SPIN: 4347-0302, AuthorID: 759134

Scopus Author ID: 57194276434

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Selyutina O. N., Guskova N. K., Lysenko I. B., Konvalchik M. A. Expression profile of immunophenotypic marker molecules on B-lymphocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia at the stages of immunochemotherapy. South Russian Journal of Cancer. 2022; 3(4): 49-57. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-5>

The article was submitted 03.06.2022; approved after reviewing 15.10.2022; accepted for publication 12.12.2022.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – опухоль лимфоидной ткани из зрелых (периферических) В-клеток, характеризующаяся поражением костного мозга и лимфатических узлов. Заболевают, в основном, лица старше 50 лет. ХЛЛ выявляется случайно, прогрессирует медленно и чаще протекает без ярко выраженных симптомов в течение длительного времени [1; 2]. По данным ряда исследований [3; 4] ХЛЛ относят к чрезвычайно гетерогенным заболеваниям, характер течения которых варьируется от индолентного до агрессивного, и прогноз у одного и того же больного может существенно меняться со временем [5]. Опухолевые В-лимфоциты при ХЛЛ экспрессируют антигены – CD19, CD5, CD23, CD20 (слабая), CD22 (слабая), CD43 [6; 7].

Оценка ответа на терапию проводится по обновленным критериям Международной рабочей группы по ХЛЛ (IWCLL, 2018 г.), в соответствии с которыми устанавливается полная ремиссия, частичная ремиссия, стабилизация или прогрессия заболевания. Оценивают параметры, характеризующие массу опухоли (лимфаденопатия, гепатомегалия, спленомегалия, уровень лимфоцитов крови, инфильтрация костного мозга, конституциональные симптомы) и показатели, характеризующие функцию костного мозга (уровень тромбоцитов, гемоглобина, нейтрофилов) [8]. Важнейший этап при финальной оценке эффекта иммунохимиотерапии, используемой в лечении ХЛЛ, это определение минимальной остаточной болезни (МОБ), которое IWCLL также включено в критерии оценки ответа на терапию [8]. Минимальная остаточная болезнь характеризуется наличием популяции опухолевых клеток у больных в состоянии полной ремиссии, которые нельзя выявить цитологическим методом, но можно определить высокочувствительными методами ПЦР и многоцветной проточной цитометрии. Большинство прогностических схем построено на оценке МОБ в крови и/или костном мозге, что позволяет достоверно подтвердить МОБ-негативную полную ремиссию. Так, содержание остаточной популяции клеток ХЛЛ в крови или костном мозге выше 1 % предвещает ранний рецидив и может служить основанием для смены терапии. Содержание МОБ в пределах от 0,90 % до 0,01 % характеризует группу пациентов с медианой выживаемости без прогрессирования заболевания (ВБП) около 3 лет, что дает основание рассматривать возможность проведения поддерживающей терапии. Значения МОБ

ниже 0,01 % свидетельствуют о высокой вероятности длительной ремиссии (> 5 лет) [9; 10]. В работе Gabor Kovacs и соавт. [11] проведен анализ прогностической значимости МОБ в сравнении с клиническим ответом на терапию. Показано, что для оценки эффективности терапии достижение МОБ-негативности также важно, как и клинический ответ.

В последнее десятилетие улучшенное понимание патогенеза ХЛЛ и активное внедрение в клиническую практику метода проточной цитометрии позволило использовать в качестве прогностических показателей экспрессию ряда иммунофенотипических маркеров. В частности, активационные антигены CD38 и CD25, белок ZAP70, миеломоноцитарные антигены CD11c и CD11b, FMC7 (антиген зрелых В-лимфоцитов), отсутствие антигена CD23 или его слабая экспрессия на поверхности лимфоцитов и др. [10]. Установлено также, что экспрессия CD38 на более чем 20 % CD19+/CD5+-клеток ассоциирована с плохим прогнозом, а пациенты с иммунофенотипически незрелым CD38+ ХЛЛ плохо отвечают на длительную мультирежимную химиотерапию и, в связи с этим, имеют короткую продолжительность жизни [12]. Практически у 50 % больных ХЛЛ на лимфоидных клетках отмечают экспрессию активационного антигена CD25, который считается маркером опухолевых лимфоцитов при волосатоклеточном лейкозе и ассоциируется с неблагоприятным прогнозом заболевания [12]. Экспрессия ZAP-70 \geq 20 % на опухолевых В-лимфоцитах рассматривается как фактор риска прогрессирования и развития синдрома Рихтера [12]. У 26,7 % больных ХЛЛ наблюдают экспрессию миеломоноцитарного антигена CD11c, что ассоциируется с коротким временем удвоения количества лимфоцитов в периферической крови (< 12 мес.) [13]. Отсутствие антигена CD23 или его слабая экспрессия на поверхности лимфоцитов наряду с одновременным обнаружением позитивной экспрессии по FMC7 (антиген зрелых В-лимфоцитов) также ассоциируется с плохим прогнозом [14].

Анализ литературных данных свидетельствует, что поиск маркеров, позволяющих прогнозировать течение опухолевого процесса и ответ больных ХЛЛ на терапию на этапах диагностики и при мониторинге МОБ, не теряет своей актуальности.

Цель исследования: изучить профиль экспрессии иммунофенотипических маркерных молекул на В-лимфоцитах у больных хроническим лимфолейкозом на этапах иммунохимиотерапии при мониторинге минимальной остаточной болезни.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 20 больных (13 мужчин, 7 женщин), медиана возраста $66,4 \pm 1,9$ лет с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) в стадии С по Binet, ранее не получавших специфическую терапию. В период с 2019 по 2022 гг. в отделении онкогематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростова-на-Дону, пациентам проведено 6 курсов противоопухолевой лекарственной терапии в режиме RB или FCR. На этапах до и после 3 и 6 курсов ИХТ выполнено иммунофенотипирование костного мозга методом 10-цветной проточной цитометрии (Navios 10/3, Beckman Coulter, США). Исследования проводились в клетках нативного костного мозга в растворе антикоагулянта К2 ЭДТА. Изучение первичного иммунофенотипа В-лимфоцитов и прогностических маркерных молекул выполнялось с использованием панели моноклональных антител, меченных различными флуорохромами: CD45 (PB), CD19 (ECD, PC7), CD5 (PC7, APC), CD10 (PE), CD11c (PE), CD20 (PC7), CD22 (PE), CD23 (PE), CD25 (PC5), CD38 (FITC, PC7), CD43 (APC-A750), и FMC7 (FITC), ZAP-70 (PE), CD3 (PC7), kappa (FITC), lambda (PE). Проведена оценка МОБ, при этом учитывалось, что остаточная популяция клеток ХЛЛ в костном мозге $< 0,01\%$ (0 %) оценивается как МОБ отрицательный статус [8]. Результаты проточной цитометрии анализировали с применением программного обеспечения Kaluza v2.1 (Beckman Coulter, США). Сбор клинической информации, биологического материала, пробоподготовку, контроль качества биообразцов, хранение, а также соблюдение правовых норм и правил, связанных с конфиденциальностью пациентов выполнялись согласно разработанным алгоритмам действий подразделений исследователей и клинических групп ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России [15]. Полученные данные оценены в программе Statistica 13.0, результаты представлены с учетом средних значений (M), ошибки средних (m).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

До лечения (МОБ день 0) по результатам проточной цитофлуориметрии у всех больных отмечена высокая экспрессия маркеров, характерных для ХЛЛ – CD5, CD23, CD20, CD22, CD43 (рис. 1). В зависимости от профиля экспрессии прогностических

маркеров, таких как CD38, ZAP-70, CD11c, CD25, FMC7, выделены 3 группы больных (табл. 1). I группа (2 чел.) характеризовалась отсутствием экспрессии маркеров CD38, ZAP-70, CD11c и CD25, уровень экспрессии FMC7 не превышал 0,2 %. Во II группе (14 чел.) отмечена вариабельная экспрессия CD25 и CD38, соответственно 0,4–47,6 % и 0,0–57,5 %, отсутствие экспрессии ZAP-70, CD11c, FMC7 – не более 1,6 %. В III группе (4 чел.) установлена высокая экспрессия всех изучаемых прогностических маркеров: CD38 (57,5 % – 69,2 %), ZAP-70 (36,6–48,3 %), CD11c (20,0–96,5 %), CD25 (64,9–92,7 %), FMC7 (13,6–88,6 %) (рис. 1, 2). Различий по возрасту и полу между группами установлено не было.

После проведения 3 курсов ИХТ отмечено снижение количества опухолевых В-лимфоцитов во всех группах, но с разной степенью интенсивности. Так, больные I группы имели МОБ – отрицательный статус: в костном мозге клетки ХЛЛ не обнаружены (табл. 2). Во II группе отмечено значительное снижение количества МОБ ($0,48 \pm 0,13\%$) в сравнении с данными до лечения ($86,2 \pm 1,43$) ($p < 0,05$), на этом этапе обращало внимание снижение экспрессии CD38 на клетках ХЛЛ до уровня $< 3\%$, экспрессия остальных прогностических маркеров оставалась неизменной в сравнении с уровнем до лечения. В III группе после 3 курсов ИХТ остаточная популяция клеток ХЛЛ (МОБ) составила в среднем $33,5 \pm 7,84\%$, при этом профиль экспрессии всех прогностических маркеров, выявленных в дебюте заболевания, оставался без изменений.

После 6 курсов ИХТ обращало внимание отсутствие статистически значимых отличий в значениях МОБ во всех 3-х группах в сравнении с данными после 3-х курсов ИХТ. Количество МОБ в I группе составило 0 %, во II группе – $0,42 \pm 0,09\%$, в III группе – $33,2 \pm 8,07\%$ (табл. 2). Неизменным оставался и профиль экспрессии прогностических маркеров: отсутствие экспрессии в I группе, вариабельная экспрессия CD25, сниженная после 3 курса ИХТ экспрессия CD38 и отсутствие экспрессии ZAP-70, CD11c и FMC7 во II группе, высокая экспрессия всех анализируемых маркеров – CD25, CD38, ZAP-70, CD11c и FMC7 в III группе. Отсутствие динамики в значениях МОБ и экспрессии иммунофенотипических маркеров после 6 курсов ИХТ может явиться основанием для проведения оценки эффекта лечения методом ИФТ уже на промежуточных этапах, то есть после 4-го и/или 5-го курсов терапии в целях пересмотра схем лечения, что на наш взгляд, требует продолжения исследований.

Вместе с тем, установленные нами до начала ИХТ больных ХЛЛ различия в профиле экспрессии маркерных молекул на В-лимфоцитах представляют несомненный интерес. Так, ряд авторов проводит исследования по оценке влияния экспрессии CD38, ZAP-70, CD11c, CD25, FMC7 на результаты специфической терапии, однако эти данные противоречивы. Известно, что при ХЛЛ позитивность CD38, представляющего собой трансмембранный гликопротеин, является плохим прогностическим маркером, связанным с резистентностью к лечению [16; 17]. Предполагается, что экспрессия CD38 более 20 % связана с поражением лимфатических узлов, печени, а также с агрессивным течением заболевания [17]. По другим данным, позитивность CD38 на поздних стадиях связана с бессобытийной и общей выживаемостью, а при ранних стадиях является плохим прогностическим фактором общей выживаемости [17].

Согласно нашим данным у пациентов II группы (ремиссия) отмечены исходно высокие уровни экспрессии 2-х маркеров – CD38 и CD25. После ИХТ отмечалось значительное снижение экспрессии CD38. А в III группе (стабилизация) в исходе установлена высокая экспрессия всех маркеров – CD38, ZAP-70, CD11c CD25, FMC7 и отсутствие изменения профиля экспрессии после лечения.

Результаты по изучению экспрессии FMC7 согласуются с данными литературы. Показано, что пациентам с экспрессией FMC7 ниже 30 % лечение требовалось чаще в отличие от пациентов с экспрессией более 30 % [18]. В нашем исследовании, напротив, отсутствие экспрессии FMC7 отмечено в I и II группах больных с положительным ответом на лечение по схемам RB и FCR, в то время как в III группе – высокая экспрессия FMC7, что согласуется с данными Choi Y. и др. (2021), получившими аналогичные нашим результаты [19].

