



ISSN: 2686-9039 Online

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

**South Russian
Journal of Cancer**

PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL

ТОМ
vol. **4** № **2/2023**

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 Journal of Cancer: 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. Dzhenskova,
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: edition@cancersp.com, info@cancersp.com
Phone: +7 (903) 547-04-62, +7 (863) 295-53-62
www.cancersp.com
For correspondence: 111555, Moscow, PO box 3

EDITORIAL BOARD

Irina A. Baldueva,
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,
EL No. FS 77-80665 – online.
Frequency: 4 issues per year.

Published 05.06.2023.

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: edition@cancersp.com, info@cancersp.com
Телефон: +7 (903) 547-04-62, +7 (863) 295-53-62
Сайт: www.cancersp.com
Для корреспонденции: 111555, Москва, а/я 3

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

Опубликовано 05.06.2023.

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

Владимирова 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

Varying severity COVID-19 effects on the blood indicators of insulin-like growth factors family in patients with non-small cell lung cancer <i>O. I. Kit, E. M. Frantsiyants, D. A. Kharagezov, V. A. Bandovkina, N. D. Cheryarina, Yu. A. Pogorelova, Yu. N. Lazutin, A. G. Milakin, I. A. Leyman, O. N. Stateshny</i>	6
Levels of biogenic amines in lung tissues of patients with non-small cell lung cancer after COVID-19 of various severity <i>O. I. Kit, E. M. Frantsiyants, D. A. Kharagezov, V. A. Bandovkina, N. D. Cheryarina, Yu. A. Pogorelova, Yu. N. Lazutin, A. G. Milakin, I. A. Leyman, O. N. Stateshny, N. D. Ushakova</i>	16
Parameters of free radical oxidation and antioxidant defense in patients with cervical cancer before and after radical surgical treatment <i>N. N. Popova, I. A. Goroshinkaya, A. I. Shikhlyarova, D. A. Rozenko, A. P. Menshenina, A. Yu. Ardzha, N. V. Netyvchenko, S. A. Chekmezova</i>	28
Solvothermal synthesis of rhombic shape $GdF_3 \cdot Tb^{3+}$ nanoparticles for biomedical applications <i>E. A. Kuchma, O. E. Polozhentsev, I. A. Pankin, A. N. Bulgakov, P. A. Rud, A. V. Soldatov</i>	39
Cultivation of cells in alginate drops as a high-performance method of obtaining cell spheroids for bioprinting <i>S. Yu. Filippova, T. V. Chembarova, S. V. Timofeeva, I. V. Mezhevova, N. V. Gnennaya, I. A. Novikova, T. O. Lapteva</i>	47
New method of modified chemoradiotherapy for cancer of the upper and middle ampullary rectum <i>Yu. A. Gevorkyan, N. V. Soldatkina, M. N. Chernyak, M. A. Gusareva, O. K. Bondarenko, E. A. Jenkova, A. V. Dashkov, V. E. Kolesnikov, D. S. Petrov, R. E. Tolmakh, D. A. Savchenko</i>	56
Successful extirpation of a perforated esophagus after chemoradiotherapy in infiltrative ulcerative squamous cell carcinoma <i>T. S. Rogova, P. G. Sakun, Yu. A. Gevorkyan, S. G. Vlasov, L. Ya. Rozenko, S. A. Malinin, E. A. Karnaukhova, O. G. Rodionova, M. A. Komandirov, O. Yu. Kaimakchi, N. V. Soldatkina, E. A. Gorbuniva</i>	64

CLINICAL CASE
REPORTS

ОРИГИНАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

Влияние COVID-19 различной степени тяжести на показатели семейства инсулиноподобных факторов роста в крови больных немелкоклеточным раком легкого

О. И. Кит, Е. М. Франциянц, Д. А. Харагезов, В. А. Бандовкина, Н. Д. Черярина, Ю. А. Погорелова, Ю. Н. Лазутин, А. Г. Милакин, И. А. Лейман, О. Н. Статешный 6

Уровень биогенных аминов в ткани легкого больных немелкоклеточным раком легкого перенесших COVID-19 различной степени тяжести

О. И. Кит, Е. М. Франциянц, Д. А. Харагезов, В. А. Бандовкина, Н. Д. Черярина, Ю. А. Погорелова, Ю. Н. Лазутин, А. Г. Милакин, И. А. Лейман, О. Н. Статешный, Н. Д. Ушакова 16

Показатели свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у пациенток с диагнозом «рак шейки матки» до и после проведения радикального хирургического лечения

Н. Н. Попова, И. А. Горошинская, А. И. Шихлярова, Д. А. Розенко, А. П. Меньшенина, А. Ю. Арджа, Н. В. Нетывченко, С. А. Чекмезова 28

Сольвотермальный синтез наночастиц $GdF_3:Tb^{3+}$ ромбической формы для биомедицинских применений

Е. А. Кучма, О. Е. Положенцев, И. А. Панкин, А. Н. Булгаков, П. А. Рудь, А. В. Солдатов 39

Культивирование клеток в альгинатных каплях, как высокопроизводительный метод получения клеточных сфероидов для биопечати

С. Ю. Филиппова, Т. В. Чембарова, С. В. Тимофеева, И. В. Межевова, Н. В. Гненная, И. А. Новикова, Т. О. Лаптева 47

КЛИНИЧЕСКИЕ
НАБЛЮДЕНИЯ

Новый метод модифицированного химиолучевого лечения рака верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки

Ю. А. Геворкян, Н. В. Солдаткина, М. Н. Черняк, М. А. Гусарева, О. К. Бондаренко, Е. А. Дженкова, А. В. Дашков, В. Е. Колесников, Д. С. Петров, Р. Е. Толмах, Д. А. Савченко 56

Успешная экстирпация перфорированного пищевода после химиолучевой терапии при инфильтративно-язвенном плоскоклеточном раке

Т. С. Рогова, П. Г. Сакун, Ю. А. Геворкян, С. Г. Власов, Л. Я. Розенко, С. А. Малинин, Е. А. Карнаухова, О. Г. Родионова, М. А. Командиров, О. Ю. Каймакчи, Н. В. Солдаткина, Е. А. Горбунова 64

ВЛИЯНИЕ COVID-19 РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ НА ПОКАЗАТЕЛИ СЕМЕЙСТВА ИНСУЛИНОПОДОБНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА В КРОВИ БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

О. И. Кит, Е. М. Франциянц, Д. А. Харагезов, В. А. Бандовкина[✉], Н. Д. Черярина,
Ю. А. Погорелова, Ю. Н. Лазутин, А. Г. Милакин, И. А. Лейман, О. Н. Статешный

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

✉ valerryana@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) содержание IGF и их белков-переносчиков в зависимости от степени тяжести перенесенного COVID-19.

Материалы и методы. В исследование включены 60 больных с гистологически подтвержденным НМРЛ стадии T₂₋₃N₀M₀, проходивших лечение в торакальном отделении ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России с 2020 по 2021 гг. В контрольную группу вошли 30 больных раком легкого с бессимптомными или легкими случаями COVID-19 (15 мужчин и 15 женщин), в основную группу – 30 больных (15 мужчин и 15 женщин), перенесших болезнь в тяжелой или среднетяжелой форме. Средний возраст больных составил 59,11 ± 2,89 года. В качестве нормы использовали показатели в крови доноров того же возраста.

Результаты. В сыворотке крови больных НМРЛ основной и контрольной групп уровни IGF-I, IGF-II, IGFBP2 и IGFBP3 были выше значений доноров в среднем в 2,5, в 2,1, в 1,7 и в 2,7 раза соответственно ($p < 0,05$). Концентрация IGFBP1 была выше в контроле по сравнению с основной группой, а по отношению к донорам снижалась: в контрольной группе – у мужчин и женщин в 1,4 и 1,9 раза, а в основной – в 3,0 и 6,4 раза соответственно ($p < 0,05$). Коэффициенты соотношения повышались в обеих группах: IGF-I/IGFBP1 – в контрольной группе от 3,8 до 4,2 раза, а в основной от – 7,9 до 14,4 раза; IGF-II/IGFBP1 – в контрольной от 2,4 до 4,5 раза, а в основной группе – от 6,6 до 12,7 раза у мужчин и женщин соответственно ($p < 0,05$).

Заключение. У больных НМРЛ обоего пола в крови вне зависимости от тяжести перенесенного COVID-19, повышается уровень лигандов и почти всех исследованных белков-переносчиков, кроме IGFBP1. Соотношение IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1 крови повышается в обеих группах, наиболее значимо в группе перенесших COVID-19 в тяжелой или среднетяжелой форме, что свидетельствует об избыточном накоплении уровня IGF в крови.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, COVID-19, IGF-I, IGF-II, IGFBP

Для цитирования: Кит О. И., Франциянц Е. М., Харагезов Д. А., Бандовкина В. А., Черярина Н. Д., Погорелова Ю. А., Лазутин Ю. Н., Милакин А. Г., Лейман И. А., Статешный О. Н. Влияние COVID-19 различной степени тяжести на показатели семейства инсулиноподобных факторов роста в крови больных немелкоклеточным раком легкого. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(2): 6-15. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-1>, <https://elibrary.ru/abhpdy>

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

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (выписка из протокола заседания № 7/111 от 26.02.2021 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования.

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 31.08.2022; одобрена после рецензирования 22.02.2023; принята к публикации 05.06.2023.

© Кит О. И., Франциянц Е. М., Харагезов Д. А., Бандовкина В. А., Черярина Н. Д., Погорелова Ю. А., Лазутин Ю. Н., Милакин А. Г., Лейман И. А., Статешный О. Н., 2023

VARYING SEVERITY COVID-19 EFFECTS ON THE BLOOD INDICATORS OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTORS FAMILY IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

O. I. Kit, E. M. Frantsiyants, D. A. Kharagezov, V. A. Bandovkina[✉], N. D. Cheryarina, Yu. A. Pogorelova, Yu. N. Lazutin, A. G. Milakin, I. A. Leyman, O. N. Stateshny

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
✉ valerryana@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. An analysis of IGF and their carrying proteins levels in blood serum of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC), depending on the severity of the previous COVID-19 infection.

Materials and methods. 60 patients with histologically verified NSCLC T₂₋₃N₀M₀ receiving treatment at the Thoracic Department (National Medical Research Centre for Oncology, 2020–2021), were included in the study. The control group included 30 NSCLC patients after asymptomatic or mild COVID-19 disease (15 men and 15 women); the main group included 30 (15 men and 15 women) patients after severe or moderate to severe COVID-19. The mean age of patients was 59.11 ± 2.89 years. Blood counts of donors of the same age were used as the norm.

Results. The levels of IGF-I, IGF-II, IGFBP2 and IGFBP3 in the blood serum of patients with NSCLC of the main and control groups were higher than those of donors by an average of 2.5, 2.1, 1.7 and 2.7 times, respectively ($p < 0.05$). The concentration of IGFBP1 was higher in the control group compared to the main group, and decreased in relation to donors: in the control in men and women by 1.4 and 1.9 times, and in the main group by 3.0 and 6.4 times, respectively ($p < 0.05$). The ratios of IGF and IGFBP1 increased in both groups: IGF-I/IGFBP1 – in the control group from 3.8 to 4.2 times, and in the main group from 7.9 to 14.4 times; IGF-II/IGFBP1 – in the control from 2.4 to 4.5 times, and in the main group from 6.6 to 12.7 times in men and women, respectively ($p < 0.05$).

Conclusions. The level of ligands and almost all of the studied carrier proteins, except for IGFBP1, increases in the blood of patients with NSCLC of both sexes, regardless of the severity of COVID-19. The ratio of IGF-I/IGFBP1 and IGF-II/IGFBP1 in the blood increases in both groups, most significantly in the group with severe and moderate COVID-19, which indicates excessive accumulation of IGF levels and may contribute to a more aggressive course of the malignant process.

Keywords: non-small cell lung cancer, COVID-19, IGF-I, IGF-II, IGFBP

For citation: Kit O. I., Frantsiyants E. M., Kharagezov D. A., Bandovkina V. A., Cheryarina N. D., Pogorelova Yu. A., Lazutin Yu. N., Milakin A. G., Leyman I. A., Stateshny O. N. Varying severity COVID-19 effects on the blood indicators of insulin-like growth factors family in patients with non-small cell lung cancer. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(2): 6-15. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-1>, <https://elibrary.ru/abhpyd>

For correspondence: Valeriya A. Bandovkina – Dr. Sci. (Biol.), senior researcher at 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

Compliance with ethical standards: the ethical principles presented by the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013, were observed in the study. The study was approved by the Biomedical Ethics Committee at the National Medical Research Centre for Oncology (extract from the protocol of the meeting No. 7/111 dated 02/26/2021). Informed consent was received from all participants of the study.

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

The article was submitted 31.08.2022; approved after reviewing 22.02.2023; accepted for publication 05.06.2023.

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия COVID-19, вызванная появлением тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2), привела к миллионам заболевших и сотням тысяч смертей во всем мире [1–3]. Биологический пол человека сыграл фундаментальную роль в гетерогенных исходах COVID-19 [4–6].

Среди всех типов рака особый интерес в условиях пандемии COVID-19 представляет рак легкого, поскольку основной первичный очаг заражения вирусом, дыхательные пути, уже подвергается опасности из-за наличия опухоли [7]. Предыдущие вспышки респираторных вирусов показали, что больные раком легкого более уязвимы, чем другие больные раком, потому что их патологический респираторный эпителий, вероятно, более склонен к быстрому проникновению вируса в легкие [8]. Фактически, рак легких является одним из наиболее частых видов рака среди больных раком с COVID-19 [9; 10]. Предполагается, что больные раком легких подвержены более высокому риску этой тяжелой формы COVID-19 [9; 11]. Недавние исследования показали, что уровень смертности больных раком легких выше, чем у населения в целом при заражении COVID-19 [12; 13]. Однако комплексно мировые данные о влиянии новой коронавирусной инфекции на течение злокачественного заболевания у больных раком легкого пока не представлены.

Исследования показали, что тяжелые последствия у пациентов с COVID-19 не развиваются напрямую из-за репликации самого SARS-CoV-2, а относительно связаны с деструктивными воспалительными реакциями, вызванными огромной активацией иммунных клеток [14]. Поэтому скорректированная иммунная реакция необходима для контроля и устранения инфекции SARS-CoV-2. С другой стороны, нескорректированные иммунные реакции и выработка большого количества медиаторов воспаления и цитокинов могут иметь неблагоприятные, а иногда и летальные последствия [15–17].

Инсулиноподобный фактор IGF-I и белок – переносчик IGFBP3 – чаще всего ассоциированы со злокачественными опухолями легких [18]. Известно, что большая часть циркулирующего IGF-I связана с растворимым белком плазмы IGFBP3, в то время как очень небольшой процент IGF-I остается в несвязанной – биологически активной и доступной форме. IGF-I может быть «нейтрализован» после связывания с IGFBP3, тем самым подавляются его митогенные

и антиапоптотические свойства [19]. Таким образом, соотношение IGF-I/IGFBP3 считается индикатором биодоступности IGF-I. Высокие уровни IGF-I в сыворотке коррелируют с повышенным риском рака легких, в то время как высокие уровни IGFBP3 связаны со сниженным риском заболевания [20]. Более того, исследования *in vitro* показали, что IGF-I способствует росту и инвазии клеток легких, что свидетельствует о роли пути IGF-I в онкогенном росте немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) [21].

Однако, значение IGF-I и IGF-II как прогностических биомаркеров еще не установлено. Основываясь на этих соображениях, мы стремились оценить сывороточные уровни IGF-I, IGF-II и IGFBP1-3 у больных НМРЛ, перенесших COVID-19 разной степени тяжести.

Цель исследования: изучение в сыворотке крови больных НМРЛ, перенесших коронавирусную инфекцию разной степени тяжести, показателей системы инсулиноподобных факторов роста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Перед участием в исследовании у всех пациентов было получено письменное информированное согласие. Настоящее исследование было одобрено комиссией по этике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

В исследование были включены мужчины и женщины (всего 60 человек) с гистологически или цитологически подтвержденной стадией T₂₋₃N_xM₀ НМРЛ, рабочим статусом ECOG (PS) ≤ 2, адекватной функцией органов на основании стандартных лабораторных тестов, включая общий анализ крови, биохимию сыворотки и коагулограмму. Основными критериями исключения были предшествующее лечение НМРЛ, сахарный диабет II типа, поскольку это могло повлиять на уровни IGF, и другие сопутствующие новообразования за последние пять лет, за исключением немеланомных карцином кожи. Стадию определяли по классификации TNM. Поэтапное обследование включало компьютерную томографию (КТ) грудной клетки, брюшной полости и головного мозга. Сканирование костей было выполнено на основании симптомов. Все больные были обследованы до начала лечения.

В контрольную группу вошли 30 больных (15 мужчин и 15 женщин) раком легкого с бессимптомными или легкими случаями COVID-19, в основную группу – 30 больных (15 мужчин и 15 женщин),

перенесших COVID-19 в тяжелой или среднетяжелой форме. Возраст больных: контрольная группа мужчины – $59,8 \pm 1,67$ (52–74); контрольная группа женщины – $56,3 \pm 3,98$ (35–75); основная группа мужчины – $61,13 \pm 1,82$ (52–74); основная группа женщины – $58,4 \pm 3,73$ (35–74).

Согласно рекомендациям, мазок из носоглотки на COVID-19 ПЦР был получен у всех пациентов.

Сбор образцов крови. Сывороточные уровни IGF-I, IGF-II и IGFBP1,2,3 в периферической крови оценивали в начале лечения. Образцы крови центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 минут, затем собирали сыворотку крови и хранили при температуре -80°C . Количественную оценку циркулирующих уровней IGF-I, IGF-II и IGFBP1,2,3 выполняли методом иммуноферментного анализа (Mediagnost, Германия). По рекомендациям, имеющимся в инструкциях к стандартным ИФА наборам, каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции. В качестве нормы принимали содержание в крови IGF-I, IGF-II и IGFBP1,2,3 у условно здоровых доноров (20 мужчин и 20 женщин) возрастом от 40 до 75 лет. Так как исследования у доноров проводили в 2019 г., то данный контингент не болел инфекцией COVID-19.

Статистический анализ. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 10. Нормальность оценивали с помощью методов Колмогорова-Смирнова, различия между группами определяли с помощью t – критерия Стьюдента или U – критерия Манна-Уитни в зависимости от

нормальности распределения. Значение $p < 0,05$ рассматривалось как показатель статистической значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено что в сыворотке крови больных контрольной группы большинство показателей было выше значений доноров: у мужчин уровень IGF-I, IGF-II, IGFBP2 и IGFBP3 был повышен в 2,7 раза, 1,7 раза, 2,1 раза и 2,6 раза соответственно, у женщин – в 2,2 раза, 2,3 раза, 1,4 раза и 2,8 раза соответственно (табл. 1).

Только IGFBP1 у мужчин и женщин контрольной группы был ниже значений у здоровых доноров в 1,4 раза и 1,9 раза соответственно. При этом в сыворотке крови мужчин был выше, чем у женщин, уровень IGFBP1 в 1,4 раза и IGFBP2 в 1,5 раза, а у женщин выше, чем у мужчин, в 1,3 раза был уровень IGF-II.

В сыворотке крови больных основной группы большинство показателей, также, как и у больных контрольной группы, было выше значений условно здоровых доноров. В сыворотке крови мужчин основной группы уровень IGF-I, IGF-II, IGFBP2 и IGFBP3 был повышен в 2,6 раза, 2,2 раза, 1,6 раза и 2,5 раза соответственно, у женщин – в 2,3 раза, 2 раза, 1,5 раза и 2,8 раза соответственно. Также, как и у больных контрольной группы, в основной группе ниже значений у доноров был уровень IGFBP1: у мужчин – в 3,1 раза, у женщин – в 6,4 раза. И только по этому показателю были различия между контрольной

Таблица 1. Инсулиноподобные факторы роста и их белки переносчики в крови больных раком легкого в зависимости от тяжести перенесенного COVID-19

Группы	Пол	IGF-I нг/мл	IGF-II нг/мл	IGFBP1 нг/мл	IGFBP2 нг/мл	IGFBP3 нг/мл
Контрольная	М	$286,7 \pm 19,7$ $p^1 = 0,0000$	$624,9 \pm 51$ $p^1 = 0,0020$ $p^2 = 0,0255$	$8,56 \pm 0,78$ $p^1 = 0,0291$ $p^2 = 0,0479$	$844,5 \pm 63,2$ $p^1 = 0,0000$ $p^2 = 0,0031$	$3908,4 \pm 277$ $p^1 = 0,0000$
	Ж	$230,1 \pm 15,8$ $p^1 = 0,0000$	$839,8 \pm 75,6$ $p^1 = 0,0000$	$6,22 \pm 0,67$ $p^1 = 0,0004$	$551,4 \pm 46$ $p^1 = 0,0319$	$4259,2 \pm 415,4$ $p^1 = 0,0000$
Основная	М	$274,9 \pm 27,4$ $p^1 = 0,0000$	$775,7 \pm 60$ $p^1 = 0,0000$	$3,96 \pm 0,24$ $p^1 = 0,0000$ $p^2 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$	$638,6 \pm 76,8$ $p^1 = 0,0142$	$3811,9 \pm 563,6$ $p^1 = 0,0003$
	Ж	$240,7 \pm 45,3$ $p^1 = 0,0079$	$720,7 \pm 65,3$ $p^1 = 0,0003$	$1,9 \pm 0,16$ $p^1 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$	$601,7 \pm 66,1$ $p^1 = 0,0208$	$4196,6 \pm 421,6$ $p^1 = 0,0000$
Норма		$106,2 \pm 12,5$	$360,6 \pm 58,6$	$12,1 \pm 1,3$	$405 \pm 45,7$	$1502,4 \pm 59,8$

Примечание: статистически значимо по отношению: ¹ – к показателю у доноров; ² – к показателю у женщин в соответствующей группе; ³ – к соответствующему показателю в контрольной группе.

и основной группами: уровень белка-переносчика у мужчин контрольной группы был выше, чем в сыворотке крови мужчин основной группы в 2,2 раза, у женщин – в 3,3 раза (табл. 1).

По отдельным показателям мы не обнаружили принципиальных различий в крови больных контрольной и основной группы, хотя от значений у здоровых доноров все изученные показатели имели значимые отличия.

Далее представляло интерес исследовать соотношения IGF и белков-переносчиков, так как известно, что большая часть циркулирующего IGF связана с растворимыми белками плазмы IGFBP, в то время как небольшой процент IGF остается в несвязанной и биологически активной форме. Результаты представлены в таблице 2.

Установлено, что в сыворотке крови больных мужчин контрольной группы соотношение IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1 было выше относительно показателей у здоровых доноров в 3,8 раза и 2,4 раза соответственно, а в крови женщин – в 4,2 раза и 4,5 раза соответственно. Еще более выраженные изменения найдены в сыворотке крови больных основной группы: соотношение IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1 было выше относительно показателей у здоровых доноров в 7,9 раза и 6,6 раза соответственно, а у женщин – в 14,4 раза и 12,7 раза соответственно. Т.е. соотношение IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1 в крови было значимо выше у больных, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме: у мужчин – в 2,1 раза и 2,7 раза соответственно, у женщин

– в 3,4 раза и 2,8 раза соответственно, по сравнению с больными контрольной группы (табл. 2).

Таким образом, в сыворотке крови больных раком легкого обоего пола вне зависимости от тяжести перенесенного COVID-19, имеет место повышение уровня лигандов и почти всех из исследованных белков-переносчиков, кроме IGFBP1, семейства инсулиноподобных факторов роста с повышением соотношения IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1. Перенесенная инфекция COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме еще более усугубляет именно уровень соотношения IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1, что приводит к увеличению свободного, биологически активного IGF.

ОБСУЖДЕНИЕ

Путь IGF представляет собой сложную, многоуровневую систему лигандов, рецепторов, белков-переносчиков и клеточных сигнальных каскадов с несколькими уровнями регуляции. В широком смысле семейство IGF модулирует поведение клеток посредством эндокринного, паракринного и аутокринного контроля [22]. Связывание комплексов IGF с их соответствующими рецепторами индуцирует клеточную адаптацию, которая способствует выживанию, пролиферации и инвазии в нормальных условиях человеческой физиологии и при многих типах рака [23].

Идентифицированы два инсулиноподобных фактора роста, IGF-I и IGF-II. Хотя предполагается,

Таблица 2. Коэффициенты соотношения инсулиноподобных факторов роста к белкам переносчикам в крови больных раком легкого в зависимости от тяжести перенесенного COVID-19

Группы	Пол	IGF-I/ IGFBP1	IGF-I/ IGFBP2	IGF-I/ IGFBP3	IGF-II/ IGFBP1	IGF-II/ IGFBP2	IGF-II/ IGFBP3
Контрольная	М	33,5 ± 1,7 $p^1 = 0,0000$	0,34 ± 0,02	0,07 ± 0,005	73 ± 2,6 $p^1 = 0,0000$ $p^2 = 0,0000$	0,74 ± 0,04	0,16 ± 0,008
	Ж	37 ± 5,6 $p^1 = 0,0000$	0,42 ± 0,06	0,05 ± 0,009	135 ± 5,2 $p^1 = 0,0000$	1,32 ± 0,09	0,2 ± 0,01
Основная	М	69,4 ± 4,7 $p^1 = 0,0000$ $p^2 = 0,0016$ $p^3 = 0,0000$	0,43 ± 0,05	0,07 ± 0,02	195,9 ± 10,2 $p^1 = 0,0000$ $p^2 = 0,0002$ $p^3 = 0,0000$	1,21 ± 0,11	0,2 ± 0,05
	Ж	126,7 ± 12,8 $p^1 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$	0,4 ± 0,04	0,06 ± 0,02	379,3 ± 49,5 $p^1 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$	1,2 ± 0,14	0,17 ± 0,03
Норма		8,8 ± 1,3	0,36 ± 0,009	0,07 ± 0,006	29,8 ± 3,8	0,9 ± 0,08	0,24 ± 0,03

Примечание: статистически значимо по отношению: ¹ – к показателю у доноров; ² – к показателю у женщин в соответствующей группе; ³ – к соответствующему показателю в контрольной группе.

что IGF-II регулирует дифференцировку и выживаемость скелетно-мышечных клеток плода, понимание механизмов его действия ограничено. При этом его молярное соотношение по отношению к IGF-I у взрослых составляет 3:1. Поскольку неблагоприятная экспрессия IGF-II может влиять на ряд метаболических состояний, предполагается, что IGF-II продолжает влиять на ткани на протяжении всей жизни [24]. В исследованиях также показано участие IGF-II в фенотипической пластичности, потенциально приводящее к более агрессивным и устойчивым клонам в прогрессирующих опухолях [25]. Изучение IGF-II в этом контексте является очень активной и развивающейся темой исследований. Напротив, информация о функции IGF-I выявила связь между нарушением его регуляции и онкогенезом [22].

В настоящем исследовании мы обнаружили, что в сыворотке крови больных раком легкого вне зависимости от тяжести перенесенного COVID-19 большинство показателей системы инсулиноподобных факторов роста и их белков-переносчиков были повышены, причем независимо от пола больных. Исключение составил белок IGFBP1, уровень которого в крови больных был снижен, особенно у пациентов основной группы.

Относительно IGF-I наши результаты подтверждают исследования [20], показавшие, что высокие уровни IGF-I в сыворотке крови коррелируют с повышенным риском рака легких. А исследование [26] явилось первым, в котором оцениваются уровни IGF-I в сыворотке у пациентов с тяжелой формой COVID-19 по сравнению со здоровыми людьми. Результаты показали, что уровни IGF-I в сыворотке у пациентов с тяжелым течением COVID-19 существенно не отличались по сравнению со здоровыми субъектами. Поэтому, логично предположить, что повышение уровня показателей системы инсулиноподобных факторов является результатом наличия у больных НМРЛ и не связано с перенесенной инфекцией. В настоящее время хорошо известно, что субъекты в общей популяции, у которых уровень IGF-I в сыворотке находится на верхней границе нормального диапазона, подвержены повышенному риску развития нескольких типов рака [27].

Белки, связывающие инсулиноподобный фактор роста (IGFBPs) 1–6, связывают IGF, но не инсулин с высокой аффинностью. Первоначально они были идентифицированы как сывороточные носители и пассивные ингибиторы действия IGF. Однако по-

следующие исследования показали, что, IGFBPs не только ингибируют действия IGF, но во многих случаях они также усиливают эти действия. IGFBP широко экспрессируются в большинстве тканей и являются гибкими эндокринными и аутокринными/паракринными регуляторами активности IGF, что необходимо для этой важной физиологической системы. Совсем недавно было установлено, что отдельные IGFBP обладают IGF-независимым действием [28].

В настоящем исследовании показано, что у мужчин контрольной группы по сравнению с женщинами выше был в сыворотке крови уровень IGFBP1 и IGFBP2, но не IGFBP3, т.е. имели место гендерные различия. В крови больных основной группы гендерные различия сохранялись только для белка IGFBP1. Вместе с тем, у больных обоего пола основной группы найдено снижение уровня IGFBP1 относительно показателей в крови контрольной группы больных.

В настоящее время интерес к IGFBP1, а именно к его IGF-зависимому и независимому действию имеется с позиции воздействия на чувствительность к инсулину [29]. Совсем другой интерес проявляют к белку IGFBP3, который является основным циркулирующим IGFBP, а также оказывает независимое от IGF действие в ответ на повреждение ДНК и передачу сигналов EGF. Было установлено, что экспрессия рекомбинантного человеческого IGFBP3 (rhIGFBP3) блокирует IGF-зависимое действие IGFBP3, и было показано, что он обладает противораковой активностью *in vitro* и *in vivo* [30]. Вместе с тем, недавнее исследование 11 клеточных линий рака желудка показало, что уровни экспрессии IGFBP1 были чрезвычайно низкими во всех клеточных линиях [31]. Известно также, что IGFBP1 блокирует синтез ДНК, рост и дифференцировку клеток, а также усиливает действие IGF-I в сочетании с определенными реагентами, такими как обедненная тромбоцитами плазма, или в определенных клеточных линиях [22]. В работе [32] наблюдалась тенденция к снижению риска развития рака легких при увеличении концентрации IGFBP1 в сыворотке, но эти результаты не достигли статистической значимости. Инсулин является основным регулятором IGFBP1, ингибируя его синтез в печени и других тканях, и наблюдаемая тенденция к обратной связи риска рака легких с IGFBP1 может быть следствием более высоких уровней инсулина. Физиологические отношения между IGFBP1 и инсулином нашли отражение в данных авторов, которые показали

обратную корреляцию инсулина с концентрацией IGFBP1 в крови. Только одно исследование связало IGFBP1 с плохой общей выживаемостью при аденокарциноме легкого [33].

Известно, что увеличение соотношения между IGF и IGFBP отражает увеличение свободного, биологически активного IGF, поэтому методы лечения, которые снижают это соотношение, имеют значительную привлекательность в качестве средств профилактики рака у людей без рака и с рецидивами рака [34]. IGFBP модулируют клеточную пролиферацию, выживаемость, дифференцировку, миграцию и инвазию. Семейство IGFBP обеспечивает дополнительный, преимущественно внеклеточный, механизм регуляции активности IGF. Отличительной чертой IGFBPs является их связывание с IGF-I и IGF-II, но не с инсулином с высокой аффинностью. В большинстве случаев они ингибируют действия IGF, предотвращая связывание с рецепторами IGF, но могут также усиливать их действие. За последние два десятилетия также были описаны IGF-независимые действия IGFBP. Совсем недавно было также показано, что они регулируют старение и аутофагию, а также ангиогенез. Благодаря этим клеточным эффектам IGFBPs вовлечены в ряд физиологических и патологических процессов, включая процессы, лежащие в основе метаболизма, иммунной регуляции, рака и неврологических заболеваний [28].

Мы изучили в сыворотке крови больных контрольной и основной групп соотношение IGF и IGFBP. Оказалось, что повышенными были только IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1. Причем эти соотношения имели не только некоторые гендерные отличия, но и зависели от тяжести перенесенного COVID-19: если в контрольной группе гендерные отличия име-

ло только соотношение IGF-II/IGFBP1, то в основной группе и IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1 у женщин превышали значения в крови мужчин.