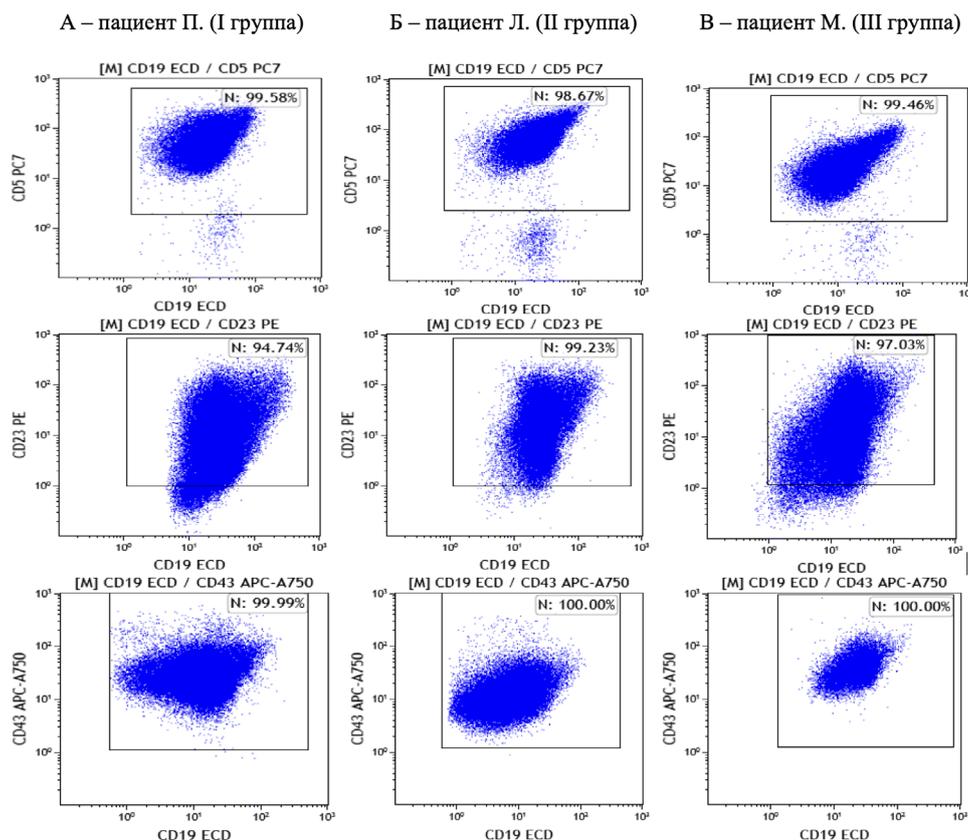


Рис. 1. Результаты иммунофенотипирования костного мозга больных ХЛЛ методом проточной цитометрии до лечения. Точечные графики специфической для В-ХЛЛ коэкспрессии CD-молекул. Синим цветом выделена популяция опухолевых В-лимфоцитов: А – пациент П. (I группа), Б – пациент Л. (II группа), В – пациент М. (III группа).

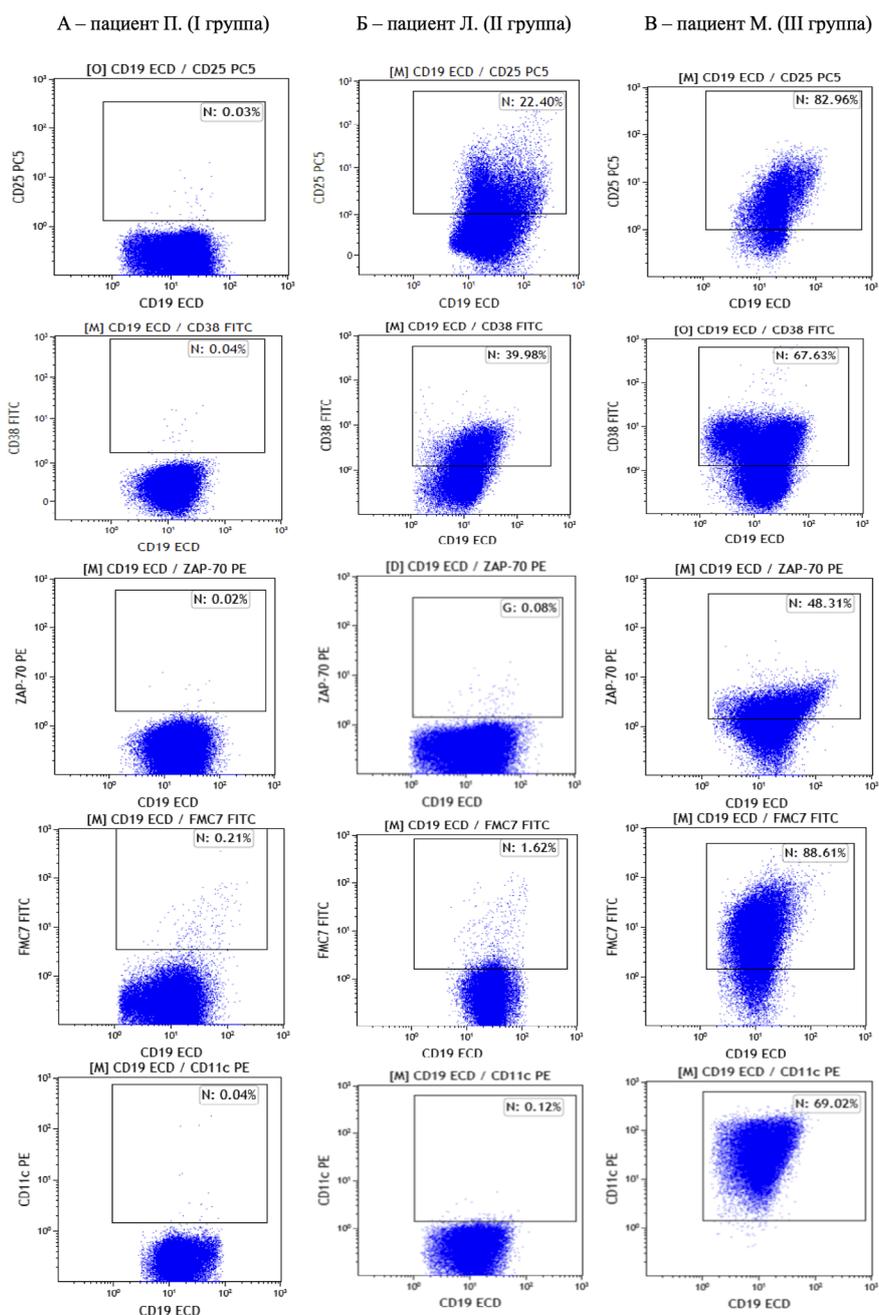


Рис. 2. Результаты иммунофенотипирования костного мозга больных ХЛЛ методом проточной цитометрии до лечения. Точечные графики экспрессии прогностических маркерных молекул. Синим цветом выделена популяция опухолевых В-лимфоцитов: А – пациент П. (I группа), Б – пациент Л. (II группа), В – пациент М. (III группа).

Таблица 1. Экспрессия CD38, ZAP-70, CD11c, CD25, FMC7 на В-лимфоцитах до лечения в костном мозге больных ХЛЛ

Группы больных	CD38, %	ZAP-70, %	CD11c, %	CD25, %	FMC7, %
I (n = 2)	0	0	0	0	0–0,2
II (n = 14)	0–57,5	0	0	0,4–47,6	0–1,6
III (n = 4)	57,5–69,2	36,6–48,3	20,0–96,5	69,4–92,7	13,6–88,6

Таблица 2. Количественная характеристика МОБ в костном мозге больных ХЛЛ на этапах ИХТ

Группы больных	Количественная характеристика МОБ на этапах обследования (% от ЯСК остаточной популяции клеток ХЛЛ)		
	День 0 (M ± m)	После 3 курса ИХТ (M ± m)	После 6 курса ИХТ (M ± m)
I (n = 2)	72,4 ± 1,21	0***	0***
II (n = 14)	86,2 ± 1,43	0,48 ± 0,13***	0,42 ± 0,09***
III (n = 4)	90,1 ± 1,60	33,5 ± 7,84***	33,2 ± 8,07***

Примечание: ЯСК – ядродержащие клетки, * – статистически значимые отличия от МОБ «день 0» в своей группе ($p < 0,05$), ** – статистически значимые отличия от МОБ I и II/III группы ($p < 0,05$).

Далее, позитивность по CD11c определяется как aberrantная экспрессия при ХЛЛ [20; 21]. Клинические данные и прогностическая значимость CD11c при ХЛЛ ограничены. В исследовании Umit E. G. (2017) была выявлена значительная взаимосвязь между позитивностью CD11c ($\geq 20\%$) и временем до лечения [22]. По нашим данным, позитивность по CD11c отмечена в III группе больных и варьирует в пределах от 20,0 до 96,5 %.

Экспрессия антигена CD25 (α -цепь поверхностного рецептора IL-2) отражает активированное состояние опухолевого лимфоцита. Shvidel L. и др. (2012) не нашли доказательств того, что этот параметр в отдельности может использоваться в качестве предиктора общей выживаемости или времени до первого лечения [23]. В наших исследованиях отмеченная в III группе повышенная экспрессия CD25 на опухолевых В-лимфоцитах наряду с CD38, ZAP-70, CD11c, FMC7, сопровождалась неудовлетворительным ответом на терапию.

Таким образом, получены предварительные данные, указывающие на то, что отсутствие или повышенный уровень экспрессии прогностических маркеров CD38, CD25, ZAP-70, CD11c, FMC7 на В-лимфоцитах у больных на этапе диагностики ХЛЛ могут предопределять гематологический ответ на терапию по схемам RB или FCR.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходно повышенная экспрессия одновременно всех прогностических антигенов: CD38, CD25, ZAP-70, CD11c, FMC7 на опухолевой популяции В-лимфоцитов у больных ХЛЛ ассоциируется с неудовлетворительным ответом на лечение, что представляется перспективным с точки зрения изучения влияния анализируемых маркерных молекул на достижение гематологического ответа на этапах иммунохимиотерапии.

Список источников

1. Войцеховский В. В., Заболотских Т. В., Целуйко С. С., Ландышев Ю. С., Григоренко А. А. Хронический лимфолейкоз. Благовещенск, 2015, 178 с.
2. Стадник Е. А., Стругов В. В., Вирец Ю. В., Зарицкий А. Ю. Хронический лимфолейкоз. Рекомендации по диагностике и лечению. Бюллетень федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова. 2012;(6):5–15.
3. Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med. 2005 Feb 24;352(8):804–815. <https://doi.org/10.1056/nejmra041720>
4. Rodríguez-Vicente AE, Díaz MG, Hernández-Rivas JM. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogeneous disease. Cancer Genet. 2013 Mar;206(3):49–62. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2013.01.003>
5. International CLL-IPI working group. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. Lancet Oncol. 2016 Jun;17(6):779–790. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(16\)30029-8](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(16)30029-8)
6. Кравченко Д. В., Свирновский А. И. Хронический лимфоцитарный лейкоз: клиника, диагностика, лечение. Гомель: ГУ «РНЦ ПМ и ЭЧ», 2017, 117 с.
7. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Blood. 2008 Apr 15;111(8):3941–3967. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-11-120535>

8. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018 Jun 21;131(25):2745–2760. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-806398>
9. Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M, Böttcher S, Ghia P, Zehnder JL, et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia*. 2007 May;21(5):956–964. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404584>
10. Molica S, Giannarelli D, Montserrat E. Minimal residual disease and survival outcomes in patients with chronic lymphocytic leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2019 Jul;19(7):423–430. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2019.03.014>
11. Kovacs G, Robrecht S, Fink AM, Bahlo J, Cramer P, von Tresckow J, et al. Minimal Residual Disease Assessment Improves Prediction of Outcome in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Who Achieve Partial Response: Comprehensive Analysis of Two Phase III Studies of the German CLL Study Group. *J Clin Oncol*. 2016 Nov 1;34(31):3758–3765. <https://doi.org/10.1200/jco.2016.67.1305>
12. Сухина И. А., Поляков А. С., Семелев В. Н., Никитин В. Ю., Иванов А. М., Колюбаева С. Н. и др. Взаимосвязь вариабельности иммунофенотипа хронического лимфоцитарного лейкоза с прогнозом и молекулярно-генетическими аномалиями. *Лаборатория ЛПУ*. 2014;4-1:33–37.
13. Глузман Д. Ф., Скляренко Л. М., Надгорная В. А. *Диагностическая онкогематология*. Киев: Морион, 2011, 256 с.
14. Shaikh MS, Ahmed A, Sohail S, Fahim A, Nohario SH, Pervez S. Flow Cytometric Analysis of ZAP-70 Protein Expression for B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia Prognostication: Usefulness and Limitations. *Cureus*. 2020 Nov 24;12(11):e11691. <https://doi.org/10.7759/cureus.11691>
15. Кит О. И., Тимофеева С. В., Ситковская А. О., Новикова И. А., Колесников Е. Н. Биобанк ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России как ресурс для проведения исследований в области персонифицированной медицины. *Современная онкология*. 2022;24(1):6–11. <https://doi.org/10.26442/18151434.2022.1.201384>
16. Mainou-Fowler T, Dignum H, Taylor PR, Dickinson AM, Saunders PW, Proctor SJ, et al. Quantification improves the prognostic value of CD38 expression in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2002 Sep;118(3):755–761. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2002.03673.x>
17. Joshi AD, Hegde GV, Dickinson JD, Mittal AK, Lynch JC, Eudy JD, et al. ATM, CTLA4, MND4, and HEM1 in high versus low CD38 expressing B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res*. 2007 Sep 15;13(18 Pt 1):5295–5304. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-07-0283>
18. Oscier DG, Stevens J, Hamblin TJ, Pickering RM, Lambert R, Fitchett M. Correlation of chromosome abnormalities with laboratory features and clinical course in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 1990 Nov;76(3):352–358. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1990.tb06367.x>
19. Choi Y, Lee JH, Jung CW, Jo JC, Kim JS, Kim I, et al. Treatment outcome and prognostic factors of Korean patients with chronic lymphocytic leukemia: a multicenter retrospective study. *Korean J Intern Med*. 2021 Jan;36(1):194–204. <https://doi.org/10.3904/kjim.2019.210>
20. Postigo AA, Corbí AL, Sánchez-Madrid F, de Landázuri MO. Regulated expression and function of CD11c/CD18 integrin on human B lymphocytes. Relation between attachment to fibrinogen and triggering of proliferation through CD11c/CD18. *J Exp Med*. 1991 Dec 1;174(6):1313–1322. <https://doi.org/10.1084/jem.174.6.1313>
21. Wormsley SB, Baird SM, Gadol N, Rai KR, Sobol RE. Characteristics of CD11c+CD5+ chronic B-cell leukemias and the identification of novel peripheral blood B-cell subsets with chronic lymphoid leukemia immunophenotypes. *Blood*. 1990 Jul 1;76(1):123–130.
22. Umit EG, Baysal M, Durmus Y, Demir AM. CD11c expression in chronic lymphocytic leukemia revisited, related with complications and survival. *Int J Lab Hematol*. 2017 Oct;39(5):552–556. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12695>
23. Shvidel L, Braester A, Bairey O, Rahimi-Levene N, Herishanu Y, Tadmor T, et al; Israeli CLL Study Group. Cell surface expression of CD25 antigen (surface IL-2 receptor α -chain) is not a prognostic marker in chronic lymphocytic leukemia: results of a retrospective study of 281 patients. *Ann Hematol*. 2012 Oct;91(10):1597–1602. <https://doi.org/10.1007/s00277-012-1492-4>

Информация об авторах:

Селютин Олеся Николаевна✉ – биолог клинко-диагностической лаборатории, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6762-0835>, SPIN: 4347-0302, AuthorID: 759134, Scopus Author ID: 57194276434

Гуськова Наиля Катифовна – к.б.н., заведующая клинко-диагностической лабораторией, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4222-1579>, SPIN: 5407-6285, AuthorID: 306979, Scopus Author ID: 6506703993

Лысенко Ирина Борисовна – д.м.н., профессор, врач-гематолог, заведующая отделением онкогематологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4457-3815>, SPIN: 9510-3504, AuthorID: 794669

Коновальчик Мария Алексеевна – к.б.н., биолог клинко-диагностической лаборатории, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9962-7318>, SPIN: 9724-0766, AuthorID: 881434

Вклад авторов:

Селютин О. Н. – разработка дизайна исследования, выполнение лабораторных исследований, систематизация и анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи, редактирование статьи;

Гуськова Н. К. – разработка дизайна исследования, выполнение лабораторных исследований, систематизация и анализ полученных данных, написание текста рукописи, утверждение итогового варианта текста рукописи;

Лысенко И. Б. – консультация по клиническим случаям, интерпретация и анализ данных, редактирование статьи;

Коновальчик М. А. – написание текста рукописи, редактирование статьи.

ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С НЕИНВАЗИВНО-МЫШЕЧНЫМ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

А. Б. Сагалянц¹, Л. И. Белякова^{1✉}, А. Н. Шевченко¹, Е. С. Бондаренко¹, Е. Ю. Златник¹, И. А. Новикова¹, Е. В. Филатова¹, В. К. Хван¹, И. А. Хомутенко¹, Д. В. Бурцев²

1. НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

2. Областной консультативно-диагностический центр, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ drlbelyakova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить особенности локального распределения популяций клеток иммунной системы у пациентов с немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря различной степени злокачественности.

Материалы и методы. В исследование были включены 51 пациент с впервые выявленным немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря (гистологическая верификация папиллярной уротелиальной карциномы), после комплексного лечения и динамического наблюдения в течение 9 мес. в онкоурологическом отделении ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Пациенты были распределены на две группы: 1 группа – с опухолью низкого злокачественного потенциала (Low grade – LG), $n = 31$; 2 группа – с опухолью высокого злокачественного потенциала (High grade – HG), $n = 20$. Через 6–9 мес. у 24 пациентов был диагностирован рецидив заболевания – в 48,4 % у пациентов 1 группы ($n = 15$) и в 45 % – 2 группы ($n = 9$). В клеточных суспензиях, полученных из первичной и рецидивной опухоли, а также перифокальной зоны с использованием проточной цитометрии, оценивали относительное содержание иммунокомпетентных клеток. Проводили сравнение содержания отдельных популяций лимфоцитов в ткани опухоли, перифокальной зоны первичных и рецидивных образований различной степени злокачественности. Статистическая обработка выполнялась с использованием Statistica 13.0.

Результаты. Развитие рецидивной опухоли низкого злокачественного потенциала сопровождается привлечением в её микроокружение клеток врожденного иммунитета (NK- и NKT-лимфоцитов), что сопряжено с дисбалансом в количестве основных клеток адаптивного иммунитета – отмечено достаточно выраженное снижение в опухоли Т-лимфоцитов хелперно-индукторного типа при неизменном содержании цитотоксических Т-лимфоцитов, а также разнонаправленном характере изменения ДП- (снижение) и ДН-лимфоцитов (увеличение). Особенностью развития рецидивной опухоли высокого злокачественного потенциала является то, что оно сопровождается привлечением в её микроокружение клеток врожденного иммунитета (NK- и NKT-лимфоцитов), а также разнонаправленным изменением ДП- (снижение) и ДН-лимфоцитов (увеличение).

Заключение. Проведенные исследования популяционного состава опухолей, так и их перифокальных тканей немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря позволили выявить особенности, отражающиеся в перераспределении цитолитических клеток, формированием иммуносупрессивных условий, отражающихся как на проявлении биологических свойств опухолевых клеток, так и на изменении клеточного состава тканей мочевого пузыря, вовлеченного в процесс развития и прогрессирования онкологического заболевания.

Ключевые слова:

рак мочевого пузыря, немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, локальный клеточный иммунитет, лимфоциты, рецидив

Для корреспонденции:

Белякова Любовь Игоревна – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: drlbelyakova@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7955-3473>

SPIN: 3382-8559, AuthorID: 1080471

ResearcherID: AAN-7729-2020

Финансирование: работа выполнена в рамках выполнения государственного задания по теме «Разработка прогностических и предиктивных алгоритмов на основе выявления новых иммунологических и молекулярно-генетических характеристик злокачественных опухолей и их микроокружения», рег. № 121031100251-9.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Сагалянц А. Б., Белякова Л. И., Шевченко А. Н., Бондаренко Е. С., Златник Е. Ю., Новикова И. А., Филатова Е. В., Хван В. К., Хомутенко И. А., Бурцев Д. В. Особенности локального иммунитета у пациентов с немышечно-мышечным раком мочевого пузыря различной степени злокачественности. Южно-Российский онкологический журнал. 2022; 3(4): 58-66. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-6>

Статья поступила в редакцию 08.08.2022; одобрена после рецензирования 15.10.2022; принята к публикации 12.12.2022.

© Сагалянц А. Б., Белякова Л. И., Шевченко А. Н., Бондаренко Е. С., Златник Е. Ю., Новикова И. А., Филатова Е. В., Хван В. К., Хомутенко И. А., Бурцев Д. В., 2022

LOCAL IMMUNITY FEATURES IN PATIENTS WITH NON-INVASIVE MUSCULAR BLADDER CANCER OF VARIOUS DEGREES OF MALIGNANCE

A. B. Sagakyants¹, L. I. Belyakova^{1✉}, A. N. Shevchenko¹, E. S. Bondarenko¹, E. Yu. Zlatnik¹, I. A. Novikova¹, E. V. Filatova¹, V. K. Hvan¹, I. A. Khomutenko¹, D. V. Burtsev²

1. National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

2. Regional Consultative and Diagnostic Center, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ drlbelyakova@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To study the features of the local distribution of populations of immune system cells in patients with non-invasive muscular bladder cancer of various degrees of malignancy.

Materials and methods. The study included 51 patients with newly diagnosed non-muscle-invasive bladder cancer (papillary urothelial carcinoma) who received complex treatment and follow-up after 9 months at the oncurological department of the National Medical Research Center of Oncology. Patients were divided into two groups: group 1 – with a tumor of low malignant potential (Low grade – LG), $n = 31$; group 2 – with a tumor of high malignant potential (High grade – HG), $n = 20$. After 6–9 months, 24 patients were diagnosed with a relapse of the disease – in 48,4 % in patients of group 1 ($n = 15$) and in 45 % – in group 2 ($n = 9$). In cell suspensions obtained from the primary and recurrent tumors, as well as the perifocal zone, the relative number of populations of immunocompetent cells was estimated using flow cytometry. A comparison was made of the content of individual populations of lymphocytes in the tumor tissue, the perifocal zone of primary and recurrent lesions of various degrees of malignancy. Statistical processing was performed using Statistica 13.0.

Results. The development of a recurrent tumor of low malignant potential is accompanied by the involvement of cells of innate immunity (NK- and NKT-lymphocytes) into its microenvironment, which is associated with an imbalance in the number of main cells of adaptive immunity – a fairly pronounced decrease in the tumor of T-lymphocytes of the helper-inductor type was noted with a constant content cytotoxic T-lymphocytes, as well as the multidirectional nature of changes in DP- (decrease) and DN-lymphocytes (increase). A feature of the development of a recurrent tumor of high malignant potential is that it is accompanied by the involvement of innate immunity cells (NK- and NKT-lymphocytes) into its microenvironment, as well as multidirectional changes in DP- (decrease) and DN-lymphocytes (increase).

Conclusion. Studies of the population composition of tumors and their perifocal tissues of NMIBC revealed a number of features that are reflected in the redistribution of cytolytic cells, the formation of immunosuppressive conditions, which are reflected both in the manifestation of the biological properties of tumor cells and in changes in the cellular composition of bladder tissues involved in the process. development and progression of cancer.

Keywords:

bladder cancer, non-muscle-invasive bladder cancer, local cellular immunity, lymphocytes, relapse

For correspondence:

Lyubov I. Belyakova – PhD student, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: drlbelyakova@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7955-3473>

SPIN: 3382-8559, AuthorID: 1080471

ResearcherID: AAH-7729-2020

Funding: the study was performed as part of the state assignment on the topic «Development of prognostic and predictive algorithms based on the identification of new immunological and molecular genetic characteristics of malignant tumors and their microenvironment», reg. No. 121031100251-9.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Sagakyants A. B., Belyakova L. I., Shevchenko A. N., Bondarenko E. S., Zlatnik E. Yu., Novikova I. A., Filatova E. V., Hvan V. K., Khomutenko I. A., Burtsev D. V. Local immunity features in patients with non-invasive muscular bladder cancer of various degrees of malignancy. South Russian Journal of Cancer. 2022; 3(4): 58-66. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-6>

The article was submitted 08.08.2022; approved after reviewing 15.10.2022; accepted for publication 12.12.2022.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Согласно последним данным GLOBOCAN, на злокачественные новообразования (ЗНО) мочевого пузыря приходится 3 % всех диагнозов рака в мире, высокая распространенность наблюдается в развитых странах [1]. По данным мировой статистики продолжает занимать 10 строчку в структуре общей онкологической заболеваемости [2]. Почти 75 % уротелиальных карцином являются неинвазивными карциномами с высокой частотой рецидива заболевания после хирургического лечения без инфильтрации стенки мочевого пузыря или отдаленных метастазов, остальные 25 % – это мышечно-инвазивная форма рака мочевого пузыря, которая является высокоинвазивной и с наличием отдаленных метастазов [3]. Среди пациентов с поверхностными папиллярными поражениями обычно наблюдаются множественные рецидивы и только у 10–30 % из них развиваются инвазивные опухоли высокой степени злокачественности [4].