В литературе мы не встретили подобных данных при онкопатологии. Увеличение IGF-I и связывающих белков IGFBP1 и IGFBP3 было зарегистрировано при повреждении и гибели эпителиальных клеток легких, а также при раннем остром респираторном дистресс синдроме (ОРДС), в то время как сообщалось об уменьшении IGF1 и IGFBP3 на поздних стадиях ОРДС [35]. Как правило, IGFBP3 является наиболее распространенным IGFBP в крови и действует как транспортная рабочая лошадка для суперсемейства белков IGF [35]. Следовательно, его основная функция, зависящая от IGF, заключается в контроле количества свободного IGF в циркуляции, что обеспечивает многочисленные последующие эффекты, включая дозирование IGF для клеточной пролиферации или усиления апоптоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у больных НМРЛ обоего пола в сыворотке крови вне зависимости от тяжести перенесенного COVID-19, повышается уровень лигандов и почти всех из исследованных белков-переносчиков, кроме IGFBP1. Соотношение IGF-I/IGFBP1 и IGF-II/IGFBP1 крови повышается в обеих группах, наиболее значимо в группе перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, что свидетельствует об избыточном накоплении уровня IGF в крови. Биомаркеры IGF- системы могут быть полезны при скрининге, прогнозировании и лечении рака легкого, хотя их точное применение требует дальнейшего изучения.

Список источников

1. Каприн А. Д., Гамеева Е. В., Рошин Д. О., Костин А. А., Алексеева Г. С., Хороненко В. Э и др. Ремоделирование онкологической службы в условиях пандемии COVID-19 в федеральном научном центре 1-го уровня. Исследования и практика в медицине. 2020;7(2):10–21. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-2-1>, EDN: ENOWVJ
2. Кульченко Н. Г. Эпидемиология болезней почек у пациентов с COVID-19. Исследования и практика в медицине. 2020;7(3):74–82. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-3-7>, EDN: YWIALJ
3. Држевецкая К. С., Корженкова Г. П. Проведение скрининга рака молочной железы в условиях неблагоприятной эпидемиологической ситуации COVID-19. Исследования и практика в медицине. 2021;8(3):34–44. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-3-3>, EDN: COIEFA
4. Scully EP, Haverfield J, Ursin RL, Tannenbaum C, Klein SL. Considering how biological sex impacts immune responses and COVID-19 outcomes. Nat Rev Immunol. 2020 Jul;20(7):442–447. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0348-8>

5. Грицкевич А. А., Прохорова Я. Д., Байтман Т. П., Грицкевич Е. Ю., Костин А. А. Андрогены и тяжесть течения новой коронавирусной инфекции. Исследования и практика в медицине. 2022;9(2):143–155.
<https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-2-13>, EDN: JTHNYV
6. Кульченко Н. Г., Дружинина Н. К., Мяндина Г. И. Мужское бесплодие в эпоху коронавирусной инфекции SARS-CoV-2. Исследования и практика в медицине. 2022;9(4):123–133. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-4-12>, EDN: HIWZYH
7. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020 Apr 16;181(2):271–80.e8.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
8. Jazieh AR, Alenazi TH, Alhejazi A, Al Safi F, Al Olayan A. Outcome of Oncology Patients Infected With Coronavirus. *JCO Glob Oncol*. 2020 Mar;6:471–475. <https://doi.org/10.1200/GO.20.00064>
9. Liang W, Guan W, Chen R, Wang W, Li J, Xu K, et al. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol*. 2020 Mar;21(3):335–337. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30096-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30096-6)
10. Miyashita H, Mikami T, Chopra N, Yamada T, Chernyavsky S, Rizk D, et al. Do patients with cancer have a poorer prognosis of COVID-19? An experience in New York City. *Ann Oncol*. 2020 Aug;31(8):1088–1089.
<https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.04.006>
11. Yu J, Ouyang W, Chua MLK, Xie C. SARS-CoV-2 Transmission in Patients With Cancer at a Tertiary Care Hospital in Wuhan, China. *JAMA Oncol*. 2020 Jul 1;6(7):1108–1110. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.0980>
12. Luo J, Rizvi H, Preeshagul IR, Egger JV, Hoyos D, Bandlamudi C, et al. COVID-19 in patients with lung cancer. *Ann Oncol*. 2020 Oct;31(10):1386–1396. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.06.007>
13. Rogado J, Pangua C, Serrano-Montero G, Obispo B, Marino AM, Pérez-Pérez M, et al. Covid-19 and lung cancer: A greater fatality rate? *Lung Cancer*. 2020 Aug;146:19–22. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2020.05.034>
14. Генералов Е. А., Симоненко Е. Ю., Кульченко Н. Г., Яковенко Л. В. Молекулярные основы биологической активности полисахаридов при ассоциированных с COVID-19 состояниях. *Биомедицинская химия*. 2022;68(6):403–418.
<https://doi.org/10.18097/PBMC20226806403>
15. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020 Apr;92(4):424–432. <https://doi.org/10.1002/jmv.25685>
16. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020 Jul 28;71(15):762–768. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
17. Sinha P, Matthay MA, Calfee CS. Is a “Cytokine Storm” Relevant to COVID-19? *JAMA Intern Med*. 2020 Sep 1;180(9):1152–1154. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.3313>
18. Chen B, Liu S, Xu W, Wang X, Zhao W, Wu J. IGF-I and IGFBP-3 and the risk of lung cancer: a meta-analysis based on nested case-control studies. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009 Jun 24;28(1):89. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-28-89>
19. Baxter RC. IGF binding proteins in cancer: mechanistic and clinical insights. *Nat Rev Cancer*. 2014 May;14(5):329–341.
<https://doi.org/10.1038/nrc3720>
20. Tas F, Bilgin E, Tastekin D, Erturk K, Duranyildiz D. Serum IGF-1 and IGFBP-3 levels as clinical markers for patients with lung cancer. *Biomed Rep*. 2016 May;4(5):609–614. <https://doi.org/10.3892/br.2016.629>
21. Denduluri SK, Idowu O, Wang Z, Liao Z, Yan Z, Mohammed MK, et al. Insulin-like growth factor (IGF) signaling in tumorigenesis and the development of cancer drug resistance. *Genes Dis*. 2015 Mar 1;2(1):13–25.
<https://doi.org/10.1016/j.gendis.2014.10.004>
22. Pohlman AW, Moudgalya H, Jordano L, Lobato GC, Gerard D, Liptay MJ, et al. The role of IGF-pathway biomarkers in determining risks, screening, and prognosis in lung cancer. *Oncotarget*. 2022;13:393–407.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.28202>
23. Su C, Wang W, Wang C. IGF-1-induced MMP-11 expression promotes the proliferation and invasion of gastric cancer cells through the JAK1/STAT3 signaling pathway. *Oncol Lett*. 2018 May;15(5):7000–7006. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8234>
24. Livingstone C, Borai A. Insulin-like growth factor-II: its role in metabolic and endocrine disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014 Jun;80(6):773–781. <https://doi.org/10.1111/cen.12446>
25. Fidler MJ, Fhied CL, Roder J, Basu S, Sayidine S, Fughhi I, et al. The serum-based VeriStrat® test is associated with proinflammatory reactants and clinical outcome in non-small cell lung cancer patients. *BMC Cancer*. 2018 Mar 20;18(1):310.
<https://doi.org/10.1186/s12885-018-4193-0>

26. Feizollahi P, Matin S, Roghani SA, Mostafaei S, Safarzadeh E, Taghadosi M. Evaluation serum levels of Insulin Growth Factor-1 (IGF-1) and its association with clinical parameters in severe COVID-19. *Inflammopharmacology*. 2022 Feb;30(1):199–205. <https://doi.org/10.1007/s10787-021-00908-6>
27. Osher E, Macaulay VM. Therapeutic Targeting of the IGF Axis. *Cells*. 2019 Aug 14;8(8):895. <https://doi.org/10.3390/cells8080895>
28. Bach LA. IGF-binding proteins. *J Mol Endocrinol*. 2018 Jul;61(1):T11–T28. <https://doi.org/10.1530/JME-17-0254>
29. Haywood NJ, Slater TA, Matthews CJ, Wheatcroft SB. The insulin like growth factor and binding protein family: Novel therapeutic targets in obesity & diabetes. *Mol Metab*. 2019 Jan;19:86–96. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.10.008>
30. Jerome L, Alami N, Belanger S, Page V, Yu Q, Paterson J, et al. Recombinant human insulin-like growth factor binding protein 3 inhibits growth of human epidermal growth factor receptor-2-overexpressing breast tumors and potentiates herceptin activity in vivo. *Cancer Res*. 2006 Jul 15;66(14):7245–7252. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-3555>
31. Liu Q, Jiang J, Zhang X, Zhang M, Fu Y. Comprehensive Analysis of IGF-BPs as Biomarkers in Gastric Cancer. *Front Oncol*. 2021;11:723131. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.723131>
32. Lukanova A, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Biessy C, Haley NJ, Shore RE, et al. A prospective study of insulin-like growth factor-I, IGF-binding proteins-1, -2 and -3 and lung cancer risk in women. *Int J Cancer*. 2001 Jun 15;92(6):888–892. <https://doi.org/10.1002/ijc.1265>
33. Wang J, Hu ZG, Li D, Xu JX, Zeng ZG. Gene expression and prognosis of insulin like growth factor binding protein family members in non small cell lung cancer. *Oncol Rep*. 2019 Nov;42(5):1981–1995. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7314>
34. Yeh HC, Maruthur NM, Wang NY, Jerome GJ, Dalcin AT, Tseng E, et al. Effects of Behavioral Weight Loss and Metformin on IGFs in Cancer Survivors: A Randomized Trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021 Sep 27;106(10):e4179–e4191. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab266>
35. Ahasic AM, Tejera P, Wei Y, Su L, Mantzoros CS, Bajwa EK, et al. Predictors of Circulating Insulin-Like Growth Factor-1 and Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein-3 in Critical Illness. *Crit Care Med*. 2015 Dec;43(12):2651–2659. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000001314>

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, ResearcherID: U-2241-2017, Scopus Author ID: 55994103100

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: <https://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, ResearcherID: Y-1491-2018, Scopus Author ID: 55890047700

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

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: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989

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

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: <https://orcid.org/0000-0002-2674-9832>, SPIN: 2168-8737, AuthorID: 558241

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

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

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

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

Участие авторов:

Кит О. И. – научное руководство исследования, итоговый анализ научной работы;
Франциянц Е. М. – научное руководство, концепция исследования, анализ материала, написание исходного текста, итоговые выводы;
Харагезов Д. А. – ведение больных, хирургические этапы лечения, критический анализ материала;
Бандовкина В. А. – подготовка и редактирование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания;
Черярина Н. Д. – статистический анализ полученных результатов, редактирование рукописи;
Погорелова Ю. А. – проведение ИФА исследований, анализ данных;
Лазутин Ю. Н. – анализ клинических данных больных;
Милакин А. Г. – ведение больных, обзор публикаций, техническое редактирование статьи;
Лейман И. А. – ведение больных, критический анализ данных;
Статешный О. Н. – ведение больных, критический анализ данных.
Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

УРОВЕНЬ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В ТКАНИ ЛЕГКОГО БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19 РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

О. И. Кит, Е. М. Франциянц, Д. А. Харагезов, В. А. Бандовкина[✉], Н. Д. Черярина,
Ю. А. Погорелова, Ю. Н. Лазутин, А. Г. Милакин, И. А. Лейман, О. Н. Статешный, Н. Д. Ушакова

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

✉ valerryana@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение содержания биогенных аминов – серотонина и его метаболита 5-ОИУК, дофамина, норадреналина и гистамина в тканях легкого у больных раком легкого перенесших COVID-19 различной степени тяжести.

Пациенты и методы. Для исследования послужили образцы легочной ткани вне зоны опухолевого роста, ткани опухоли и ее перифокальной зоны, полученные в результате открытой биопсии при выполнении радикальных операций у больных морфологически верифицированным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) I–IIIa стадии (сT₁₋₃N_xM₀). В основную группу вошли 30 больных НМРЛ (15 мужчин и 15 женщин), перенесших COVID-19 в тяжелой и средней тяжести форме, потребовавшей госпитализации, контрольную группу аналогично составили 15 мужчин и 15 женщин с НМРЛ, у которых инфекция SARS-CoV-2 протекала бессимптомно или в легкой форме. Средний возраст пациентов составил 59,11 ± 2,9 года. Количественную оценку содержания дофамина, норадреналина, серотонина, 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) и гистамина выполняли методом ИФА (IBL; Германия).

Результаты. Во всех исследованных образцах тканей легкого мужчин и женщин основной группы, по сравнению с контрольной группой, имеет место недостаточность катехоламинов, без нарушения их соотношения и изменение метаболизма серотонина для обеспечения его устойчивого уровня. Так, уровень дофамина в образцах пациентов основной группы был ниже в среднем в 1,3 раза, норадреналина в 1,3–3,3 раза, серотонина в среднем в 1,6 раза, а 5ОИУК в 1,8–4 раза. В тоже время установлены половые различия в содержании гистамина, когда у женщин, вне зависимости от тяжести перенесенного COVID-19 уровень диамина был ниже в линии резекции в среднем в 2,4 раза, а в перифокальной зоне в 1,6 раза, по сравнению с мужчинами, но отсутствие половых различий в ткани опухоли.

Заключение. Очевидно, изменения уровня дофамина, норадреналина и серотонина в тканях легкого могут быть связаны с тяжестью перенесенной инфекции SARS-CoV-2. Учитывая то, что дофамин участвует в противодействии канцерогенному эффекту адренергической системы и в регуляции различных иммунокомпетентных клеток в микроокружении опухоли, подобные изменения биогенного статуса в легком у больных основной группы могут приводить к более тяжелому течению злокачественного процесса.

Ключевые слова: дофамин, серотонин, гистамин, рак легкого, COVID-19

Для цитирования: Кит О. И., Франциянц Е. М., Харагезов Д. А., Бандовкина В. А., Черярина Н. Д., Погорелова Ю. А., Лазутин Ю. Н., Милакин А. Г., Лейман И. А., Статешный О. Н., Ушакова Н. Д. Уровень биогенных аминов в ткани легкого больных немелкоклеточным раком легкого перенесших COVID-19 различной степени тяжести. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(2): 16-27. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-2>, <https://elibrary.ru/xvfmlt>

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

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено советом по этике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (выписка из протокола заседания № 6 от 17.01.2022 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования.

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 13.09.2022; одобрена после рецензирования 19.04.2023; принята к публикации 05.06.2023.

© Кит О. И., Франциянц Е. М., Харагезов Д. А., Бандовкина В. А., Черярина Н. Д., Погорелова Ю. А., Лазутин Ю. Н., Милакин А. Г., Лейман И. А., Статешный О. Н., Ушакова Н. Д., 2023

LEVELS OF BIOGENIC AMINES IN LUNG TISSUES OF PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER AFTER COVID-19 OF VARIOUS SEVERITY

O. I. Kit, E. M. Frantsiyants, D. A. Kharagezov, V. A. Bandovkina[✉], N. D. Cheryarina, Yu. A. Pogorelova, Yu. N. Lazutin, A. G. Milakin, I. A. Leyman, O. N. Stateshny, N. D. Ushakova

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
[✉] valerryana@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Was to analyze levels of biogenic amines (serotonin and its metabolite 5-HIAA, dopamine, norepinephrine and histamine) in lung tissues of patients with lung cancer with previous COVID-19 infection.

Patients and methods. The study was carried out on samples of intact lung tissues, tumor tissues and peritumoral lung tissues obtained during open biopsy while performing radical surgery from patients with morphologically verified non-small cell lung cancer (NSCLC), stage I–IIIA (cT_{1–3}N_xM₀). The main group included 30 NSCLC patients (15 men and 15 women) after severe or moderate to severe COVID-19 who required hospitalization. The control group included 15 men and 15 women with NSCLC after asymptomatic or mild SARS-CoV-2 infection. The mean age of patients was 59.11 ± 2.9 years. Levels of dopamine, norepinephrine, serotonin, 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) and histamine were measured by ELISA (IBL, Germany).

Results. All studied lung tissue samples from men and women of the main group, compared to the control group, showed deficiency of catecholamines with their ratio unchanged, and changes in serotonin metabolism to ensure its stable level. Thus, levels of dopamine in samples of patients of the main group were lower on average by 1.3 times, norepinephrine by 1.3–3.3 times, serotonin by 1.6 times, and 5-HIAA by 1.8–4 times. At the same time, sex differences were observed in histamine levels. Regardless of the COVID-19 severity, levels of diamine in women were lower in the resection line tissue by an average of 2.4 times, and in the peritumoral tissue by 1.6 times, compared with men, but there were no sex differences in the tumor tissue.

Conclusion. Apparently, changes in the levels of dopamine, norepinephrine, and serotonin in lung tissues could be associated with the severity of SARS-CoV-2 infection. Since dopamine is involved in counteracting the carcinogenic action of the adrenergic system and in the regulation of various immunocompetent cells in the tumor microenvironment, such changes in the biogenic status in the lungs of patients of the main group could lead to a more severe tumor course.

Keywords: dopamine, serotonin, histamine, lung cancer, COVID-19

For citation: Kit O. I., Frantsiyants E. M., Kharagezov D. A., Bandovkina V. A., Cheryarina N. D., Pogorelova Yu. A., Lazutin Yu. N., Milakin A. G., Leyman I. A., Stateshny O. N., Ushakova N. D. Levels of biogenic amines in lung tissues of patients with non-small cell lung cancer after COVID-19 of various severity. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(2): 16-27. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-2>, <https://elibrary.ru/xvfmlt>

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

Compliance with ethical standards: The ethical principles presented by the World Medical Association Declaration of Helsinki, (1964, ed. 2013) were observed in the study. The study was approved by the Ethics Council of the NMRC for Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (extract from the protocol of the meeting No. 6 dated 01/17/2022). Informed consent was received from all participants of the study.

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

The article was submitted 13.09.2022; approved after reviewing 19.04.2023; accepted for publication 05.06.2023.

ВВЕДЕНИЕ

Коронавирусное заболевание (COVID-19), вызывается новым вирусом – коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2) [1–3], который может передаваться от одного человека к другому. К 3 января 2022 г. у более 290 миллионов человек во всем мире был диагностирован COVID-19, и более 5,4 миллиона из этих пациентов умерли [4]. Рак легкого (РЛ) занимает второе место среди самых распространенных злокачественных новообразований в мире с точки зрения заболеваемости и смертности [5–7]. Больные РЛ могут подвергаться более высокому риску заражения SARS-CoV2 и иметь худший прогноз течения заболевания [8]. Как правило, у больных РЛ наблюдаются множественные иммунные нарушения [9], которые могут повлиять на эффективность лечения COVID-19.

Информации о влиянии инфекции COVID-19 на выживаемость больных РЛ, а также об осложнениях, связанных с инфекцией, и прогностических факторах, по-прежнему, недостаточно. В метааналитическом исследовании, проведенном Desai A. D. с соавторами (2022) [10], с данными о 2922 больных раком на разных стадиях, госпитализированных с COVID-19, было обнаружено, что мужской пол, средний возраст и недавняя активная терапия рака, были факторами, связанными со смертностью. Другие авторы отмечают, что в дополнение к возрасту и хроническим сопутствующим заболеваниям, потребность в инвазивной или неинвазивной искусственной вентиляции легких и женский пол являются выявленными факторами риска респираторных долгосрочных осложнений COVID-19 [11].

Накапливаются данные о подострых и отдаленных последствиях COVID-19. Наиболее тяжелым проявлением постинфекционного повреждения легких является легочный фиброз, который оказывает глубокое долгосрочное влияние на респираторное здоровье пациентов. Более чем у трети пациентов, выживших после тяжелой пневмонии COVID-19, развился легочный фиброз [12]. В моделях на животных инфекция SARS-CoV-2 также индуцировала экспрессию профибротических цитокинов и возникновение легочного фиброза [13]. Хотя конкретный механизм требует дальнейшего изучения, фиброз легких, вызванный SARS-CoV-2, имеет много общего с фиброзом легких, вызванным другими вирусами.

Стоит отметить, что легочной фиброз после ви-

русной инфекции может не быть прямым результатом инфекции, и другие факторы, такие как травма, вызванная вентиляцией легких, также могут играть роль. Многие тяжелые пациенты с вирусной инфекцией подвергаются искусственной вентиляции легких (ИВЛ) во время лечения, и имеющиеся исследования показали, что у пациентов с более длительным периодом ИВЛ была более высокая вероятность развития легочного фиброза и худший прогноз [14]. Diem K. с соавторами (2020) показали, что альвеолярные клетки при механическом стрессе могут продуцировать сигнальные молекулы для связи с соседними клетками и способствовать фиброзной реакции [15].

Механизмы, лежащие в основе вызванного вирусом легочного фиброза, нуждаются в глубоком изучении. Исследования могут помочь врачам в оценке рисков сочетания COVID-19 и рака легкого, что в конечном итоге может сократить или даже предотвратить летальные исходы. Ключевым пробелом в знаниях и острой неудовлетворенной медицинской потребностью в клиническом ведении больных раком легких в эпоху пандемии COVID-19 является характеристика молекулярных механизмов, связывающих эти два заболевания. Особый интерес, с нашей точки зрения, представляет изучение биогенных аминов в ткани легкого больных раком легкого, перенесших COVID-19.

Было показано, что гистамин и сигнальный путь рецептора гистамина могут играть решающую роль в проникновении вируса в эндотелиальные клетки. SARS-CoV-2 вызывает воспалительную реакцию у инфицированных пациентов [11]. Авторы полагают, что локальное повышение уровня гистамина, например, в легких, мозге или сердце, может изменить проникновение вируса в клетки непосредственно в организме. Wu M. L. с соавторами (2022) показали, что вызванная спайковым белком дегрануляция тучных клеток инициирует воспаление альвеолярного эпителия для разрушения барьера, и предложили использовать антигистаминные препараты не по прямому назначению, а в качестве стабилизаторов тучных клеток для блокирования дегрануляции и, следовательно, подавления воспаления и предотвращения повреждения легких [16]. Высокие уровни гистамина и гистаминовых рецепторов, в том числе H1R~H4R, обнаружены в различных типах опухолевых клеток и клетках микроокружения опухоли, что позволяет предположить их участие в опухолевой прогрессии [17].

Исследование Fabre A. с соавторами (2008) [18] показало участие серотонина в патофизиологии индуцированного блеомицином фиброза легких у мышей и определило его как потенциальную терапевтическую мишень при фиброзных заболеваниях легких. Серотонин (5-гидрокситриптамин; 5-НТ) представляет собой вазоактивный пептид, синтезируемый из триптофана энтерохромаффинными клетками кишечника и эндотелиальными клетками. В крови присутствует очень низкий уровень циркулирующего свободного серотонина, так как большая часть серотонина сосредоточена в тромбоцитах. В физиологических условиях легкие подвергаются воздействию низких уровней циркулирующего серотонина. При патологических состояниях высвобождение запасенного тромбоцитами и эндотелиальными клетками серотонина может повышать концентрацию серотонина как локально, так и в кровотоке. Было показано, что подтипы рецепторов 5-НТ_{2A} и 5-НТ_{2B} играют наиболее важную роль в легких, где серотонин участвует в контроле вазо- и бронхореактивности [18]. Исследования показали потенциальный стимулирующий эффект серотонина на пролиферацию, инвазию, диссеминацию раковых клеток и ангиогенез опухоли. Хотя основной механизм сложен, предполагается, что уровни серотонина в опухоли и его взаимодействие со специфическими подтипами рецепторов связаны с прогрессированием заболевания [19].

Роль норадреналина в злокачественном росте связана с выживанием раковых клеток, пролиферацией, устойчивостью к апоптозу, инвазией, метастазированием, ангиогенезом и стромальными компартментами в микроокружении опухоли [20]. Норадреналин может ингибировать окислительное фосфорилирование и индуцировать ангиогенное переключение, стимулируя метаболизм эндотелиальных клеток в направлении, которое способствует прогрессированию рака [21]. Существует несколько механизмов, лежащих в основе роли норадреналина в развитии опухолей. Активация β_2 -адренорецепторов способствует росту опухоли и ангиогенезу за счет увеличения экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), металлопротеаз MMP2 и MMP9, которые дополнительно потенцируют ангиогенные и метастатические процессы при раке надпочечников, раке легкого, и раке молочной железы. Эти эффекты в значительной степени опосредованы β -адренергическим повышением уровней циклического АМФ

(цАМФ) и последующей активацией протеинкиназы А, которая выполняет соответствующие функциональные регуляции посредством фосфорилирования нижестоящих мишеней, таких как белок, связывающий ответный элемент цАМФ, ядерный фактор каппа В и белок-активатор 1 [22].

Дофамин является биологическим предшественником для синтеза норадреналина. Помимо общего рецептора ангиотензин-превращающего фермента 2, новые коронавирусы могут использовать другие альтернативные пути. Первым предполагаемым рецептором или корецептором является дофамин. Известно, что дофамин снижает репликацию SARS-CoV-2 *in vitro* за счет подавления своих рецепторов D2 и усиления интерферонов типа I [23]. Недавние данные свидетельствуют о том, что SARS-CoV-2 препятствует иммунным реакциям через механизмы, связанные с дофамином [24]. Тем не менее, дофамин может подавлять иммунный ответ во время инфекции, тем самым увеличивая жизненный цикл SARS-CoV-2. Повышенный уровень дофамина снижает уровень кислорода, особенно если учесть «счастлиную» гипоксемию, связанную с COVID-19 [23]. Это происходит, поскольку дофамин обладает известной способностью притуплять вентилиционную реакцию базальных сонных артерий человека на гипоксию. Однако на сегодняшний день ни одно исследование не изучало потенциальную роль дофамина и дофаминергических рецепторов в инфекции COVID-19.

Что касается роли дофамина при раке, то имеющиеся сведения носят достаточно противоречивый характер. Некоторые эпидемиологические и молекулярно-биологические исследования показали, что дофамин по-разному влияет на разные виды рака и даже на рак одной локализации [22]. Эти результаты означают, что дисбаланс в дофаминергической системе может быть связан с развитием злокачественной опухоли.

Цель исследования: изучение содержания биогенных аминов – серотонина и его метаболита 5-ОИУК, дофамина, норадреналина и гистамина в тканях легкого у больных раком легкого перенесших COVID-19 различной степени тяжести.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы легочной ткани вне зоны опухолевого роста, ткани опухоли и ее перифокальной зоны, получен-

ные в результате открытой биопсии при выполнении радикальных операций у больных морфологически верифицированным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) I–IIIА стадии ($cT_{1-3}N_xM_0$). В исследование включено 60 пациентов мужского и женского пола в соотношении 1:1, которые до операции прошли стандартное рентгенологическое обследование для исключения метастатического заболевания: компьютерную томографию (КТ) грудной клетки и брюшной полости, а также визуализацию головного мозга (КТ или МРТ); части больных выполнена 1-Ф-ФДГ ПЭТ-КТ, но это исследование было не обязательным. Остеосцинтиграфия выполнялась по клиническим показаниям. Клиническая стадия НМРЛ устанавливалась с использованием TNM классификации рака легкого Union for International Cancer Control / American Joint Committee on Cancer classification system, версия 8.

Подходящими считались пациенты, перенесшие 3–6 мес. назад инфекцию SARS-CoV-2, в возрасте 18 лет и старше с морфологически верифицированным НМРЛ, которым планировалось радикальное хирургическое вмешательство в объеме лобэктомии, билобэктомии или пневмонэктомии с медиастинальной лимфодиссекцией. Исходный статус больных должен был быть 0–2 балла по шкале ECOG, объем форсированного выдоха за 1 с более 1,5 л или более 70 % от должностного и нормальные показатели стандартных лабораторных тестов, включая общий анализ крови, биохимический анализ сыворотки, коагулограмму, свидетельствующие об отсутствии функциональных расстройств органов и систем. Не включали в исследование пациентов, перенесшие неоадьювантную химиотерапию, с синхронным контралатеральным раком легкого, со злокачественными новообразованиями других локализаций, кроме базальноклеточного рака кожи, в прошлом или текущем анамнезе и с недавними менее 6 мес. тяжелыми сердечными, легочными или воспалительными заболеваниями, кроме COVID-19, а также больные сахарным диабетом.

При госпитализации все пациенты имели отрицательный ПЦР- тест на SARS-CoV-2 из носоглотки. Основываясь на анамнестических данных, собранных с помощью специальной анкеты, в зависимости от тяжести клинического течения COVID-19 были сформированы основная и контрольная группы. В основную группу вошли 30 больных НМРЛ (15 мужчин и 15 женщин), перенесших COVID-19 в тяжелой и средней тяжести форме, потребовавшей

госпитализации, контрольную группу аналогично составили 30 пациентов с раком легкого, у которых инфекция SARS-CoV-2 протекала бессимптомно или в легкой форме. Средний возраст больных составил $59,11 \pm 2,9$ года, достоверных различий сравнимых групп по антропометрическим и клиническим показателям не установлено.

Участники исследования дали письменное информированное согласие на медицинское вмешательство, операцию, обработку персональных данных и забор биологического материала в соответствии с Хельсинкской декларацией. Проведение исследования одобрено советом по этике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростова-на-Дону (протокол № 6 от 17.01.2022 г.).

Количественную оценку содержания дофамина, норадреналина, серотонина, 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) и гистамина выполняли методом ИФА с использованием стандартных наборов (IBL; Германия).

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 10. Нормальность распределения оценивали с помощью методов Колмогорова-Смирнова, различия между группами определяли с помощью t -критерия Стьюдента или U -критерия Манна-Уитни в зависимости от нормальности распределения. Значение $p < 0,05$ рассматривалось как показатель статистической значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Найдено, что в интактной ткани (линия резекции) мужчин и женщин основной группы уровень дофамина и норадреналина был ниже, чем в соответствующих образцах больных контрольной группы: у мужчин в среднем в 1,3 раза, у женщин в среднем в 1,4 раза. Поскольку дофамин является предшественником норадреналина, мы сочли интересным изучить соотношение дофамина и норадреналина. Показатель соотношение уровня дофамина к норадреналину (ДА/НА) не имел достоверных различий, как между группами, так и в зависимости от пола (табл. 1). Уровень гистамина у больных основной группы не имел достоверных отличий от значений в контрольной группе, однако в обеих группах у мужчин показатель был выше, чем у женщин: в контрольной – в 2,5 раза, в основной – в 2,3 раза. Содержание серотонина было выше у больных контрольной группы в среднем в 1,5 раза вне

зависимости от пола. Значимые различия найдены в интактной ткани и в содержании метаболита серотонина – 5-ОИУК. Значения этого показателя были выше у мужчин и женщин контрольной группы в 4,2 раза и 2,8 раза соответственно. При этом отмечены гендерные различия: у мужчин показатель был выше, чем у женщин в контрольной группе в 1,9 раза, в основной – в 1,3 раза. Соотношение серотонин/5-ОИУК (5-НТ/5-ОИУК) отражает процесс синтеза/распада этого биогенного амина. Оказалось,

что у больных основной группы этот показатель был выше, чем в контрольной: у мужчин – в 2,7 раза, у женщин – в 1,9 раза. При этом, имели место быть гендерные различия: в контрольной группе показатель у женщин превосходил значения у мужчин в 1,5 раза. В основной группе 5-НТ/5-ОИУК у женщин и мужчин был одинаков.