Диагностические методы оценки немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря (НМИРМП), а также рецидива и прогрессирования, имеют ряд недостатков: низкую чувствительность и специфичность, поэтому существует необходимость в исследовании данного направления для осуществления более тщательной диагностики и выявлению злокачественных новообразований (ЗНО) на ранних этапах развития рецидива заболевания для адекватного и своевременного лечения и выбора тактики ведения больных [5].

Общепринятым в настоящее время является представление о том, что развитие опухолей различной локализации сопровождается нарушением антигенного гомеостаза организма человека, что, на определенных стадиях развития патологического процесса, закономерно вызывает активацию различных эффекторных механизмов врожденного и адаптивного иммунитета. Дальнейшее развитие неоплазмы сопровождается сложным её взаимодействием с остальными анатомо-физиологическими структурами организма, через реализацию ряда стадий, изучение которых с целью выявления новых диагностических и прогностических маркеров является актуальной задачей современной онкоиммунологии [6].

Показано, что характер распределения и плотность иммунных клеток в опухоли отражают активность иммунной системы в отношении опухолевых

клеток. В данном контексте российскими и зарубежными авторами были изучены различные популяции иммунных клеток. Тесное взаимодействие клеток микроокружения между собой и с опухолевыми клетками приводит к изменению их фенотипа, экспрессии генов и изменения функциональной активности. Предыдущие исследования позволили выявить, что плотность Т-лимфоцитарной инфильтрации CD3-, CD8- или CD45RO-позитивными лимфоцитами имеет высокую прогностическую ценность в отношении различных опухолей. Так, Sharma P. и соавторы продемонстрировали лучшую безрецидивную выживаемость и общую выживаемость у 69 больных мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря (МИРМП) с высоким содержанием CD8+ лимфоцитов [7]. Кроме того, было показано, что высокие уровни внутриопухолевой инфильтрации CD3- и CD8-позитивными лимфоцитами предполагают лучшие результаты общей выживаемости среди пациентов с РМП [8].

Однако, несмотря на имеющуюся информацию по изучению роли отдельных клеток иммунной системы в развитии опухолей, в частности, РМП остается много неясного, в том числе особенности распределения иммунокомпетентных клеток (ИКК) между опухолью и её перифокальной зоной, что может вносить определенный вклад в характер развития патологического процесса и эффективность применяемых способов лечения. В связи с вышеизложенным, изучение роли локального распределения клеток иммунной системы является актуальной задачей для выявления новых потенциальных маркеров развития РМП и вероятности её рецидивирования.

Цель исследования: изучить особенности локального распределения популяций клеток иммунной системы у пациентов с неинвазивно-мышечным раком мочевого пузыря различной степени злокачественности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследовались образцы тканей опухоли 51 пациента с впервые выявленным НМИРМП. После проведенного комплексного лечения в объеме: трансуретральная резекция мочевого пузыря + адьювантная внутривезикулярная химиотерапия № 6 (ТУР+ВПХТ) – за всеми больными было установлено динамическое наблюдение в течение 9 мес. после проведенного комплексного лечения. Согласно

результатам гистологического анализа, пациенты с папиллярной уротелиальной карциномой были распределены на две группы: 1 группа – с опухолью низкого злокачественного потенциала (Low grade – LG), $n = 31$; 2 группа – с опухолью высокого злокачественного потенциала (High grade – HG), $n = 20$. Каждые 3 мес. больные проходили контрольное обследование, в том числе, цистоскопическое исследование мочевого пузыря, в результате которого через 6–9 мес. у 24 пациентов был диагностирован рецидив заболевания – в 48,4 % у пациентов 1 группы ($n = 15$) и в 45 % – 2 группы ($n = 9$).

От всех пациентов получено письменное согласие на участие в исследовании.

Всем больным с впервые выявленным НМИРМП в качестве лечения было рекомендовано комплексное лечение, основываясь на системе EORTC (Европейская организация по исследованию и лечению рака): ТУР+ВПХТ. Интраоперационно производился забор материала – фрагменты опухоли (ОП) и перифокальной зоны (ПЗ), а также аналогичный забор осуществлялся при выявлении рецидива заболевания, который зафиксирован у больных в течение 6–9 мес. динамического наблюдения. Препараты доставлялись в лабораторию, где подвергались механическому дроблению с последующей гомогенизацией ткани с использованием гомогенизатора BD Medimachine, США (к фрагментам ОП добавляли 2 мл буфера для отмывания клеток «Cell Wash», гомогенизировали 30 сек, клеточную суспензию фильтровали с использованием 50 μ m Medicons, США). Клетки осаждалась в рефрижераторной центрифуге Eppendorf Centrifuge 5702R (Eppendorf AG, Germany) при 250g в течение 5 минут. После удаления надосадочной жидкости, клетки ресуспензировали в 100 мкл буфера «Cell Wash».

Суспензия клеток обрабатывалась панелью моноклональных антител: CD3 FITC/CD15+56 PE/CD45 PerCP-Cy5.5/CD4 PE-Cy7/CD19 APC/CD8 APC-Cy7 в соответствии с инструкциями фирмы-производителя (BD, USA). Оценку результатов осуществляли на проточном цитометре FACS Cantoll (BD, USA). В каждом образце для анализа данных накапливали не менее 100 000 клеток. Оценивали относительное (процентное) содержание клеток искомого фенотипа к общему числу живых клеток. Проводили сравнение содержания отдельных популяций лимфоцитов (общее количество лимфоцитов (CD45+ клетки, Лимф); CD45+CD3+ клетки (общие CD3+ лимфоциты); CD45+CD3+CD4+ клетки (Т-лимфоциты)

хелперы (Th)); CD45+CD3+CD8+ клетки (цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ)); CD45+CD3+CD4+CD8+ клетки (двойные позитивные лимфоциты, ДП); CD45+CD3+CD4-CD8- клетки (двойные негативные лимфоциты, ДН); CD45+CD16+CD56+ клетки (НК-лимфоциты); CD45+CD3+CD16+CD56+ клетки (NKT-лимфоциты); CD45+CD19+ клетки (В-лимфоциты)) в ткани опухоли, перифокальной зоны первичных и рецидивных образований различной степени злокачественности.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета Statistica 13 (StatSoft Inc., США). Оценивали характер распределения полученных данных с использованием критерия Шапиро–Уилка. Так как полученные результаты оценки определяемых параметров не подчинялись закону нормального распределения, они представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха – 25 и 75 процентиля (Me [LQ; UQ]). Достоверность отличий оценивалась с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе характера развития опухолевого процесса, вероятности прогрессирования заболевания и особенностями локального иммунологического статуса особая роль отводится выявлению распределения отдельных популяций ИКК между собственно опухолевой тканью и её перифокальной зоной.

Результаты подобного сравнения при опухолях низкой степени злокачественности представлены на рисунках 1, 2, 3.

Из представленных результатов видно, что по сравнению с опухолью в перифокальной зоне наблюдается увеличение содержания ряда лимфоцитов: CD4+, CD45+CD3+CD4+CD8+, CD45+CD3+CD4-CD8- и CD45+CD19+ клеток, соответственно на 30 % (45,8 (41,9; 46,9) против 35,1 (33,7; 41,2), $p = 0,048$), 133 % (0,7 (0,49; 1,4) против 0,3 (0,2; 0,5), $p = 0,041$), 93 % (6,2 (5,9; 8,1) против 3,2 (2,4; 3,9), $p = 0,042$) и 85 % (10,9 (7,5; 14,3) против 5,9 (2,8; 7,3), $p = 0,035$). Обращает на себя внимание тенденция к снижению в ПЗ относительного количества CD8+ Т-лимфоцитов и CD45+CD16+CD56+, что указывает на их накоплении в опухолевой ткани (рис. 1).

В случае рассмотрения особенностей распределения ИКК между первичной ОП и её ПЗ у пациентов

с последующим развитием рецидива (группа первичных рецидивирующих), то в этом случае выявлено увеличение лимфоидной инфильтрации ПЗ по сравнению с ОП, что, вероятно реализуется за счёт увеличения клеток с потенциальной цитолитической активностью – CD8+, CD45+CD16+CD56+ лимфоцитов

(рис. 2). Указанные показатели оказались выше в ПЗ по сравнению с ОП на 130 % (38,2 (24,2; 47,9) против 16,6 (8,8; 21,1), $p = 0,037$), 23 % (50,4 (53,9; 67,6) против 41,0 (37,2; 44,9), $p = 0,048$) и 316 % (20,8 (12,4; 25,8) против 5,0 (3,9; 7,3), $p = 0,028$). На этом фоне выявлено значимое снижение в ПЗ с их вероятной аккумуляцией

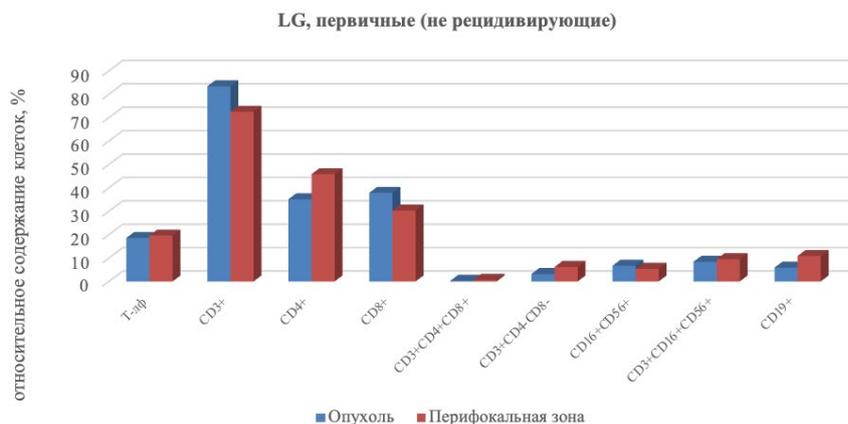


Рис. 1. Процентное содержание ИКК в опухоли и перифокальной зоне больных НМИРМП низкой степени злокачественности, 1 группа (LG) первичные (не рецидивирующие). Примечание: * – $p < 0,05$.

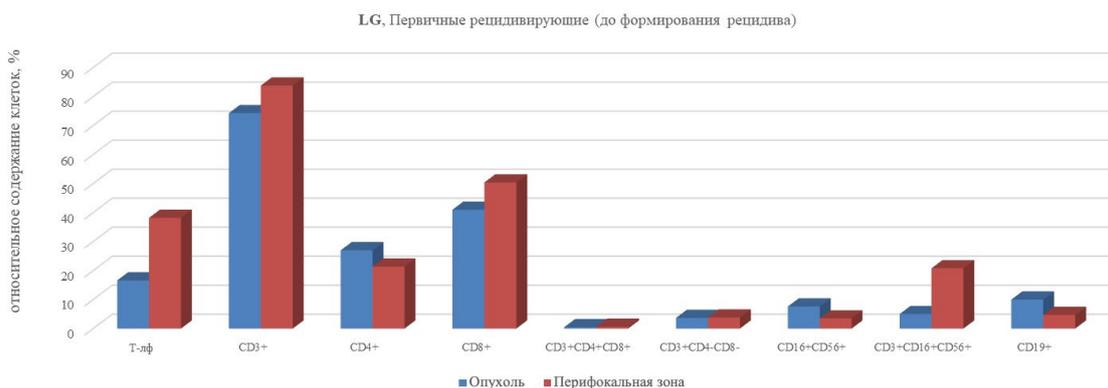


Рис. 2. Процентное содержание ИКК в опухоли и перифокальной зоне больных НМИРМП низкой степени злокачественности, 1 группа (LG) первичные рецидивирующие (до формирования рецидива). Примечание: * – $p < 0,05$.