В ткани опухоли мужчин и женщин основной группы уровень дофамина не имел достоверных отличий от соответствующих образцов больных кон-

Таблица 1. Содержание биогенных аминов и их соотношения в тканях легкого больных НМРЛ в зависимости от тяжести перенесенного COVID-19

Группы	Пол	ДА нг/г тк	НА нг/г тк	5-НТ нг/г тк	5-ОИУК нг/г тк	Гистамин нг/г тк	ДА/НА	5НТ/ 5ОИУК
Ткань линии резекции								
Контроль- ная	М	72,8 ± 7,4	60,1 ± 6,5	2,0 ± 0,19	0,54 ± 0,06	1572,9 ± 159,4	1,2 ± 0,02	3,8 ± 0,14
	Ж	85,7 ± 7,9	74,1 ± 9,1	1,6 ± 0,17	0,28 ± 0,02 $p^2 = 0,0001$	634,9 ± 71,9 $p^2 = 0,0000$	1,22 ± 0,05	5,6 ± 0,2 $p^2 = 0,0000$
Основная	М	55,6 ± 3,9 $p^1 = 0,0495$	44,7 ± 3,4 $p^1 = 0,0455$	1,3 ± 0,14 $p^1 = 0,0062$	0,13 ± 0,01 $p^1 = 0,0000$	1437,3 ± 135,8	1,26 ± 0,04	9,9 ± 0,45 $p^1 = 0,0000$
	Ж	66,2 ± 5,1 $p^1 = 0,0477$	51,2 ± 6,1 $p^1 = 0,0462$	1,1 ± 0,12 $p^1 = 0,0234$	0,1 ± 0,008 $p^1 = 0,0000$ $p^2 = 0,0374$	628,4 ± 71,4 $p^2 = 0,0000$	1,38 ± 0,07	10,8 ± 0,61 $p^1 = 0,0000$
Ткань опухоли								
Контроль- ная	М	54,2 ± 3,97 $p^3 = 0,0350$	113,6 ± 5,47 $p^3 = 0,0000$	3,3 ± 0,22	0,25 ± 0,02	2026,9 ± 129,4 $p^3 = 0,0353$	0,47 ± 0,02 $p^3 = 0,0000$	13,35 ± 0,21 $p^3 = 0,0000$
	Ж	60,1 ± 3,2 $p^3 = 0,0138$	118,8 ± 6,1 $p^3 = 0,0003$	3,8 ± 0,39	0,27 ± 0,04	1992,7 ± 210,6 $p^3 = 0,0000$ $p^4 = 0,0014$	0,51 ± 0,01 $p^3 = 0,0000$	14,5 ± 0,79 $p^3 = 0,0000$
Основная	М	45,3 ± 4,9	37,5 ± 3,8 $p^1 = 0,0000$	2,1 ± 0,23 $p^1 = 0,0008$	0,2 ± 0,02	1901,7 ± 155,9 $p^3 = 0,0327$	1,2 ± 0,02 $p^1 = 0,0000$	10,6 ± 0,19
	Ж	67,8 ± 7,4 $p^2 = 0,0170$	35,6 ± 3,9 $p^1 = 0,0000$	2,8 ± 0,26 $p^1 = 0,0441$	0,2 ± 0,02	1571,1 ± 165,0 $p^3 = 0,0000$ $p^4 = 0,0060$	1,92 ± 0,04 $p^1 = 0,0000$ $p^2 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$	14,3 ± 0,77
Ткань перифокальной зоны								
Контроль- ная	М	71,8 ± 7,8	64,5 ± 7,2	1,7 ± 0,18	0,5 ± 0,07	1710,1 ± 190,7	1,1 ± 0,01	3,7 ± 0,24
	Ж	77,8 ± 8,4	67,1 ± 7,36	1,8 ± 0,19	0,3 ± 0,04 $p^2 = 0,0220$	1135,3 ± 121,2 $p^3 = 0,0013$	1,2 ± 0,03	6,2 ± 0,29 $p^2 = 0,0000$
Основная	М	55,5 ± 5,6	51,5 ± 5,7	1,4 ± 0,16	0,18 ± 0,02 $p^1 = 0,0002$ $p^3 = 0,0392$	1473,9 ± 161,2	1,1 ± 0,06	7,8 ± 0,17
	Ж	63,3 ± 6,4	43,7 ± 4,5	1,5 ± 0,18	0,17 ± 0,02 $p^1 = 0,0036$ $p^3 = 0,0077$	942,9 ± 103,2 $p^3 = 0,0182$	1,4 ± 0,03	8,8 ± 0,29

Примечание: статистически значимо по отношению: ¹ – к соответствующему показателю в контрольной группе; ² – к показателю у мужчин в соответствующей группе; ³ – к соответствующему показателю в ткани линии резекции; ⁴ – к соответствующему показателю в ткани перифокальной зоны; г тк – грамм ткани. ДА – дофамин, НА – норадреналин, 5НТ – серотонин, 5ОИУК – 5-оксииндолуксусная кислота.

трольной группы, только в основной группе уровень ДА в опухоли оказался в 1,5 раза выше у женщин, тогда как в контрольной группе половые различия не выявлены.

Вместе с тем, относительно показателей в интактной ткани уровень дофамина в ткани опухоли больных мужчин и женщин контрольной группы был снижен в 1,3 раза и 1,4 раза, тогда как значения в ткани опухоли больных основной группы не имели достоверных отличий. Содержание норадреналина в ткани опухоли больных контрольной группы вне зависимости от пола были выше уровня биогенного амина в ткани опухоли основной группы в среднем в 3,2 раза. При этом относительно интактной ткани показатели были повышены у мужчин и женщин контрольной группы в 1,9 раза и 1,6 раза соответственно, а в основной группе не имели значимых отличий. Соотношение ДА/НА в ткани опухоли больных контрольной группы было ниже, чем у больных основной группы: у мужчин в 2,4 раза, у женщин – в 3,9 раза. Гендерные отличия отмечены только в основной группе больных: у женщин показатель был в 1,6 раза выше. Относительно интактной ткани коэффициент ДА/НА в ткани опухоли больных контрольной группы вне зависимости от пола был снижен в среднем в 2,4 раза.

В ткани опухоли основной группы относительно соответствующей интактной ткани уровень ДА/НА был повышен у женщин в 1,5 раза, и не имел достоверных отличий у мужчин. Содержание гистамина в ткани опухоли больных контрольной и основной групп не имело отличий как между группами, так и в зависимости от пола, но было повышено относительно значений в соответствующей интактной ткани: у мужчин и женщин контрольной группы в 1,3 раза и 3,1 раза соответственно, у мужчин и женщин основной группы – в 1,3 раза и 2,4 раза соответственно. Уровень серотонина в ткани опухоли больных контрольной группы был выше показателей в основной группе вне зависимости от пола в среднем в 1,4 раза, а уровень его метаболита 5-ОИУК не имел достоверных отличий. Коэффициент 5-НТ/5-ОИУК в ткани опухоли не имел различий между группами и не отличался по полу, но в контрольной группе были различия с показателями в соответствующей интактной ткани: у мужчин показатель был выше в 3,6 раза, у женщин – в 2,5 раза.

В ткани перифокальной зоны содержание дофамина, норадреналина и их соотношения во всех исследуемых образцах не имело достоверных от-

личий от показателей в соответствующей интактной ткани и опухоли. Также не было достоверных отличий в содержании серотонина в образцах перифокальной зоны и соответствующей интактной ткани, но при этом, уровень 5НТ оказался ниже, чем в самой опухоли в среднем в 1,5–2 раза. В перифокальной зоне уровень 5-ОИУК не отличался от показателей соответствующей интактной ткани у больных контрольной группы, тогда как в образцах больных основной группы различия были. Так у мужчин уровень метаболита был выше в 1,4 раза, а у женщин – в 1,7 раза. В этой связи соотношение 5-НТ/5-ОИУК в ткани перифокальной зоны у больных контрольной группы не имело достоверных отличий от значений в интактной ткани, сохраняя те же половые различия – у женщин в 1,8 раза выше. В ткани перифокальной зоны опухоли больных основной группы соотношение 5-НТ/5-ОИУК также не имело различий с соответствующей интактной тканью и тканью опухоли. Уровень гистамина в ткани перифокальной зоны опухоли у мужчин обеих групп не имел достоверных отличий от значений в соответствующей интактной ткани, а у женщин обеих групп уровень этого диамина занимал как бы промежуточное положение между показателями в соответствующей интактной ткани и ткани опухоли. Так в ткани перифокальной зоны опухоли женщин контрольной и основной групп уровень гистамина оказался в 1,8 раза и в 1,5 раза соответственно выше, чем в интактной ткани легкого, но в 1,8 раза и в 1,6 раза соответственно ниже, чем в опухоли.

Таким образом, установлено, что во всех исследованных образцах тканей легкого мужчин и женщин основной группы, по сравнению с контрольной группой, имеет место недостаточность катехоламинов без нарушения их соотношения и изменение метаболизма серотонина для обеспечения его уровня. Очевидно, изменения биогенного статуса тканей легкого могут быть связаны с тяжестью перенесенной инфекции SARS-CoV-2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нейротрансмиттеры, к которым относятся биогенные амины, обычно рассматриваются как вещества, секретируемые нервами, которые опосредуют стимулирующие или ингибирующие функции нейронов посредством связывания с соответствующими рецепторами. В последние десятилетия появилось

много новых открытий, объясняющих регуляторную роль нейротрансмиттеров в физиологических и патологических функциях тканей и органов. Примечательно, что новые данные свидетельствуют о том, что раковые клетки используют сигнальный путь, инициируемый нейротрансмиттерами, для активации неконтролируемой пролиферации и диссеминации [22]. Кроме того, нейротрансмиттеры могут воздействовать на иммунные клетки и эндотелиальные клетки в микроокружении опухоли, регулируя гомеостаз тканей, влияя на различные фенотипы опухоли и способствуя прогрессированию опухоли [22; 24; 25]. Нейротрансмиттеры могут воздействовать на раковые клетки и иммунные клетки аутокринным/паракринным образом. Подобно процессам неоангиогенеза и лимфангиогенеза, все больше доказательств указывают на возможность образования новых нервных окончаний в опухолях, явление, называемое неонейрогенезом [25]. Нейротрансмиттеры нервных волокон, высвобождаемые в микроокружении опухоли, активируют опухолевые клетки посредством связывания специфических рецепторов нейротрансмиттеров. Этот процесс еще больше расширил наши знания о сложной сети нейротрансмиттеров, связанных с прогрессированием опухоли. Кроме того, иммунные клетки и эндотелиальные клетки, инфильтрированные в микроокружении опухоли, также экспрессируют различные рецепторы нейротрансмиттеров и реагируют с нейротрансмиттерами, что, как известно, оказывает сильное влияние на исход рака у человека [26].

В настоящем исследовании было показано, что в непораженной злокачественным процессом ткани легкого (линия резекции) имели место гендерные различия в уровне гистамина вне зависимости от тяжести перенесенного COVID-19: у мужчин его содержание более чем вдвое превосходило показатель у женщин [27]. Этот факт может быть связан, с одной стороны, с воспалительными изменениями в ткани легкого именно у мужчин, с другой, с повышенной возможностью проникновения вируса в клетки, а возможно и с гормональной обеспеченностью ткани. В ткани опухоли вне зависимости от пола и перенесенной инфекции уровень гистамина был выше, чем в соответствующей условно интактной ткани, что указывает на вероятность его участия в опухолевой прогрессии [17]. Показатель содержания гистамина в ткани перифокальной зоны опухоли занимали промежуточное положение между тканью опухоли и линией резекции, что

указывает на вовлеченность этой зоны в процесс канцерогенеза.

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) является наиболее распространенной формой рака легкого и характеризуется хроническим воспалительным процессом, что связано с высокой инфильтрацией тучных клеток и снижением выживаемости больных [28]. Известно, что высокие уровни гистамина и гистаминовых рецепторов в широком спектре различных типов рака, в том числе рака легкого, указывают на их участие в сложной биологии рака [29]. Кроме того, было показано, что гистамин стимулирует различные события, связанные с канцерогенезом, такие как клеточная инвазия, миграция и ангиогенез, демонстрируя его решающую роль в прогрессировании рака [17].

Известно, что 5-НТ регулирует эпителиальный гомеостаз молочной железы, легких, поджелудочной железы, печени и простаты. Нарушение регуляции передачи сигналов 5-НТ часто наблюдается в эпителиальных опухолях [19]. Нами показано, что абсолютный уровень серотонина, а также соотношение 5-НТ/5-ОИУК в ткани опухоли в контрольной группе были значимо выше, чем в условно интактной ткани легкого и ткани перифокальной зоны опухоли и не имел принципиальных различий в зависимости от пола.

Имеющиеся данные прояснили биологию опухоли с позиций 5-НТ. Было обнаружено, что 5-НТ способствует пролиферации клеток при раке через различные рецепторы 5-НТ [30]. Jiang S. H. с соавторами (2017) продемонстрировали, что ткани рака поджелудочной железы человека имеют повышенный уровень 5-НТ, а раковые клетки поджелудочной железы увеличивают экспрессию его рецептора, HTR2B. Это увеличение способствует гликолизу опухоли при метаболическом стрессе и способствует росту рака поджелудочной железы [22].

Однако, мы обратили внимание на тот факт, что у больных основной группы уровень серотонина и соотношение 5-НТ/5-ОИУК в ткани опухоли и ее перифокальной зоны не имел принципиальных отличий от показателей в контрольной группе больных, а соотношение 5-НТ/5-ОИУК в интактной ткани по линии резекции значимо отличалось от показателей в контрольной группе и было сходным с показателями в ткани опухоли больных основной группы. Это никак нельзя было объяснить с позиций участия серотонина в опухолевой прогрессии, так как в ткани соответствующей перифокальной

зоны показатели были значительно ниже, так же как у больных контрольной группы. Мы сочли, что это связано с тяжестью перенесенного COVID-19, а именно со способностью серотонина влиять на образование фиброза в легких. Причем в интактной ткани больных основной группы, перенесших инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме, относительный уровень серотонина был повышен не за счет его синтеза *de novo*, а за счет резкого падения его распада.

Результаты, полученные Petrić M. с соавторами (2022) свидетельствуют о том, что серотонин может играть профибротическую роль в легочной ткани, особенно в связи с тем, что у половины пациентов с низким уровнем жизненной емкости легких были интерстициальные заболевания легких [31]. На моделях мышей получены данные о том, что серотонин участвует в патогенезе фиброза легких через сигнальные пути 5-HT/Akt и усиленный TGF-β1-индуцированный синтез коллагена [32]. Шведская группа авторов определила серотониновый рецептор как терапевтическую мишень при фиброзирующем фенотипе интерстициальных заболеваний легких [33]. Вместе с тем, имеется исследование, показывающее нарушение регуляции метаболизма триптофана, характеризующееся снижением продукции серотонина в сочетании с накоплением хинолина у пациентов с COVID-19 во время острой фазы инфекции, особенно у пациентов с самыми неблагоприятными исходами [34].

Возможно, в ситуациях, когда доступные уровни серотонина снижены, ингибирование его локального метаболизма может оказывать благотворное влияние, помогая поддерживать адекватные уровни передачи сигналов серотонина.

Существует несколько механизмов, лежащих в основе роли адреналина и норадреналина в развитии опухолей. Норадреналин может стимулировать метаболизм эндотелиальных клеток в направлении ингибирования окислительного фосфорилирования и индукции ангиогенного переключения, которое способствует прогрессированию рака [21].

В нашем исследовании показано, что в ткани опухоли больных контрольной группы уровень норадреналина был значимо выше, чем в соответствующей интактной ткани и ткани перифокальной зоны опухоли, что согласуется с данными литературы. Гендерных различий не отмечено. Иное наблюдалось в тканях легкого больных основной группы. В ткани линии резекции этих больных уровень норадреналина

был достоверно ниже, чем в интактной ткани мужчин и женщин больных раком легкого контрольной группы. Такая же картина найдена и в ткани опухоли, и в ткани ее перифокальной зоны. При этом не было различий в показателях между всеми образцами, т.е. уровень норадреналина был приблизительно одинаков, и значимо ниже, чем у больных контрольной группы. Объяснения этому факту было трудно найти. Тогда мы обратились к содержанию дофамина в тканях легкого больных НМРЛ, так как известно, что дофамин является предшественником норадреналина.

Известно, что гормоны, такие как глюкагон, адреналин или норадреналин, запускают внутриклеточный сигнальный каскад, который запускает активацию протеинкиназы А. Дофамин ослабляет активацию протеинкиназы А, которая иницируется путем снижения клеточного уровня цАМФ. Протеинкиназа А активирует путь NF-κB путем фосфорилирования p65 по серину 276, что способствует онкогенезу НМРЛ у мышей и значительно коррелирует с прогрессирующими стадиями TNM и плохим прогнозом у пациентов с НМРЛ [22].

Мы обнаружили, что уровни дофамина, как и норадреналина в интактной ткани мужчин и женщин основной группы были значимо ниже, чем в соответствующих образцах больных контрольной группы, возможно, за счет нарушения метаболизма тирозина. Метаболизм аминокислот в микроокружении опухоли играет ключевую роль в развитии и прогрессировании опухоли. Опухолевые клетки часто потребляют исключительно местные питательные вещества, такие как аминокислоты, для своего выживания и конкурируют за них с другими окружающими клетками, такими как противоопухолевые иммунные клетки [35]. В ткани опухоли больных обоего пола контрольной группы уровень дофамина был снижен за счет повышенного образования норадреналина. Не равнозначные изменения найдены в ткани опухоли у мужчин и женщин основной группы. Так уровень дофамина и норадреналина в ткани опухоли мужчин были снижены практически также, как и в интактной ткани, а у женщин содержание норадреналина держалось практически на уровне значений в интактной ткани и ткани перифокальной зоны, дофамина было значимо выше, также как и в ткани перифокальной зоны.

Известно, что дофамин участвует в противодействии канцерогенному действию адренергической системы. Противоопухолевые эффекты дофамина могут проявляться в регуляции различных имму-

нокомпетентных клеток в микроокружении опухоли. Дофамин способен ингибировать функцию Gr-1 + CD115 + супрессорных клеток миелоидного происхождения через D1-подобные рецепторы и усиливать противоопухолевый иммунитет [22]. Недавние интригующие данные свидетельствуют о том, что SARS-CoV-2 может препятствовать иммунным ответам через механизмы, связанные с дофамином. С одной стороны, было высказано предположение, что дофаминовые рецепторы используются вирусом для улучшения как его проникновения, так и жизненного цикла внутри клеток; с другой стороны, было документально подтверждено, что SARS-CoV-2 подавляет L-ДОФА-декарбоксилазу, фермент, ограничивающий скорость превращения L-ДОФА в дофамин, что, очевидно сказывается и на содержании нормадrenalina [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Очевидно, изменения уровня дофамина, норадреналина и серотонина в тканях легкого могут быть связаны с тяжестью перенесенной инфекции SARS-CoV-2 и, должно найти свое отражение в течении рака легкого. Влияние биогенных аминов на развитие и прогрессирование опухоли включает непосредственную их роль в росте и метастазировании опухоли не только через раковые клетки и стромальные клетки, но также через эндотелиальные клетки и иммунные клетки, способствуя ангиогенезу, лимфангиогенезу и воспалительной реакции. Перенесенный COVID-19 вносит свое модифицирующее воздействие на биогенный статус в легком у больных основной группы, что может приводить к более тяжелому течению злокачественного процесса и изменению ответа на стандартную противоопухолевую терапию.

Список источников

- Каприн А. Д., Гамеева Е. В., Рошин Д. О., Костин А. А., Алексеева Г. С., Хороненко В. Э. и др. Ремоделирование онкологической службы в условиях пандемии COVID-19 в федеральном научном центре 1-го уровня. Исследования и практика в медицине. 2020;7(2):10–21. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-2-1>, EDN: ENOWVJ
- Кульченко Н. Г. Эпидемиология болезней почек у пациентов с COVID-19. Исследования и практика в медицине. 2020;7(3):74–82. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-3-7>, EDN: YWIALJ
- Држевецкая К. С., Корженкова Г. П. Проведение скрининга рака молочной железы в условиях неблагоприятной эпидемиологической ситуации COVID-19. Исследования и практика в медицине. 2021;8(3):34–44. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-3-3>, EDN: COIEFA
- Hopkins J. COVID-19 dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU) 2022. Доступно по: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>, Дата обращения: 03.04.2023.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. CA Cancer J Clin. 2020 Jan;70(1):7–30. <https://doi.org/10.3322/caac.21590>
- Колбанов К. И., Трахтенберг А. Х., Пикин О. В., Рябов А. Б., Глушко В. А. Хирургическое лечение больных резектабельным немелкоклеточным раком легкого. Исследования и практика в медицине. 2014;1(1):16–23. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2014-1-1-16-23>, EDN: TOUQCD
- Усачев В. С., Смоленов Е. И., Рагулин Ю. А. Морфологическая и молекулярно-генетическая диагностика рака легкого: методики и проблемы. Исследования и практика в медицине. 2020;7(3):51–62. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-3-5>, EDN: HDJHTV
- Liang W, Guan W, Chen R, Wang W, Li J, Xu K, et al. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. Lancet Oncol. 2020 Mar;21(3):335–337. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30096-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30096-6)
- Dasanu CA, Sethi N, Ahmed N. Immune alterations and emerging immunotherapeutic approaches in lung cancer. Expert Opin Biol Ther. 2012 Jul;12(7):923–937. <https://doi.org/10.1517/14712598.2012.685715>
- Desai AD, Lavelle M, Boursiquot BC, Wan EY. Long-term complications of COVID-19. Am J Physiol Cell Physiol. 2022 Jan 1;322(1):C1–C11. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00375.2021>
- Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan MV, McGroder C, Stevens JS, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. Nat Med. 2021 Apr;27(4):601–615. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>
- Han X, Fan Y, Alwalid O, Li N, Jia X, Yuan M, et al. Six-month Follow-up Chest CT Findings after Severe COVID-19 Pneumonia. Radiology. 2021 Apr;299(1):E177–E186. <https://doi.org/10.1148/radiol.2021203153>

13. Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, van Doremalen N, Pérez-Pérez L, Schulz J, et al. Respiratory disease in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *Nature*. 2020 Sep;585(7824):268–272. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2324-7>
14. Shan C, Yao YF, Yang XL, Zhou YW, Gao G, Peng Y, et al. Infection with novel coronavirus (SARS-CoV-2) causes pneumonia in Rhesus macaques. *Cell Res*. 2020 Aug;30(8):670–677. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0364-z>
15. Diem K, Fauler M, Fois G, Hellmann A, Winokurow N, Schumacher S, et al. Mechanical stretch activates piezo1 in caveolae of alveolar type I cells to trigger ATP release and paracrine stimulation of surfactant secretion from alveolar type II cells. *FASEB J*. 2020 Sep;34(9):12785–12804. <https://doi.org/10.1096/fj.202000613RRR>
16. Wu ML, Liu FL, Sun J, Li X, Qin JR, Yan QH, et al. Combinational benefit of antihistamines and remdesivir for reducing SARS-CoV-2 replication and alleviating inflammation-induced lung injury in mice. *Zool Res*. 2022 May 18;43(3):457–468. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2021.469>
17. Nguyen PL, Cho J. Pathophysiological Roles of Histamine Receptors in Cancer Progression: Implications and Perspectives as Potential Molecular Targets. *Biomolecules*. 2021 Aug 18;11(8):1232. <https://doi.org/10.3390/biom11081232>
18. Fabre A, Marchal-Sommé J, Marchand-Adam S, Quesnel C, Borie R, Dehoux M, et al. Modulation of bleomycin-induced lung fibrosis by serotonin receptor antagonists in mice. *Eur Respir J*. 2008 Aug;32(2):426–436. <https://doi.org/10.1183/09031936.00126907>
19. Balakrishna P, George S, Hatoum H, Mukherjee S. Serotonin Pathway in Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 28;22(3):1268. <https://doi.org/10.3390/ijms22031268>
20. Renz BW, Takahashi R, Tanaka T, Macchini M, Hayakawa Y, Dantes Z, et al. β 2 Adrenergic-Neurotrophin Feedforward Loop Promotes Pancreatic Cancer. *Cancer Cell*. 2018 Jan 8;33(1):75–90.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.11.007>
21. Hondermarck H, Jobling P. The Sympathetic Nervous System Drives Tumor Angiogenesis. *Trends Cancer*. 2018 Feb;4(2):93–94. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2017.11.008>
22. Jiang SH, Hu LP, Wang X, Li J, Zhang ZG. Neurotransmitters: emerging targets in cancer. *Oncogene*. 2020 Jan;39(3):503–515. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-1006-0>
23. Dhont S, Derom E, Van Braeckel E, Depuydt P, Lambrecht BN. The pathophysiology of “happy” hypoxemia in COVID-19. *Respir Res*. 2020 Jul 28;21(1):198. <https://doi.org/10.1186/s12931-020-01462-5>
24. Limanaqi F, Zecchini S, Dino B, Strizzi S, Cappelletti G, Utyro O, et al. Dopamine Reduces SARS-CoV-2 Replication *In Vitro* through Downregulation of D2 Receptors and Upregulation of Type-I Interferons. *Cells*. 2022 May 19;11(10):1691. <https://doi.org/10.3390/cells11101691>
25. Boilly B, Faulkner S, Jobling P, Hondermarck H. Nerve Dependence: From Regeneration to Cancer. *Cancer Cell*. 2017 Mar 13;31(3):342–354. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.02.005>
26. Sarkar C, Chakroborty D, Basu S. Neurotransmitters as regulators of tumor angiogenesis and immunity: the role of catecholamines. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2013 Mar;8(1):7–14. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9395-7>
27. Кульченко Н. Г., Дружинина Н. К., Мяндина Г. И. Мужское бесплодие в эпоху коронавирусной инфекции SARS-CoV-2. Исследования и практика в медицине. 2022;9(4):123–133. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-4-12>
28. Stoyanov E, Uddin M, Mankuta D, Dubinett SM, Levi-Schaffer F. Mast cells and histamine enhance the proliferation of non-small cell lung cancer cells. *Lung Cancer*. 2012 Jan;75(1):38–44. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.05.029>
29. Massari NA, Nicoud MB, Medina VA. Histamine receptors and cancer pharmacology: an update. *Br J Pharmacol*. 2020 Feb;177(3):516–538. <https://doi.org/10.1111/bph.14535>
30. Liu Y, Zhang H, Wang Z, Wu P, Gong W. 5-Hydroxytryptamine_{1a} receptors on tumour cells induce immune evasion in lung adenocarcinoma patients with depression via autophagy/pSTAT3. *Eur J Cancer*. 2019 Jun;114:8–24. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.03.017>
31. Petrić M, Perković D, Božić I, Marasović Krstulović D, Martinović Kaliterna D. The Levels of Serum Serotonin Can Be Related to Skin and Pulmonary Manifestations of Systemic Sclerosis. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Jan 21;58(2):161. <https://doi.org/10.3390/medicina58020161>
32. Janssen W, Schymura Y, Novoyatleva T, Kojonazarov B, Boehm M, Wietelmann A, et al. 5-HT_{2B} receptor antagonists inhibit fibrosis and protect from RV heart failure. *Biomed Res Int*. 2015;2015:438403. <https://doi.org/10.1155/2015/438403>
33. Löfdahl A, Tornling G, Wigén J, Larsson-Callerfelt AK, Wengléen C, Westergren-Thorsson G. Pathological Insight into 5-HT_{2B} Receptor Activation in Fibrosing Interstitial Lung Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020 Dec 28;22(1):225. <https://doi.org/10.3390/ijms22010225>

34. Oskotsky T T, Maric I, Tang A, Oskotsky B, Wong RJ, Aghaeepour N, et al. Mortality Risk Among Patients With COVID-19 Prescribed Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Antidepressants. JAMA Netw Open. 2021 Nov 1;4(11):e2133090. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.33090>
35. Azuma K, Xiang H, Tagami T, Kasajima R, Kato Y, Karakawa S, et al. Clinical significance of plasma-free amino acids and tryptophan metabolites in patients with non-small cell lung cancer receiving PD-1 inhibitor: a pilot cohort study for developing a prognostic multivariate model. J Immunother Cancer. 2022 May;10(5):e004420. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-004420>
36. Nataf S, Pays L. Molecular Insights into SARS-CoV2-Induced Alterations of the Gut/Brain Axis. Int J Mol Sci. 2021 Sep 28;22(19):10440. <https://doi.org/10.3390/ijms221910440>

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, ResearcherID: U-2241-2017, Scopus Author ID: 55994103100

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: <https://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, ResearcherID: Y-1491-2018, Scopus Author ID: 55890047700

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

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: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989

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

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: <https://orcid.org/0000-0002-2674-9832>, SPIN: 2168-8737, AuthorID: 558241

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

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

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

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

Ушакова Наталья Дмитриевна – д.м.н., профессор, врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0068-0881>, SPIN: 9715-2250, AuthorID: 571594

Участие авторов:

Кит О. И. – научное руководство исследования, итоговый анализ научной работы;
 Франциянц Е. М. – научное руководство, концепция исследования, анализ материала, написание исходного текста, итоговые выводы;
 Харагезов Д. А. – ведение больных, хирургические этапы лечения, критический анализ материала;
 Бандовкина В. А. – подготовка и редактирование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания;
 Черярина Н. Д. – статистический анализ полученных результатов, редактирование рукописи;
 Погорелова Ю. А. – проведение ИФА исследований, анализ данных;
 Лазутин Ю. Н. – анализ клинических данных больных;
 Милакин А. Г. – ведение больных, обзор публикаций, техническое редактирование статьи;
 Лейман И. А. – ведение больных, критический анализ данных;
 Статешный О. Н. – ведение больных, критический анализ данных;
 Ушакова Н. Д. – ведение больных, редактирование рукописи.
 Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

ПОКАЗАТЕЛИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ПАЦИЕНТОК С ДИАГНОЗОМ «РАК ШЕЙКИ МАТКИ» ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ РАДИКАЛЬНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Н. Н. Попова^{1,2✉}, И. А. Горошинская¹, А. И. Шихлярова¹, Д. А. Розенко¹, А. П. Меньшенина¹,
А. Ю. Арджа^{1,2}, Н. В. Нетывченко¹, С. А. Чекмезова¹

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

2. РостГМУ, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ natalyaanest@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Проанализировать состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у пациенток с диагнозом «рак шейки матки» (РШМ) ранних стадий до и после проведения радикального хирургического лечения.

Пациенты и методы. Исследовали уровень диеновых конъюгатов, малонового диальдегида (МДА), супероксид-дисмутазы (СОД), каталазы, глутатиона, глутатионзависимых ферментов, содержание витамина А и Е у 74 пациенток в возрастной категории до 45 лет (48 больных, находившихся на этапе хирургического лечения с диагнозом РШМ в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в период 2017–2020 гг. и 26 здоровых женщин).

Результаты. У больных РШМ на начальных стадиях заболевания выявлены существенные изменения в интенсификации реакций перекисного окисления липидов и в антиоксидантной системе: повышенный уровень МДА и диеновых конъюгатов, исходное снижение активности СОД и каталазы, низкие показатели витамина Е и А. Данные результаты дополняют представления о процессах, происходящих в организме онкологического больного на начальном этапе формирования опухоли, которая ещё не имеет явного клинического проявления. После тотального удаления яичников большинство показателей, характеризующих ферментативное звено антиоксидантной системы, проявляют тенденцию к нормализации, в то время как нарушение содержания витаминов Е и А (относящихся к неферментативному звену антиоксидантной системы) усугубляется.

Заключение. Десинхронизацию процессов свободнорадикального окисления с разнонаправленными изменениями процессов окисления и антиокисления, у больных РШМ ранних стадий на этапе радикального хирургического лечения следует рассматривать с позиции гормоноредуцирующей операции и связанного с ней сложного комплекса изменений в органах и системах женщин с онкологической патологией.

Ключевые слова: рак шейки матки, перекисное окисление липидов, каталаза, малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, глутатион

Для цитирования: Попова Н. Н., Горошинская И. А., Шихлярова А. И., Розенко Д. А., Меньшенина А. П., Арджа А. Ю., Нетывченко Н. В., Чекмезова С. А. Показатели свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у пациенток с диагнозом «рак шейки матки» до и после проведения радикального хирургического лечения. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(2): 28-38. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-3>, <https://elibrary.ru/lqhnvh>

Для корреспонденции: Попова Наталья Николаевна – врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ассистент кафедры онкологии, ФГБУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: natalyaanest@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3891-863X>
SPIN: 5071-5970, AuthorID: 854895
Scopus Author ID: 57215858399

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (выписка из протокола заседания № 5 от 14.09.2019 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования.

Финансирование: работа проведена при поддержке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 07.10.2022; одобрена после рецензирования 20.03.2023; принята к публикации 05.06.2023.

© Попова Н. Н., Горошинская И. А., Шихлярова А. И., Розенко Д. А., Меньшенина А. П., Арджа А. Ю., Нетывченко Н. В., Чекмезова С. А., 2023

PARAMETERS OF FREE RADICAL OXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN PATIENTS WITH CERVICAL CANCER BEFORE AND AFTER RADICAL SURGICAL TREATMENT

N. N. Popova^{1,✉}, I. A. Goroshinskaya¹, A. I. Shikhlyarova¹, D. A. Rozenko¹, A. P. Menshenina¹, A. Yu. Ardzha^{1,2},
N. V. Netyvchenko¹, S. A. Chekmezova¹

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

2. Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ natalyaanest@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To analyse free radical oxidation and antioxidant defense in patients diagnosed with early cervical cancer (CC) before and after radical surgical treatment.

Patients and methods. Levels of diene conjugates, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione, glutathione-dependent enzymes, vitamins A and E were determined in 74 women under the age of 45 (48 patients those who were at the stage of surgical treatment with a diagnosis of CC at the National Medical Research Center of Oncology in the period 2017–2020 and 26 healthy women).

Results. Patients with early CC showed significant changes in the intensity of lipid peroxidation processes and in antioxidant defense: elevate levels of MDA and diene conjugates, initial decline in the activity of SOD and catalase, low levels of vitamins A and E. These results complete the understanding of the processes occurring in the body of an oncological patient at the initial stage of tumor formation, which does not yet have an obvious clinical manifestation. After total removal of the ovaries, most of the indicators characterizing the enzymatic link of the antioxidant system tend to normalize, while the violation of the content of vitamins E and A (related to the non-enzymatic link of the antioxidant system) worsens.

Conclusions. Desynchronization of free radical oxidation processes with multidirectional changes in oxidation and antioxidation in patients with early CC at the stage of radical surgical treatment should be considered from the position of hormone-reducing surgery and a resulting complex of changes in the organs and systems of women with cancer.

Keywords: cervical cancer, lipid peroxidation, catalase, malondialdehyde, superoxide dismutase, glutathione

For citation: Popova N. N., Goroshinskaya I. A., Shikhlyarova A. I., Rozenko D. A., Menshenina A. P., Ardzha A. Yu., Netyvchenko N. V., Chekmezova S. A. Parameters of free radical oxidation and antioxidant defense in patients with cervical cancer before and after radical surgical treatment. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(2): 28–38. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-3>, <https://elibrary.ru/lqhnvh>

For correspondence: Natalia N. Popova – Cand. Sci. (Med.), anesthesiologist and resuscitator at the department of anesthesiology and intensive care, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation; oncology department assistant, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: natalyaanest@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3891-863X>

SPIN: 5071-5970, AuthorID: 854895

Scopus Author ID: 57215858399

Compliance with ethical standards: the ethical principles presented by the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013 were observed in the study. The study was approved by the ethics committee of the National Medical Research Centre for Oncology (extract from the protocol of the meeting No. 5 dated 09/14/2019). Informed consent was received from all participants of the study.

Funding: the work was carried out with the support of the National Medical Research Centre for Oncology.

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

The article was submitted 07.10.2022; approved after reviewing 20.03.2023; accepted for publication 05.06.2023.

АКТУАЛЬНОСТЬ

В России заболеваемость раком шейки матки (РШМ) занимает 2-е место (5,3 %) в структуре онкогенитальной патологии после рака тела матки (8,0 %) и 5–6-е в структуре всей онкопатологии женского населения [1–3]. Настораживает тенденция к увеличению частоты развития РШМ у женщин репродуктивного возраста [4; 5]. Наиболее высокие показатели смертности от данной патологии фиксируются в возрастной группе 15–39 лет (21,6 %) [6]. Увеличение показателей заболеваемости и смертности среди молодых женщин с диагнозом РШМ [7] способствует активному поиску диагностических и лечебных направлений с эффективной интеграцией новых научных изысканий. Современные тенденции хирургического лечения онкогинекологических больных направлены на проведение органосохраняющих операций. Согласно практическим рекомендациям по лечению РШМ локализованных стадий IA, IB1 и IIA1-2 от 2021 г., пациенткам показано выполнение модифицированной экстирпации матки (классификация по River III). Женщинам с диагнозом РШМ до 45 лет возможно сохранение функции яичников [8]. Однако, в некоторых случаях, при незаинтересованности пациенток в сохранении репродуктивной функции, а также при соблюдении принципов радикального лечения применяется тотальное удаление пораженного органа и наиболее вероятных метастатических ниш. Таким образом, риск имплантационного метастазирования при РШМ в яичники, возраст больной и сопутствующая гормональная патология определяют объем операции – экстирпация матки с придатками и расширенная лимфаденэктомия [9]. Вынужденная и необратимая супрессия яичников приводит к формированию патологического комплекса нарушений в организме больной, что обусловлено не только канцеролитическим влиянием опухолевого процесса, но и гипозестрогенией с развернутой метаболической картиной искусственно созданного менопаузального состояния [10]. Постовариоэктомический синдром (ПОЭС) проявляется в виде нарушений гомеостаза, процессов метаболизма, нейроэндокринной регуляции и психоэмоционального статуса, а также характеризуется изменениями в состоянии про- и антиоксидантных систем [9]. Кроме того, известно, что рост и развитие злокачественной опухоли, а также эффект и негативные проявления противоопухолевой терапии во многом зависят

от системных нарушений в механизмах регуляции окислительно-восстановительных процессов. При формировании злокачественной трансформации и прогрессировании процесса, общепризнанными являются патогенетически значимые изменения функциональных систем организма онкологического больного. Имеются результаты исследований, где определена роль оксидативного стресса и нарушения баланса окислительно-восстановительных процессов при опухолевом росте [11]. Доказанным является факт активации процессов свободнорадикального окисления (СРО) с генерацией активированных кислородных метаболитов в регуляции клеточных программ [12]. Существуют исследования, которые отображают существенные изменения уровня основных антиоксидантных ферментов и витаминов А и Е у больных с ВПЧ (вирус папилломы человека) – ассоциированных форм РШМ [13].

Для улучшения диагностики и выявления закономерностей развития РШМ необходимо дальнейшее изучение патофизиологических изменений, происходящих в организме женщин репродуктивного возраста на ранних стадиях процесса и вследствие проведения противоопухолевого лечения. Результаты исследований отечественных и зарубежных авторов свидетельствуют о том, что в процессе формирования и прогрессирования злокачественной опухоли наблюдается повышенная активность СРО с истощением факторов антиоксидантной системы организма онкологического больного [14]. Ряд основных показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность антиоксидантной защиты крови онкологического больного являются информативными в оценке степени распространенности и прогрессировании опухолевого процесса. Многолетние экспериментально-клинические исследования, проводимые на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, позволяют охарактеризовать состояние окислительно-восстановительных реакций при большинстве изученных онкогинекологических процессах, что, несомненно, приобретает практическое значение [15; 16]. Так, основой способа лечения больных с первично нерезектабельной формой РШМ, включающего сочетание неоадьювантной химиотерапии и процедуры плазмафереза стали выявленные нарушения среди показателей свободнорадикальных процессов при эндогенной интоксикации у онкологических больных на этапах терапии [17]. В то же время, остаются открытыми вопросы о динамике показателей ПОЛ и антиок-

сидантной системы у больных РШМ ранних стадий, что может быть прогностически актуальным в оценке прогрессирования заболевания и эффективности проводимого противоопухолевого лечения.

Цель исследования: провести сравнительный анализ показателей активности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в крови пациенток репродуктивного возраста с диагнозом «рак шейки матки» ранних стадий до и после проведения радикального хирургического лечения.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследованы показатели крови, характеризующие состояние активности окислительных процессов и антиоксидантных ферментов у 74 пациенток репродуктивного возраста (до 45 лет). Из них, основная группа – 48 пациенток с диагнозом РШМ, госпитализированных для прохождения комплексного лечения в отделение онкогинекологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, и группа сравнения из 26 женщин без онкопатологии. Критерием включения в группы данного исследования являлось отсутствие аутоиммунной и эндокринной патологии, ожирения, обострения хронической патологии, а также постоянного приёма лекарственных препаратов. Исследование проведено с одобрения Этического комитета учреждения и при добровольном согласии пациентов на использование биологического материала с обработкой их персональных данных для научных целей. Основная группа представлена пациентками с диагнозом РШМ, которым первым этапом противоопухолевого лечения была выполнена модифицированная экстирпация матки с придатками (классификация по River III). По данным клинического обследования распределение стадии онкологического заболевания (классификация TNM, 2019) представлено: $T_{1a2}N_0M_0$ – у 5 больных (10,4 %), $T_{1b1}N_0M_0$ – у 7 больных (14,7 %), $T_{1b2}N_0M_0$ – у 36 больных (74,9 %). Морфологическая характеристика опухоли: плоскоклеточный рак выявлен у 40 больных (83,2 %), аденокарцинома диагностирована – у 8 больных (16,8 %). Умеренная степень дифференцировки выявлена у 27 больных (56,2 %). 97,4 % пациенток имели позитивный ВПЧ тест высокого канцерогенного риска. Все пациентки группы, в раннем послеоперационном периоде, в той или иной степени имели признаки проявления

ПОЭС. Возрастная медиана в основной группе составила 37 лет, средний возраст – $41,6 \pm 1,7$, диапазон – 26–45 лет. Индекс массы тела (ИМТ) в группе составил $23,8 \pm 0,16$ кг/м². Этапы исследования: до хирургического лечения и 2-е сутки послеоперационного периода. Группу сравнения составили 26 относительно здоровых женщин, сотрудниц центра, сопоставимых с группой больных РШМ по возрасту и ИМТ. Возрастная медиана – 39 лет, средний возраст $43,2 \pm 1,5$, диапазон 28–45 лет. ИМТ в группе без онкопатологии составил $23,3 \pm 0,4$ кг/м².

Интенсивность ПОЛ в эритроцитах и плазме крови определяли по показателям диеновых конъюгатов [18] и малонового диальдегида (МДА) [19]. Для суждения о состоянии антиоксидантной системы определяли активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионзависимых ферментов, уровень глутатиона [20], содержание витамина А и Е по методике Черняускене Р. Ч. [21]. Для определения данных показателей забор венозной крови у пациенток осуществляли из локтевой вены, в утреннее время, натощак.

Статистические результаты обработаны с использованием программ Statistica 10 по критерию Стьюдента для двух независимых выборок и непараметрическому критерию Вилкоксона-Манна-Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Проверку выборок на соответствие нормальному распределению проводили по критерию Колмогорова-Смирнова и W-критерию Шапиро-Уилка. Поскольку в большинстве случаев распределение было близко к нормальному, результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего, медиана (Me), которая во всех группах практически не отличалась от M , и интерквартильный разброс в виде подсчета нижнего и верхнего квартилей: (Q_{25} и Q_{75}).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее информативными интегральными показателями для оценки интенсивности процессов ПОЛ в крови пациентов является содержание первичных продуктов диеновых конъюгатов и малонового диальдегида (табл. 1).

Статус антиоксидантной защиты у больных РШМ на хирургическом этапе лечения мы определяли по нескольким показателям: активность ферментов каталазы и супероксиддисмутазы, уровень восстановленного глутатиона и глутатионзависимых

ферментов (глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза, глутатионредуктаза). Данные представлены в таблице 2.

Определенный интерес в нашем исследовании представлял анализ уровня витаминов А и Е в крови больных РШМ до проведения противоопухолевого лечения и после операции. Полученные данные представлены в таблице 3.

ОБСУЖДЕНИЕ

Малоновый диальдегид (МДА) представляет собой вторичный молекулярный продукт ПОЛ, образующийся в организме вследствие реакций АФК и полиненасыщенных жирных кислот. Согласно современным представлениям, МДА рассматривается, как биологический маркер изменений в системе свободнорадикального окисления липидов [22]. При изучении исходной активности процессов ПОЛ у пациенток с диагнозом РШМ в сравнении с показателями здоровых женщин было зафиксировано значимое увеличение показателей МДА, в плазме крови на 75,9 % ($p = 0,002368$), в эритроцитах на 59,7 % ($p = 0,0108$), результаты отображены в таблице 1.

Согласно данным нашего исследования установлено, что у больных РШМ, уровень первичных продуктов ПОЛ, к которым относятся диеновые

конъюгаты, был значительно увеличен до проведения хирургического этапа противоопухолевого лечения. Данный показатель имел значимые различия с группой без онкопатологии. Так, в плазме крови показатель превышал значения в 4,4 раза ($p = 0,000011$), а в эритроцитах в среднем в 6,6 раз ($p = 0,000038$). Однако в группе больных РШМ выявлен значительный разброс в уровне диеновых конъюгатов в эритроцитах, в 42 % случаев изменений зафиксировано не было, при этом, в 58 % случаев наблюдали 14-кратное увеличение показателей. После операции уровень диеновых конъюгатов, в группе больных РШМ имел снижение в 5,3 раза относительно исходного уровня в эритроцитах, в плазме, также фиксировали снижение относительно группы здоровых и оставаясь выше нормы в 3,6 раза ($p = 0,0033$) (табл. 1).

Известно, что основная протективная роль при воздействии окислительного стресса принадлежит неферментативному звену антиоксидантов (глутатион, витамины А, Е), так и ферментативным антиоксидантам (супероксиддисмутаза (СОД), глутатионпероксидаза, каталаза) [23]. Результаты функционирования неферментативных и ферментативных антиоксидантных систем играют важную роль в регуляции канцерогенеза, в том числе, в процессах, стимулирующих прогрессию опухоли,

Таблица 1. Показатели ПОЛ в плазме и эритроцитах крови здоровых женщин и больных РШМ до и после операции

Показатель $M \pm m$ Me (Q25; Q75)	Группа исследования		
	Условно здоровые женщины, $n = 26$	Больные РШМ до лечения, $n = 48$	Больные РШМ после операции, $n = 48$
МДА плазмы (нМ/мл)	$7,075 \pm 0,638$ 6,937 (4,9; 8,4)	$12,476 \pm 1,21$ 11,1 (4,245; 19,85) $p = 0,002368$	$14,275 \pm 1,424$ 14,1 (6,51; 19,4) $p = 0,000567$
МДА в 1 % гемолизате эритроцитов (нМ/мл)	$4,539 \pm 0,363$ 4,54 (3,1; 5,651)	$7,249 \pm 0,734$ 5,5 (4,191; 7,25) $p = 0,010766$	$7,564 \pm 0,801$ 6,186 (4,409; 7,767) $p = 0,008801$
Диеновые конъюгаты плазмы (ед/мл)	$0,296 \pm 0,041$ 0,21 (0,19; 0,37)	$1,313 \pm 0,156$ 0,9 (0,43; 2,29) $p = 0,000011$	$1,055 \pm 0,182$ 0,71 (0,355; 1,055) $p = 0,003255$
Диеновые конъюгаты в 20 % гемолизате эритроцитов (ед/мл)	$0,18 \pm 0,028$ 0,12 (0,09; 0,22)	$1,192 \pm 0,168$ 0,76 (0,14; 2,15) $p = 0,000038$ 1) $0,171 \pm 0,03$ (20) 0,14 (0,1; 0,19) 2) $1,921 \pm 0,192$ (28) 1,9 (1,035; 2,7) $p = 0,000000$	$0,229 \pm 0,04$ 0,14 (0,1; 0,24) $p^1 = 0,000000$

Примечание: уровни статистической значимости отличий от показателей в группе условно здоровых женщин – p , от показателей больных РШМ до операции – p^1 .

а также формирование ее резистентности к проводимой терапии [14].

Супероксиддисмутаза относится к ферментам первой линии защиты антиоксидантной системы. Супероксидные радикалы непосредственно активируют реакции метаболизма ксенобиотиков и синтез простагландинов, участвуют в экспрессии некоторых генов и клеточной пролиферации. В ряде исследований показано, что СОД кроме антиоксидантной роли осуществляет регуляторную функцию, являясь при этом основным звеном обеспечения постоянной концентрации кислорода. Изменение супероксиддисмутазной активности, может стать причиной различных патологических процессов [24]. Так, снижение интенсивности ферментативных реакций приводит к недостаточной защите от активных форм кислородных метаболи-

тов. А повышение активности СОД способствует цитотоксическому действию перекиси водорода, образуемой в результате дисмутации кислорода [14]. В проведенном нами исследовании определено, что исходные значения СОД у больных РШМ в сравнении со значением в группе женщин без онкопатологии имели статистически значимые отличия. Активность СОД эритроцитов у больных РШМ была снижена на 30–31 % ($p = 0,000000$) как до лечения, так и после операции в сравнении с группой «здоровых». При исследовании в плазме суммарной активности СОД было выявлено снижение у больных РШМ после операции на 26,1–34,6 % ($p < 0,001$) по сравнению со здоровыми женщинами и показателем при РШМ до лечения (табл. 2).

Каталаза является основным компонентом первой линии антиоксидантной защиты, которая,

Таблица 2. Показатели ферментативного звена антиоксидантной защиты в крови здоровых женщин и онкологических больных РШМ до начала лечения и после операции

Показатель $M \pm m$ Me (Q25; Q75)	Группа исследования		
	Условно здоровые женщины, $n = 26$	Больные РШМ до лечения, $n = 48$	Больные РШМ после операции, $n = 48$
СОД эритроцитов (ед. актив./мл)	110,79 $\pm$ 4,29 113,95 (101,1; 125,9)	76,05 $\pm$ 3,12 72,16 (63; 89,8) $p = 0,000000$	77,54 $\pm$ 3,57 80,5 (56,6; 95,15) $p = 0,000000$
СОД плазмы (ед. актив./мл)	0,023 $\pm$ 0,002 0,022 (0,014; 0,032)	0,026 $\pm$ 0,0018 0,026 (0,015; 0,033)	0,017 $\pm$ 0,0007 0,016 (0,012; 0,02) $p = 0,000459$ $p^1 = 0,000005$
Каталаза эритроцитов (мкМ H_2O_2 /мин $\times$ мгHb) Catalase in erythrocytes (μ M H_2O_2 /min $\times$ mg Hb)	2673,8 $\pm$ 60,3 2720,5 (2500; 2846,9)	2093,8 $\pm$ 131,2 2100 (1965,6; 2491) $p = 0,000069$	2464,6 $\pm$ 129 2537,3 (2034,8; 2689) $p^1 = 0,052306$
Каталаза плазмы (мкМ H_2O_2 /мин)	52,02 $\pm$ 2,91 50,95 (42,01; 59,5)	58,11 $\pm$ 3,73 57,49 (46,25; 71,4)	69,62 $\pm$ 6,38 66,47 (52,22; 80,5) $p = 0,010340$
Восстановленный глутатион (мкМ/мг Hb)	35,81 $\pm$ 1,81 34,97 (27,96; 43,82)	32,67 $\pm$ 2,88 32,31 (23,61; 38,05)	31,01 $\pm$ 2,42 29,86 (25,51; 40,05)
Глутатионредуктаза (МЕ/мг гемоглобина)	7,348 $\pm$ 0,94 7,095 (3,47; 10,97)	6,066 $\pm$ 0,758 5,28 (3,49; 7,69)	7,239 $\pm$ 1,053 7,385 (2,385; 10,23)
Глутатионпероксидаза (МЕ/мг гемоглобина)	232,9 $\pm$ 23,7 218,6 (118,7; 344,4)	471,9 $\pm$ 42,9 447,7 (317,1; 624,7) $p = 0,000005$	380,5 $\pm$ 31,7 405,9 (307,8; 469,1) $p = 0,000440$ $p^1 = 0,095117$
Глутатионтрансфераза (МЕ/мг гемоглобина)	69,97 $\pm$ 5,29 64,02 (49,03; 77,18)	61,35 $\pm$ 3,88 59,2 (52,74; 68,45)	61,15 $\pm$ 4,47 58,95 (54,18; 70,42)

Примечание: уровни статистической значимости отличий от показателей в группе условно здоровых женщин – p , от показателей больных РШМ до операции – p^1 .

будучи ферментом, сопряженным с супероксид-дисмутазой осуществляет разложение перекиси водорода, образуемой при дисмутации супероксидного радикала. Максимальное скопление фермента зарегистрировано в эритроцитах. В интерстициальной жидкости организма каталаза не имеет долгосрочной активности, что объясняется результатом действия протеолитических ферментов. Существует мнение, что вне эритроцитов фермент не оказывает явной защитной функции. При этом, ряд патологических состояний с манифестацией воспалительного процесса характеризуются повышенным содержанием каталазы, что провоцирует снижение интенсивности процессов окисления функционально важных структур [12]. В нашем

исследовании активность каталазы была проанализирована у здоровых пациентов и у больных РШМ. Так, у больных РШМ нами выявлено исходное снижение активности каталазы в эритроцитах на 21,9 % по сравнению с группой здоровых женщин ($p < 0,001$) и увеличением показателей, а в плазме в раннем послеоперационном периоде на 24,4 % ($p = 0,01$) (табл. 2). Это позволяет предположить выход незначительного количества фермента из эритроцитов в плазму крови из-за возможной дестабилизации мембран клеток крови в результате операционного воздействия.

Изучение показателей глутатиона и глутатион-зависимых ферментов в крови у больных РШМ позволяет определить активность и этой линии

Таблица 3. Содержание витаминов Е и А в плазме и эритроцитах крови здоровых женщин и онкологических больных РШМ до начала лечения и после операции

Показатель $M \pm m$ Me (Q25; Q75)	Группа исследования		
	Условно здоровые женщины, $n = 26$	Больные РШМ до лечения, $n = 48$	Больные РШМ после операции, $n = 48$
Витамин Е (эритроциты) (ед./мл)	$0,177 \pm 0,010$ $0,15 (0,14; 0,19)$	$0,266 \pm 0,022$ $0,22 (0,17; 0,37)$ $p = 0,002497$	$0,462 \pm 0,037$ $0,470 (0,20; 0,73)$ $p = 0,000000$ $p^1 = 0,000010$
Витамин Е (плазма) (ед./мл)	$0,474 \pm 0,011$ $0,465 (0,44; 0,54)$	$0,274 \pm 0,019$ $0,27 (0,16; 0,36)$ $p = 0,000000$	$0,346 \pm 0,034$ $0,34 (0,22; 0,47)$ $p = 0,003036$ $p^1 = 0,057561$
Витамин А (эритроциты) (ед./мл)	$0,212 \pm 0,010$ $0,20 (0,19; 0,26)$	$0,219 \pm 0,022$ $0,13 (0,12; 0,40)$	$0,109 \pm 0,010$ $0,115 (0,07; 0,15)$ $p = 0,000000$ $p^1 = 0,000026$
Витамин А (плазма) (ед./мл)	$0,759 \pm 0,022$ $0,78 (0,62; 0,87)$	$0,252 \pm 0,023$ $0,210 (0,125; 0,37)$ $p = 0,000000$	$0,104 \pm 0,020$ $0,075 (0,05; 0,1)$ $p = 0,000000$ $p^1 = 0,000007$
Коэффициент Е/А (эритроциты)	$0,978 \pm 0,122$ $0,70 (0,538; 0,95)$	$1,461 \pm 0,131$ $1,50 (0,405; 1,923)$ $p = 0,012006$	$4,903 \pm 0,519$ $3,286 (2,9; 6,635)$ $p = 0,000000$ $p^1 = 0,000000$
Коэффициент Е/А (плазма)	$0,635 \pm 0,017$ $0,64 (0,59; 0,71)$	$6,013 \pm 0,807$ $4,00 (3,00; 8,00)$ $p = 0,000000$	$4,915 \pm 0,390$ $5,00 (3,30; 5,80)$ $p = 0,000000$
Коэффициент эритроциты/плазма вит А	$0,383 \pm 0,0285$ $0,333 (0,295; 0,422)$	$0,946 \pm 0,074$ $0,881 (0,515; 1,375)$ $p = 0,000000$	$1,382 \pm 0,097$ $1,353 (1,00; 1,851)$ $p = 0,000000$ $p^1 = 0,098750$
Коэффициент эритроциты/плазма вит Е	$0,284 \pm 0,014$ $0,321 (0,227; 0,333)$	$1,139 \pm 0,107$ $1,00 (0,333; 2,00)$ $p = 0,000000$	$1,496 \pm 0,097$ $1,7958 (1,00; 2,00)$ $p = 0,000000$ $p^1 = 0,016233$

Примечание: уровни статистической значимости отличий от показателей в группе условно здоровых женщин – p , от показателей больных РШМ до операции – p^1 .

антиоксидантной системы, с возможным прогнозом течения онкологического заболевания. Будучи активным звеном в механизме клеточной системы антиоксидантной защиты, глутатион рассматривают в качестве одного из основных компонентов в патофизиологии рака [12]. Восстановленная форма глутатиона в виде трипептида – γ -глутамил-L-цистеинилглицина – присутствует в клетках разного типа. В данном соединении наличие сульфгидрильной группы и γ -глутамильной связи, являясь донором электронов, в совокупности, определяет функции глутатиона в качестве восстановителя нуклеиновых кислот, молекул белков и липидов. Данное свойство химического соединения позволяет значительно снизить уровень АФК в неферментативных и ферментативных реакциях. Внутриклеточный дисбаланс восстановленного и окисленного глутатиона наблюдается при ряде патологий, в том числе при развитии злокачественного процесса [25]. Полученные нами данные по содержанию глутатиона в изучаемых группах статистических различий не выявили, хотя и просматривался незначительно более низкий его уровень у больных РШМ до и после операции. При сравнительном анализе глутатионзависимых ферментов были выявлены определенные изменения. Так, активность глутатион-пероксидазы (ГПО) у больных РШМ значительно превышала уровень в группе женщин без онкопатологии на 102,9 % ($p = 0,0002$). После операции тенденция не изменилась, показатели ГПО у больных РШМ остались повышенными на 63,4 % ($p = 0,003$) относительно здоровых женщин. Исследование динамики показателей глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы, значимых изменений в группе больных РШМ по сравнению с группой здоровых не выявило (табл. 2).

Таким образом, в группе больных РШМ до начала лечения наблюдалось более чем двукратное увеличение активности ГПО на фоне статистически значимого снижения активности каталазы в эритроцитах, что свидетельствовало о переключении разложения перекиси водорода и органических гидропероксидов до нетоксичных метаболитов с каталазного пути на глутатионпероксидазный. После операции наблюдалось частичное восстановление соотношения между каталазой и ГПО, характерного для женщин без онкопатологии: коэффициент каталаза/ГПО в норме 11,5; у больных РШМ до операции 4,4; у больных РШМ после операции 6,5.

Следует учитывать, что глутатионзависимые ферменты выполняют антиоксидантную функцию

и являются триггерами в регуляции механизмов перекисного окисления. Справедливо отметить, что роль некоторых ферментов в формировании злокачественного процесса не однозначна. Органические гидроперекиси являясь медиаторами большинства физиологических процессов, активно участвуя в регулировании пролиферации и апоптоза клеток. Имеются публикации о роли фермента глутатион-пероксидазы с обнаружением его активации в клетках плоскоклеточного рака и при аденокарциноме легких [16].

Известно, что недостаток в организме витамина Е ведет к дестабилизации клеточных мембран, что приводит к распаду ненасыщенных жирных кислот, а также к нарушению их белкового состава. Другим, не менее эффективным антиоксидантом является витамин А, который с одной стороны взаимодействует со свободными радикалами, а с другой – обеспечивает постоянный уровень витамина Е, тем самым способствуя его антиоксидантному действию [14]. До начала противоопухолевого лечения в плазме крови больных РШМ исходные показатели витамина Е и А в сравнении с группой условно здоровых были снижены на 41,9 % и на 74,4 % ($p = 0,000000$). В эритроцитах содержание витамина Е было повышено на 50,3 % ($p = 0,0025$), а для витамина А значимых изменений не выявлено. В послеоперационном периоде в эритроцитах больных РШМ зафиксировали увеличение показателей витамина Е в 2,7 раза относительно женщин без патологии и в 1,8 раз относительно исходного уровня ($p = 0,000000$) при этом, наблюдалось снижение содержания витамина Е в плазме – на 27 % ($p = 0,0030$) относительно здоровых. Уровень витамина А был снижен как в эритроцитах в 1,9 раза, так и в плазме в 2,4 раза ($p = 0,000000$) относительно здоровых и в 2 и 2,4 раза относительно показателей до лечения ($p < 0,0001$). Согласно полученным результатам, которые в целом не противоречат данным литературы [26], содержание витамина Е у больных РШМ исходно снижено только в плазме крови. При этом, значения коэффициента соотношения витаминов Е и А (Е/А) у больных РШМ репродуктивного возраста до начала противоопухолевого лечения было статистически значимо повышено относительно показателей у здоровых женщин, с увеличением в эритроцитах в 1,6 раз ($p = 0,015$) и в 9,5 раз ($p = 0,011$) в плазме крови. Данные об изменении показателей коэффициента Е/А у онкогинекологических больных согласуются

ся с результатами ранее опубликованных данных. Так, в публикации Е. М. Франциянц (1995) показано увеличение в 2–5 раз коэффициента Е/А в клетках крови у больных с различной опухолевой локализацией в динамике проведения лучевой терапии. При проведении анализа результатов коэффициента эритроциты/плазма (соотношение уровня витаминов в эритроцитах к их содержанию в плазме) нами выявлен значимый рост данного коэффициента для обоих витаминов относительно значений у здоровых женщин, до хирургического вмешательства прирост коэффициента эритроциты/плазма для витамина А был 2,5 раза, для витамина Е в 4 раза ($p = 0,000000$). После проведения операции наблюдалась аналогичная картина – коэффициент соотношения витаминов Е и А у больных РШМ превышал в 5,3 раза в эритроцитах, а в плазме крови – в 7,7 раза относительно показателей у здоровых женщин. Коэффициент эритроциты/плазма у пациенток с диагнозом РШМ в послеоперационном периоде имел статистически значимое повышение. Прирост для витамина Е составил 5,1 раза, для витамина А – 3,8 раза ($p < 0,0001$). Данные изменения коэффициентов эритроциты/плазма для витаминов Е и А нами расценено, как проявление гиперполяризации мембран эритроцитов у онкологических пациенток с диагнозом РШМ. Согласно данным литературы, зафиксированное увеличение показателей коэффициентов эритроциты/плазма для витаминов А и Е было описано у больных РШМ при проведении химиотерапевтического воздействия с отсутствием явного клинического эффекта, что свидетельствовало о дестабилизации мембран эри-

троцитов у этой категории онкогинекологических больных по сравнению с выраженным противоопухолевым эффектом у больных РШМ [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования установили, что у больных РШМ на начальных стадиях заболевания выявлены существенные изменения в интенсивности процессов ПОЛ и в антиоксидантной системе. Нами установлено значимое увеличение уровня МДА и диеновых конъюгатов, снижение активности СОД и каталазы, при этом, повышенная исходная активность ГПО, а также низкие показатели витамина Е и А. Несомненно, данные результаты дополняют представления о процессах, происходящих в организме онкологического больного на начальном этапе формирования опухоли, которая ещё не имеет явного клинического проявления. После тотального удаления яичников большинство показателей, характеризующих ферментативное звено антиоксидантной системы, проявляют тенденцию к нормализации, в то время как нарушение содержания витаминов Е и А (относящихся к неферментативному звену антиоксидантной системы) усугубляется. Десинхронизацию процессов свободнорадикального окисления с разнонаправленными изменениями процессов окисления и антиокисления, у больных РШМ ранних стадий на этапе радикального хирургического лечения следует рассматривать с позиции гормонредуцирующей операции и связанного с ней сложного комплекса изменений в органах и системах женщин.