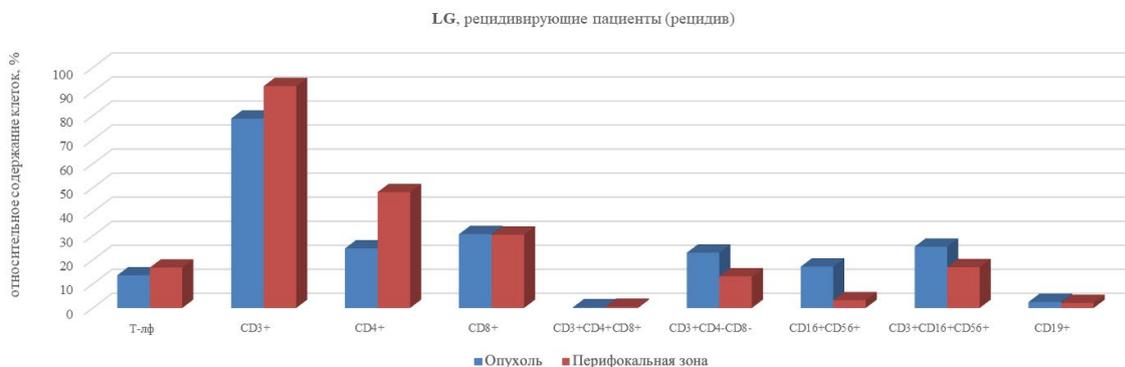


Рис. 3. Процентное содержание ИКК в опухоли и перифокальной зоне больных НМИРМП низкой степени злокачественности, 1 группа (LG) – рецидивирующие пациенты (рецидив). Примечание: * – $p < 0,05$.

муляцией в опухоли содержание CD45+CD16+CD56+ и CD45+CD19+ клеток (рис. 2). Данные показатели в ПЗ оказались ниже значений в опухоли на 54 % (3,5 (2,3; 4,5) против 7,6 (5,8; 10,2), $p = 0,035$) и 53 % (4,7 (3,9; 8,3) против 10,0 (7,9; 17,2), $p = 0,042$).

Вероятно, в условиях повышения вероятности образования в дальнейшем рецидива, наблюдается перераспределение ИКК между тканью опухоли и перифокальной зоны с увеличением в последней лимфоцитарной инфильтрации, CD8+ и CD45+CD3+CD16+CD56+, а также снижением CD4+, CD45+CD19+ и CD45+CD16+CD56+ клеток. При этом выявляется разнонаправленный характер распределения эффекторных клеток врожденного иммунитета – в опухоли накапливаются NK-лимфоциты, в то время как NKT-лимфоциты сосредотачиваются в перифокальной зоне.

Анализ полученных результатов определения особенностей распределения ИКК в рецидивной опухоли и её перифокальной зоны позволил выявить следующее (рис. 3).

При развитии рецидива в ПЗ опухоли наблюдается накопление CD4+ и CD45+CD3+CD4+CD8+ клеток, содержание которых превышало значения в ОП на 94 % (48,2 (40,3; 56) против 24,8 (16,1; 33,4), $p = 0,021$) и 67 % (0,5 (0,41; 0,75) против 0,3 (0,25; 0,35), $p = 0,045$). На фоне отмеченных изменений в ПЗ обнаружено снижение количества CD45+CD3+CD4-CD8- (ДН-лимфоцитов) и эффекторных клеток врожденного иммунитета – NK- и NKT-лимфоцитов, которые накапливаются в опухоли. Указанные параметры в ПЗ были ниже чем в ОП на 43 % (13,1 (8; 18,2) против 23,0 (18,5; 30), $p = 0,046$), 81 % (3,2 (2,6; 3,7) против 17,2 (10; 24,3), $p = 0,033$) и 33 % (17,0 (12; 21,9) против 25,5 (20,4; 30,5), $p = 0,037$).

Таким образом, развитие рецидивной опухоли низкого злокачественного потенциала сопровождается привлечением в её микроокружение клеток врожденного иммунитета (NK- и NKT-лимфоцитов), что сопряжено с дисбалансом в количестве основных клеток адаптивного иммунитета – отмечено достаточно выраженное снижение в опухоли Т-лимфоцитов хелперно-индукторного типа при неизменном содержании цитотоксических Т-лимфоцитов, а также разнонаправленном характере изменения ДП- (снижение) и ДН-лимфоцитов (увеличение).

Результаты сравнения распределения популяций ИКК между ПЗ и ОП при опухолях мочевого пузыря высокой степени злокачественности представлены на рисунках 4, 5, 6.

Из представленных результатов видно, что по сравнению с опухолью в перифокальной зоне наблюдается увеличение содержания ряда лимфоцитов: CD8+, CD45+CD3+CD4+CD8+, CD45+CD16+CD56+ и CD45+CD3+CD16+CD56+ клеток, соответственно на 50 % (33,9 (27,1; 49,3) против 22,6 (16,4; 25,8), $p = 0,026$), 350 % (1,8 (1,4; 3,6) против 0,4 (0,25; 1,45), $p = 0,008$), 92 % (7,1 (4,9; 14,3) против 3,7 (2,6; 5,5), $p = 0,031$) и 134 % (13,8 (10,6; 20,3) против 5,9 (3,4; 6,6), $p = 0,017$). Выявлено снижение в ПЗ относительного количества CD4+ и CD45+CD19+ клеток, соответственно на 26 % (29,6 (16,8; 33,3) против 39,8 (35,4; 47,9), $p = 0,045$) и 50 % (5,9 (2,5; 7,3) против 11,7 (10,5; 16,4), $p = 0,042$), что указывает на их накопление в опухолевой ткани (рис. 4).

В случае рассмотрения особенностей распределения ИКК между первичной ОП и её ПЗ у пациентов с последующим развитием рецидива (группа первичных рецидивировующих), то в этом случае выявлено увеличение инфильтрации ПЗ по сравнению с ОП основными популяциями адаптивного и врожденного иммунитета (рис. 5). В ПЗ оказалось статистически значимо по сравнению с ОП содержание CD4+, CD8+ и CD45+CD3+CD4+CD8+ клеток, а также CD45+CD16+CD56+ и CD45+CD3+CD16+CD56+ клеток, соответственно на 26 % (50,0 (49; 51,6) против 39,8 (30,6; 48,2), $p = 0,037$), 51 % (28,3 (27,9; 28,7) против 18,7 (12,7; 26,6), $p = 0,046$), 57 % (0,55 (0,52; 0,57) против 0,35 (0,23; 0,43), $p = 0,047$), а также на 117 % (6,3 (4,8; 9,3) против 2,9 (2,1; 4,7), $p = 0,041$) и 52 % (6,4 (6,2; 8,6) против 4,2 (2,9; 5,1), $p = 0,043$). На этом фоне выявлено значимое снижение в ПЗ с их вероятной аккумуляцией в опухоли содержание В-лимфоцитов. Данные показатели в ПЗ оказались ниже значений в опухоли на 46 % (11,4 (11,1; 19,3) против 21,0 (18,9; 30), $p = 0,044$).

Вероятно, в условиях повышения вероятности образования в дальнейшем рецидива, наблюдается перераспределение ИКК между тканью опухоли и перифокальной зоны с увеличением в последней клеток адаптивного и врожденного иммунитета, потенциально обладающих цитолитической активностью, а также снижением количества В-лимфоцитов.

Анализ полученных результатов определения особенностей распределения ИКК в рецидивной опухоли и её перифокальной зоны позволил выявить следующее (рис. 6).

При развитии рецидива в ПЗ опухоли наблюдается накопление CD45+CD3+CD4+CD8+ клеток и CD45+CD19+ клеток, содержание которых превыша-

ло значения в ОП на 50 % (0,3 (0,25; 0,39) против 0,2(0,1; 0,24), $p = 0,047$) и 396 % (27,3 (15,1; 32,4) против 5,5 (3,7; 6,05), $p = 0,005$). На фоне отмеченных изменений в ПЗ обнаружено снижение количества общей лимфоидной инфильтрации, а также CD45+CD3+CD4-CD8- (ДН-лимфоцитов) и эффекторных клеток врожденного имму-

нитета – CD45+CD3+CD16+CD56+ (NKT-лимфоцитов), которые накапливаются в опухоли. Казанные параметры в ПЗ были ниже, чем в ОП на 54 % (20,8 (12,4; 29,2) против 45,2 (32; 48,7), $p = 0,044$), 88 % (1,5 (1,1; 3,5) против 12,2 (7,0; 15,3), $p = 0,039$) и 42 % (3,6 (2,1; 3,7) против 6,2 (3,6; 6,1), $p = 0,042$).

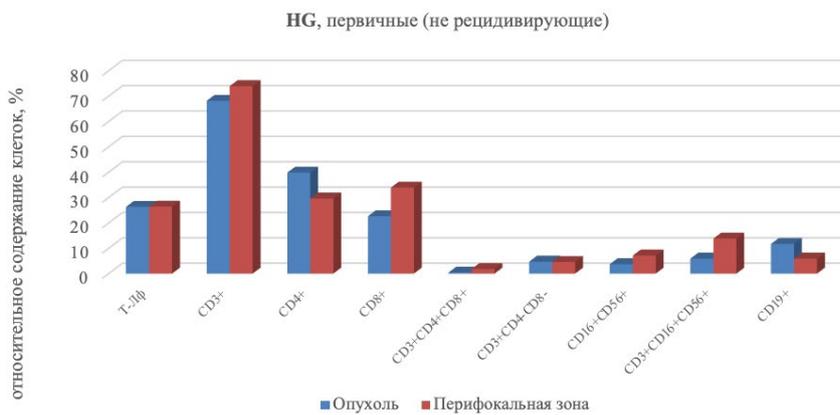


Рис. 4. Процентное содержание ИКК в опухоли и перифокальной зоне больных НМИРМП низкой степени злокачественности, 2 группа (HG) первичные (не рецидивирующие). Примечание: * – $p < 0,05$.

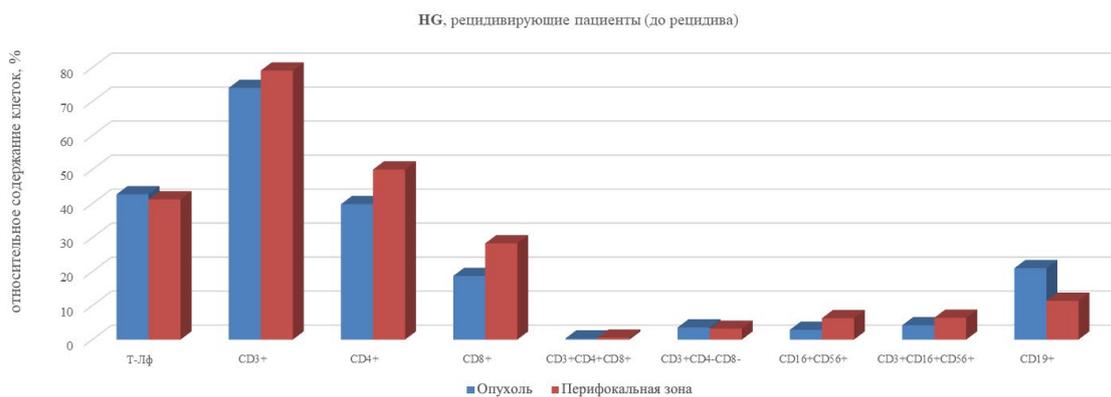


Рис. 5. Процентное содержание ИКК в опухоли и перифокальной зоне больных НМИРМП низкой степени злокачественности, 2 группа (HG) первичные рецидивирующие (до формирования рецидива). Примечание: * – $p < 0,05$.