Список источников

1. Аксель Е. М., Виноградова Н. Н. Статистика злокачественных новообразований женских репродуктивных органов. Онкогинекология. 2018;3(27):64–78. https://doi.org/10.52313/22278710_2018_3_64, EDN: XZDJUD
2. Каприн А. Д., Новикова Е. Г., Трушина О. И., Грецова О. П. Скрининг рака шейки матки – нерешенные проблемы. Исследования и практика в медицине. 2015;2(1):36–41. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2015-2-1-36-41>, EDN: TOUJGB
3. Кит О. И., Попова Н. Н., Шихлярова А. И., Франциянц Е. М., Моисеенко Т. И., Меньшенина А. П. и др. Развитие посткастрационного синдрома и корректирующее действие ксенона в экспоненциальном дозовом режиме у пациенток молодого возраста с онкопатологией репродуктивных органов. Южно-Российский онкологический журнал/ South Russian Journal of Cancer. 2020;1(3):6–17. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-3-1>, EDN: DMUMOA
4. Бехтерева С. А., Доможирова А. С., Важенин А. В., Аксенова И. А. Полинеоплазии у больных раком шейки матки в Челябинской области России. Исследования и практика в медицине. 2018;5(4):8–17. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2018-5-4-1>, EDN: YQVQNN
5. Стуклов Н. И., Сушинская Т. В. Оценка эритроцитарных показателей периферической крови и активности гемостаза у больных раком шейки матки. Исследования и практика в медицине. 2016;3(1):17–23. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2016-3-1-2>, EDN: VRNQSJ

6. 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.
7. Сеньчукова М. А., Макарова Е. В., Шурыгина Е. И., Волченко Н. Н. Качественная и количественная характеристика разных типов опухолевых микрососудов в зависимости от гистологического типа рака шейки матки. Исследования и практика в медицине. 2020;7(4):36–50. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-4-4>, EDN: ULSXFP
8. Хохлова С. В., Коломиец Л. А., Кравец О. А., Морхов К. Ю., Нечушкина В. М., Тюляндина А. С. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака шейки матки. Злокачественные опухоли. 2021;11(3s2-1):197–217. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2021-11-3s2-13>, EDN: TLJDBM
9. Мазитова М. И., Мардиева Р. Р., Талипова И. Р., Антропова Е. Ю. Климактерический синдром. Клинико-эпидемиологический анализ. Российский вестник акушера-гинеколога. 2021;21(5):66–72. <https://doi.org/10.17116/rosakush20212105166>, EDN: IRLEHF
10. Сидоренко Ю. С., Кит О. И., Попова Н. Н., Арапова Ю. Ю., Шихлярова А. И., Моисеенко Т. И. и др. Роль ЦНС в ингибировании посткастрационного синдрома у больных раком шейки матки репродуктивного возраста на основе программируемых режимов ксенонтерапии. Вопросы онкологии. 2019;65(5):708–714. EDN: CGSWQU
11. Заикина Е. В., Аллилуев И. А., Лазутин Ю. Н., Пржедецкий Ю. В., Шатова Ю. С., Енгигбарян М. А. и др. Исследование антиоксидантного статуса и количества двунитевых разрывов ДНК на моделях опухолевого поражения головного мозга метастазами немелкоклеточного рака легкого in vivo. Исследования и практика в медицине. 2022;9(4):30–41. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-4-3>, EDN: PGKLSR
12. Andrisic L, Dudzik D, Barbas C, Milkovic L, Grune T, Zarkovic N. Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer. Redox Biol. 2018 Apr;14:47–58. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.08.009>
13. Georgescu SR, Mitran CI, Mitran MI, Caruntu C, Sarbu MI, Matei C, et al. New Insights in the Pathogenesis of HPV Infection and the Associated Carcinogenic Processes: The Role of Chronic Inflammation and Oxidative Stress. J Immunol Res. 2018;2018:5315816. <https://doi.org/10.1155/2018/5315816>
14. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З., Бондарь И. А., Труфакин В. А. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: Сибирское университетское издательство. 2017, 284 с. EDN: QZDBCH
15. Сурикова Е. И., Горошинская И. А., Неродо Г. А., Франциянц Е. М., Малейко М. Л., Шалашная Е. В. и др. Активность редокс-регуляторных систем в опухоли и окружающих ее тканях при различных гистологических типах опухоли. Биомедицинская химия. 2016;62(2):187–192. <https://doi.org/10.18097/PBMC20166202187>, EDN: VUWAGF
16. Горошинская И. А., Сурикова Е. И., Шалашная Е. В., Неродо Г. А., Максимова Н. А., Меньшенина А. П. и др. Состояние свободнорадикальных процессов при раке яичников с разной распространенностью и течением заболевания. Известия ВУЗ. Северо-Кавказский регион. Серия: естественные науки. 2017;4(2):10–19. <https://doi.org/10.23683/0321-3005-2017-4-2-10-19>, EDN: YLSFHF
17. Меньшенина А. П., Златник Е. Ю., Сагакянц А. Б., Моисеенко Т. И., Ушакова Н. Д., Франциянц Е. М. и др. Новые возможности иммунокоррекции у больных раком шейки матки в комплексном лечении. Российский иммунологический журнал. 2021;24(1):115–122. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-373-NOO>
18. Копылова Т. Н. Новый метод определения конъюгированных диенов в сыворотке крови. Клеточная и субклеточная экспериментальная патология печени. 1982, 135 с.
19. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лабораторное дело. 1988;(11):41–43. EDN: SKGPQJ
20. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации. СПб.: Фолиант. 2000, 104 с.
21. Черняускене Р. Ч., Варшавяничене З. З., Грабаускас П. С. Одновременное флуориметрическое определение концентрации витамина Е и А в сыворотке крови. Лабораторное дело. 1984;(6):362–365.
22. Генинг Т. П., Федотова А. Ю., Долгова Д. Р., Абакумова Т. В., Антонеева И. И. Особенности редокс-статуса периферического звена эритронов при различных локализациях неоплазмы органов женской репродуктивной сферы. Клиническая лабораторная диагностика. 2017;62(8):468–472. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-8-468-472>, EDN: UEJRWX
23. Myandina GI, Hasan A, Azova MM, Tarasenko EV, Kulchenko NG. Influence of GSTP1 gene polymorphism on decreased semen quality. Russian Open Medical Journal. 2019;8(4). <https://doi.org/10.15275/rusomj.2019.0411>

24. Кульченко Н. Г. Основные виды антиоксидантной терапии патоспермии. Вестник медицинского института «Ревиз»: реабилитация, врач и здоровье. 2018;1(31):41–48.
25. Горошинская И. А., Сурикова Е. И., Франциянц Е. М., Нескубина И. В., Немашкалова Л. А., Медведева Д. Е. и др. Редокс формы глутатиона при злокачественном поражении желудка разной степени агрессивности. Бюллетень сибирской медицины. 2020;19(4):53–60. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-4-53-60>, EDN: RJRJZS
26. Франциянц Е. М., Сидоренко Ю. С., Розенко Л. Я. Перекисное окисление липидов в патогенезе опухолевой болезни. Ростов-на-Дону: Издательство Ростовского университета. 1995, 176 с.

Информация об авторах:

Попова Наталья Николаевна ✉ – к.м.н., врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ассистент кафедры онкологии, ФГБУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3891-863X>, SPIN: 5071-5970, AuthorID: 854895, Scopus Author ID: 57215858399

Горошинская Ирина Александровна – д.б.н., профессор, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6265-8500>, SPIN: 9070-4855, AuthorID: 79968, ResearcherID: Y-2277-2018, Scopus Author ID: 6602191458

Шихлярова Алла Ивановна – д.б.н., профессор, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>, SPIN: 6271-0717, AuthorID: 482103, ResearcherID: Y-6275-2018, Scopus Author ID: 6507723229

Розенко Дмитрий Александрович – к.м.н., заведующий отделением анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5563-484X>, SPIN: 4658-5058, AuthorID: 917988

Меньшенина Анна Петровна – к.м.н., ведущий научный сотрудник отделения опухолей репродуктивной системы, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7968-5078>, SPIN: 6845-4794, AuthorID: 715810, Scopus Author ID: 57191983118

Арджа Анна Юрьевна – к.м.н., врач-онколог отделения онкогинекологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; доцент кафедры онкологии, ФГБУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6787-3007>, SPIN: 2519-7898, AuthorID: 951656

Нетывченко Надежда Вячеславовна – врач отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2458-9406>, SPIN: 1772-6714, AuthorID: 1149607

Чекмезова Светлана Александровна – врач отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5756-8236>, SPIN: 4964-6116, AuthorID: 1149644

Участие авторов:

Попова Н. Н. – написание статьи;
Горошинская И. А. – формулировка цели исследования, анализ результатов;
Шихлярова А. И. – научное редактирование;
Розенко Д. А. – дизайн исследования;
Меньшенина А. П. – формирование групп пациентов;
Арджа А. Ю. – клиническое сопровождение исследования;
Нетывченко Н. В., Чекмезова С. А. – участие в исследовании.

СОЛЬВОТЕРМАЛЬНЫЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ $GdF_3:Tb^{3+}$ РОМБИЧЕСКОЙ ФОРМЫ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Е. А. Кучма[✉], О. Е. Положенцев, И. А. Панкин, А. Н. Булгаков, П. А. Рудь, А. В. Солдатов

Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ ekuchma@sfedu.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Исследовать механизм формирования нанокристаллов $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %), полученных методом сольвотермического синтеза в интервале температур от комнатной температуры до 200 °С с шагом 50 °С.

Материалы и методы. Нанокристаллы $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) были синтезированы сольвотермальным методом с помощью реактора высокого давления (автоклава) рассчитанного на температуру до 250 °С. Структуру, размер и морфологию наночастиц исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), тип кристаллической решетки и размер кристаллитов наночастиц определяли методом рентгеновской дифракции (РФА), гидродинамический размер наночастиц, гранулометрический состав, ζ-потенциал, агрегацию наночастиц в коллоидных растворах определяли методом динамического рассеяния света (ДРС), химический состав поверхности нанокристаллов изучали методом инфракрасной спектроскопии (ИК-спектроскопия), способность наночастиц поглощать УФ-излучение анализировали методом спектроскопии в видимой и УФ-областях спектра и рентгеновской оптической люминесценции.

Результаты. С повышением температуры реакции синтеза происходит структурное изменение фазы кристаллитов с гексагональной на орторомбическую. При низких температурах сольвотермального синтеза образуются агрегированные частицы, состоящие из гексагональных нанокристаллов, при температуре выше температуры кипения растворителя – монодисперсные наночастицы ромбической формы с орторомбической фазой. При умеренных температурах образуются агрегированные частицы различной морфологии со смешанной гексагональной и орторомбической фазами. На основании анализа рентгеновских спектров установлено, что размер нанокристаллов $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) меняется для разных температурных условий синтеза ($T = KT, 50\text{ °C}, 100\text{ °C}, 150\text{ °C}, 200\text{ °C}$) от 10 до 50 нм. Гидродинамический размер наночастиц уменьшается при увеличении температуры синтеза. Все нанокристаллы $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) полученные при разных температурах прозрачны для видимого света и поглощают УФ-излучение. Поглощение в УФ области увеличивается при увеличении размера кристаллитов частиц. Спектры оптической люминесценции с возбуждением рентгеновским излучением (ХЕОЛ) показали пики излучения в видимом диапазоне на длинах волн 490 нм, 543 нм, 585 нм и 620 нм.

Заключение. Исследован механизм формирования нанокристаллов $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) ромбической формы. Монодисперсные наночастицы $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) ромбовидной формы могут найти применение для рентгеноиндуцированной фотодинамической терапии (ФДТ) поверхностных, а также объемных и глубоколежащих опухолей.

Ключевые слова: сольвотермальный синтез, GdF_3 , легированный Tb, сцинтилляционные наночастицы, биомедицинское применение, ФДТ, Рентгеновская ФДТ

Для цитирования: Кучма Е. А., Положенцев О. Е., Панкин И. А., Булгаков А. Н., Рудь П. А., Солдатов А. В. Сольвотермальный синтез наночастиц $GdF_3:Tb^{3+}$ ромбической формы для биомедицинских применений. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(2): 39-46. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-4>, <https://elibrary.ru/dztmno>

Для корреспонденции: Кучма Елена Александровна – инженер, Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.
Адрес: 344006, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Большая Садовая, д. 105/42
E-mail: ekuchma@sfedu.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9440-4860>

ResearcherID: U-5776-2019

Scopus Author ID: 57195548598

Финансирование: Российский фонд фундаментальных исследований (РФФИ), НИР № 20-315-90030. Российский научный фонд, грант № 19-15-00305.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Благодарности: Е. А. Кучма и А. В. Солдатов благодарят Российский фонд фундаментальных исследований (РФФИ), НИР № 20-315-90030 за финансовую поддержку (синтез наноматериалов). О. Е. Положенцев, И. А. Панкин, А. В. Солдатов выражают благодарность Российскому научному фонду, грант № 19-15-00305 за финансовую поддержку (исследование наноматериалов, анализ и интерпретация данных).

Статья поступила в редакцию 26.10.2022; одобрена после рецензирования 16.04.2023; принята к публикации 05.06.2023.

SOLVOTHERMAL SYNTHESIS OF RHOMBIC SHAPE $GdF_3:Tb^{3+}$ NANOPARTICLES FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

E. A. Kuchma[✉], O. E. Polozhentsev, I. A. Pankin, A. N. Bulgakov, P. A. Rud, A. V. Soldatov

The Smart Materials Research Institute at the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

[✉] ekuchma@sfsu.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. In this work, we have investigated the mechanism of structure formation of $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) nanocrystals synthesized by solvothermal synthesis in the temperature range from RT to 200 °C with a step of 50 °C.

Materials and methods. Nanocrystals of $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) were synthesized by the solvothermal method using a high-pressure reactor (autoclave) designed for temperatures up to 250 °C. The structure, size and morphology were determined by transmission electron microscopy (TEM), the type of crystal lattice and the size of crystallites of nanoparticles were studied by X-ray diffraction (XRD), hydrodynamic size of nanoparticles, particle size distribution, ζ -potential, agglomeration of nanoparticles in colloidal solutions were determined by dynamic light scattering (DLS), the chemical composition of the nanocrystals surface was studied by Fourier-transform infra-red spectroscopy (FT-IR), the nanoparticles ability to absorb UV radiation was analyzed by UV-visible spectroscopy (UV-vis) and X-ray excited optical luminescence (XEOL).

Results. With an increase in the temperature of the synthesis reaction, a structural change in the crystallites phase occurs from hexagonal to orthorhombic. At low temperatures, agglomerated particles consisting of hexagonal nanocrystals are formed, while at a temperature higher than the boiling point of the solvent, monodisperse rhombic-shaped nanoparticles with orthorhombic phase are formed. At mild temperatures, agglomerated particles with different morphology and with mixed hexagonal and orthorhombic phases are formed. Based on the analysis of X-ray spectrum, it was found that the size of $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) nanocrystals varies from 10 to 50 nm for different synthesis temperature conditions ($T = RT, 50\text{ }^{\circ}C, 100\text{ }^{\circ}C, 150\text{ }^{\circ}C, 200\text{ }^{\circ}C$). The hydrodynamic size of nanoparticles decreases with increasing synthesis temperature. All $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) nanocrystals obtained at different temperatures are transparent to visible light and absorb UV radiation. Absorption in the UV region increases with an increase in the size of particle crystallites. Upon X-ray irradiation of the colloidal $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) solution, X-ray excited optical luminescence spectra showed emission peaks at 490 nm, 543 nm, 585 nm and 620 nm.

Conclusion. The mechanism of structure formation of rhombic-shaped $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) nanocrystals has been investigated. These monodisperse rhombic-shaped nanoparticles can be used for X-ray induced photodynamic therapy (X-PDT) of superficial, solid and deep-seated tumors.

Keywords: solvothermal synthesis, GdF_3 , Tb doped, scintillating nanoparticles, biomedical application, PDT, X-PDT

For citation: Kuchma E. A., Polozhentsev O. E., Pankin I. A., Bulgakov A. N., Rud P. A., Soldatov A. V. Solvothermal synthesis of rhombic shape $GdF_3:Tb^{3+}$ nanoparticles for biomedical applications. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(2): 39-46. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-4>, <https://elibrary.ru/dztmno>

For correspondence: Elena A. Kuchma – engineer, The Smart Materials Research Institute at the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 105/42 Bolshaya Sadovaya str., Rostov-on-Don 344006, Russian Federation

E-mail: ekuchma@sfsu.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9440-4860>

ResearcherID: U-5776-2019

Scopus Author ID: 57195548598

Funding: Russian Foundation for Basic Research (RFBR), research project No. 20-315-90030. The Russian Science Foundation, grant No. 19-15-00305.

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Acknowledgments: E. A. Kuchma and A. V. Soldatov thank the Russian Foundation for Basic Research (RFBR), research project No. 20-315-90030 for the financial support (synthesis of nanomaterials). O. E. Polozhentsev, I. A. Pankin, and A. V. Soldatov thank the Russian Science Foundation, grant No. 19-15-00305 for the financial support (sample investigation, data analysis and interpretation).

The article was submitted 26.10.2022; approved after reviewing 16.04.2023; accepted for publication 05.06.2023.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время фотодинамическая терапия (ФДТ) [1] и рентгеноиндуцированная ФДТ являются современными терапевтическими методами лечения поверхностных, а также объемных и глуболежащих опухолей [2; 3]. Ключевую роль в лечебном действии ФДТ играет фотосенсибилизатор, который избирательно накапливается в опухолевой ткани и при его облучении видимым или ближним инфракрасным излучением определенной длины волны генерирует образование активных форм кислорода (АФК), которые, в свою очередь, убивают раковые клетки. Для метода рентгеноиндуцированной ФДТ (Р-ФДТ) необходимо использовать сцинтилляционные наночастицы, которые будут эффективно преобразовывать рентгеновское излучение в видимый или ближний инфракрасный свет с определенной длиной волны для возбуждения фотосенсибилизатора [4; 5].

Фторид гадолиния (III) является многофункциональным материалом с эффективной люминесценцией, превосходными магнитными свойствами и низкой энергией фононов, высокой химической и термической стабильностью. Наночастицы фторида гадолиния, легированные редкоземельными элементами (Tb, Eu, и др.), можно использовать в качестве эффективных преобразователей для метода Р-ФДТ и эффективно преобразовывать рентгеновские лучи в видимый свет с определенной длиной волны. Большой атомный номер гадолиния позволяет эффективно поглощать рентгеновское излучение, поэтому наночастицы фторида гадолиния можно использовать в качестве контрастного вещества для КТ-визуализации. Кроме того, наночастицы GdF_3 можно использовать в МРТ благодаря их парамагнитным свойствам. При облучении как УФ-излучением, так и рентгеновскими лучами наночастицы GdF_3 , легированные Tb^{3+} , обладают сильной зеленой эмиссией с максимумом при 545 нм и менее интенсивными сателлитными пиками при ~ 490, 585 и 620 нм из-за электронных переходов из возбужденного состояния 5D_4 в 7F_J ($J = 6-3$) основных состояний иона Tb^{3+} [6].

Наночастицы трифторида гадолиния были получены несколькими способами синтеза, в том числе соосаждением [7], гидротермальным синтезом [6], сольвотермальным синтезом [8], микроволновым синтезом [10]. Например, Чжан и др. синтезировали нанолуминофоры $GdF_3:Eu^{3+}$ с гексагональной или орторомбической структурой при комнатной температуре с помощью

метода химического соосаждения [7]. Структуру и морфологию нанолуминофоров $GdF_3:Eu^{3+}$ контролировали с помощью различных прекурсоров фтора. Гексагональные нанокристаллы $GdF_3:Eu^{3+}$ формировались при использовании $NaBF_4$ в качестве прекурсора фторида, тогда как орторомбические нанокристаллы $GdF_3:Eu^{3+}$ были получены при использовании прекурсора фторида NaF или NH_4F . Также экспериментально установлено, что гексагональные нанолуминофоры $GdF_3:Eu^{3+}$ излучают существенно более сильную люминесценцию Eu^{3+} , чем орторомбические. Саманта и др. сообщили о простом микроволновом методе синтеза стабильных нанокристаллов GdF_3 , легированных Eu^{3+} , с гексагональной фазой, функционализированных поливинилпирролидоном, при более высоких температурах (до 220 °C), достигаемых за счет настройки вязкости растворителей, а также использования KF в качестве источника фтора [8]. Как морфологию, так и размер нанокристаллов GdF_3 также можно варьировать, настраивая условия реакции. Ванг и др. синтезировали различные монодисперсные коллоидные нанокристаллы $GdF_3:Yb$, Er с повышением частоты с различной формой, размером и легирующими примесями с помощью микроволнового синтеза [10]. Помимо высокомонодисперсных сферических частиц, они приготовили монодисперсные срезы ромбической формы, проявляющие склонность к самосборке в стопки. Суи и др. [9] сообщили о поведении орторомбической фазы REF_3 при высоком давлении ($RE = Sm$ to Lu и Y). Индуцированные давлением фазовые переходы GdF_3 исследовались при комнатной температуре. Установлено, что диапазон давлений фазового перехода из орторомбической в гексагональную фазу составляет для GdF_3 5,5–9,3 ГПа.

В настоящей работе исследован механизм формирования нанокристаллов $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %), синтезированных методом сольвотермического синтеза, в интервале температур от комнатной температуры до 200 °C. Физико-химические свойства изучали методами просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), рентгеновской дифракции (РФА), динамического рассеяния света (ДРС), инфракрасной спектроскопии (ИК-спектроскопия), спектроскопии в видимой и УФ-областях спектра и рентгеновской оптической люминесценции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гексагидрат нитрата гадолиния $Gd(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ (99,9 %) и гексагидрат хлорида тербия $TbCl_3 \cdot 6H_2O$

(99,9 %), фторид аммония NH_4F (98 %) были приобретены в Alfa Aesar (Хейверхилл, Массачусетс, США). Этиленгликоль был приобретен в Sigma-Aldrich (Берлингтон, Массачусетс, США). Все химические вещества использовали без дополнительной очистки.

Физико-химические характеристики нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}$ (15 %) ($T = \text{КТ}, 50^\circ\text{C}, 100^\circ\text{C}, 150^\circ\text{C}, 200^\circ\text{C}$) определяли следующими экспериментальными методами. Размер, форму и морфологию изучали с помощью ПЭМ на приборе Tecnai G2 Spirit BioTWIN (FEI, США). Тип кристаллической решетки, средний размер кристаллитов наночастиц определяли методом РФА на дифрактометре D2 PHASER (Bruker Corp., Германия). Гидродинамический размер наночастиц, гранулометрический состав, ζ -потенциал, агрегацию наночастиц в коллоидных растворах определяли методом ДРС на анализаторе размера частиц NANO-Flex (MicroTrac GmbH, Германия) и STABINO (ParticleMetrix, США). Количественный и качественный химический состав и концентрацию легирующих элементов оценивали с помощью двумерного микрорентгенофлуоресцентного (РФА) спектрометра M4 Tornado (Bruker Corp., Германия). Химию поверхности изучали с помощью инфракрасной Фурье-спектроскопии (FTIR) на спектрометре Vertex 70 (Bruker Corp., Германия). Эмиссионные спектры (XEOL) порошков наноматериалов и коллоидных водных растворов исследовали с помощью рентгеновской трубки RAP-90U с защитным кожухом и двухлучевого спектрофотометра Shimadzu UV-2600 (Shimadzu, Япония).

Синтез нанокристаллитов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}$

Нанокристаллы $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}$ (15 %) были получены сольвотермальным методом синтеза. Для получения 160–200 мг порошка нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}$ (15 %) необходимо: растворить 0,85 ммоль $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($m = 0,384$ г) и 0,15 ммоль $\text{TbCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($m = 0,056$ г) в 10 мл этиленгликоля (ЭГ) в химическом стакане при комнатной температуре. Для более лучшего растворения химических реагентов можно использовать ультразвуковые диспергаторы. После механического перемешивания в течение примерно 1 ч добавить по каплям 3 ммоль NH_4F ($m = 0,1111$ г), предварительно растворенного в 10 мл этиленгликоля (ЭГ). В ходе реакции ранее прозрачный раствор становится мутным и белым из-за осаждения легированного фторида гадолиния. Далее, полученный раствор подвергали термообработке в тefлоновом автоклаве в интервале

температур от КТ до 200°C при интенсивном перемешивании в течение 24 часов. Конечный продукт трижды промывали дистиллированной водой с использованием центрифугирования. После последнего центрифугирования, белые нанокристаллы высушивали в сушильном шкафу при 60°C . Полученные нанокристаллы обозначали соответственно $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}$ (15 %) ($T = \text{КТ}, 50^\circ\text{C}, 100^\circ\text{C}, 150^\circ\text{C}, 200^\circ\text{C}$). Коллоидные водные растворы нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}$ готовили путем диспергирования нанокристаллов в бидистиллированной воде с помощью ультразвукового диспергатора.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами был изучен механизм формирования нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}$ (15 %) ($T = \text{КТ}, 50^\circ\text{C}, 100^\circ\text{C}, 150^\circ\text{C}, 200^\circ\text{C}$), полученных сольвотермальным методом синтеза в интервале температур от КТ до 200°C с шагом 50°C . Сольвотермальный метод представляет собой химическую реакцию, протекающую в растворителе при температуре выше точки кипения растворителя (обычно $< 250^\circ\text{C}$) в герметичном реакторе. В качестве растворителя использовался этиленгликоль с температурой кипения 197°C . Варьируя параметры синтеза: температура и времени протекания реакции, этот метод позволяет получать нанокристаллы с контролем размера, морфологии и высоким уровнем кристалличности.

На рисунке 1а представлены дифрактограммы в диапазоне $22^\circ\text{--}32^\circ$ градусов нанокристаллов, полученных в ходе синтеза при различных температурах реакции ($T = \text{КТ}, 50^\circ\text{C}, 100^\circ\text{C}, 150^\circ\text{C}, 200^\circ\text{C}$) в течение 24 часов. Установлено, что с повышением температуры реакции синтеза структура нанокристаллов претерпевает структурное изменение с гексагональной на орторомбическую фазу. При температуре синтеза 50°C наблюдается чисто гексагональная структура, а при температуре 200°C уже наблюдается чистая орторомбическая структура без вторичных фаз. При умеренных температурах наблюдается смешанная фаза гексагональной и орторомбической фаз. На рисунке 1б представлены дифрактограммы нанокристаллов гексагональной и орторомбической фаз. Положение пиков и их интенсивность точно соответствуют дифрактограммам орторомбического GdF_3 (карта ICSD 00-012-0788) и гексагонального SmF_3 (карта ICDS PDF № 01-072-01439). Никаких дополнительных пиков

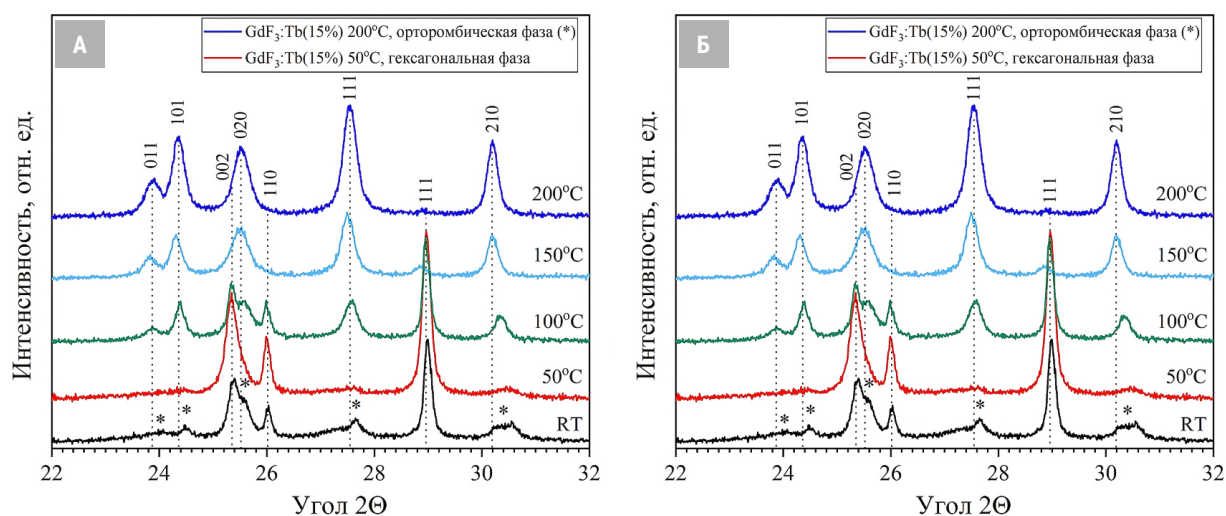


Рис. 1. а) Дифрактограммы нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}(15\%)$ ($T = \text{КТ}, 50^\circ\text{C}, 100^\circ\text{C}, 150^\circ\text{C}, 200^\circ\text{C}$); б) Дифрактограммы $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}(15\%)$ ($T = 50^\circ\text{C}$) гексагональной фазы и $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}(15\%)$ ($T = 200^\circ\text{C}$) орторомбической фазы.

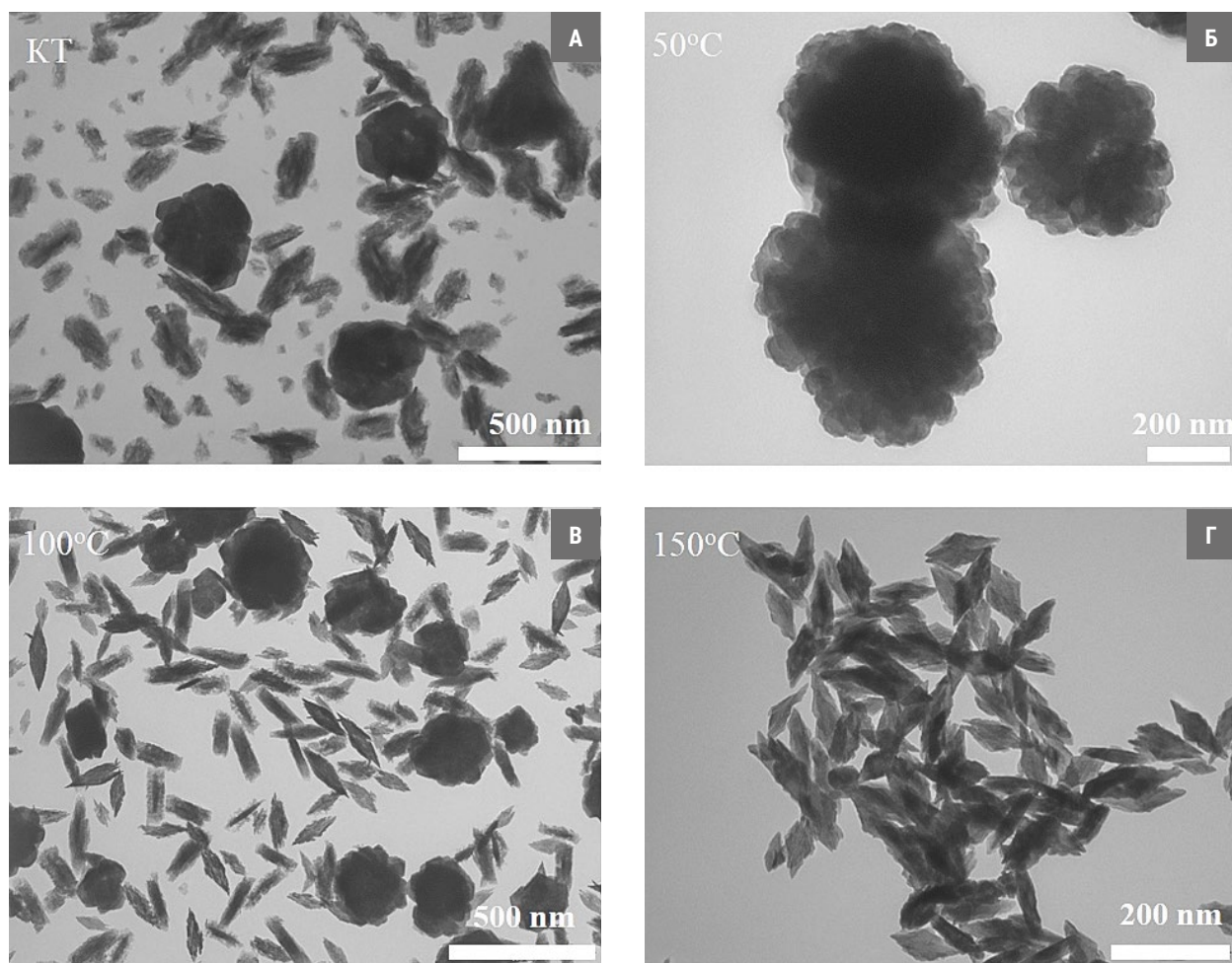


Рис. 2. а) ПЭМ-изображение нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}(15\%)$ (КТ); б) ПЭМ-изображение нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}(15\%)$ (50°C) гексагональной фазы; в) – ПЭМ-изображение нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}(15\%)$ (100°C); г) ПЭМ-изображение нанокристаллов $\text{GdF}_3\cdot\text{Tb}^{3+}(15\%)$ (150°C) ромбической формы с орторомбической фазой.

каких-либо вторичных фаз обнаружено не было.

На основании уравнения Шеррера, уширение рефлексов использовали для оценки среднего размера кристаллитов. Средний размер кристаллитов в нанокристаллах $\text{GdF}_3\text{:Tb}^{3+}$ (15 %) изменяется от 10 нм до 50 нм для различных температур реакции синтеза: от комнатной температуры (КТ), 50 °С, 100 °С, 150 °С, 200 °С. Рентгенофлуоресцентный (РФА) анализ подтвердил химический состав Tb/Gd (15 %) для всех синтезированных нанокристаллов, что свидетельствует о хорошей растворимости солей редкоземельных элементов в процессе сольвотермального синтеза. По данным ДРС в коллоидных растворах нанокристаллов, гидродинамический радиус наночастиц постепенно уменьшается с 220 ± 200 нм для КТ, 174 ± 90 нм для 50 °С, 150 ± 116 нм

для 100 °С, 57 ± 39 нм для 150 °С, до 48 ± 32 нм для 200 °С. Уменьшение гидродинамического радиуса связано с рекристаллизацией нанокристаллитов в ходе термической обработки в процессе синтеза и уменьшения межчастичного пространства в агломерированных частицах.

На рисунке 2 представлены ПЭМ-изображения нанокристаллов, полученные при различных температурах синтеза (КТ, 50 °С, 100 °С, 150 °С). На рисунке 2а представлены синтезированные при комнатной температуре (КТ) агломерированные частицы различной морфологии со средним размером 150–180 нм, состоящие из мелких наночастиц орторомбической фазы размером до 10 нм. Также присутствуют крупные агломерированные частицы, состоящие из гексагональных частиц размером до

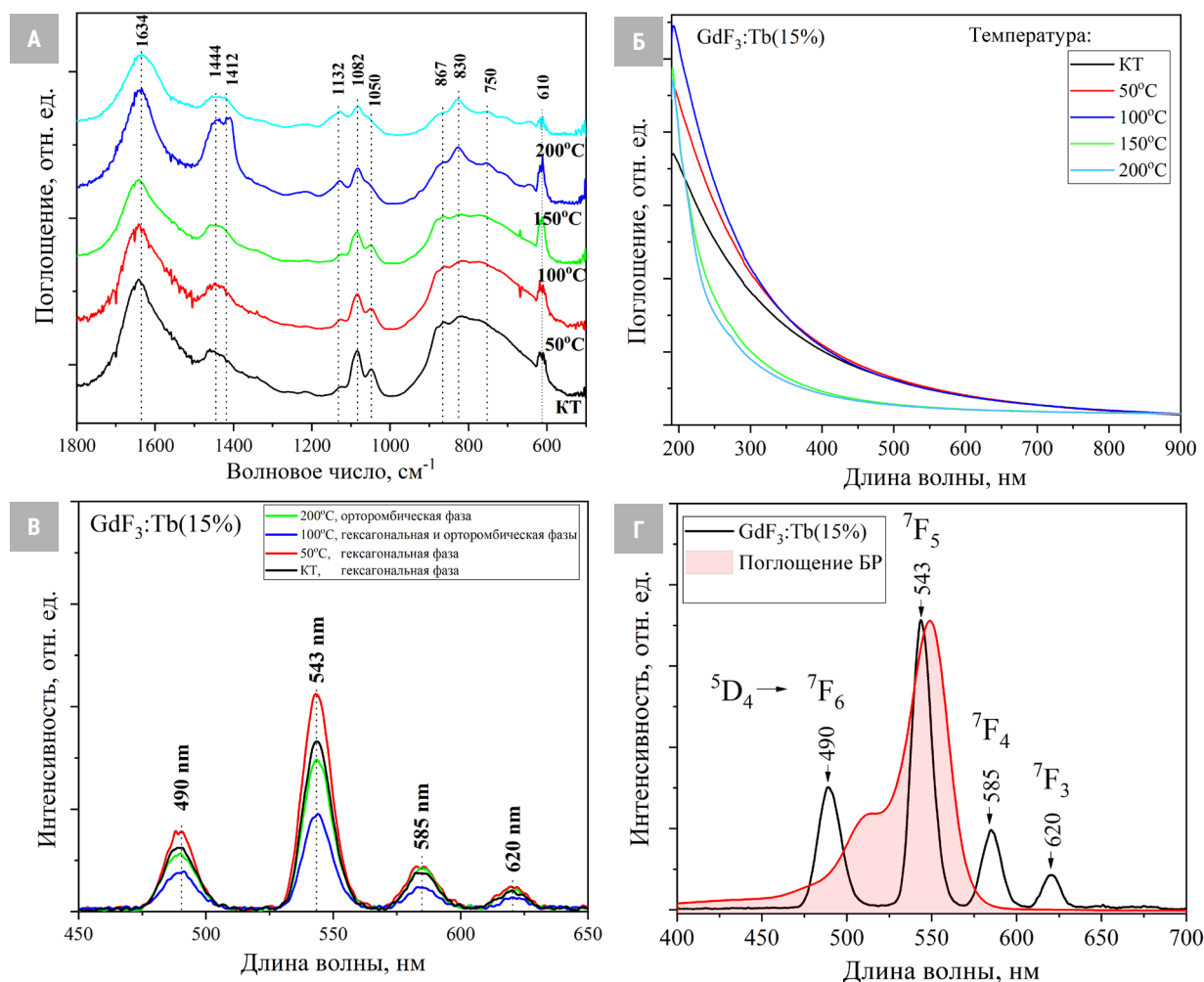


Рис. 3. Спектры поглощения в а) ИК диапазоне; б) в видимой и УФ-областях; в) спектры оптической люминесценции с возбуждением рентгеновским излучением (XEOL) нанокристаллов $\text{GdF}_3\text{:Tb}_3(15\%)$ ($T = \text{RT}, 50^\circ\text{C}, 100^\circ\text{C}, 150^\circ\text{C}, 200^\circ\text{C}$); г) сравнение спектра XEOL наночастиц $\text{PEG@GdF}_3\text{:Tb}^{3+}(15\%)$, возбужденных рентгеновским облучением (35 кВ, 16 мА), и спектра поглощения УФ-видимого фотосенсибилизатора бенгальский розовый (РБ).

50 нм, с хорошо выраженными гранями и хорошей кристалличностью. На рисунке 2б показаны крупные агрегированные частицы размером до 500 нм в виде «цветков», состоящих из кристаллитов гексагональной фазы. Кристаллиты имеют гексагональную форму и размер 30–50 нм. На рисунке 2в представлены агрегированные наночастицы, полученные при температуре реакции 100 °С в виде «цветков» и частиц ромбической и веретенообразной формы. В этих типах агрегированных наночастиц заметны области с большей и меньшей плотностью. Для образования ромбических наночастиц с хорошей кристалличностью требуется более высокая температура. На изображении также присутствуют агрегированные наночастицы размером до 200 нм прямоугольной и веретенообразной формы, состоящие из мелких кристаллитов размером до 10 нм. На рисунке 2г представлены наночастицы, полученные при температуре реакции 200 °С в виде ромбических наночастиц.

На рисунке 3а показаны спектры поглощения ИК диапазоне нанокристаллов $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) ($T = KТ, 50\text{ }^{\circ}C, 100\text{ }^{\circ}C, 150\text{ }^{\circ}C, 200\text{ }^{\circ}C$). Широкие пики в области 1600–1650 cm^{-1} и 650–950 cm^{-1} связаны с изгибными и колебательными модами адсорбированных молекул воды на поверхности нанокристаллов [5]. Валентные и деформационные колебания $C = O$ находятся на 1665 и 1436 cm^{-1} . Полоса при 610 cm^{-1} может быть отнесена к колебаниям решетки фторида гадолиния, что подтверждает образование нанокристаллов фторида гадолиния. Пики ~1412 и 1444 cm^{-1} относятся к метиленовым ножничным и валентным колебаниям $C-O-C$ ЭГ. УФ-видимые спектры нанокристаллов $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) ($T = RT, 50\text{ }^{\circ}C, 100\text{ }^{\circ}C, 150\text{ }^{\circ}C, 200\text{ }^{\circ}C$) показаны на рисунке 3б. Все полученные нанокристаллы прозрачны для видимого света и поглощают УФ-излучение. Поглощение в УФ области увеличивается с увеличением размера кристаллитов частиц. На рисунке 3в представлены спек-

тры оптической люминесценции с возбуждением рентгеновским излучением (XEOL) нанокристаллов $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) ($T = KТ, 50\text{ }^{\circ}C, 100\text{ }^{\circ}C, 150\text{ }^{\circ}C, 200\text{ }^{\circ}C$). Эмиссия флуоресценции может быть возбуждена как УФ-светом, так и рентгеновским излучением, что дает один и тот же типичный профиль эмиссии Tb^{3+} . Сильное зеленое свечение сцинтилляционных нанокомпозитов $PEG@GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) с основным пиком при 545 нм и тремя сателлитными пиками при 490, 585 и 620 нм обусловлено электронными переходами из возбужденного состояния 5D_4 в основные состояния ионов $Tb^{3+} \text{ } ^7F_J$ ($J = 6-3$). На рисунке 3г показано сравнение спектра XEOL наночастиц $PEG@GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %), возбужденных рентгеновским излучением (35 кВ, 16 мА), и спектра поглощения фотосенсибилизатора бенгальский розовый (БР).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе изучен механизм формирования нанокристаллов $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %), полученных методом сольвотермального синтеза, в интервале температур от КТ до 200 °С. При низких температурах образуются агрегированные частицы, состоящие из гексагональных нанокристаллов, а при температуре выше температуры кипения растворителя – монодисперсные нанокристаллы ромбической формы с орторомбической фазой. При умеренных температурах образуются агрегированные частицы различной морфологии со смешанной гексагональной и орторомбической фазами. При рентгеновском облучении коллоидного раствора $GdF_3:Tb^{3+}$ (15 %) спектры оптической люминесценции с XEOL показали пики излучения при 490 нм, 543 нм, 585 нм и 620 нм. Монодисперсные нанокристаллы ромбической формы могут быть использованы для рентгеноиндуцированной фотодинамической терапии поверхностных, объемных и глубоколежащих опухолей.

Список источников

1. Сулейманов Э. А., Хомяков В. М., Серова Л. Г., Москвичева Л. И., Филоненко Е. В., Каприн А. Д. Интраоперационная фотодинамическая терапия при метастатическом поражении брюшины. Исследования и практика в медицине. 2016;3(3):59–67. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2016-3-3-6>, EDN: WKUVGF
2. Allison RR, Moghissi K. Photodynamic Therapy (PDT): PDT Mechanisms. Clin Endosc. 2013 Jan;46(1):24–29. <https://doi.org/10.5946/ce.2013.46.1.24>
3. Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D, Saczko J, Kędzierska E, Knap-Czop K, et al. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. Biomed Pharmacother. 2018 Oct;106:1098–1107. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.049>

4. Kamkaew A, Chen F, Zhan Y, Majewski RL, Cai W. Scintillating Nanoparticles as Energy Mediators for Enhanced Photodynamic Therapy. *ACS Nano*. 2016 Apr 26;10(4):3918–3935. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b01401>
5. Ren XD, Hao XY, Li HC, Ke MR, Zheng BY, Huang JD. Progress in the development of nanosensitizers for X-ray-induced photodynamic therapy. *Drug Discov Today*. 2018 Oct;23(10):1791–1800. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.05.029>
6. Polozhentsev OE, Pankin IA, Khodakova DV, Medvedev PV, Goncharova AS, Maksimov AY, et al. Synthesis, Characterization and Biodistribution of GdF₃:Tb³⁺@RB Nanocomposites. *Materials (Basel)*. 2022 Jan 13;15(2):569. <https://doi.org/10.3390/ma15020569>
7. Zhang X, Hayakawa T, Nogami M, Ishikawa Y. Selective Synthesis and Luminescence Properties of Nanocrystalline GdF₃:Eu³⁺ with Hexagonal and Orthorhombic Structures. *Journal of Nanomaterials*. 2010 Dec 27;2010:e651326. <https://doi.org/10.1155/2010/651326>
8. Samanta T, Hazra C, Praveen AE, Ganguli S, Mahalingam V. Synthesis of Hexagonal-Phase Eu³⁺-Doped GdF₃ Nanocrystals above Room Temperature by Controlling the Viscosity of the Solvents. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2016;2016(6):802–807. <https://doi.org/10.1002/ejic.201501146>
9. Sui Z, Wang J, Huang D, Wang X, Dai R, Wang Z, et al. Orthorhombic-to-Hexagonal Phase Transition of REF₃ (RE = Sm to Lu and Y) under High Pressure. *Inorg Chem*. 2022 Oct 3;61(39):15408–15415. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.2c01891>
10. Wang H, Nann T. Monodisperse upconversion GdF₃:Yb, Er rhombi by microwave-assisted synthesis. *Nanoscale Res Lett*. 2011 Mar 29;6(1):267. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-6-267>

Информация об авторах:

Кучма Елена Александровна ✉ – инженер, Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9440-4860>, ResearcherID: U-5776-2019, Scopus Author ID: 57195548598

Положенцев Олег Евгеньевич – к.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник, Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2077-9512>, SPIN: 1959-4459, AuthorID: 788015, ResearcherID: N-9555-2015, Scopus Author ID: 35273399000

Панкин Илья Андреевич – к.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник, Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2784-4839>, SPIN: 3152-7393, AuthorID: 793405, ResearcherID: P-3517-2015, Scopus Author ID: 56500642900

Булгаков Алексей Николаевич – лаборант-исследователь, Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Рудь Полина Алексеевна – лаборант-исследователь, Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Солдатов Александр Владимирович – д.ф.-м.н., профессор, научный руководитель, Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8411-0546>, SPIN: 2132-5994, AuthorID: 1685, ResearcherID: E-9323-2012, Scopus Author ID: 7102129914

Участие авторов:

Кучма Е. А. – написание исходного текста, синтез материалов, проведение экспериментов;
Положенцев О. Е. – написание исходного текста, синтез материалов, проведение экспериментов;
Панкин И. А. – проведение экспериментов;
Булгаков А. Н. – проведение экспериментов;
Рудь П. А. – проведение экспериментов;
Солдатов А. В. – концепция исследования, научное руководство.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК В АЛЬГИНАТНЫХ КАПЛЯХ, КАК ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДОВ ДЛЯ БИОПЕЧАТИ

С. Ю. Филиппова, Т. В. Чембарова[✉], С. В. Тимофеева, И. В. Межевова, Н. В. Гненная,
И. А. Новикова, Т. О. Лаптева

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

✉ tanyshamova@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Тестирование протокола получения клеточных сфероидов культур рака молочной железы (РМЖ) для биопечати путём наращивания в альгинатных каплях.

Материалы и методы. Клетки культур BT-20 и MDA-MB-453 культивировали в среде DMEM с добавлением 10 % FBS. Далее клетки снимали с пластика при помощи раствора трипсин-Версена и ресуспендировали в стерильном 2 % растворе альгината, приготовленном на DPBS, до концентрации 10^5 кл/мл. Раствор альгината с клетками исследуемых культур РМЖ медленно капали через иглу 30G в стерильный охлажденный раствор хлорида кальция (100 мМ) с высоты 10 см. После полимеризации альгинатные капли отмывали в среде DMEM и культивировали в течение двух недель в среде DMEM с добавлением 10 % FBS при 37 °C и 5,0 % CO₂. Образующиеся в альгинате сфероиды фотографировали на 3-, 7-, 10- и 14-е сутки культивирования, после чего их извлекали из альгината путём выдерживания в 55мМ растворе цитрата натрия с добавлением 20мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и заключали в парафиновые блоки по стандартной методике с последующим гистологическим исследованием.

Результаты. Клеточные сфероиды-клоны образовывались в обеих культурах уже на 3 сутки культивирования. С 3 по 10-е сутки в обеих культурах наблюдался равномерный рост клеточных сфероидов с постепенным замедлением увеличения размеров сфероидов к 14-му дню культивирования. Доля клеток, образовавших клоны (размером более 500 мкм²), на 10-е сутки составила 25,2 % ± 7,1 % ($n = 25$) в культуре BT-20 и 38,5 % ± 9,9 % ($n = 25$) в культуре MDA-MB-453. На 14-е сутки для BT-20 были характерны сфероиды, мало варьирующие по размеру и форме, средней площадью 1652 ± 175 мкм², обладающие плотной структурой с ровными краями. Сфероиды из клеток культуры MDA-MB-453 оказались более рыхлыми и легко деформируемыми, их размеры и форма заметно варьировали, средняя площадь сфероидов составила 2785 ± 345 мкм².

Заключение. Получение сфероидов в альгинатных каплях уступает по скорости методам формирования клеточных конгломератов в висячих каплях или на микрочайках, однако превосходит эти методы по производительности, которая сравнима с получением сфероидов на низкоадгезивных подложках путём постоянного перемешивания среды. Кроме того, клonalная природа получаемых сфероидов приводит к увеличению затрат на проведение исследований и ограничивает, тем самым, их масштабируемость.

Ключевые слова: трёхмерная клеточная культура, клеточный сфероид, альгинат, биопечать

Для цитирования: Филиппова С. Ю., Чембарова Т. В., Тимофеева С. В., Межевова И. В., Гненная Н. В., Новикова И. А., Лаптева Т. О. Культивирование клеток в альгинатных каплях, как высокопроизводительный метод получения клеточных сфероидов для биопечати. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(2): 47-55. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-5>, <https://elibrary.ru/foottt>

Для корреспонденции: Чембарова Татьяна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, 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: tanyshamova@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4555-8556>

SPIN: 5426-1873, AuthorID: 1051985

ResearcherID: AAR-3198-2021

Scopus Author ID: 57221303597

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 18.01.2023; одобрена после рецензирования 31.03.2023; принята к публикации 05.06.2023.

© Филиппова С. Ю., Чембарова Т. В., Тимофеева С. В., Межевова И. В., Гненная Н. В., Новикова И. А., Лаптева Т. О., 2023

CULTIVATION OF CELLS IN ALGinate DROPS AS A HIGH-PERFORMANCE METHOD OF OBTAINING CELL SPHEROIDS FOR BIOPRINTING

S. Yu. Filippova, T. V. Chembarova[✉], S. V. Timofeeva, I. V. Mezheva, N. V. Gnennaya, I. A. Novikova, T. O. Lapteva

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
✉ tanyshamova@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Testing the protocol of obtaining cell spheroids of breast cancer cell cultures for bioprinting by growing in alginate drops.

Materials and methods. Cells of breast cancer cell lines BT-20 and MDA-MB-453 were cultured in DMEM medium supplemented with 10 % FBS. Next, the cells were removed from the plastic using a trypsin-Versene solution and resuspended in a sterile 2 % alginate solution in DPBS to the concentration of 10^5 cells/ml. Then the alginate solution with the cells was slowly dripped through a 30G needle into a sterile cooled solution of calcium chloride (100 mM) from a height of 10 cm. After polymerization, alginate drops were washed in DMEM and cultured for two weeks in DMEM with the addition of 10 % FBS at 37 °C and 5.0 % CO₂. The spheroids formed in the alginate were photographed on the 3rd, 7th, 10th, and 14th days of cultivation, after which they were removed from the alginate by keeping in 55 mM sodium citrate solution with the addition of 20mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and embedded in paraffin blocks according to the standard method, followed by histological examination.

Results. Cellular spheroids were formed in both cell cultures already on the 3rd day of cultivation. From the 3rd to the 10th day in both cultures, a uniform growth of cell spheroids was observed with a gradual slowdown in the increase in the size of spheroids by the 14th day of cultivation. On the 10th day the proportion of cells that formed clones (more than 500 μm^2 in size) was $25.2 \pm 7.1 \%$ ($n = 25$) in the BT-20 culture and $38.5 \pm 9.9 \%$ ($n = 25$) in MDA-MB-453 culture. On the 14th day, BT-20 culture was characterized by spheroids varying little in size and shape, with an average area of $1652 \pm 175 \mu\text{m}^2$, having a dense structure with smooth edges. The spheroids in MDA-MB-453 culture turned out to be more loose and easily deformed, their size and shape varied noticeably, the average area of the spheroids was $2785 \pm 345 \mu\text{m}^2$.

Conclusion. The production of spheroids in alginate drops is inferior in speed to the methods of forming cell conglomerates in hanging drops or on microwells, but it surpasses these methods in productivity, which is comparable to the production of spheroids by constant medium stirring on low-adhesive substrates. In addition, the clonal nature of the obtained spheroids leads to an increase in research costs and thus limits their scalability.

Keywords: 3D cell culture, cell spheroid, alginate, bioprinting

For citation: Filippova S. Yu., Chembarova T. V., Timofeeva S. V., Mezheva I. V., Gnennaya N. V., Novikova I. A., Lapteva T. O. Cultivation of cells in alginate drops as a high-performance method of obtaining cell spheroids for bioprinting. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(2): 47-55. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-5>, <https://elibrary.ru/foottt>

For correspondence: Tatiana V. Chembarova – junior research fellow at the laboratory of cell technologies, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.
Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation
E-mail: tanyshamova@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4555-8556>
SPIN: 5426-1873, AuthorID: 1051985
ResearcherID: AAR-3198-2021
Scopus Author ID: 57221303597

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

The article was submitted 18.01.2023; approved after reviewing 31.03.2023; accepted for publication 05.06.2023.

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) остаётся актуальной проблемой современного здравоохранения [1; 2]. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения в России РМЖ занимает первое место [3; 4], на его долю в 2021 г. пришлось 22,1 % новых случаев, а среднегодовой темп прироста заболеваемости с 2011 по 2021 гг. составил 1,72 %. По показателю смертности эта онкопатология также занимает первое место среди злокачественных заболеваний у женщин – на долю РМЖ в 2021 г. пришлось 15,8 % всех смертей от рака [5]. Сокращение смертности зависит от разработки и внедрения новых лекарственных препаратов и подходов к лечению опухоли. Несмотря на прогресс в области открытия новых противоопухолевых агентов, лишь небольшая часть веществ, продемонстрировавших эффективность в доклинических исследованиях на клеточных культурах и животных моделях, успешно проходит клинические испытания. Учёные сходятся во мнении, что основной причиной такого положения дел является несоответствие биологических особенностей моноклонных культур клеток и опухолей, выращенных в животных моделях особенностям опухолей человека [6]. В частности, известно, что культивирование клеток рака в двумерных культурах приводит к изменению их фенотипа и потере экспрессии молекул ключевых сигнальных путей, которую эти клетки демонстрируют в естественных условиях в организме больных [7]. В связи с этим, актуальным является создание новых моделей опухолевого роста, которые бы сочетали в себе массовость и воспроизводимость, характерные для клеточных культур *in vitro*, и комплексность, демонстрируемую животными моделями. Одним из перспективных направлений поиска является воссоздание трёхмерного микроокружения опухоли *in vitro* путём соединения различных компонентов с помощью методов биопечати [8]. Исследователи используют различные материалы и подходы к конструированию таких моделей, но в общем случае они представляют собой злокачественные клетки и клетки микроокружения, заключенные в биогели разной химической природы и происхождения. При этом, чаще всего клетки располагаются в толще биочернил поодиночке, на расстоянии, существенно превосходящем наблюдаемое *in situ* [8]. Такое строение модели, очевидно, не позволяет в полной мере отразить биологические особенности опухоли, поэтому предпринимаются попытки ввести в биопечатные конструкции клеточные

сфероиды – простейшие модели опухолевых узлов, хорошо зарекомендовавшие себя в практике доклинических исследований [9]. Как правило, клеточные сфероиды для биопечати получают методами механической агломерации клеток путём подвешивания клеточной суспензии в каплях, использования мелкоячеистых планшет или специальных матриц, культивирования на низкоадгезивном субстрате с постоянным перемешиванием среды, а также путём прямого впечатывания биогеля с высокой концентрацией клеток в матрикс модели [10]. Одним из наименее распространённых подходов к получению клеточных сфероидов для биопечати является их выращивание из одиночных клеток-предшественников. Однако полученные именно таким способом сфероиды, по нашему мнению, являются более адекватными моделями микрометастазов или ранних стадий образования опухолевых узлов, чем механические конгломераты клеток, так как каждый клеточный сфероид в этом случае является клоном одной клетки. Кроме того, модель опухоли, собранная из отдельных клонов, в большей степени соответствует строению, наблюдаемому в гетерогенной опухоли *in situ*. Как правило, сфероиды-клоны получают путём культивирования клеток опухоли в биогеле, не поддерживающем адгезию клеток. Наиболее популярным биогелем для получения сфероидов является мягкий агар или гели из агарозы, которые традиционно используются исследователями для оценки количества опухолевых стволовых клеток (ОСК) в культуре [11]. Однако для получения сфероидов, пригодных для биопечати, данный метод неприменим, так как извлечение клеток из агарозного геля связано с нагревом и механическим воздействием, из-за чего их жизнеспособность снижается. Мы предположили, что в качестве перспективного метода получения сфероидов для биопечати можно рассмотреть инкапсуляцию клеток в альгинатные капли. Ранее данный подход был опробован нами для исследования свойств стволовости в адгезионных клеточных линиях колоректального рака [12]. Альгинатный гель, как и агароза, не поддерживает адгезию, но его преимуществом при этом является способность к быстрой деполимеризации под действием агентов, хелатирующих ионы кальция, что позволяет быстро извлекать полученные сфероиды при физиологических условиях и далее использовать их в биопечати. Анализ данных литературы показал, что подход, в основе которого лежит наращивание сфероидов в альгинате с последующим очищением и заключением биогель, ещё никем не

был применён. В отдельных работах встречается биопечать модели опухоли единичными клетками в альгинатно-желатиновом биогеле с последующим образованием сфероидов-клонов непосредственно в полученной конструкции [13]. В отличие от предлагаемого нами подхода, данный способ включения сфероидов в модель не даёт возможности широко варьировать состав биочернил, а также не позволяет точно регулировать состав и расположение других элементов модели.

Цель исследования: разработка и тестирование протокола получения сфероидов культур РМЖ для биопечати путём наращивания в альгинатном геле.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили клеточные культуры РМЖ BT-20 и MDA-MB-453. Клетки культивировали в среде DMEM (Gibco) с добавлением 10 % FBS (Hyclone). При достижении монослоем клеток 70 %-ной конfluентности их снимали с пластика при помощи раствора трипсин-Версена (1:1; Биолот, Россия). Далее клетки ресуспендировали в стерильном 2 % растворе альгината (Sigma), приготовленном на DPBS (Биолот), до концентрации 10^5 кл./мл. Раствор альгината с клетками исследуемых культур РМЖ медленно капали через иглу 30G в стерильный охлажденный раствор хлорида кальция (100 мМ) с высоты 10 см. При соприкосновении с раствором хлорида кальция происходило мгновенное отверждение каплей альгината и образование бусин диаметром 2,5–3 мм (рис. 1). Полу-

ченные бусины выдерживали для дополимеризации в растворе хлорида кальция ещё 5 мин и отмывали один раз охлажденной средой DMEM, после чего помещали в среду культивирования, состоящую из DMEM с добавлением 10 % FBS. Далее альгинатные бусины с заключенными в них клетками культур РМЖ культивировали 14 суток с заменой среды через каждые трое суток. Образующиеся в альгинате сфероиды фотографировали на 3-, 7-, 10- и 14-е сутки культивирования. На полученных снимках определяли размер сфероидов при помощи средств пакета ImageJ. Статистическую обработку результатов проводили с использованием ПО MS Excel.

На 14-е сутки культивирования проводили растворение альгината путём выдерживания бусин в 55мМ растворе цитрата натрия с добавлением 20мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) в течение 3 минут при комнатной температуре. Выделенные сфероиды дважды отмывали в среде культивирования и помещали в 5 % агарозный гель, который после отверждения заключали в парафиновый блок по стандартной методике. Исследование гистологической структуры полученных клеточных сфероидов проводили на срезах, окрашенных гематоксилином-эозином.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обе клеточные культуры в альгинатных каплях продемонстрировали рост уже на третьи сутки культивирования. При этом культура BT-20 образыва-



Рис. 1. Схематическое представление протокола получения клеточных сфероидов в альгинатных каплях.

ла примерно одинаковые по размерам сфероиды округлой формы, в то время как клетки культуры MDA-MB-453 формировали разные по форме и размерам сфероиды (рис. 2а, б). Разница в характере роста сфероидов сохранилась и на 10-е сутки культивирования (рис. 2в, г).

Вариативность в размерах и форме сфероидов может быть негативным явлением для тех приложений биопечати, в которых требуется измерение размеров сфероидов в составе получаемого конструкта в ответ на различные воздействия. Как, например, это требуется в случае биопечати модели опухолевого роста. Если сравнивать с другими способами формирования сфероидов, то предлагаемый нами метод уступает по данному показателю методам прямого впечатывания густой суспензии клеток в матрикс модели и методам контролируемой агрегации клеток в висячих каплях или микролунках, но сравним со свободно плавающими сфероидами-конгломератами на низкоадгезивных субстратах [4]. Для преодоления данного недостатка можно предложить использование различных ме-

тодов сепарации (фильтрация, центрифугирование) сфероидов-клонов по размерам перед печатью или применение для анализа получаемых моделей автоматических микроскопов с точным позиционированием предметного столика, что позволит учитывать поведение каждого сфероида в отдельности.

С 3 по 10-е сутки культивирования в обеих культурах наблюдался равномерный рост клеточных сфероидов с постепенным замедлением увеличения размеров сфероидов к 14-му дню культивирования. При этом в среднем, размер сфероидов MDA-MB-453 был больше, чем у BT-20 (рис. 3). Для BT-20 были характерны сфероиды средней площадью $1652 \pm 175 \text{ мкм}^2$, а средняя площадь сфероидов, образованных клетками культуры MDA-MB-453 составила $2785 \pm 345 \text{ мкм}^2$. Данное явление можно объяснить полуадгезионным характером роста культуры MDA-MB-453 на культуральном пластике, что даёт клеткам этой культуры преимущество и в условиях выращивания в альгинатном геле, не поддерживающем клеточную адгезию.

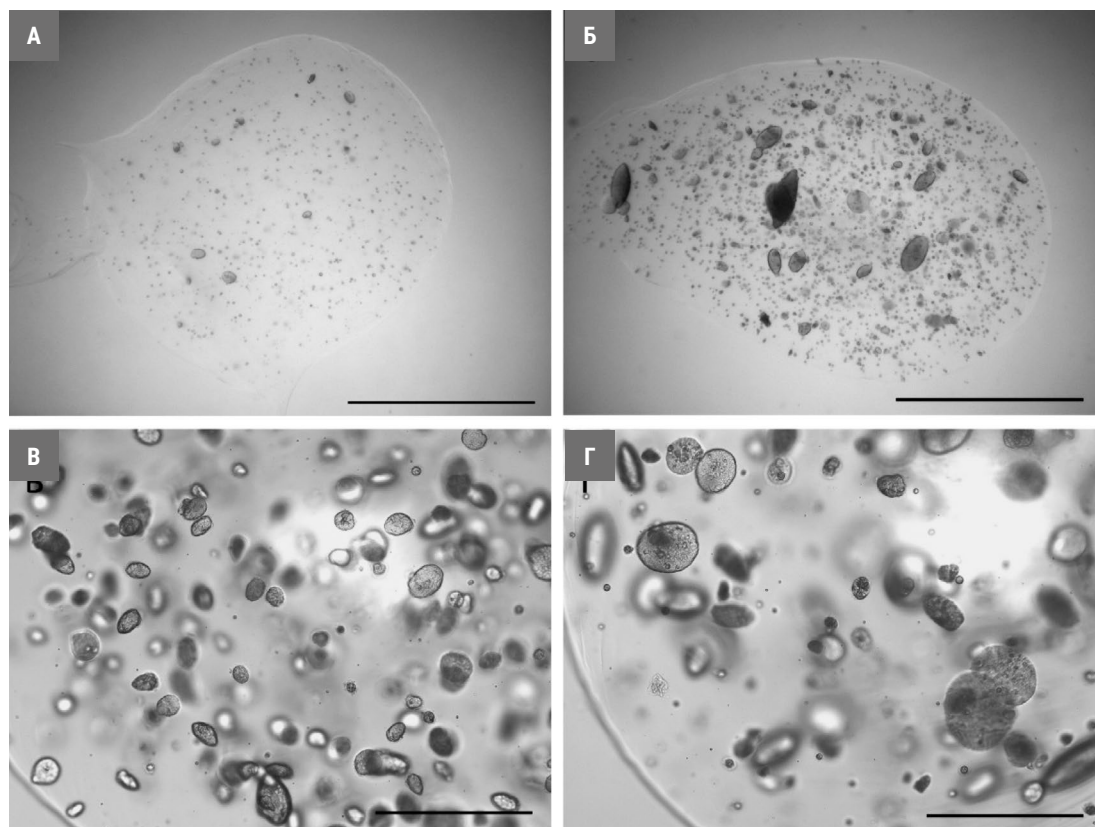


Рис. 2. Бусины из 2 % альгинатного геля с заключенными в них клетками культур рака молочной железы; а – культура BT-20 на 3-е сутки культивирования; б – культура MDA-MB-453 на 3-е сутки культивирования; в – культура BT-20 на 10-е сутки культивирования; г- культура MDA-MB-453 на 10-е сутки культивирования. Размер масштабных линеек: а, б – 3 мм; в, г – 0,5 мм.