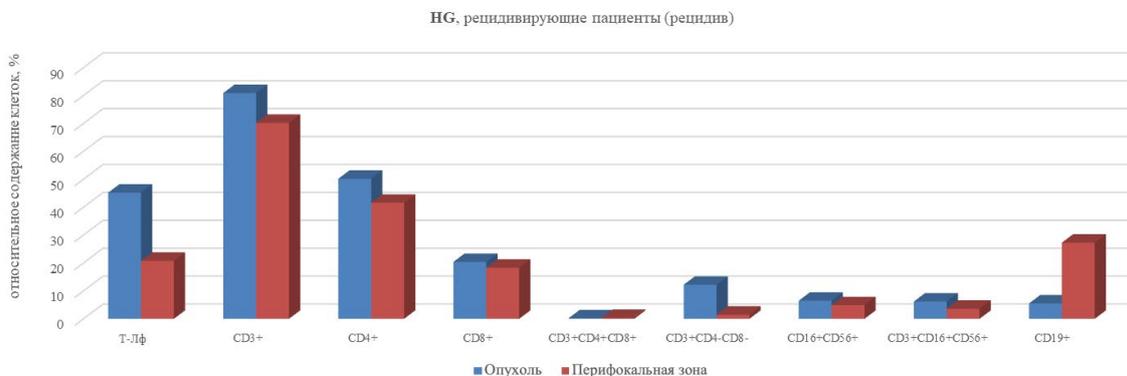


Рис. 6. Процентное содержание ИКК в опухоли и перифокальной зоне больных НМИРМП низкой степени злокачественности, 2 группа (HG) – рецидивирующие пациенты (рецидив). Примечание: * – $p < 0,05$.

Полученные ранее в нашей лаборатории данные, которые также согласуются с результатами аналогичных исследований, свидетельствуют о том, что иммунное микроокружение опухолей во многом способствует их прогрессированию, среди вариантов которого – метастазирование и рецидивирование [9]. Несмотря на то, что последнее нередко рассматривается как хирургическая проблема, возникающая в связи с нерадикальностью операции, накапливается все больше данных указывающих на то, что в рецидивировании участвует ряд клеточных факторов, таких как ОСК, а также клетки иммунного микроокружения. В частности, в обзоре Yan Chen и соавт. в 2022, представляющем собой метаанализ работ последних лет по изучению роли микроокружения в рецидивировании рака желудка, подчеркивается роль высокого количества CD8+, CD4+Tm, NK-лимфоцитов, макрофагов M1, и низкого содержания макрофагов M2, Tregs лимфоцитов, тучных клеток для длительной безрецидивной выживаемости больных [10].

Предполагается, что в процессе рецидивирования могут играть важную роль некоторые минорные субпопуляции Т-лимфоцитов, в частности, ДП и ДН. По результатам исследования количества ДП Т-лимфоцитов в крови больных с опухолями урологической локализации, в том числе и РМП, установлено повышение уровня этих клеток, а также выявлена их гетерогенность, представленная

CD4highCD8low и CD4+CD8high ДП субпопуляциями с Tem фенотипом и относящихся к Th2 [11].

Большое внимание привлекают к себе также ДН Т-клетки. В обзоре Zhiheng Wu et al., 2022, суммированы сообщения о разнонаправленных эффектах этих клеток на опухолевый рост – от стимуляции до антиген-независимого цитолиза и возможности использования их для адоптивной иммунотерапии [12]. При этом отмечается их фенотипическая и функциональная гетерогенность, а также изменение их активности в микроокружении опухоли [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования популяционного состава опухолей, так и их перифокальных тканей НМИРМП позволили выявить некоторые особенности, которые характеризуются развитием рецидивной опухоли высокого злокачественного потенциала (HG) привлечением в её микроокружение клеток врожденного иммунитета (NK- и NKT-лимфоцитов), а также разнонаправленном характере изменения ДП- (снижение) и ДН-лимфоцитов (увеличение). Формирующиеся иммуносупрессивные условия отражаются как на проявлении биологических свойств опухолевых клеток, так и на изменении клеточного состава тканей мочевого пузыря, вовлеченного в процесс развития и прогрессирования онкологического заболевания.

Список источников

1. Сальникова С. В., Славянская Т. А., Сепиашвили Р. И. Современные подходы к диагностике и прогнозированию течения уротелиального рака. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2018; 22(1):9–21. <https://doi.org/10.22363/2313-0245-2018-22-1-9-21>
2. IARC, Cancer Today. Estimated number of new cases in 2020, worldwide, both sexes, all ages. 2021. 2022. Доступно по: <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table>, Дата обращения: 30.10.2022.
3. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Amsterdam 2022. ISBN 978-94-92671-16-5
4. Кит О. И., Шевченко А. Н., Комарова Е. Ф., Пакус Д. И., Максимов А. Ю. Влияние сопряжения полиморфизма генов матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов с активностью внеклеточного протеолиза компонентов базальной мембраны на раннее рецидивирование у больных поверхностным раком мочевого пузыря. Уральский медицинский журнал. 2015; 7(130):73–78.
5. Белякова Л. И., Шевченко А. Н., Сагакянц А. Б., Филатова Е. В. Маркеры рака мочевого пузыря: их роль и прогностическая значимость (обзор литературы). Онкоурология. 2021; 17(2):145–156. <https://doi.org/10.17650/17269776-2021-17-2-145-156>
6. Хакимова Г. Г., Трякин А. А., Заботина Т. Н., Хакимова Ш. Г. Комплексная оценка системного и локального иммунитета, факторов воспаления и клинических показателей у больных раком желудка. Злокачественные опухоли. 2020; 10(4):5–15. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2020-10-4-5-15>
7. Sharma P, Shen Y, Wen S, Yamada S, Jungbluth AA, Gnjjatic S, Bajorin DF, Reuter VE, Herr H, Old LJ, Sato E. CD8 tumor-infiltrating lymphocytes are predictive of survival in muscle-invasive urothelial carcinoma. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Mar 6; 104(10):3967–3972. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611618104>

8. Horn T, Laus J, Seitz AK, Maurer T, Schmid SC, Wolf P, et al. The prognostic effect of tumour-infiltrating lymphocytic subpopulations in bladder cancer. *World J Urol.* 2016 Feb; 34(2):181–187. <https://doi.org/10.1007/s00345-015-1615-3>
9. Златник Е. Ю., Непомнящая Е. М., Новикова И. А., Алиев Т. А., Загора Г. И., Селютина О. Н. и др. Характеристика факторов локального иммунитета у больных саркома ми мягких тканей. *Современные проблемы науки и образования.* 2016; 3:93. Доступно по: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=24621>, Дата обращения: 30.10.2022.
10. Chen Y, Sun Z, Wan L, Chen H, Xi T, Jiang Y. Tumor Microenvironment Characterization for Assessment of Recurrence and Survival Outcome in Gastric Cancer to Predict Chemotherapy and Immunotherapy Response. *Front Immunol.* 2022 Apr 29; 13:890922. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.890922>
11. Bohner P, Chevalier MF, Cesson V, Rodrigues-Dias SC, Dartiguenave F, Burruni R, et al. Double Positive CD4+CD8+ T Cells Are Enriched in Urological Cancers and Favor T Helper-2 Polarization. *Front Immunol.* 2019 Mar 29; 10:622. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00622>
12. Wu Z, Zheng Y, Sheng J, Han Y, Yang Y, Pan H, et al. CD3+CD4-CD8- (Double-Negative) T Cells in Inflammation, Immune Disorders and Cancer. *Front Immunol.* 2022 Feb 10; 13:816005. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.816005>
13. Fang L, Ly D, Wang SS, Lee JB, Kang H, Xu H, et al. Targeting late-stage non-small cell lung cancer with a combination of DNT cellular therapy and PD-1 checkpoint blockade. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019 Mar 11; 38(1):123. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1126-y>

Информация об авторах:

Сагакянц Александр Борисович – к.б.н., доцент, заведующий лабораторией иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>, SPIN: 7272-1408, AuthorID: 426904, ResearcherID: M-8378-2019, Scopus Author ID: 24329773900

Белякова Любовь Игоревна – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7955-3473>, SPIN: 3382-8559, AuthorID: 1080471, ResearcherID: AAN-7729-2020

Шевченко Алексей Николаевич – д.м.н., профессор, заведующий отделением онкоурологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9468-134X>, SPIN: 2748-2638, AuthorID: 735424, ResearcherID: Y-5387-2018, Scopus Author ID: 57192283096

Бондаренко Елена Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8522-1026>, SPIN: 3117-4040, AuthorID: 865798, Scopus Author ID: 57200132337

Златник Елена Юрьевна – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, SPIN: 4137-7410, AuthorID: 327457, Scopus Author ID: 6603160432

Новикова Инна Арнольдовна – к.м.н., заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6496-9641>, SPIN: 4810-2424, AuthorID: 726229, ResearcherID: E-7710-2018, Scopus Author ID: 7005153343

Филатова Елена Валерьевна – к.м.н., врач-онколог, научный сотрудник отделение онкоурологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7904-4414>, SPIN: 7517-1549, AuthorID: 794870, Scopus Author ID: 5719228349

Хван Виктор Кидюевич – к.м.н., врач-уролог отделения онкоурологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 2761-6281, AuthorID: 1033644

Хомутенко Ирина Анатольевна – к.м.н., врач-онколог, старший научный сотрудник отделения онкоурологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0003-8044>, SPIN: 5401-5810, AuthorID: 735408

Бурцев Дмитрий Владимирович – д.м.н., главный врач, ГАУ РО «Областной консультативно-диагностический центр», г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Вклад авторов:

Сагакянц А. Б. – систематизация и анализ полученных данных, написание текста рукописи, консультация, итоговые выводы;

Белякова Л. И. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, сбор, систематизация и анализ полученных данных, написание текста рукописи, итоговые выводы;

Шевченко А. Н. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, консультация, итоговые выводы;

Бондаренко Е. С. – выполнение лабораторных исследований, анализ полученных данных;

Златник Е. Ю. – анализ полученных данных, консультация;

Новикова И. А. – анализ полученных данных, консультация;

Филатова Е. В. – сбор клинического материала, консультация;

Хван В. К. – сбор клинического материала;

Хомутенко И. А. – сбор клинического материала;

Бурцев Д. В. – консультация.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫЕ БРОНХОПЛАСТИЧЕСКИЕ ЛОБЭКТОМИИ В СТРУКТУРЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ СИНХРОННОГО ДУХСТОРОННЕГО ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННОГО НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО: РЕДКОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

О. И. Кит, Д. А. Харагезов, Ю. Н. Лазутин, Э. А. Мирзоян[✉], И. А. Лейман, С. Н. Тихонова

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ ellada.mirzoyan@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день рак легкого (РЛ) занимает лидирующее место в структуре общей онкологической заболеваемости среди мужского населения как в России, так и на территории зарубежных стран. Несмотря на современные диагностические возможности, имеющиеся в арсенале у врачей, неуклонно растет показатель запущенности и смертности, а больше половины новых случаев данной патологии диагностируется у пациентов старше 60–65 лет. Хирургическое вмешательство является основным методом лечения ранних стадий немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), однако по мере прогрессирования заболевания, к сожалению, снижается эффективность его применения. Тактика диагностики и лечения пациентов с одним НМРЛ давно разработана и отработана, не вызывает никаких затруднений, а вот при наличии двух и более опухолей, особенно при их локализации в разных легких, правильный выбор терапии обусловлен множеством дополнительных факторов. Как правило, больные с местно-распространенным синхронным НМРЛ часто получают только консервативную терапию, а для тех пациентов, кто всё-таки подвергается хирургическому вмешательству, факторы прогноза клинического течения до сих пор непонятны. В данной статье приведено описание редкого применения расширенной бронхоспастической верхней лобэктомии в качестве хирургического компонента комплексного лечения больного двухсторонним синхронным НМРЛ. Основываясь на данных нашего собственного наблюдения, можно утверждать, что применение современных терапевтических принципов в комплексе с хирургическим вмешательством, позволяет добиться удовлетворительных отдаленных результатов лечения пациентов с первично-множественным НМРЛ.

Интерес представленного наблюдения заключается в том, что оно содержит описание редкого и уникального применения последовательной расширенных бронхоспастических верхних лобэктомий в качестве хирургического компонента комплексного лечения больного двухсторонним синхронным НМРЛ, аналогов которого нами не было найдено в литературе. Нами показано, что последовательное применение современных терапевтических модальностей позволяет добиться удовлетворительных отдаленных результатов лечения местно-распространенного заболевания.

Ключевые слова:

рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, первично-множественный рак, синхронный рак, хирургическое лечение, мультимодальный подход

Для корреспонденции:

Мирзоян Эллада Арменовна – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-9714>

SPIN: 2506-8605, AuthorID: 1002948

ResearcherID: AAZ-2780-2021

Scopus Author ID: 57221118516

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Кит О. И., Харагезов Д. А., Лазутин Ю. Н., Мирзоян Э. А., Лейман И. А., Тихонова С. Н. Последовательные бронхоспастические лобэктомии в структуре комплексного лечения синхронного двухстороннего первично-множественного немелкоклеточного рака легкого: редкое клиническое наблюдение. Южно-Российский онкологический журнал. 2022; 3(4): 67-73. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-7>

Статья поступила в редакцию 26.05.2022; одобрена после рецензирования 28.10.2022; принята к публикации 12.12.2022.