Таким образом, оптимальное время для сбора сфероидов с целью дальнейшей биопечати для данных культур составляет 7–10 суток культивирования. Такая скорость формирования сфероидов сравнима со свободноплавающими сфероидо-конгломератами на низкоадгезивных субстратах, но значительно уступает скорости формирования клеточных сфероидов при контролируемой агрегации клеток в висячих каплях или микролунках, где данный показатель может составлять от 3 до 48 часов в зависимости от применяемых материалов [10].

На 10-е сутки культивирования, когда увеличение размеров сфероидов начинает стабилизироваться, и можно переходить к биопечати, мы провели измерения доли клеток, образовавших клоны (размером более 500 мкм²). Анализ данных показал, что этот показатель составил 25,2 % ± 7,1 % ($n = 25$) в культуре BT-20 и 38,5 % ± 9,9 % ($n = 25$) в культуре MDA-MB-453. Таким образом, при концентрации 100 тыс клеток/мл, из одного миллилитра альгинатного геля с клетками культур BT-20 и MDA-MB-453 можно получить 25–38 тысяч подходящих для дальнейшей биопечати сфероидов, что на порядки больше, чем возможности даже высокопроизводительных методов формирования сфероидов в микролунках и висячих каплях и сравнимо с производительностью формирования свободноплавающих сфероидо-конгломератов на низкоадгезивных субстратах [10]. Выход клеточных сфероидов и скорость их роста могут быть увеличены ещё больше, если применять такие факторы роста, усиливающие деление клеток в условиях пониженной адгезии, как EGF и FGF [12].

Гистологическое строение сфероидов после извлечения из альгинатного геля отличалось между

культурами. Для BT-20 были характерны сфероиды плотной структуры с ровными краями, сохраняющие свою форму после извлечения из геля, двукратной отмывки и включения в агарозный блок (рис. 4а). Сфероиды из клеток культуры MDA-MB-453 оказались более рыхлыми, легко деформирующимися с потерей части клеток из поверхностных слоёв после отмывки в среде культивирования (рис. 4б). Наблюдаемые различия могут быть связаны с меньшим количеством внеклеточного матрикса, образуемого клетками культуры MDA-MB-453 в сравнении с культурой BT-20.

Структура сфероидов играет важную роль в биопечати. Рыхлые распадающиеся клеточные конгломераты при экструзии через сопло теряют форму, что негативно сказывается на качестве результатов измерений, проведенных на полученной путём биопечати с использованием таких сфероидов 3D модели опухолевого роста. Клеточные конгломераты, полученные методом агрегации в висячей капле, как правило, обладают очень плотной структурой и механической прочностью [14], как и сфероиды, полученные в микропланшетах [10], что выгодно отличает эти подходы от предлагаемого нами. В то же самое время, свободноплавающие сфероиды-конгломераты на низкоадгезивных субстратах, сравнимы или ещё более уступают в прочности сфероидо-клонам, полученным нами. Подбор клеточных культур, выделяющих большое количество молекул внеклеточного матрикса (коллаген, ламинин, гиалуроновая кислота и другие), вероятно, будет способствовать улучшению практики получения сфероидов в альгинатных каплях с необходимыми для нужд биопечати характеристиками плотности и прочности.

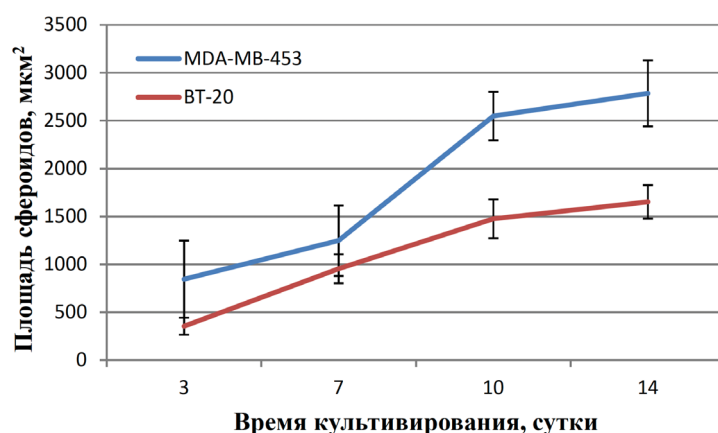


Рис. 3. Динамика роста клеточных сфероидов, образуемых в 2 % альгинатном геле клетками культур BT-20 и MDA-MB-453. Данные представлены, как выборочное среднее значение ± 95 % доверительный интервал генерального среднего.

Характерной чертой сфероидов, полученных нами из клеток обеих культур, было отсутствие центральной области апоптоза/некроза, что, вероятно, объясняется их малыми размерами. Известно, что первые признаки клеточного повреждения под действием гипоксии и недостатка питательных веществ начинают проявляться в центре сфероидов по достижении их радиуса 100 мкм и более [15], в нашем же случае радиус даже самых крупных клеточных сфероидов не превышал 30 мкм. На настоящий момент установлено, что адаптация злокачественных клеток и клеток микроокружения к недостатку питательных веществ и кислорода, наблюдаемых в опухоли, способствует развитию химио- и радиорезистентности, иммуносупрессии, инвазии и метастазированию, являясь одним из важнейших препятствий на пути лечения рака [16]. В связи с этим, воспроизведение гипоксии и дефицита питательных веществ в биопечатной модели рака обладает особой ценностью. Крупные клеточные сфероиды являются основным материалом, на котором изучают гипоксию *in vitro*, однако из-за их размеров биопечать методом экструзии через тонкое сопло такими структурами не представляется возможной. Поэтому в таких моделях чаще используют прямое впечатывание суспензии клеток в биогель или сочетание методов преформирования достаточно крупных клеточных конгломератов с последующей заливкой в биогель [15]. Небольшие сфероиды, наподобие тех, которые мы получили путём культивирования клеток культур MDA-MB-453 и BT-20 в альгинатных каплях, служат хорошим материалом для биопечати, но не демон-

стрируют признаков гипоксии. Поэтому в данном случае моделирование естественных дефицитов, существующих в опухоли, будет осуществляться не на уровне отдельных сфероидов, а на уровне всей модели, где различные градиенты могут создаваться путём контроля состава компонентов модели и их точного позиционирования относительно друг друга и источников питательных веществ и газов.

В культуре клеток MDA-MB-453, выращенной в альгинатных каплях, встречались отдельные сфероиды разных размеров с признаками деградации клеточных ядер (рис. 4б, выделение), свидетельствующими о начинающихся процессах клеточной гибели. Это явление наряду с неравномерным распределением по размерам и форме образуемых сфероидов, может говорить о выраженной гетерогенности клонов, образуемых культурой MDA-MB-453 в данных условиях культивирования. Гетерогенность принципиально неустранима, если речь идёт о сфероидах-клонах, и является определённым вызовом для моделирования опухолевого роста *in vitro* с использованием таких структур. В случае с многоклеточными конгломератами, полученными путём механического соединения клеток (метод висячей капли или формирование сфероидов в ячейках) каждый такой сфероид совмещает в себе различные по биологическим характеристикам клетки, в результате чего разница между такими клеточными конгломератами становится несущественной. Поэтому каждый многоклеточный сфероид может считаться экспериментальным повтором. В случае со сфероидами-клонами отдельным экспериментальным повтором следует считать не

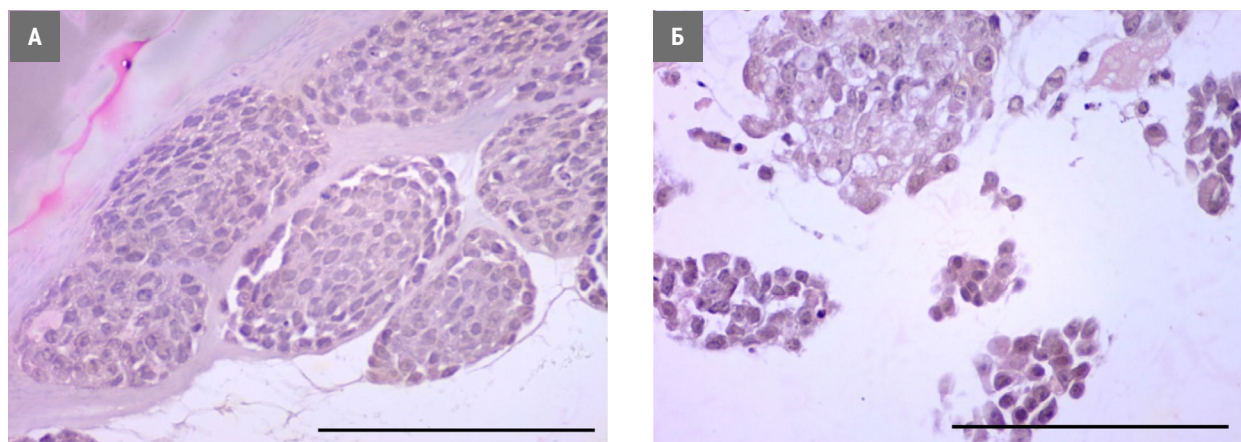


Рис. 4. Сфероиды, образуемые клетками культур рака молочной железы в 2 % альгинатном геле на 14-е сутки культивирования. а – культура BT-20, б – культура MDA-MB-453. Окрашивание гематоксилином-эозином.

каждый сфероид, но их некоторую совокупность, что необходимо учитывать при проектировании модели опухолевого роста, включающей в свой состав такие структуры. Таким образом, для получения достоверных результатов эксперимента сфероидов-клонов требуется в десятки раз больше, что увеличивает траты на проведение исследований и ограничивает, тем самым, их масштабируемость.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение инкапсуляции в альгинатный гель позволяет получить в короткий срок большое количество клеточных сфероидов-клонов, пригодных для биопечати. Тестируемый нами метод уступает методам агломерации клеток в висячей капле и на

микрочайках по скорости формирования сфероидов, а также плотности и однородности получаемых структур, однако превосходит эти методы по производительности, которая сравнима с методом получения клеточных сфероидов путём культивирования на низкоадгезионных субстратах при постоянном перемешивании среды. Клональная природа сфероидов, выращенных в альгинатных каплях, несколько увеличивает траты на проведение исследований с использованием моделей полученных на их основе по сравнению с другими подходами. Однако такие сфероиды, по нашему мнению, являются наилучшим материалом для построения, например, биопечатных моделей развития микрометастазов – структур, по своей природе также являющихся клонами одной клетки.

Список источников

1. Афонин Г. В., Рагулин Ю. А., Гулидов И. А. Ускоренные режимы адъювантной лучевой терапии в лечении рака молочной железы. Исследования и практика в медицине. 2017;4(3):66–74. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2017-4-3-6>, EDN: ZGIHQH
2. Балыкова Л. А., Инчина В. И., Тарасова Т. В., Мосина Л. М., Гвоздиков Е. Н., Хайдар Д. А. и др. Эффективность липосомального доксорубина гидрохлорида в комбинации с циклофосфаном в лечении рака молочной железы в эксперименте. Исследования и практика в медицине. 2021;8(4):23–32. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-4-2>, EDN: ALOTUB
3. Ройтберг Г. Е., Дорош Ж. В., Анисеева О. Ю. Лечение трижды негативного рака молочной железы у пациентки с метаболическим синдромом. Исследования и практика в медицине. 2021;8(1):62–68. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2021-8-1-6>, EDN: HKVAWJ
4. Зубарева Е. Ю., Сеньчукова М. А., Вирич Е. В., Зубарев М. Р., Гончарова М. А. Уровни HIF-1α и TGF-β1 в сыворотке крови в зависимости от клинико-морфологических характеристик и чувствительности рака молочной железы к неоадъювантной химиотерапии. Исследования и практика в медицине. 2021;8(4):53–64. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-4-5>, EDN: GLUUQD
5. 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: 29.12.2022.
6. 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. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-188-196>, EDN: VJUNHB
7. Кит О. И., Шатова Ю. С., Новикова И. А., Владимирова Л. Ю., Ульянова Е. П., Комова Е. А. и др. Экспрессия P53 и BCL2 при различных подтипах рака молочной железы. Фундаментальные исследования. 2014;(10-1):85–88. EDN: SMJMCL
8. Тимофеева С. В., Шамова Т. В., Ситковская А. О. 3D-биопринтинг микроокружения опухоли: последние достижения. Журнал общей биологии. 2021;82(5):389–400. <https://doi.org/10.31857/S0044459621050067>, EDN: GMEORZ
9. Jubelin C, Muñoz-García J, Griscom L, Cochonneau D, Ollivier E, Heymann MF, et al. Three-dimensional *in vitro* culture models in oncology research. Cell Biosci. 2022 Sep 11;12(1):155. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00887-3>
10. Zhuang P, Chiang YH, Fernanda MS, He M. Using Spheroids as Building Blocks Towards 3D Bioprinting of Tumor Microenvironment. Int J Bioprint. 2021;7(4):444. <https://doi.org/10.18063/ijb.v7i4.444>
11. Hamburger AW, Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. Science. 1977 Jul 29;197(4302):461–463. <https://doi.org/10.1126/science.560061>

12. Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Бондаренко Е. С., Новикова И. А., Харагезов Д. А., Позднякова В. В. и др. Опыт применения инкапсуляции в альгинат для исследования влияния EGF и FGF2 на пролиферацию клеток колоректального рака в условиях пониженной адгезии *in vitro*. Цитология. 2021;63(2):184–192. <https://doi.org/10.31857/S0041377121020024>, EDN: QMRKCI
13. Johnson PA, Menegatti S, Chambers AC, Alibhai D, Collard TJ, Williams AC, et al. A rapid high throughput bioprinted colorectal cancer spheroid platform for in vitro drug- and radiation-response. Biofabrication. 2022 Nov 2;15(1). <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ac999f>
14. Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Тимофеева С. В., Чембарова Т. В., Межевова И. В., Гненная Н. В. и др. Опыт получения многокомпонентной трёхмерной клеточной модели опухолевого роста для молекулярно-генетических исследований рака молочной железы. Научное электронное периодическое издание ЮФУ «Живые и биокосные системы». 2022;(42). <https://doi.org/10.18522/2308-9709-2022-42-9>, EDN: WMULYR
15. Aggarwal V, Miranda O, Johnston PA, Sant S. Three dimensional engineered models to study hypoxia biology in breast cancer. Cancer Lett. 2020 Oct 10;490:124–142. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.05.030>
16. Hompland T, Fjeldbo CS, Lyng H. Tumor Hypoxia as a Barrier in Cancer Therapy: Why Levels Matter. Cancers (Basel). 2021 Jan 28;13(3):499. <https://doi.org/10.3390/cancers13030499>

Информация об авторах:

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: 791081, ResearcherID: AAN-4408-2020, Scopus Author ID: 57189618843

Чембарова 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

Межевова 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

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

Новикова Инна Арнольдовна – кандидат медицинских наук, 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: 57202252773

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

Участие авторов:

Филиппова С. Ю. – научное руководство, концепция исследования, развитие методологии;

Чембарова Т. В. – доработка текста;

Тимофеева С. В. – статистическая обработка результатов;

Межевова И. В. – проведение экспериментов;

Гненная Н. В. – проведение экспериментов;

Новикова И. А. – научное руководство;

Лаптева Т. О. – гистологические исследования.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

НОВЫЙ МЕТОД МОДИФИЦИРОВАННОГО ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ВЕРХНЕ- И СРЕДНЕАМПУЛЯРНОГО ОТДЕЛА ПРЯМОЙ КИШКИ

Ю. А. Геворкян, Н. В. Солдаткина[✉], М. Н. Черняк, М. А. Гусарева, О. К. Бондаренко,
Е. А. Дженкова, А. В. Дашков, В. Е. Колесников, Д. С. Петров, Р. Е. Толмах, Д. А. Савченко

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

✉ snv-rnoi@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Последнее десятилетие характеризуется значительными успехами в лечении рака прямой кишки (снижение числа рецидивов до 5–6 % при применении пролонгированной лучевой терапии) перед оперативным вмешательством. Наибольший успех достигнут при лечении рака нижеампулярного отдела прямой кишки, когда возможно развитие полного клинического ответа опухоли прямой кишки на химиолучевое лечение. При этом остаются проблемы необходимости улучшения результатов лечения рака верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки с увеличением выживаемости больных. Это делает актуальным разработку новых методов, повышающих эффективность лечения рака прямой кишки. В нашем исследовании был разработан метод модифицированной химиолучевой терапии рака верхнеампулярного отдела прямой кишки. Метод заключается в следующем. Первым этапом за сутки до начала лучевой терапии пациенту выполняется суперселективная катетеризация верхней прямокишечной артерии через лучевую или бедренную артерию с последующим регионарным введением радиомодифицирующих химиопрепаратов: цисплатин 50 мг и фторурацил 500 мг. Через сутки больным начинает проводиться курс конформной дистанционной крупнофракционной лучевой терапии на первичный очаг и пути метастазирования в течение 5 сеансов с разовой очаговой дозой 5 Гр до суммарной очаговой дозы 25 Гр на низкоэнергетическом линейном ускорителе. На протяжении всего курса лучевой терапии больным за 30 мин до сеанса ежедневно внутривенно вводится фторурацил 500 мг в течение 30 мин. Хирургическое вмешательство с забором материала на исследование проводится через 6–8 недель после окончания лучевой терапии. Для оценки эффективности модифицированного химиолучевого лечения определяли степень регрессии опухоли по шкале RECIST, при морфологическом исследовании удаленной во время операции опухоли прямой кишки определяли степень лечебного патоморфоза опухоли по Dworak.

Разработанный метод модифицированной химиолучевой терапии позволяет добиться регрессии опухоли прямой кишки за короткий срок, сократить сроки и увеличить эффективность лечения. Метод модифицированной химиолучевой терапии предназначен для больных раком верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки T3-4N0-2M0, которым первым этапом лечения показана лучевая терапия, после чего выполняется резекция прямой кишки в стандартном объеме.

Ключевые слова: рак верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки, лучевая терапия, радиомодификация, химиотерапия, оперативное лечение

Для цитирования: Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Черняк М. Н., Гусарева М. А., Бондаренко О. К., Дженкова Е. А., Дашков А. В., Колесников В. Е., Петров Д. С., Толмах Р. Е., Савченко Д. А. Новый метод модифицированного химиолучевого лечения рака верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(2): 56-63.
<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-6>, <https://elibrary.ru/etddql>

Для корреспонденции: Солдаткина Наталья Васильевна – д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения общей онкологии, 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: snv-rnoi@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0118-4935>
SPIN: 8392-6679, AuthorID: 440046

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Информированное согласие получено от всех участников исследования.

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 14.09.2022; одобрена после рецензирования 13.04.2023; принята к публикации 05.06.2023.

© Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Черняк М. Н., Гусарева М. А., Бондаренко О. К., Дженкова Е. А., Дашков А. В., Колесников В. Е., Петров Д. С., Толмах Р. Е., Савченко Д. А., 2023

NEW METHOD OF MODIFIED CHEMORADIOTHERAPY FOR CANCER OF THE UPPER AND MIDDLE AMPULLARY RECTUM

Yu. A. Gevorkyan, N. V. Soldatkina[✉], M. N. Chernyak, M. A. Gusareva, O. K. Bondarenko, E. A. Dzhenskova, A. V. Dashkov, V. E. Kolesnikov, D. S. Petrov, R. E. Tolmakh, D. A. Savchenko

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

✉ snv-rnoi@yandex.ru

ABSTRACT

The last decade is characterized by significant progress in the treatment of rectal cancer (reduction in the number of relapses to 5–6 % with the use of prolonged radiation therapy) before surgery. The greatest success has been achieved in the treatment of cancer of the lower ampulla of the rectum, when it is possible to develop a complete clinical response of the rectal tumor to chemoradiotherapy. Nevertheless, the requirement issues to improve the results of treatment of cancer of the upper and middle ampullary rectum with an increase in the survival of patients remain. Which makes it relevant to develop new methods, that increase the effectiveness of the treatment of rectal cancer.

The method of modified chemoradiotherapy for cancer of the upper ampulla of the rectum was developed in our study. The method is as follows: at the first stage, one day before the start of radiation therapy, the patient undergoes superselective catheterization of the superior rectal artery through the radial or femoral artery, followed by regional administration of radio-modifying chemotherapy drugs: cisplatin 50 mg and fluorouracil 500 mg. In one day, patients begin to undergo a course of conformal remote large-fraction radiation therapy to the primary focus and metastasis pathways for 5 sessions with a single focal dose of 5 Gy to a total focal dose of 25 Gy using a low-energy linear accelerator. During the entire course of radiation therapy, fluorouracil 500 mg is administered daily intravenously for 30 minutes in 30 minutes before the session. Surgical intervention with the sampling of material for research is carried out 6–8 weeks after the radiation therapy is completed. To assess the effectiveness of the modified chemoradiotherapy, the stage of tumor regression was determined according to the RECIST scale, and the level of therapeutic pathomorphology of the tumor according to Dworak was determined during a morphological study of the rectal tumor removed during the operation.

The developed method of modified chemoradiotherapy makes it possible to achieve regression of the rectal tumor in a short time, reduce the time and increase the effectiveness of treatment. The method of modified chemoradiotherapy is intended for patients with cancer of the upper and middle ampullary rectum T3-4N0-2M0, for whom radiation therapy is indicated as the first stage of treatment, after which resection of the rectum is performed in a standard volume.

Keywords: cancer of the upper and middle ampullary rectum, radiation therapy, radiomodification, chemotherapy, surgical treatment

For citation: Gevorkyan Yu. A., Soldatkina N. V., Chernyak M. N., Gusareva M. A., Bondarenko O. K., Dzhenskova E. A., Dashkov A. V., Kolesnikov V. E., Petrov D. S., Tolmakh R. E., Savchenko D. A. New method of modified chemoradiotherapy for cancer of the upper and middle ampullary rectum. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(2): 56-63. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-6>, <https://elibrary.ru/etddql>

For correspondence: Natalia V. Soldatkina – Dr. Sci. (Med.), leading researcher of the department of general oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: snv-rnoi@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0118-4935>

SPIN: 8392-6679, AuthorID: 440046

Compliance with ethical standards: the ethical principles presented by the Helsinki Declaration of the World Medical Association (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013) were observed in the work. Informed consent was obtained from all participants of the study.

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

The article was submitted 14.09.2022; approved after reviewing 13.04.2023; accepted for publication 05.06.2023.

Обоснование

Лечение рака прямой кишки зависит от стадии рака, локализации опухоли [1]. Существуют различные варианты лечения рака прямой кишки, которые включают хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию или комбинацию этих подходов [2–4]. Успешное применение лучевой терапии при злокачественных опухолях прямой кишки привело к тому, что она включена в стандарты лечения злокачественных опухолей этой локализации [5]. Для лечения рака прямой кишки разработаны методы как предоперационной, так и послеоперационной лучевой терапии. Однако, наиболее эффективной оказалась именно предоперационная лучевая терапия. Во многих странах, в том числе и в России, наблюдается увеличение повышения частоты применения предоперационной лучевой терапии и снижение частоты применения послеоперационной лучевой терапии при раке прямой кишки. Так, согласно проведенному исследованию, в США с 2004 по 2011 гг. в структуре больных, получивших лучевую терапию, частота применения предоперационной лучевой терапии увеличилась с 57 до 75 %, а частота применения послеоперационной лучевой терапии уменьшилась с 39 до 18 % [6].

Лучевая терапия при раке прямой кишки возможна в виде пролонгированного и короткого крупнофракционного курса лучевой терапии. Проводились многочисленные исследования, выясняющие преимущества и недостатки того и другого метода лучевой терапии. Результаты исследований показали, что от пролонгированного курса лучевой терапии выигрывают пациенты с местно-распространенными злокачественными опухолями прямой кишки, особенно при поражении, выходящем за пределы стенки прямой кишки и создающем угрозу вовлечения в опухолевый процесс мезоректальной фасции, а также в случаях метастатического поражения регионарных лимфатических узлов; при раке нижеампулярного отдела прямой кишки с целью увеличения шансов выполнения сфинктеросохраняющих операций и снижения частоты локальных рецидивов. Короткий курс лучевой терапии крупным фракционированием дозы проводится при локализованных опухолях верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки, когда предоперационная терапия не может изменить объем хирургического вмешательства на прямой кишке; при невозможности проведения пролонгированного курса лучевой терапии [7–9].

Проведение предоперационного курса пролонгированной лучевой терапии снижает 5-летнюю частоту рецидивов при злокачественных опухолях прямой кишки в 2 раза с 10,9 до 5,6 % [8; 10]. В проведенных рандомизированных исследованиях (SRCSG и SRCT), помимо уменьшения частоты локальных рецидивов, доказано и повышение на 10 % общей и безрецидивной выживаемости пациентов [11; 12].

Пролонгированный курс предоперационной лучевой терапии при дистальном раке прямой кишки может оказаться настолько эффективным, что приводит к полному регрессу опухоли прямой кишки с развитием полного клинического и патоморфологического ответа опухоли на предоперационную терапию [13–15]. Что касается рака верхнеампулярного отдела прямой кишки, то при этой локализации опухоли такого выраженного эффекта на проведение неoadъювантной лучевой терапии не наблюдалось. Все это свидетельствует о необходимости разработки и применения более интенсивных схем терапии для лечения рака верхнеампулярного отдела прямой кишки.

Цель исследования: разработать метод эффективного лечения рака верхнеампулярного отдела прямой кишки.

Дизайн исследования

Для увеличения эффективности лучевой терапии нами разработан метод модифицированной химиолучевой терапии, который позволяет добиться должного патоморфологического и терапевтического воздействия на опухоль, а также сократить сроки лечения пациентов. Метод модифицированной химиолучевой терапии предназначен для больных раком верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки T3-4N0-2M0, которым первым этапом лечения показано проведение лучевой терапии, после чего выполняется резекция прямой кишки в стандартном объеме.

Показаниями для проведения модифицированной химиолучевой терапии являлись: резектабельный местно-распространенный рак верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки T3-4N0-2M0; возможность проведения химиолучевой терапии; информированное согласие больного. Противопоказаниями для проведения модифицированной химиолучевой терапии являлись: нерезектабельный рак прямой кишки, наличие отдаленных метастазов, невозможность проведения химиолучевой терапии.

Описание медицинского вмешательства

Метод модифицированной химиолучевой терапии заключается в следующем. Первым этапом за сутки до начала лучевой терапии пациенту выполняется суперселективная катетеризация верхней прямокишечной артерии через лучевую или бедренную артерию с последующим регионарным введением радиомодифицирующих химиопрепаратов: цисплатин 50 мг и фторурацил 500 мг. Через сутки больные начинают получать курс конформной дистанционной лучевой терапии на область первичной опухоли и область регионарного метастазирования, 5 сеансов с разовой дозой 5 Гр до суммарной очаговой дозы 25 Гр. На протяжении всего курса лучевой терапии больным за 30 мин до сеанса ежедневно внутривенно вводится фторурацил 500 мг в течение 30 минут. Хирургическое вмешательство на прямой кишке в стандартном объеме выполняется через 6–8 недель после завершения курса лучевой терапии. Для оценки эффективности проведенного лечения при морфологическом исследовании операционного материала определяется степень лечебного патоморфоза опухоли по Dworak.

Больная Б., 20.09.1956 г., поступила в клинику ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России 03.02.2017 г. с жалобами на наличие крови и слизи в кале, тенезмы, слабость.

Из анамнеза известно, что считает себя больной с декабря 2016 г., когда появились вышеуказанные жалобы. Обратилась к врачу по месту жительства, при кологоскопии выявлена опухоль прямой кишки. Гистоанализ № 449-58: G2 аденокарцинома. Больная направлена в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, где проведено дообследование.

При МРТ ОБП, ОМТ 25.01.2017 г. выявлена опухоль среднеампулярного отдела прямой кишки с распространением на верхнеампулярный отдел 7,5 × 2,4 × 4,3 см, на расстоянии 8,1 см от ануса, с поражением мезоректальных лимфоузлов (рис. 1а, б).

При ФКС 28.12.2016 г. выявлена опухоль прямой кишки на расстоянии 10 см от ануса, осмотр до слепой кишки.

С клиническим диагнозом рак среднеампулярного отдела прямой кишки cT3N1M0, ст 3В, кл.гр. 2 больная была госпитализирована для проведения лечения.

07.02.2017 г. пациентке выполнена катетеризация верхней прямокишечной артерии через бедренную артерию (рис. 2), в которую введены цисплатин 50 мг на 5 % глюкозе 50 мл и фторурацил 500 мг. 08.02.2017 г. больной начат короткий курс крупнофракционной лучевой терапии (5 сеансов по 5 Гр на первичную опухоль и регионарные лимфоузлы), до начала каждого сеанса лучевой терапии внутривенно капельно вводился фторурацил 500 мг



Рис. 1. МРТ органов малого таза: опухоль среднеампулярного отдела прямой кишки с распространением на верхнеампулярный отдел 7,5 × 2,4 × 4,3 см, на расстоянии 8,1 см от ануса, с поражением мезоректальных лимфоузлов (а) сагитальный срез, (б) фронтальный срез.

на растворе натрия хлорида 0,9 % 200 мл в течение 30 мин. После 30-минутной экспозиции проводился сеанс лучевой терапии. Курс модифицированного химиолучевого лечения перенесла удовлетворительно, реакций и осложнений не было.

Через 6 недель после окончания модифицированной химиолучевой терапии больной проведено контрольное обследование. При МРТ органов брюшной полости и малого таза 20.03.2017 г. выявлена остаточная опухоль среднеампулярного отдела прямой кишки с признаками патоморфоза, а также уменьшение мезоректальных лимфоузлов в динамике (рис. 3).

При ректороманоскопии 20.03.2017 г. на 9 см от ануса выявлено изъязвление слизистой оболочки прямой кишки до 3 см в диаметре.

26.03.2017 г. больной выполнена операция: передняя резекция прямой кишки с превентивной илеостомией. Макропрепарат: на месте опухоли – изъязвление слизистой оболочки прямой кишки до 3 см в диаметре (рис. 4). Регионарные лимфоузлы не изменены.

Гистологическое исследование операционного материала № 24441-44/17: G2 аденокарцинома с инвазией всех слоев стенки, изъязвление, воспаление.

Признаки терапевтического патоморфоза III степени – в фиброзной строме петрификаты; 24446-47/17 линии резекции имеют обычное строение; 24445; 24448-49/17: в лимфоузлах синусовый гистиоцитоз, очаговый липоматоз.

Послеоперационный диагноз: рак среднеампулярного отдела прямой кишки cT3N1M0, ст 3B, кл.гр. 2, состояние после химиолучевого лечения, уpT3N0M0. После операции получала курсы адъювантной химиотерапии капецитабином. Через 2 мес. больной выполнено закрытие илеостомы без осложнений. Больная наблюдается без признаков прогрессирования по настоящее время (более 5 лет).

Основные результаты исследования

Таким образом, приведенный клинический пример демонстрирует выраженную регрессию опухоли прямой кишки за короткий срок под действием модифицированной лучевой терапии: опухоль с 7,5 см уменьшилась до изъязвления слизистой диаметром 3 см (частичная регрессия опухоли по шкале RECIST) с развитием лечебного патоморфоза III стадии.

Нежелательные явления

Нежелательных явлений в ходе проведения исследования не отмечалось.



Рис. 2. Ангиография: контрастируется верхняя прямокишечная артерия и ее ветви.



Рис. 3. МРТ органов малого таза после модифицированной химиолучевой терапии: остаточная опухоль среднеампулярного отдела прямой кишки с признаками патоморфоза, а также уменьшение мезоректальных лимфоузлов в динамике.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

В результате исследования разработан новый метод модифицированного химиолучевого лечения рака верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки, позволяющий проводить эффективное лечение в короткие сроки с развитием лечебного патоморфоза 3–4 степени.

Обсуждение основного результата исследования

Результаты применения разработанного метода модифицированного химиолучевого лечения показали его эффективность, которая может быть обусловлена несколькими механизмами. Во-первых, это, несомненно, модифицирующее действие лучевой терапии посредством введения химиопрепаратов. Во-вторых, это и эффект регионарной химиотерапии, проводимой суперселективно через верхнюю прямокишечную артерию непосредственно к опухоли прямой кишки. Имеет значение также и взаимодействие методов лучевой и химиотерапии. Все эти факторы участвуют в развитии лечебного патоморфоза опухоли прямой кишки 3–4 степени в течение короткого времени, что сокращает сроки лечения пациентов. Возможно, дальнейшее движение в этом направлении позволит усовершенствовать метод и достичь полного клинического ответа опухоли верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки, как это можно наблюдать при раке нижнеампулярного отдела прямой кишки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, был разработан и применен на практике метод модифицированного химиолучевого лечения рака верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки, включающий предоперационную лучевую терапию коротким курсом крупным фракционированием дозы и стандартное хирургическое лечение, отличающийся тем, что больным перед началом



Рис. 4. Макропрепарат: на месте опухоли – изъязвление слизистой оболочки прямой кишки до 3 см в диаметре.

лучевой терапии выполняется суперселективная катетеризация верхней прямокишечной артерии с последующим регионарным введением радиомодифицирующих химиопрепаратов: цисплатин и фторурацил. Через сутки больным проводится курс дистанционной конформной крупнофракционной лучевой терапии на область опухоли прямой кишки и область регионарного метастазирования, всего 5 сеансов с разовой дозой 5 Гр до суммарной дозы 25 Гр. На протяжении всего курса лучевой терапии больным за 30 мин до сеанса ежедневно внутривенно вводится фторурацил 500 мг в течение 30 мин. Хирургическое вмешательство на прямой кишке в стандартном объеме выполняется через 6–8 недель после завершения курса лучевой терапии. Применение метода модифицированного химиолучевого лечения позволяет проводить высокоэффективное лечение при раке верхне- и среднеампулярного отдела прямой кишки, подтвержденное развитием лечебного патоморфоза опухоли. Эти данные свидетельствуют об эффективности разработанного способа модифицированного химиолучевого лечения рака прямой кишки, что позволяет рекомендовать его для применения в клинической практике.

Список источников

1. Кит О. И., Дженкова Е. А., Мирзоян Э. А., Геворкян Ю. А., Колесников В. Е., Снежко А. В. Сравнительная оценка результатов выполненных D2 и D3 лимфодиссекций в хирургии рака ободочной кишки. Исследования и практика в медицине. 2022;9(4):10–17. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-4-1>, EDN: EGTDRС
2. Сидоров Д. В., Ложкин М. В., Петров Л. О., Соловьев Я. А., Костин А. А. Хирургическое лечение пациентки с массивным внутрибрюшным рецидивом колоректального рака, осложненным синдромом внутрибрюшной гипертензии. Клиническое наблюдение. Исследования и практика в медицине. 2016;3(1):30–33. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2016-3-1-4>, EDN: VRNQTD

3. Ерыгин Д. В., Минаева Н. Г., Иванов С. А., Двинских Н. Ю., Новиков Н. Ю., Бердов Б. А. и др. Раково-эмбриональный антиген в прогнозировании лечебного патоморфоза опухоли после неoadъювантной химиолучевой терапии у больных раком прямой кишки. Исследования и практика в медицине. 2018;5(2):36–47.
<https://doi.org/10.17709/2409-2231-2018-5-2-4>, EDN: XPLBGH
4. Иванов С. А., Петров Л. О., Ерыгин Д. В., Гулидов И. А., Карпов А. А. Непосредственная эффективность термохимиолучевой терапии местно-распространенного рака прямой кишки. Исследования и практика в медицине. 2020;7(3):10–20. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-3-1>, EDN: OQVSVJ
5. Березовская Т. П., Мозеров С. А., Дайнеко Я. А., Невольских А. А., Шавладзе З. Н., Иванов С. А. и др. МРТ-патоморфологические параллели при полном ответе опухоли на неoadъювантное химиолучевое лечение рака прямой кишки. Исследования и практика в медицине. 2019;6(2):40–50.
<https://doi.org/10.17709/2409-2231-2019-6-2-4>, EDN: PEIRAQ
6. Abrams MJ, Koffer PP, Leonard KL. The Emerging Non-operative Management of Non-metastatic Rectal Cancer: A Population Analysis. *Anticancer Res.* 2016 Apr;36(4):1699–1702.
7. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Колесников В. Е., Харагезов Д. А., Гречкин Ф. Н. Лапароскопический доступ в хирургии колоректального рака. Академический журнал Западной Сибири. 2015;11(5(60)):76. EDN: VVFSVD
8. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Гусарева М. А., Розенко Л. Я., Солдаткина Н. В., Харагезов Д. А. и др. Преимущества короткого и пролонгированного курса предоперационной лучевой терапии в лечении рака прямой кишки. Вопросы онкологии. 2018;64(1):110–115. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2018-64-1-110-115>, EDN: XMLHKX
9. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Новикова И. А., Гусарева М. А. Клинико-морфологические эффекты предоперационной лучевой терапии крупным фракционированием дозы при раке прямой кишки. Тюменский медицинский журнал. 2016;18(2):39–44. EDN: WHMRDN
10. McCoy MJ, Hemmings C, Hillery S, Penter C, Bulsara MK, Zeps N, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer: how important is tumour regression? *ANZ J Surg.* 2017 Dec;87(12):E233–E239. <https://doi.org/10.1111/ans.13394>
11. Preoperative short-term radiation therapy in operable rectal carcinoma. A prospective randomized trial. Stockholm Rectal Cancer Study Group. *Cancer.* 1990 Jul 1;66(1):49–55.
[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19900701\)66:1<49::aid-cnrcr2820660111>3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19900701)66:1<49::aid-cnrcr2820660111>3.0.co;2-1)
12. Swedish Rectal Cancer Trial, Cedermark B, Dahlberg M, Glimelius B, Pahlman L, Rutqvist LE, Wilking N. Improved survival with preoperative radiotherapy in resectable rectal cancer. *N Engl J Med.* 1997 Apr 3;336(14):980–987.
<https://doi.org/10.1056/nejm199704033361402>
13. Кит О. И., Геворкян Ю. А., Солдаткина Н. В., Гусарева М. А., Харагезов Д. А., Милакин А. Г. и др. Полный клинический ответ рака прямой кишки на химиолучевое лечение: тактика. Вопросы онкологии. 2017;63(6):838–842.
<https://doi.org/10.37469/0507-3758-2017-63-6-838-842>, EDN: ZXWFEF
14. Peeters KC, Marijnen CA, Nagtegaal ID, Kranenbarg EK, Putter H, Wiggers T, et al. Dutch Colorectal Cancer Group. The TME trial after a median follow-up of 6 years: increased local control but no survival benefit in irradiated patients with resectable rectal carcinoma. *Ann Surg.* 2007 Nov;246(5):693–701. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000257358.56863.ce>
15. Ferrari L, Fichera A. Neoadjuvant chemoradiation therapy and pathological complete response in rectal cancer. *Gastroenterol Rep (Oxf).* 2015 Nov;3(4):277–288. <https://doi.org/10.1093/gastro/gov039>

Информация об авторах:

Геворкян Юрий Артушевич – д.м.н., профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1957-7363>, SPIN: 8643-2348, AuthorID: 711165

Солдаткина Наталья Васильевна ✉ – д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения общей онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0118-4935>, SPIN: 8392-6679, AuthorID: 440046

Черняк Максим Николаевич – онколог отделения абдоминальной онкологии № 1, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1793-1237>, SPIN: 7418-7320, AuthorID: 917426

Гусарева Марина Александровна – к.м.н., заведующая отделением радиотерапии № 1 ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9426-9662>, SPIN: 9040-5476, AuthorID: 705242

Бондаренко Ольга Константиновна – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9543-4551>

Дженкова Елена Алексеевна – д.б.н., доцент, ученый секретарь, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745

Дашков Андрей Владимирович – к.м.н., старший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3867-4532>, SPIN: 4364-9459, AuthorID: 308799

Колесников Владимир Евгеньевич – д.м.н., врач-хирург отделения абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5205-6992>, SPIN: 9915-0578, AuthorID: 705852

Петров Дмитрий Сергеевич – к.м.н., заместитель главного врача по хирургии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4562-1199>, SPIN: 1855-3496, AuthorID: 736631

Толмах Роман Евгеньевич – к.м.н., заведующий операционным блоком, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0870-7356>, SPIN: 4559-2047, AuthorID: 733791

Савченко Дмитрий Александрович – врач-онколог консультативно-диагностического отделения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2496-2728>

Участие авторов:

Геворкян Ю. А. – обработка материала и оформление текста статьи;
Солдаткина Н. В. – научное редактирование, подготовка статьи, концепция и дизайн исследования;
Черняк М. Н. – обработка материала;
Гусарева М. А. – сбор, анализ и интерпретация данных, обработка материала;
Бондаренко О. К. – обработка материала;
Дженкова Е. А. – оформление текста статьи;
Дашков А. В. – оформление текста статьи;
Колесников В. Е. – сбор, анализ и интерпретация данных;
Петров Д. С. – сбор, анализ и интерпретация данных;
Толмах Р. Е. – техническое редактирование, оформление библиографии;
Савченко Д. А. – сбор, анализ и интерпретация данных.

УСПЕШНАЯ ЭКСТИРПАЦИЯ ПЕРФОРИРОВАННОГО ПИЩЕВОДА ПОСЛЕ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ИНФИЛЬТРАТИВНО-ЯЗВЕННОМ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ

Т. С. Рогова[✉], П. Г. Сакун, Ю. А. Геворкян, С. Г. Власов, Л. Я. Розенко, С. А. Малинин,
Е. А. Карнаухова, О. Г. Родионова, М. А. Командиров, О. Ю. Каймакчи,
Н. В. Солдаткина, Е. А. Горбунова

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

✉ coffeecreeps@yahoo.com

РЕЗЮМЕ

Рак пищевода – одно из самых агрессивных злокачественных новообразований (ЗНО) желудочно-кишечного тракта, занимающее восьмое место в структуре заболеваемости во всем мире. Несмотря на комплексные подходы к лечению, смертность продолжает расти в обеих гендерных группах, что перемещает данную патологию на шестую позицию в структуре смертности от ЗНО. Множество пациентов проходят лучевую терапию в предоперационном периоде или в самостоятельном варианте в силу особенностей локализации опухоли или распространенности процесса. Одним из серьезных осложнений заболевания на фоне проводимой консервативной терапии является перфорация пищевода, которая, по литературным данным, может развиваться от 5,6 до 33 % случаев, а факторами риска развития данного осложнения являются инфильтративно-язвенная форма рака, стадия заболевания Т3-4 и наличие стеноза пищевода, а также применение таких химиопрепаратов, как фторурацил и цисплатин. В статье описан клинический случай развития перфорации пищевода у пациента с инфильтративно-язвенной формой плоскоклеточного рака пищевода на фоне проводимого предоперационного химиолучевого лечения. Суммарная очаговая доза (СОД) на момент развития осложнения составила 24 Гр. Вследствие комплексного дообследования, выявившего развившееся осложнение в виде перфорации пищевода междисциплинарным консилиумом было принято решение о немедленном хирургическом вмешательстве, в ходе которого была выполнена экстирпация пищевода с гастро- и эзофагостомией. Пациент был выписан на 15-е сутки в удовлетворительном состоянии с рекомендацией проведения ИГХ-исследования на наличие экспрессии PD-L1 для определения дальнейшей тактики лечения. Данный клинический случай демонстрирует роль инфильтративно-язвенной формы роста опухоли, стадии заболевания, а также применение химиопрепаратов во время лучевого лечения как факторы риска развития перфорации пищевода; важной задачей на догоспитальном этапе при отборе таких пациентов служит тщательное обследование в специализированных онкологических центрах для исключения возможных осложнений в процессе вышеописанного консервативного лечения.

Ключевые слова: химиолучевая терапия, рак пищевода, перфорация пищевода

Для цитирования: Рогова Т. С., Сакун П. Г., Геворкян Ю. А., Власов С. Г., Розенко Л. Я., Малинин С. А., Карнаухова Е. А., Родионова О. Г., Командиров М. А., Каймакчи О. Ю., Солдаткина Н. В., Горбунова Е. А. Успешная экстирпация перфорированного пищевода после химиолучевой терапии при инфильтративно-язвенном плоскоклеточном раке. Южно-Российский онкологический журнал. 2023; 4(2): 64-69. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-7>, <https://elibrary.ru/bkgqsw>

Для корреспонденции: Рогова Татьяна Сергеевна – врач-онколог, 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: coffeecreeps@yahoo.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0074-0044>

SPIN: 8280-9470, AuthorID: 1113449

ResearcherID: AAG-1260-2021

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Информированное согласие получено от всех участников исследования.

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 09.11.2022; одобрена после рецензирования 13.04.2023; принята к публикации 05.06.2023.

© Рогова Т. С., Сакун П. Г., Геворкян Ю. А., Власов С. Г., Розенко Л. Я., Малинин С. А., Карнаухова Е. А., Родионова О. Г., Командиров М. А., Каймакчи О. Ю., Солдаткина Н. В., Горбунова Е. А., 2023

SUCCESSFUL EXTIRPATION OF A PERFORATED ESOPHAGUS AFTER CHEMORADIOOTHERAPY IN INFILTRATIVE ULCERATIVE SQUAMOUS CELL CARCINOMA

T. S. Rogova[✉], P. G. Sakun, Yu. A. Gevorkyan, S. G. Vlasov, L. Ya. Rozenko, S. A. Malinin, E. A. Karnaukhova, O. G. Rodionova, M. A. Komandirov, O. Yu. Kaimakchi, N. V. Soldatkina, E. A. Gorbunova

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

✉ coffeecreeps@yahoo.com

ABSTRACT

Esophageal cancer is one of the most aggressive malignant neoplasms of the gastrointestinal tract, occupying the eighth place in the structure of morbidity worldwide. Despite comprehensive approaches to treatment, mortality continues to grow in both gender groups, which moves this pathology to the sixth position in the structure of mortality from malignant tumors. A lot of patients undergo radiation therapy in the preoperative period or in an independent version due to the peculiarities of the localization of the tumor or the spread of the process. One of the serious complications of the disease on the background of ongoing conservative therapy is perforation of the esophagus, which, according to the literature, can develop from 5.6 to 33 % of cases, and the risk factors for the development of this complication are infiltrative-ulcerative form of cancer, disease stage T3–4 and the presence of esophageal stenosis, as well as the use of chemotherapy drugs such as fluorouracil and cisplatin. The article describes a clinical case of esophageal perforation in a patient with infiltrative-ulcerative form of squamous cell carcinoma of the esophagus on the background of preoperative chemoradiotherapy. The total focal dose (TFD) at the time of complication development was 24 Gy. As a result of a comprehensive additional examination, which revealed a developed complication in the form of perforation of the esophagus, an interdisciplinary council decided on an immediate surgical intervention, during which extirpation of the esophagus with gastro- and esophagostomy was performed. The patient was discharged on the 15th day in a satisfactory condition with a recommendation to conduct an IHC study for the presence of PD-L1 expression to determine further management tactics. This clinical case demonstrates the role of the infiltrative-ulcerative form of tumor growth, the stage of the disease, as well as the use of chemotherapy drugs during radiation treatment as risk factors for the development of esophageal perforation; an important task at the prehospital stage in the selection of such patients is a thorough examination in specialized oncological centers to exclude possible complications in the process of the above conservative treatment.

Keywords: chemoradiation therapy, esophageal cancer, esophageal perforation

For citation: Rogova T. S., Sakun P. G., Gevorkyan Yu. A., Vlasov S. G., Rozenko L. Ya., Malinin S. A., Karnaukhova E. A., Rodionova O. G., Komandirov M. A., Kaimakchi O. Yu., Soldatkina N. V., Gorbunova E. A. Successful extirpation of a perforated esophagus after chemoradiotherapy in infiltrative ulcerative squamous cell carcinoma. South Russian Journal of Cancer. 2023; 4(2): 64-69. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-2-7>, <https://elibrary.ru/bkgqgw>

For correspondence: Tatiana S. Rogova – MD, oncologist, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: coffeecreeps@yahoo.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0074-0044>

SPIN: 8280-9470, AuhorID: 1113449

ResearcherID: AAG-1260-2021

Compliance with ethical standards: the ethical principles presented by the World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, ed. 2013) were observed in the work. Informed consent was obtained from all participants of the study.

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

The article was submitted 09.11.2022; approved after reviewing 13.04.2023; accepted for publication 05.06.2023.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Рак пищевода – одно из самых агрессивных злокачественных новообразований (ЗНО) желудочно-кишечного тракта, занимающее восьмое место в структуре заболеваемости во всем мире [1]. Несмотря на комплексные подходы к лечению, смертность продолжает расти в обеих гендерных группах [2], что перемещает данную патологию на шестую позицию в структуре смертности от ЗНО [1].

Хирургическое вмешательство может быть отсрочено или вовсе невыполнимо в силу особенностей локализации опухоли или распространенности процесса [3; 4], поэтому множество пациентов проходят комплексное лечение, включающее в себя лучевую терапию в предоперационном периоде или в самостоятельном варианте.

Одним из серьезных, с высокой летальностью, осложнений заболевания на фоне проводимой консервативной терапии является перфорация пищевода. Причины перфораций пищевода многочисленны, основными факторами являются ятрогенное воздействие и механическое повреждение (барогенные разрывы, повреждение инородными телами, закрытые травмы грудной клетки). По данным ряда авторов [5–7] образование пищеводной фистулы как осложнение лучевой терапии может развиваться от 5,6 до 33 % случаев, поэтому больные с наличием распространенного опухолевого процесса требуют тщательного обследования перед началом лечения.

Цель исследования: представить результаты клинического наблюдения за пациентом, у которого на этапе предоперационного курса химиолучевой терапии развилось осложнение в виде перфорации пищевода.

Описание клинического случая

Пациент Б., 55 лет, поступил в отделение радиотерапии № 2 ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростова-Дону с диагнозом: (C15) Рак средней и нижней трети пищевода T₃N₂M₀, ст. III. Кл. гр. 2, сопутствующая патология – хронический бронхит. Из анамнеза: болен 1 месяц, беспокоили слабость и нарастающая дисфагия. При проведении фиброгастроуденоскопии (ФГДС) по месту жительства была выявлена инфильтративно-язвенная опухоль пищевода, выполнена биопсия образования. Проведено гистологическое исследование биопсийного материала, заключение № 13420-21 от 27.07.2022 г.: низкодифференцированный рак. Самостоятельно

обратился в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, для дообследования и определения тактики лечения. При пересмотре гистологических препаратов в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России № 2011/22 от 10.08.2022 г. определялись фрагменты слизистой оболочки пищевода с комплексами низкодифференцированной карциномы. С целью дифференциальной диагностики между плоскоклеточной карциномой без ороговения и аденокарциномой было рекомендовано ИГХ-исследование. 10.08.2022 г. была проведена СРКТ органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза, заключение: опухоль средней и нижней трети пищевода на протяжении 6,7 см с утолщением стенок до 1,6 см с инфильтрацией окружающей клетчатки, метастатическое поражение внутригрудных, забрюшинных, подключичных лимфатических узлов (рис. 1). Заключение иммуногистохимического исследования № 2524/22 от 22.08.2022 г.: «Морфологическая картина и иммунофенотип опухолевых клеток в объеме биопсии пищевода (СК5/6+) более всего характерны для низкодифференцированной плоскоклеточной карциномы». На основании полученных данных консилиумом врачей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России первым этапом лечения было рекомендовано проведение курса химиолучевой терапии. Объективно при поступлении: общее состояние близко к удовлетворительному. Жалобы на общую слабость. Кожные покровы обычной окраски, чистые. Над легочными полями везикулярное дыхание, хрипов нет. Тоны сердца приглушены, ритмичны, АД 121/78 мм.рт.ст., ЧСС 76 уд/мин. Температура тела 36,5 °C. Живот мягкий, при пальпации безболезненный, печень у края реберной дуги, селезенка не пальпируется. Физиологические отправления в норме. Вес – 80 кг, рост – 180 см, площадь тела – 2 м².

С 23.08.2022 г. начат курс дистанционной химиолучевой терапии на линейном ускорителе Truebeam (Varian, США) с использованием технологии объемномодулированной арк-терапии (VMAT) на область опухоли пищевода и регионарный лимфатический коллектор с разовой очаговой дозой (РОД) 2 Гр до суммарной очаговой дозы (СОД) 50 Гр за 25 фракций. При контроле гематологических показателей отклонений выявлено не было. 25.08.2022 г. было проведено введение химиопрепаратов на фоне инфузионной терапии по схеме: паклитаксел 50 мг/м² (100 мг) и карбоплатин AUC2 (360 мг). 01.09.2022 г. было проведено 2-е введение препаратов в прежней дозе. 07.09.2022 г. после

12-го сеанса с СОД 24 Гр пациент предъявил жалобы на боли в области грудной клетки справа, в связи с чем был немедленно дообследован для исключения кардиальной патологии. На ЭКГ от 07.09.2022 г. регистрируются синусовый ритм с ЧСС 70 уд/мин, частая суправентрикулярная экстрасистолия эпизодами по типу бигеминии, нарушение внутрижелудочковой проводимости, признаки гипертрофии миокарда левого желудочка. Через час после появления боли в груди присоединились жалобы на одышку. При проведении спиральной компьютерной томографии (СРКТ) органов грудной клетки были выявлены признаки перфорации пищевода с формированием правостороннего гидропневмоторакса (рис. 2). Пациент был экстренно взят в операционную по жизнеугрожающим показаниям. Интраоперационно: больной уложен на левый бок в положение для переднебоковой торакотомии справа в V межреберье. Под эндотрахеальным наркозом с искусственной вентиляцией легких была выполнена торакотомия в V межреберье справа. При ревизии – в плевральной полости до 200 мл серозно-гнойного выпота с дигестивным содержанием. В среднегрудном отделе пищевода пальпировалась опухоль с некротическими изменениями, последние размером до 5 см с переходом на висцеральную плевру средней доли легкого. В центре некроза перфоративное отверстие до 1,5 см в диаметре. Опухолевый-некротический-воспалительный инфильтрат вовлекал в себя v.azygos и притоки. С техническими трудностями, обусловленными локализацией и распространенностью процесса была мобилизована, дважды перевязана, пересечена v.azygos и притоки. Выполнена мобилизация

пищевода с медиастиальной лимфаденэктомией, выполнена некрэктомия висцеральной плевры средней доли легкого, участки подозрительные на негерметичность (при водной пробе) ушиты монолитными швами, плевральная полость дренирована 2 ПВХ-трубками, установленными по задней подмышечной линии в 7 и 8-ом межреберьях справа. Больной был перевернут в положение на спине. Шейный отдел пищевода был оформлен на шее в виде эзофагостомы. Выполнена верхне-срединная лапаротомия. Абдоминальный отдел пищевода извлечен в брюшную полость. Ножки диафрагмы ушиты. Наложен дополнительный ряд швов на культю пищевода. Выполнено наложение гастростомы для питания – выведена через отдельный прокол, а лапаротомная была рана ушита послойно, наглухо.

После оперативного вмешательства больной находился 8 суток в условиях отделения анестезиологии и реанимации. Далее, в профильном отделении получал лечение, включающее: инфузионную терапию (глюкозо-электролитные и коллоидные растворы), антибактериальную терапию, спазмолитики, анальгетики, профилактику послеоперационного панкреатита, тромбозмболических осложнений, метаболическую и общеукрепляющую терапию, ингаляции, регулярные перевязки. Дренажи из брюшной и плевральной полости удалены. Послеоперационная рана – заживление первичным натяжением в условиях швов. Гастростома функционирует.

Пациент был выписан на 15-е сутки в удовлетворительном состоянии с рекомендацией проведения ИГХ-исследования на наличие экспрессии PD-L1 для определения дальнейшей тактики лечения.



Рис. 1. СРКТ органов грудной клетки до начала лечения.



Рис. 2. Перфорация пищевода с формированием гидропневмоторакса на фоне проведения курса лучевой терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Zhu C и соавт. [5] проанализировали 78 исследований, проведенных в период с 1990 по 2018 гг. В них были включены 1866 пациентов с установленным диагнозом «рак пищевода», получающих лучевое лечение (химиолучевую терапию, брахитерапию или лучевую терапию в самостоятельном варианте). Перфорация пищевода была выявлена в 200 случаях и составила 10,7 %. Авторы выяснили, что в группе риска находились пациенты младше 60–65 лет; относительно пола статистически значимых результатов получено не было. У пациентов с язвенной формой опухоли, стадией Т3–4 и плоскоклеточной гистологической структурой рака перфорация также развивалась чаще. Стеноз пищевода также был описан как фактор риска. При анализе исследований, описывающих результаты проведенной химиолучевой терапии в различных режимах, было выявлено, что осложнение развивалось чаще на фоне применения препаратов фторурацила и цисплатина, в отличие от лечения с комбинацией таксанов и цисплатина.

В ретроспективный анализ факторов риска развития перфорации пищевода на фоне рака, проведенный Haiyan Chen и соавт. [8], было включено 322 пациента, которые проходили курс лучевой терапии ввиду нерезектабельности опухоли, или рецидива заболевания. Осложнение возникло у 10 пациентов во время лучевой терапии, и через 8–40 недель после завершения еще у 8 больных, что в совокупности составило 5,8 %. Все пациенты были мужского пола. 14 из 18 пациентов (77,7 %) были младше 60 лет. 12 пациентов (66,6 %) проходили лечение со стадией Т4. Химиолучевое лечение получали 9 человек (50 %). Средняя доза облучения, при которой возникала перфорация, составила 54 Гр. На основе выше-

указанных данных авторы пришли к выводу, что риском развития перфорации пищевода являются мужской пол, возраст младше 60 лет и стадия Т4. Зависимость развития осложнения относительно гистологического типа не была описана.

Bing Hu и соавт. [9] проанализировали 414 случая химиолучевого лечения плоскоклеточного рака пищевода в различных режимах с 2012 по 2018 гг. и выявили, что перфорация пищевода возникла у 46 пациентов (11,1 %), среди которых 40 пациентов были мужчинами (86,96 %); 20 из них (43,48 %) были в возрасте до 60 лет. 27 пациентов (58,7 %) проходили лечение со стадией Т4. У всех пациентов с развившимся осложнением был диагностирован стеноз пищевода различной степени.

Исходя из вышеуказанных результатов исследований, а также собственного опыта можно выделить такие факторы риска развития перфорации пищевода, как: инфильтративно-язвенная форма опухоли, стадии заболевания Т3-4, стеноз пищевода и применение препаратов фторурацила и цисплатина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая совершенствование технического оснащения, появилась перспектива расширить возможности отбора пациентов для оказания неоадъювантной лучевой терапии злокачественного новообразования (ЗНО). При раке пищевода с плоскоклеточным гистотипом необходимо помнить и учитывать роль инфильтративно-язвенной формы роста опухоли как фактора риска развития перфорации пищевода. Важной задачей при отборе таких пациентов служит тщательное обследование в специализированных онкологических центрах для исключения возможных осложнений в процессе консервативного лечения.

Список источников

1. Uhlenhopp DJ, Then EO, Sunkara T, Gaduputi V. Epidemiology of esophageal cancer: update in global trends, etiology and risk factors. Clin J Gastroenterol. 2020 Dec;13(6):1010–1021. <https://doi.org/10.1007/s12328-020-01237-x>
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году. Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022, 239 с.
3. Круглов Е. А., Побединцева Ю. А., Филимонов Е. В., Ильин А. А., Колотиллов Ю. А., Яблоков И. Н. и др. Случай успешного лечения пациента со свищом эзофагогастроанастомоза с трахеей после экстирпации и пластики пищевода. Исследования и практика в медицине. 2020;7(4):155–163. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-4-12>, EDN: CKFKMI
4. Диомидова В. Н., Дмитриева А. Н. Роль мультиспиральной компьютерной томографии в выявлении и оценке глубины инвазии рака пищевода-желудочного перехода. Исследования и практика в медицине. 2022;9(1):65–76. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-1-6>, EDN: ZKGKYU

5. Zhu C, Wang S, You Y, Nie K, Ji Y. Risk Factors for Esophageal Fistula in Esophageal Cancer Patients Treated with Radiotherapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oncol Res Treat.* 2020;43(1–2):34–41. <https://doi.org/10.1159/000503754>
6. Kim JW, Kim TH, Kim JH, Lee IJ. Predictors of post-treatment stenosis in cervical esophageal cancer undergoing high-dose radiotherapy. *World J Gastroenterol.* 2018 Feb 21;24(7):862–869. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i7.862>
7. Zhang Y, Li Z, Zhang W, Chen W, Song Y. Risk factors for esophageal fistula in patients with locally advanced esophageal carcinoma receiving chemoradiotherapy. *Onco Targets Ther.* 2018;11:2311–2317. <https://doi.org/10.2147/OTT.S161803>
8. Chen H yan, Ma X mei, Ye M, Hou Y li, Xie H ying, Bai Y rui. Esophageal perforation during or after conformal radiotherapy for esophageal carcinoma. *J Radiat Res.* 2014 Sep;55(5):940–947. <https://doi.org/10.1093/jrr/rru031>
9. Hu B, Jia F, Zhou H, Zhou T, Zhao Q, Chen Y, et al. Risk Factors Associated with Esophageal Fistula after Radiotherapy for Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *J Cancer.* 2020;11(12):3693–3700. <https://doi.org/10.7150/jca.39033>

Информация об авторах:

Рогова Татьяна Сергеевна ✉ – врач-онколог, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0074-0044>, SPIN: 8280-9470, AuthorID: 1113449, ResearcherID: AAG-1260-2021

Сакун Павел Георгиевич – к.м.н., заведующий отделением радиотерапии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 3790-9852, AuthorID: 734600, Scopus Author ID: 56531945400

Геворкян Юрий Артушевич – д.м.н., профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1957-7363>, SPIN: 8643-2348, AuthorID: 711165

Власов Станислав Григорьевич – аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4680-8991>, SPIN: 3001-7426, AuthorID: 1087319

Розенко Людмила Яковлевна – д.м.н., профессор, врач-радиотерапевт отделения радиотерапии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7032-8595>

Малинин Сергей Андреевич – к.м.н., онколог отделения абдоминальной онкологии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1220-7143>, SPIN: 7229-1610, AuthorID: 794691

Карнаухова Елена Александровна. – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения радиотерапии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Родионова Ольга Геннадьевна – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения радиотерапии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Командиров Максим Александрович – медицинский физик отделения радиотерапии № 2, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. SPIN: 9331-1278, AuthorID: 843316

Каймакчи Олег Юрьевич – д.м.н., доцент кафедры онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. AuthorID: 335064

Солдаткина Наталья Васильевна – д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения общей онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0118-4935>, SPIN: 8392-6679, AuthorID: 440046

Горбунова Екатерина Андреевна – клинический ординатор, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1323-4127>, ResearcherID: ADH-9101-2022

Участие авторов:

Рогова Т. С. – написание текста, обработка материала;

Сакун П. Г., Каймакчи О. Ю. – сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи, техническое редактирование;

Власов С. Г., Карнаухова Е. А., Родионова О. Г., Солдаткина Н. В., Малинин С. А. – сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи;

Розенко Л. Я., Геворкян Ю. А. – научное редактирование;

Командиров М. А. – сбор, анализ и интерпретация данных, научное редактирование;

Горбунова Е. А. – сбор, анализ и интерпретация данных.



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