© Кит О. И., Харагезов Д. А., Лазутин Ю. Н., Мирзоян Э. А., Лейман И. А., Тихонова С. Н., 2022

SEQUENTIAL BRONCHOPLASTIC LOBECTOMIES IN COMPLEX TREATMENT FOR SYNCHRONOUS BILATERAL MULTIPLE PRIMARY NON-SMALL CELL LUNG CANCER: A RARE CLINICAL CASE

O. I. Kit, D. A. Kharagezov, Yu. N. Lazutin, E. A. Mirzoyan[✉], I. A. Leyman, S. N. Tikhonova

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ ellada.mirzoyan@yandex.ru

ABSTRACT

Today, lung cancer (LC) occupies a special place in the oncological general morbidity among the male population both in Russia and in foreign countries. Despite modern diagnostic capabilities provided for modern physicians, steadily frequent cases of triggering and exclusion are more common in patients older than 60–65 years. Surgery is the main treatment for early-stage non-small cell lung cancer (NSCLC), but as the disease progresses, unfortunately, its effectiveness decreases. The strategy of diagnosing and treating patients with one NSCLC has been developed and worked out for a long time and does not cause any difficulties, but in the presence of two or more tumors, especially when they are located in both lungs, the correct choice of therapy is determined by many additional factors. This article describes the rare use of extended bronchoplastic upper lobectomy as a surgical component of the complex treatment of a patient with bilateral synchronous NSCLC. Based on our own observational data, it can be claimed that the use of modern therapeutic principles in combination with surgical intervention allows achieving satisfactory long-term results in the treatment of patients with primary multiple NSCLC.

The interest of the presented observation is based on the fact that it contains a description of a rare and unique application of sequential extended bronchoplastic upper lobectomy as a surgical component of the complex treatment of a patient with bilateral synchronous NSCLC, which we have not found analogues in the literature. We have shown that the consistent use of modern therapeutic modalities makes it possible to achieve satisfactory long-term results in the treatment of a locally advanced disease.

Keywords:

lung cancer, non-small cell lung cancer, primary multiple cancer, synchronous cancer, surgical treatment, multimodal approach

For correspondence:

Ellada A. Mirzoyan – PhD student, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: ellada.mirzoyan@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-9714>

SPIN: 2506-8605, AuthorID: 1002948

ResearcherID: AAZ-2780-2021

Scopus Author ID: 57221118516

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Kit O. I., Kharagezov D. A., Lazutin Yu. N., Mirzoyan E. A., Leyman I. A., Tikhonova S. N. Sequential bronchoplastic lobectomies in complex treatment for synchronous bilateral multiple primary non-small cell lung cancer: a rare clinical case. *South Russian Journal of Cancer*. 2022; 3(4): 67-73. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-4-7>

The article was submitted 26.05.2022; approved after reviewing 28.10.2022; accepted for publication 12.12.2022.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Рак легкого (РЛ) остается основной причиной смерти от рака среди мужского населения, больше половины новых случаев которого диагностируется у пациентов старше 60–65 лет [1–3]. Как известно, хирургический метод лечения является основным в лечении ранних стадий немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Однако по мере прогрессирования процесса, возрастает риск развития отдаленных метастазов и эффективность хирургического метода снижается. Принципы лечения пациентов с одним НМРЛ давно разработаны и не вызывают вопросов, а при наличии двух и более опухолей, особенно в двух легких, правильный выбор лечения зависит от многих факторов. В первую очередь, при отсутствии экстраторакальных метастазов двухсторонний процесс может представлять собой как независимые первичные опухоли, так и внутрилегочные метастатические очаги [4]. Если в первом случае операция принесет больному пользу, то во втором, к сожалению, не повлияет или может даже отрицательно повлиять на исход заболевания. Имеющиеся данные в литературе свидетельствуют о сложности рассматриваемого вопроса. В ряде исследований сообщалось об отсутствии длительной выживаемости больных, которым были выполнены оперативные вмешательства, ввиду чего сложилось мнение о плохом прогнозе мультифокальных опухолей, независимо от вероятности различного биологического поведения опухолей [5]. Медиана общей выживаемости пациентов, имеющих синхронный первично-множественный рак легкого на ранних стадиях, при наличии противопоказаний к хирургическому лечению в результате мультимодальной консервативной терапии сейчас достигает около 31 мес. [6].

Способность различать первично-множественные опухоли легкого с целью определения показаний к радикальному хирургическому лечению постоянно совершенствуется с использованием молекулярно-генетических исследований [3]. Разработанные ранее критерии первично-множественных опухолей, не помогают пациентам с синхронным раком легкого: около 50,8–57,9 % опухолей имеют сходный морфологический гистотип, а правильная оценка вовлеченности медиастинальных лимфатических узлов (N+) до операции сложна [7]. Однако, несмотря на неопределенность в отношении тактики ведения в недавних исследованиях, сообщается о длительной выживаемости больных двухсторонним синхронным НМРЛ после хирургического лечения [8; 9].

В данной статье нами представлено клиническое наблюдение пациента с двухсторонним центральным первично-множественным НМРЛ, который перенес комплексную терапию с хорошим отдаленным результатом лечения. Несмотря на изначальную распространенность опухолевых процессов основой успеха стало радикальное органосохраняющее хирургическое лечение. В доступной литературе нам не найдено сообщений о последовательном выполнении расширенной бронхопластической верхней лобэктомии с обеих сторон в составе комплексной терапии первично-множественного НМРЛ.

Цель исследования: представить клиническое наблюдение пациента с двухсторонним центральным первично-множественным НМРЛ, который перенес комплексную терапию с хорошим отдаленным результатом лечения.

Описание клинического случая

Больной К., 61 г., обратился в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России с жалобами на сухой кашель и одышку при физической активности. Из анамнеза известно, что считает себя больным с марта 2018 г., когда отметил изменение характера кашля, ставшего сухим, надрывным и особенно беспокоящим пациента ночью. После выполнения компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) по месту жительства заподозрен центральный рак верхней доли левого легкого, в связи с чем пациент самостоятельно обратился в наш центр.

На КТ ОГК грудной клетки от 19.04.2018 г.: центральный перибронхиально-узловой рак левого легкого 5,0 × 5,5 см с поражением верхнедолевого бронха и дистальных отделов левого главного бронха. Центральный перибронхиально-узловой рак правого легкого 2,2 × 2,7 см с поражением верхнедолевого бронха. Гиповентиляция и пульмонит верхних долей обоих легких. Определялись лимфатические узлы впереди от дуги аорты – 2,2 см, ретрокаваальные – 1,3 см (рис. 1).

На фибробронхоскопии (ФБС) от 28.04.2018 г.: трахея и сагита без особенностей. Справа просвет В3 щелевидно сужен за счет давления извне с признаками подслизистой инфильтрации; слева просвет верхнего долевого бронха на 4/5 перекрыт экзофитной опухолью (рис. 2).

Гистологическое заключение: из В3 справа № 40978-82/18 – очаги плоскоклеточной карциномы; из верхнего долевого бронха слева № 40983-88/18 – очаги плоскоклеточной карциномы.

На основании проведенного обследования был установлен диагноз: первично-множественный синхронный рак с поражением обоих легких (классификация рака легкого по системе TNM 7-го пересмотра):

1. Рак левого легкого: центральная перибронхиально-узловая форма с поражением верхнего долевого и дистального отдела левого главного бронха cT2N2M0, IIIA стадия, кл.гр.2.
2. Рак правого легкого: центральная перибронхиально-узловая форма с поражением верхнего долевого бронха cT1N2M0, IIIA стадия, кл.гр.2.

Согласно рекомендациям консилиума ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, учитывая локо-регионарную распространенность опухоли, первым этапом лечения было решено провести 3 курса индукционной химиоиммунотерапии комбинацией цисплатина – 80 мг/м² и гемцитабина – 1600 мг/м²

с рекомбинантным фактором некроза опухоли-интерферон альфа-1–150.000 МЕ/м², которые были проведены в период с 18.05.2018. по 26.07.2018 г. [10].

После завершения курсов индукционной химиотерапии была проведена контрольная КТ ОГК (10.08.2018 г.) (рис. 3, 4). Оценка её эффективности проводилась с использованием критериев RECIST 1.1, которая показала наличие частичного ответа, в связи с чем было принято решение о хирургическом лечении.

Критерии выбора стороны поражения для первого этапа хирургического лечения: с учетом предполагаемой большей распространенности опухоли левого легкого (переход на главный бронх, возможное вовлечение в опухолевый процесс левой легочной артерии, а также наличие полного ателектаза верхней доли). Принято решение о выполнении первым этапом бронхо-ангиопластической верхней лобэктомии слева.

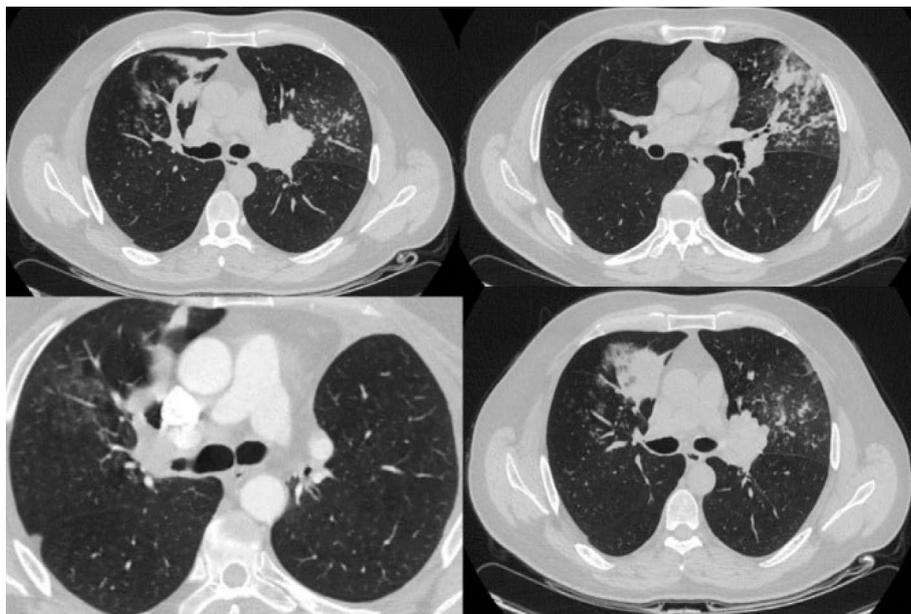


Рис. 1. КТ ОГК от 19.04.2018 г. перед началом лечения.



Рис. 2. ФБС от 28.04.2018 г. перед началом лечения.

03.09.2018 г. выполнена расширенная верхняя бронхопластическая лобэктомия слева с резекцией трех хрящевых полуколец левого главного бронха и нижнего долевого бронха на уровне устья В6 с формированием прямого межбронхиального анастомоза между главным и нижним долевым бронхами «конец в конец». Послеоперационный период протекал без осложнений. Послеоперационный гистологический анализ: высокодифференцированная плоскоклеточная карцинома с ороговением и очагами некроза; по линии резекции бронхов на расстоянии 2 см от видимых границ опухоли без признаков опухолевого роста; в 5 из 6 бронхопульмональных лимфатических узлах метастазы плоскоклеточной карциномы; в лимфатических узлах корня легкого, «аортального окна» и зоны бифуркации трахеи метастазов нет.

Через 3 недели пациенту было проведено контрольное обследование, включающее в себя КТ ОГК, ФБС. Результаты: без признаков прогрессирования, анастомоз состоятелен, без признаков воспаления.

30.10.2018 г. была выполнена расширенная бронхопластическая верхняя лобэктомия справа с цирку-

лярной резекцией двух хрящевых полуколец правого главного и одного полукольца промежуточного бронхов и наложением межбронхиального анастомоза «конец в конец». Послеоперационный период протекал без осложнений с ранней активизацией больного. Послеоперационный гистологический анализ: умеренно-дифференцированная плоскоклеточная карцинома с ороговением; линии резекции бронхов без признаков опухолевого роста; в лимфатических узлах корня правого легкого, паратрахеальных справа метастазы плоскоклеточной карциномы.

Таким образом, на основании результатов морфологического исследования установлен окончательный диагноз: первично-множественный синхронный рак с поражением обоих легких:

1. Рак левого легкого центральная перибронхиально-узловая форма с поражением верхнего долевого и дистального отдела левого главного бронха pT2N1M0 G1R0, IIB стадия кл.гр.2.
2. Рак правого легкого центральная перибронхиально-узловая форма с поражением верхнего долевого бронха pT1N2M0G2R0, IIIA стадия, кл.гр.2.

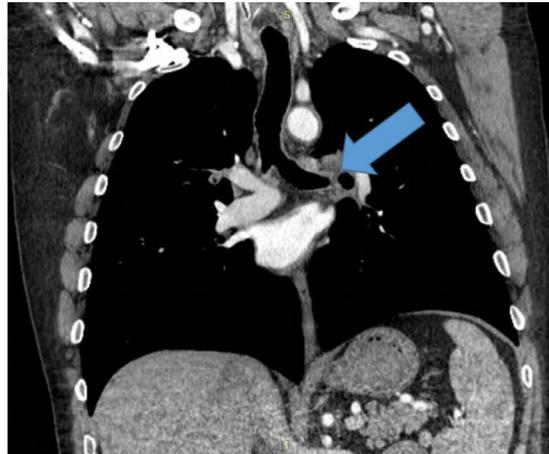
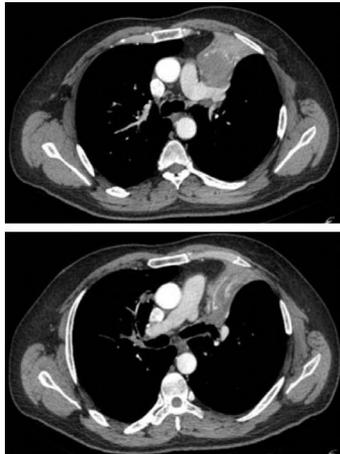


Рис. 3. КТ ОГК от 10.08.2018 г. (после индукционной химиоиммунотерапии).

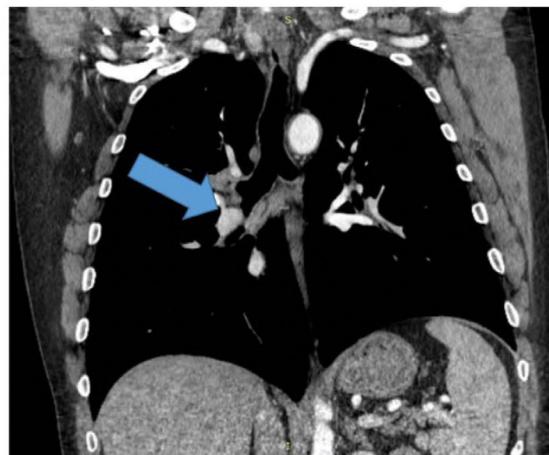
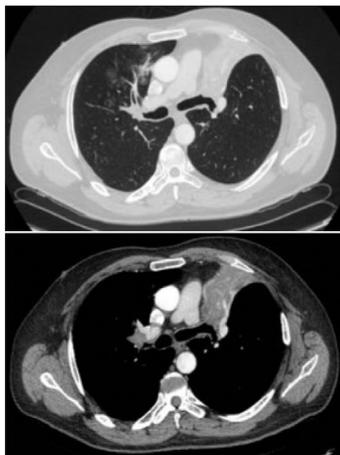


Рис. 4. КТ ОГК от 10.08.2018 г. (после индукционной химиоиммунотерапии).

Решением консилиума в составе торакального хирурга-онколога, радиолога и химиотерапевта и с учетом эффективности индукционной химиотерапии рекомендовано проведение 4 курсов адъювантной химиотерапии комбинацией карбоплатины АUC 5–6 и гемцитабина 1000 мг/м² с интервалом 28 дней.

С 24.11.2018 г. по 31.01.2019 г. больному проведено 2 курса адъювантной химиотерапии, которые сопровождались развитием неблагоприятной токсической реакции в виде тромбоцитопении 4 степени, которая потребовала трансфузий тромбоконцентрата. С 01.03.2019 г. по 15.04.2019 г. проведено ещё 2 курса адъювантной химиотерапии, но с редукцией дозы гемцитабина на 50 %.

После завершения химиотерапевтического лечения с 20.05.2019 г. по 14.06.2019 г. на линейном ускорителе Novalis TX, Varian, посредством 7-ми статических конформных полей с использованием режима IMRT проведена консолидирующая лучевая терапия на область корней легких и средостение РОД-2 Гр. до СОД = 46 Гр. С 25.07.2019 г. по 08.08.2019 г. проведена 3D конформная IMRT лучевая терапия на область шейно-надключичных лимфатических узлов с обеих сторон, РОД – 3Гр. 5 фракций в неделю до СОД = 39 изоГр. Лучевых реакций не отмечено, лечение перенес удовлетворительно.

Пациент явился на контрольное обследование в ноябре 2020 г. На ФБС от 02.11.2020 г.: состояние после бронхопластической верхней лобэктомии слева и справа. Анастомозы состоятельны, без признаков воспаления и деформации. Долевые и сегментарные бронхи с обеих сторон свободно проходимы.

02.02.2022 г. (через 40 мес. после операции на левом легком, 39 мес. после операции на правом легком) пациенту выполнено контрольное КТ ОГК: состояние удовлетворительное, жалоб нет. Данных за рецидив заболевания не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Прогноз заболевания у пациентов после оперативного вмешательства по поводу двустороннего синхронного первично-множественного НМРЛ является достаточно благоприятным. По данным авторов, медиана общей выживаемости при операциях любого объема достигла 52 мес. [5], а 5-летняя выживаемость – 38 % [8], что в разы выше по сравнению с выживаемостью при IV стадии НМРЛ. Среди всех операций, как правило, последовательно двухсторонние лобэктомии производятся

приблизительно 1/3 больных. После выполнения билатеральных лобэктомий или лобэктомий с контралатеральными сублобарными резекциями 3- и 5- летняя общая выживаемость достигает 84,5 % и 75,0 %, соответственно [9]. Также установлено, что самыми важными предикторами плохого прогноза являются степень вовлеченности внутригрудных лимфатических узлов N2 по сравнению с N0 и N1 и односторонняя локализация опухолей по сравнению с двусторонней. Лучшие показатели выживаемости пациентов с двусторонним НМРЛ обусловлены большей вероятностью истинного первично-множественного поражения с учетом расстояния между «опухолевыми полями» без очевидных признаков гематогенного метастазирования. Морфологическое сходство опухолей в качестве прогностического фактора не связано с худшей выживаемостью, наоборот, выявлена тенденция к улучшению показателей выживаемости больных опухолями одинакового гистологического строения.

С целью изучения влияния перечисленных прогностических факторов, Т Tanvetyanov с коллегами провели оценку выживаемости в 2-х группах пациентов, разделенных в зависимости от наличия таких факторов риска, как пол, возраст, распространенная стадия заболевания и локализация опухоли. Выявлено, что больные без факторов риска имели значительно лучшую выживаемость, чем пациенты с более чем одним неблагоприятным фактором риска. 5-летняя выживаемость составила 82 % для больных с отсутствующими факторами риска по сравнению с 43 % для лиц с присутствующими факторами риска [5]. Поскольку одинаково благоприятный исход не коснется всех пациентов, установленные прогностические факторы необходимы для принятия клинических решений. Интерес нашего сообщения заключается в том, что оно содержит описание редкого применения расширенной бронхопластической верхней лобэктомии в качестве хирургического компонента комплексного лечения больного двухсторонним синхронным НМРЛ. Наш опыт показывает, что последовательное применение современных терапевтических модальностей позволяет добиться удовлетворительных отдаленных результатов лечения местно-распространенного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интерес нашего наблюдения заключается в том, что оно содержит описание редкого и уникального применения последовательной расширенной брон-

хопластической верхней лобэктомии в качестве хирургического компонента комплексного лечения больного двухсторонним синхронным НМРЛ. Показано, что последовательное применение со-

временных терапевтических модальностей позволяет добиться удовлетворительных отдаленных результатов лечения местно-распространенного заболевания.

Список источников

1. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021, 252 с. Доступно по: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/11/zis-2020-elektronnaya-versiya.pdf>, Дата обращения: 29.10.2022.
2. Харагезов Д. А., Лазутин Ю. Н., Мирзоян Э. А., Милакин А. Г., Статешный О. Н., Лейман И. А. Неoadьювантная и адьювантная иммунотерапия немелкоклеточного рака легкого (обзор литературы). Вопросы онкологии. 2022;68(2):159–168. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2022-68-2-159-168>
3. Харагезов Д. А., Лазутин Ю. Н., Мирзоян Э. А., Милакин А. Г., Статешный О. Н., Лейман И. А. и др. Биомаркеры рака легкого. Исследования и практика в медицине. 2022;9(1):103–116. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-1-9>
4. Romaszko AM, Doboszyńska A. Multiple primary lung cancer: A literature review. Adv Clin Exp Med. 2018;27(5):725-730. <https://doi.org/10.17219/acem/68631>
5. Tanvetyanon T, Finley DJ, Fabian T, Riquet M, Voltolini L, Kocaturk C, et al. Prognostic factors for survival after complete resections of synchronous lung cancers in multiple lobes: pooled analysis based on individual patient data. Ann Oncol. 2013 Apr;24(4):889–894. <https://doi.org/10.1093/annonc/mds495>
6. Gwendolyn HM, Griffioen GH, Lagerwaard FJ, Haasbeek CJ, Smit EF, Slotman BJ, et al. Treatment of multiple primary lung cancers using stereotactic radiotherapy, either with or without surgery. Radiother Oncol. 2013 Jun;107(3):403–408. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2013.04.026>
7. Riquet M, Cazes A, Pfeuty K, Ngabou UD, Foucault C, Dujon A, et al. Multiple lung cancers prognosis: what about histology? Ann Thorac Surg. 2008 Sep;86(3):921–926. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2008.05.041>
8. De Leyn P, Moons J, Vansteenkiste J, Verbeken E, Van Raemdonck D, Nafteux P, et al. Survival after resection of synchronous bilateral lung cancer. Eur J Cardiothorac Surg. 2008 Dec;34(6):1215–1222. <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2008.07.069>
9. Yang H, Sun Y, Yao F, Yu K, Gu H, Han B, et al. Surgical Therapy for Bilateral Multiple Primary Lung Cancer. Ann Thorac Surg. 2016 Mar;101(3):1145–1152. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2015.09.028>
10. Лазутин Ю. Н., Сергостьянц Г. З., Пыльцин С. П., Харитонов А. П., Лейман И. А. Способ лечения рака легкого. Патент РФ №2554750. Заявл. 13.02.2014; Оpubл. 27.06.2015.

Информация об авторах:

Кит Олег Иванович – академик РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>, SPIN: 1728-0329, AuthorID: 343182, Scopus Author ID: 55994103100, ResearcherID: U-2241-2017

Харагезов Дмитрий Акимович – к.м.н., онколог, хирург, заведующий отделением торакальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0640-2994>, SPIN: 5120-0561, AuthorID: 733789, ResearcherID: AAZ-3638-2021, Scopus Author ID: 56626499300

Лазутин Юрий Николаевич – к.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела торакоабдоминальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6655-7632>, SPIN: 5098-7887, AuthorID: 364457

Мирзоян Эллада Арменовна – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-9714>, SPIN: 2506-8605, AuthorID: 1002948, ResearcherID: AAZ-2780-2021, Scopus Author ID: 57221118516

Лейман Игорь Александрович – к.м.н., врач-онколог отделения торакальной хирургии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2572-1624>, SPIN: 2551-0999, AuthorID: 735699

Тихонова Светлана Николаевна – врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6919-3523>, SPIN: 5141-1656, AuthorID: 1077917

Вклад авторов:

Кит О. И., Харагезов Д. А. – научное редактирование;

Лазутин Ю. Н., Мирзоян Э. А. – написание текста, обработка материала;

Лейман И. А., Тихонова С. Н. – сбор, анализ данных, техническое редактирование, оформление библиографии.



Федеральное государственное бюджетное учреждение
**НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ОНКОЛОГИИ**
Министерства здравоохранения Российской Федерации

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
**Южно-Российский
онкологический журнал**

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL
South Russian Journal of Cancer

www.cancersp.com

